

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

SYNTHÈSE DE GLYCOMIMÉTIQUES MONO- ET MULTIVALENTS POUR
L'INHIBITION DES GALECTINES

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR

BELKHADEM KARIMA

FÉVRIER 2018

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.10-2015). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

À mes très chers parents, mes chers sœurs et frères.

À mon cher époux pour son aide et son soutien.

À ma petite perle Mila.

La création est un art...

On est patient pour aimer, créer et développer...

« Les chimistes ».

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier vivement mon directeur de recherche, le professeur René Roy pour m'avoir donné l'opportunité de travailler dans son équipe de recherche pour découvrir et apprendre les bases de la chimie des sucres, la chimie des polymères et la chimie biomoléculaire. Son écoute et sa patience m'ont permis de réaliser mon projet avec succès et dépasser toutes les difficultés que nous avons rencontrées.

J'aimerais aussi remercier infiniment notre assistant de recherche Dr. Rabindra Rej pour son encadrement dans la réalisation de ma deuxième partie des dendrimères, sa gentillesse, ses encouragements et son soutien qui m'ont donné beaucoup d'espoir pour continuer ma recherche dans les moments difficiles de stress que j'ai subi.

Je tiens à remercier Chichi Tze Chieh pour tous ses conseils et son aide dans tous les domaines. J'aimerais aussi remercier les deux post-doctorants, Yihong Cao et Rahul Baghul, pour leurs collaborations, leur aide et leurs conseils, plus particulièrement Dr. Yihong Cao pour la correction de mes interprétations RMN COSY et HSQC. Je remercie également tous mes amis et mes collègues pour les moments d'ambiance que nous avons partagés ensemble.

Je remercie finalement tous les professeurs que j'ai côtoyés à l'UQAM, le Professeur Livain Breau, Pr. Siaj Mohamed et Dre. Nicoleta Bogdan. Je remercie aussi les évaluateurs externe et interne de mon mémoire ; Pre. Annie Castonguay et Pr. Alexandre Gagnon.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	VII
LISTE DES TABLEAUX.....	IX
LISTE DES SCHÉMAS	X
RÉSUMÉ	14
INTRODUCTION	15
CHAPITRE I	
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
1.1 La glycobioologie	17
1.1.1 Les glycoconjugués.....	19
1.2 Les galectines.....	19
1.2.1 Les interactions des galectines	20
1.2.2 Les interactions sucre-protéine.....	22
1.2.2.1 Liaisons hydrogènes.....	22
1.2.2.2 Interactions hydrophobes.....	23
1.2.2.3 Interactions ioniques.....	24
1.2.2.4 Interaction par chélation.....	25
1.3 Les ligands multivalents	27
1.3.1 Les dendrimères	28
1.3.1.1 Synthèse.....	27
1.3.2 Les glycodendrimères en "scaffolds" aromatiques.....	29
1.3.2.1 Différentes formes des "scaffolds" aromatiques.....	29
1.3.2.2 Les glycodendrimères avec des cœurs aromatiques de l'acide trimésique.....	30

1.3.2.3 Glycodendrimères des dérivés de l'acide mésique.....	31
1.4 Glycodendrimères trivalents en inhibition des galectines	36
CHAPITRE II	
SYNTHÈSE DES LIGANDS MONOVALENTS	38
2.1 Synthèse des <i>O</i> -aryle lactosides.....	39
2.1.1 Synthèse de l'acétobromolactose	39
2.1.2 Synthèse des <i>O</i> -aryles lactosides par CTP	41
2.1.3 Synthèse des <i>O</i> -aryles lactosides par réaction de Doebner- Knoevenagel.....	46
2.2 Synthèse des <i>O</i> -aryle lactosides modifiés en <i>O</i> -3'	49
2.2.1 La sulfatation de la vanilline lactoside 16	50
2.2.2 La sulfatation du méthyle vanillate lactoside 18	54
2.2.3 La sulfatation du <i>tert</i> -butyle vanillate lactoside 20	55
2.2.4 Les résultats d'inhibition des galectines-1 et -3.....	57
CHAPITRE III	
SYNTHÈSE DES LIGANDS MULTIVALENTS	58
3.1 La chimie Click.....	58
3.2 Synthèse des glycodendrimères	60
3.2.1 Synthèse des produits de départ	60
3.2.2 Synthèse d'un dendrimère avec un cœur trihydrazone	64
3.2.3 Synthèse d'un dendrimère avec un cœur triacylhydrazide.....	68
3.2.4 Synthèse d'un dendrimère vanillique avec un cœur triacylhydrazide.....	71
3.3 Synthèse de glycodendrimère avec le 1,3,4-oxadiazole à partir de l'acylhydrazide	73
3.4 Synthèse de glycodendrimère avec la chimie de thiol-yne.....	75
CHAPITRE IV	
PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	82
4.1 Généralité.....	82
4.1.1 Solvants	82
4.1.2 Chromatographie.....	82
4.1.3 Analyses physico-chimiques	83

4.1.3.1 Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	83
4.2 Procédures générales	84
4.2.1 Procédure générale de dé- <i>O</i> -acétylation (Zemplén).....	84
4.2.2 Procédures générales de la réaction de CuAAC « chimie Click ».....	84
4.2.3 Procédures générales de la réaction de sulfatation.....	87
4.3 Modes opératoires et caractérisations	85
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....	117
APPENDICE A	
SPECTRES RMN DE TOUS LES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS.....	120
APPENDICE B	
NOTES ET REFERENCES.....	165

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Les glycanes sur la surface cellulaire.	16
1.2 Les principaux types de monosaccharides des cellules eucaryotes	17
1.3 Les interactions glucide-protéines sur la surface cellulaire.	18
1.4 Classification des galectines.	19
1.5 Interactions des différents types des galectines.	20
1.6 Résidus galactosides et leurs inhibitions avec la Gal-1 et Gal-3.	21
1.7 Réseaux de liaisons hydrogène entre un LacNAc et la Galectine	23
1.8 Interactions hydrophobes en Trp 68 du Galectine-1 et le lactose.....	24
1.9 Les sites d'interactions entre l'arginine 59 du galectine 8-N et le lactose sulfaté en 3'.	25
1.10 Interaction sucre-métal-résidu protéique.	26
1.11 Trois méthodes de synthèse des dendrimères.	29
1.12 Les scaffolds aromatiques.	31
1.13 Glycodenrimères mannosides pour l'inhibition du concanavaleine A.	33
1.14 Glycomannosides trivalents nano et tridenté 6 et 7	34
1.15 Glycomannosides trivalents nano et tridenté 8 et 9	35
1.16 Glycolactoside trivalent 10	36
1.17 Lactoside trivalent pour l'inhibition du Gal-3.....	37
2.1 Effet anomérique expliquant la formation stéréoselective de la configuration axiale	41
2.2 RMN ¹ H du composé 14 avec agrandissement du proton H-1.....	44

2.3	RMN ^1H du produit secondaire 22 de l'E2.....	45
2.4	Spectre RMN ^1H COSY du composé 16	52
2.5	Spectre RMN ^1H COSY du composé 30	53
2.6	Spectre RMN ^1H du composé 31	54
2.7	Spectre RMN ^{13}C Dept 135 du composé 32	55
2.8	Spectre RMN ^{13}C Dept 135 du composé 33	57
3.1	Mécanisme réactionnel proposé par Sharpless pour la réaction de cycloaddition catalysée par le cuivre (CuAAC).	59
3.2	Spectre RMN ^{13}C du cluster trivalent 46	65
3.3	Fragment de l'analyse de masse du composé 52	70

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
2.1 Inhibition des galectines 1 et 3 par les composés 18 et 32	57

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma	Page
2.1	Acétylation du lactose monohydrate suivie par bromation stéréosélective de la position anomérique..... 39
2.2	Synthèse des différents O-aryle lactosides des dérivés vanillines par CTP... 41
2.3	Compétition entre une S _N 2 et E2 et formation du produit secondaire. 42
2.4	Réduction de la vanilline lactoside par NaBH ₄ 45
2.5	Oxydation du méthyle vanillate lactoside..... 46
2.6	Synthèse des O-aryles lactosides par la réaction de Doebner-Knoevenagel .47
2.7	Sulfatation de la vanilline lactoside 16 50
2.8	Sulfatation du <i>tert</i> -butyle vanillate lactoside 20 54
2.9	Sulfatation du méthylevanillate lactoside 1855
3.1	Synthèse du composé trihydrazide 3660
3.2	Synthèse de l'acide gallique tripropargylé 3960
3.3	Synthèse de l'aldéhyde gallique tripropargylé 41 61
3.4	Synthèse du composé 2-azidoéthyle lactoside 43 62
3.5	Synthèse du composé éthane thiol lactoside 45 63
3.6	Synthèse d'un « cluster» trivalent 46 par la chimie Click..... 64
3.8	Synthèse du glycodendrimère 48 66
3.9	Synthèse d'un « cluster» trivalent 50 par la chimie Click..... 69
3.10	Synthèse du glycodendrimère 52 70

3.11	Synthèse d'un cluster vanillique trivalent 53	72
3.12	Synthèse de glycodendrimère 54 avec des anneaux d'oxadiazole.....	74
3.13	Synthèse de cluster propargylé.....	76
3.14	Synthèse de glycodendrimère 57	77

LISTE DES ABRÉVIATIONS

α	Alpha
Ac	Acétyle
Ac ₂ O	Anhydride acétique
AcOEt	Acétate d'éthyle
Asp	Ac.Aspartique
Asn	Asparagine
Arg	Arginine
β	Béta
Bu ₂ SnO	Oxyde de dibutylétain
°C	Degré Celsius
CCM	Chromatographie sur couche mince
COSY	Correlation spectroscopy, anglais, Spectroscopie de corrélation H-H
CTP	Catalyseur de transfert de phase
CRD	Domaine de reconnaissance du carbohydrate
D ₂ O	Oxyde de deutérium
DMAP	Diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMSO-d ₆	Diméthylsulfoxyde deutéré
EDC	1-Éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide

g	Gramme
Glu	Ac.glutamique
Gln	Glutamine
GlcNAc	N-acétylglucosamine
HOBt	1-Hydroxybenzotriazole
Hz	Hertz
His	Histidine
LacNAc	N-acétyllactosamine
Lys	Lysine
MeOH	Méthanol
mg	Milligramme
MHz	MegaHertz
ml	Millilitre
mmol	Millimole
NMP	N-méthyle-2-pyrrolidone
p.f.	Point de fusion
Ser	Sérine
Trp	Tryptophane
TBAHS	Tétrabutylammonium hydrogènesulfate
THF	Tétrahydrofurane

RÉSUMÉ

Les interactions protéine/protéine sont réalisées par l'intermédiaire d'oligosaccharides qui couvrent la surface cellulaire sous forme de glycoconjugués (glycoprotéines, glycolipides, etc.) pour assurer la communication entre les cellules. Les lectines de type S ou galectines se caractérisent par leur spécificité de reconnaissance de carbohydrates (CDR) ayant une affinité particulière pour les glycoconjugués incorporant un résidu β -D-galactopyranoside. La plupart de ces galectines sont identifiées chez les mammifères. Cependant, jusqu'à ce jour, le rôle des galectines n'est pas encore clairement identifié. Celles-ci peuvent être impliquées dans un vaste champ d'activités biologiques, y compris l'adhésion cellulaire, la réponse immunitaire, la signalisation transmembranaire et l'inflammation. De nombreux travaux montrent la participation des galectines dans le développement tumoral. Pour ces raisons, un grand nombre de scientifiques s'orientent vers l'étude structurale et fonctionnelle approfondie des galectines et en particulier les Gal-1 et Gal-3. Par conséquent, la conception d'inhibiteurs ciblés spécifiquement pour chacune de ces molécules représente un grand intérêt thérapeutique.

Dans le but d'améliorer l'affinité et surtout la sélectivité de dérivés du lactose comme inhibiteurs des galectines impliquées dans le traitement anti-cancer et anti-métastases, nous avons synthétisé des ligands monovalents d'aryle *O*-lactosides par la catalyse de transfert de phase (CTP) " phase-transfer catalysis (PTC) ". La chimie de l'étain (oxyde et acétal d'étain) a permis l'incorporation régiosélective d'une fonction sulfate anionique en position *O*-3'd'aryle *O*-lactoside.

D'autres ligands multivalents ont été synthétisés avec de bons rendements. Ces glycodendrimères multivalents ont pour but d'obtenir une meilleure constante d'affinité avec les lectines, mais également, pour l'inhibition sélective d'une galectine spécifique. Pour cela, une variété de composés chimiques a été intégrée dans les structures des glycodendrimères synthétisés, tels que : oxadiazole, triazole, acylhydrazide, l'hydrazone et le thioether.

Mots-clés : Galectines, chimie click, hydrazone, acylhydrazine, chimie médicinale, cancer, lactose, alkylation régiosélective, catalyse par transfert de phase.

ABSTRACT

Protein / protein interactions are carried out via oligosaccharides that cover the cell surface in the form of glycoconjugates (glycoproteins, glycolipids, etc.) to ensure communication between cells. S-type lectins or galectins are characterized by their carbohydrate recognition specificity (CDR) having a particular affinity for glycoconjugates incorporating β -D-galactopyranoside residue. Most of these galectins are identified in mammals. However, to date, the role of galectins is not yet clearly identified. These may be involved in a wide range of biological activities, including cell adhesion, immune response, transmembrane signaling and inflammation. Many studies showed the involvement of galectins in tumor development. For these reasons, a large number of scientists devoted detailed structural and functional studies of galectins, in particular Gal-1 and Gal-3. Therefore, the design of specific inhibitors for each of the galectins represents a major challenge of therapeutic interest.

With the aim to improve the affinity and especially the selectivity of lactose derivatives as galectin inhibitors involved in anti-cancer and anti-metastasis treatments, we have synthesized monovalent aryl *O*-lactoside ligands by phase-transfer catalysis (PTC). The chemistry of tin (tin oxide and acetal) has allowed the regioselective incorporation of anionic sulfate function at the *O*-3 'position of the aryl *O*-lactoside.

Other multivalent ligands have been synthesized in good yields. These multivalent glycodendrimers are intended to provide better affinities to the lectins, but also, for selective inhibition of a specific galectin member. For that purpose, a variety of chemical compounds have been incorporated into the structures of the synthesized glycodendrimers, such as: oxadiazole, triazole, acylhydrazide, hydrazone and thioether using copper-catalyzed 1,4-cycloadditions as the core chemistry ("click chemistry").

Keywords: Galectins, click chemistry, hydrazone, acylhydrazine, medicinal chemistry, cancer, lactose, regioselective alkylation, phase transfer catalysis.

INTRODUCTION

Les lectines de type S ou galectines sont une famille de protéines cytosoliques possédant un domaine de reconnaissance de carbohydrates (CDR) ayant une affinité particulière pour les glycoconjugués et incorporant un résidu β -D-galactopyranoside. La plupart de ces galectines sont identifiées chez les mammifères. Toutefois, à ce jour, le rôle des galectines n'est pas encore clairement identifié. Celles-ci peuvent être impliquées dans un vaste champ d'activités biologiques y compris l'adhésion cellulaire, la réponse immunitaire, la signalisation transmembranaire et l'inflammation.

Depuis une décennie, un grand nombre de scientifiques s'orientent vers l'étude approfondie des galectines et en particulier les Gal-1 et Gal-3 en essayant de synthétiser des inhibiteurs sélectifs de ces derniers. Les scientifiques ont par ailleurs démontré un potentiel thérapeutique pouvant aider à mieux comprendre leur participation aux nombreux processus biologiques qui peuvent mener à des traitements anti-cancers, anti-inflammatoires ou même anti-VIH. Le premier objectif de ce travail de maîtrise consiste ainsi à synthétiser de nouvelles lactoglycanes en incorporant d'abord des fonctions aryles aglyconiques plus complexes (plus substituées) et même hétéroaryles. De plus, plusieurs modifications chimiques au niveau de la position 3' du lactose seront effectuées, en prenant soin d'y inclure une fonction sulfate. Ce choix est motivé par le fait que la plupart des galectines contiennent une fonction cationique complémentaire provenant d'un résidu arginine dans le CDR près de cette position¹. Le but de ce projet est donc d'améliorer l'affinité et surtout la sélectivité de dérivés du lactose comme inhibiteurs des galectines impliquées dans le traitement anti-cancer et anti-métastases.

Le second objectif de ce travail est de synthétiser d'autres ligands multivalents. Les glycodendrimères multivalents ont pour but d'obtenir une meilleure constante d'affinité avec les lectines et d'obtenir une sélectivité pour l'inhibition d'une galectine spécifique. Pour cela, une variété de composés chimiques a été intégrée dans les structures des glycodendrimères synthétisés, tels que : Oxadiazole, triazole, acylhydrazide, l'hydrazone et le thioether.

Nos différents dendrimères ont été synthétisés à partir de l'hydrazide de l'acide trimésique, un acide qui a été déjà utilisé dans la littérature pour la synthèse des glycoclusters^{2,3}, l'existence des fonctions amines dans les dendrimères a bien montré la facilité de la mise en œuvre de fragments d'espacement et leur variation en ce qui concerne les paramètres, tels que le caractère hydrophile et la flexibilité moléculaire⁴. En conclusion, les galectines sont impliquées dans plusieurs stades des processus cancérologiques et la découverte d'inhibiteurs spécifiques pour ces lectines représente un grand intérêt médical qui pourra servir à protéger nos futures générations de ces maladies mortelles. Ce travail de mémoire devrait fournir de nouvelles données sur la relation structure/affinité/spécificité des ligands pour une classe de protéines spécifiques.

CHAPITRE I

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 La glycobioologie

Les sucres représentent la classe de biomolécules naturelles la plus abondante. Ils se trouvent sur la membrane cellulaire sous plusieurs formes (Figure 1.1)⁵. Ils peuvent être soit liés avec des protéines (glycoprotéines ou protéoglycane), ou ancrés directement dans la bicouche lipidique (glycolipides).

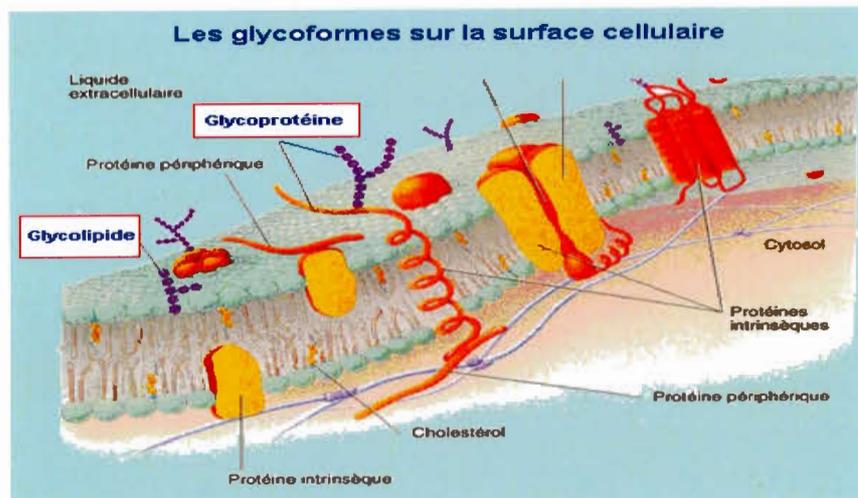


Figure 1.1 Les glycanes sur la surface cellulaire.

Les glycanes ou glucides⁶ ont des caractéristiques spécifiques. Ce sont des molécules d'une extrême variété moléculaire, oligomériques ou polymériques, linéaires ou très ramifiés. Ils sont habituellement regroupés en quatre grandes familles :

- les monosaccharides, tels que le glucose, le galactose ou le fructose, etc.
- les disaccharides, tels que le maltose, le lactose ou le saccharose;
- les oligosaccharides et polysaccharides, formés d'unités répétitives et liées par des ponts glycosidiques, formant des structures linéaires ou branchées;
- les oligosaccharides complexes, non répétitifs, généralement liés à des protéines ou à des lipides.

Il y a des monosaccharides qui ont été rencontrés dans les glycoconjugués des cellules eucaryotes. Les principaux types sont présentés ci-dessous (Figure 1.2).

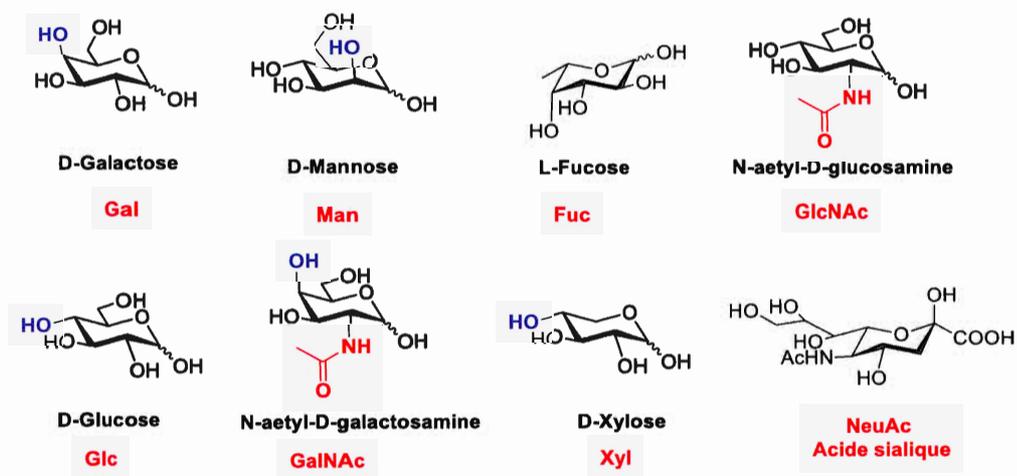


Figure 1.2 Les principaux types de monosaccharides des cellules eucaryotes.

1.1.1 Les glycoconjugués

Les glycoconjugués définissent des produits d'association covalente de glucides, soit avec une protéine, soit avec un lipide. On parle alors de glycoprotéines ou de glycolipides. Dans la plupart des cas, les glycanes sont des oligosaccharides liés aux protéines ou aux lipides par leur extrémité réductrice (extrémité avec le groupe hydroxyle OH sur le C1 libre). Les protéoglycanes se distinguent d'autres glycoconjugués où les glycanes ne sont pas des oligosaccharides, mais des polysaccharides pouvant atteindre une centaine de résidus. Les glycoconjugués interviennent dans de nombreux phénomènes biologiques reposant sur des interactions sucres/protéines. Ces interactions régissent, en effet, une variété de phénomènes biologiques⁷ tels que l'adhésion cellulaire, les métastases tumorales, la régulation de la croissance et les infections (Figure 1.2)⁸. Avec ces interactions, les glycoconjugués jouent un rôle primordial dans la reconnaissance moléculaire et cellulaire. Le développement de molécules capables de mimer ces structures offre donc de nombreuses perspectives en biologie et représente un thème de recherche particulièrement d'actualité.

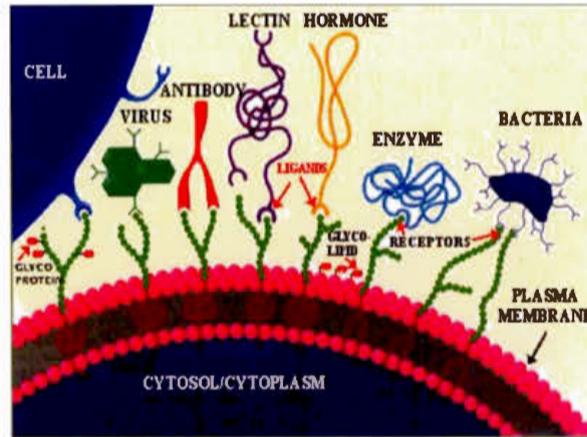


Figure 1.3 Les interactions glucide-protéines sur la surface cellulaire.

Les galectines sont une famille de lectines partageant certaines séquences conservées d'environ 135 acides aminés ainsi qu'un domaine de reconnaissance d'hydrate de carbone (CRD, Carbohydrate Recognition Domain), en leur donnant une affinité pour les β -galactosides.⁹ Ils sont aussi nommés protéines de type S à cause de la présence de nombreuses cystéines qui sont responsables de la formation de ponts disulfures. Les ligands de plus forte affinité pour les galectines sont les N-acetyllactosamines. À ce jour, quinze galectines ont été identifiées chez les mammifères¹⁰. Elles se divisent en trois groupes (Figure 1.4) : prototype, chimère et en tandem¹¹. Le type prototypique possède deux sites CRD identiques sous forme de homodimères non-covalents. Le second tandem comprend des galectines qui possèdent des sites CRD homologues mais non identiques, connectés par un peptide court. Le dernier, chimérique, unique, ne

comprend que la galectine-3 qui possède un site CRD et une partie N-terminale qui contient un peptide d'une trentaine d'acides aminés.

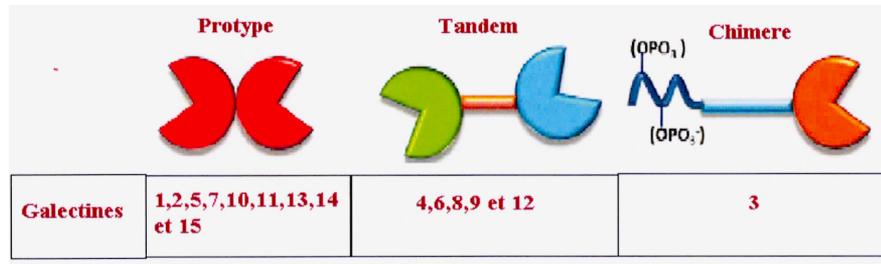


Figure 1.4 Classifications des galectines.

1.2.1 Les interactions des galectines

Les galectines sont définies par des séquences et des structures communes avec des spécificités pour le galactose ou les résidus se terminant par le galactose^{12, 13, 14}. Ils pourraient, à cet effet, faire beaucoup d'interactions monovalentes et multivalentes au niveau de la paroi cellulaire (Figure 1.5).

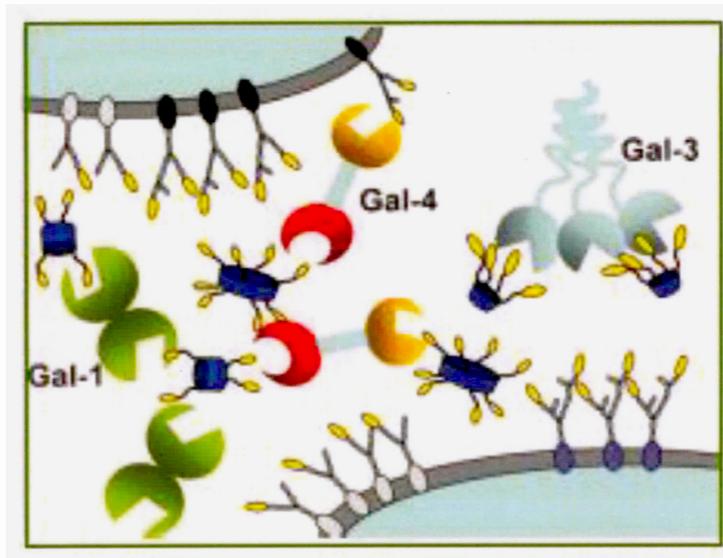


Figure 1.5 Interactions des différents types des galectines.¹⁵

Un grand nombre de scientifiques se sont orientés ces dernières décennies vers l'étude des galectines, notamment la galectine-1, galectine-3 et galectine-7. En effet, les trois interviennent dans plusieurs processus biologiques tels que l'apoptose, les infections pathogènes¹⁶, l'infection cellulaire par le VIH, le cancer^{17, 18, 19} et la progression des tumeurs crâniennes. Par conséquent, l'inhibition des galectines (Figure 1.6) est devenue un axe de recherche qui attire l'attention de nombreux chercheurs, dans le but de trouver des remèdes pour ces maladies dangereuses.

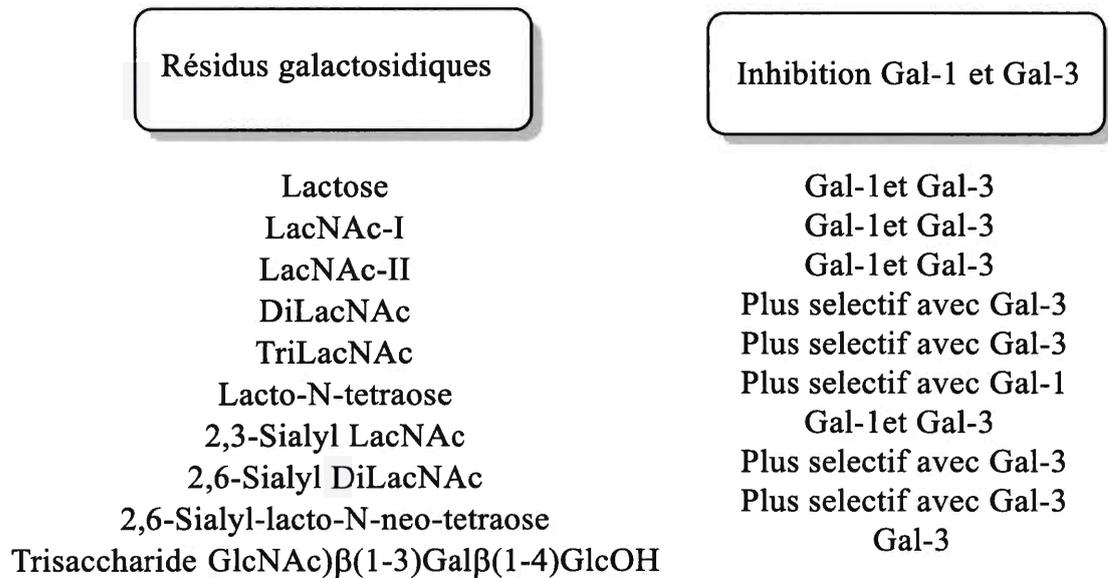


Figure 1.6 Résidus galactosides et leurs inhibitions avec la Gal-1 et Gal-3. ²⁰

Les résidus galactosides peuvent interagir avec les galectines pour réguler une multitude de processus qui seront décrits plus en détail dans ce travail de recherche. Les modes d'interaction entre le sucre et la protéine constituent le principal outil pour pouvoir choisir les bonnes stratégies de synthèse de nouveaux inhibiteurs efficaces et sélectifs pour chaque galectine.

1.2.2 Les interactions sucre-protéine

Les interactions sucre-protéines sont présentes à la surface cellulaire sous forme de glycoprotéines ou glycolipides membranaires. Ces interactions peuvent jouer un rôle dans nombreux processus biologiques, tels que l'adhésion cellulaire²¹, la

communication intra et intercellulaire et l'inflammation. Des études récentes ont montré que les sites de liaisons des interactions polaires-polaires sont en réalité plus forts que dans les interactions protéine-protéine correspondantes.²² Les molécules d'eau forment facilement des liaisons hydrogènes avec les autres molécules d'eau, ainsi qu'avec les surfaces hydrophiles des protéines et des glucides. L'eau constitue la plus grande part du poids dans notre corps, ce n'est donc pas surprenant qu'il joue un rôle inéluctable dans les deux interactions protéine-protéine et protéine-sucre.²³

Les interactions sucre-protéine²⁴ se produisent en général via des liaisons hydrogènes, des contacts hydrophobes, par l'intermédiaire de cations ou par chélation d'un métal. Malgré que leur affinité soit généralement faible, cela ne signifie pas un manque de sélectivité des sucres monovalents. Par conséquent, la multiplicité des interactions par l'utilisation des sucres multivalents a bien enrichi la littérature par des exemples montrant la forte augmentation de l'affinité des protéines.

1.2.2.1 Liaisons hydrogènes

L. Pauling a considéré que la nature de la liaison hydrogène est purement électrostatique²⁵ et qu'elle correspond aux interactions directionnelles observées entre les molécules d'eau. Elle peut être aussi considérée comme intermédiaire entre des interactions de van der Waals et une liaison covalente²⁶.

La présence de plusieurs groupements hydroxyles sur les sucres permet la formation de liaisons hydrogènes entre les groupements OH du sucre et les fonctions OH, C=O et NH des acides aminés (Asp, Asn, Glu, Gln, Arg, Ser, His, Tyr et Lys)²⁷. Notons

également la possibilité de formation de liaisons hydrogènes multiples sur un même atome qui peuvent rendre les interactions formées plus rigides et spécifiques. La majorité des interactions électrostatiques sont formées par l'intermédiaire des liaisons hydrogènes entre les résidus galactosides des galectines et le His158, Asn160 et Arg162 (Figure 1.7).

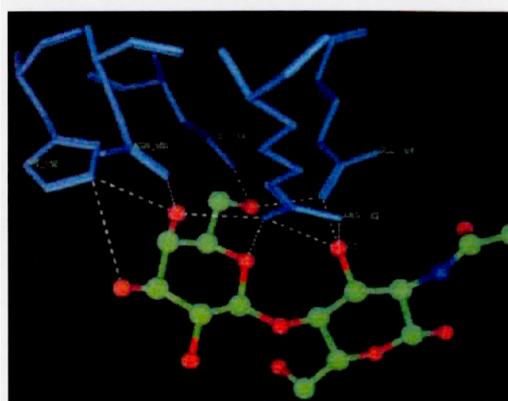


Figure 1.7 Réseaux de liaisons hydrogènes entre un LacNAc et la Galectine.²⁸

1.2.2.2 Interactions hydrophobes

Les sucres possèdent également une surface non polaire (C-H) pouvant interagir de manière complémentaire avec des acides aminés hydrophobes par la face α ou β ²⁹. Si le sucre a des groupements hydroxyles équatoriaux, le ligand peut former des contacts hydrophobes avec l'une ou l'autre des faces α ou β . Si un hydroxyle axial se présente dans la structure comme le cas du galactose, les interactions hydrophobes pourraient s'établir par sa face α . De surcroît, la présence de résidus méthyle ou aromatique permet d'établir des contacts hydrophobes. Le tryptophane³⁰ tel que présenté dans l'exemple

ci-dessous (Figure 1.8) participe à des interactions hydrophobes par la face α du galactose avec le C3, C4 et le C5³¹.

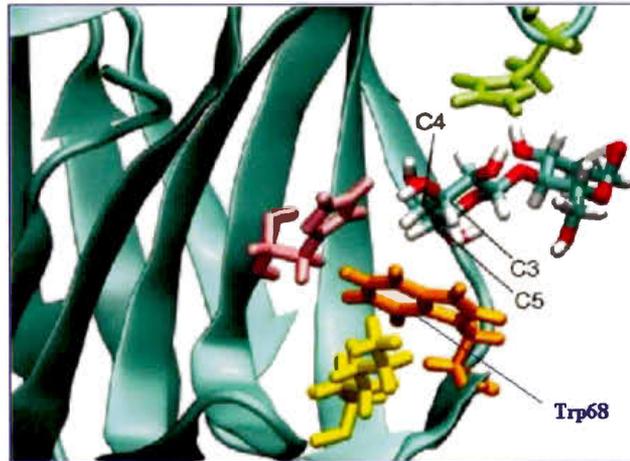


Figure 1.8 Interactions hydrophobes entre le Trp 68 du Galectine-1 et le lactose.

1.2.2.3 Interactions ioniques

Des classes importantes de sucres chargés participent aux interactions ioniques, soit par l'existence d'un acide sialique, un acide glucuronique, aminosucre ou thiosucre.

Il y a également des sucres modifiés par l'introduction d'un groupement chargé (sucres phosphorylés ou sucres sulfatés). Ces interactions ioniques (Figure 1.9) entre un sucre chargé et un acide aminé chargé résultent en une forte affinité due à des forces électrostatiques (loi de Coulomb et répulsion de Pauli).

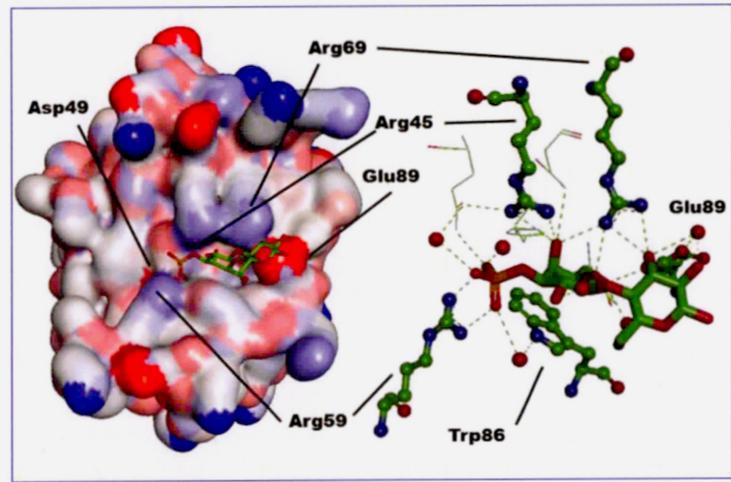


Figure 1.9 Sites d'interactions entre l'arginine 59 du galectine 8-N et le lactose sulfaté en position 3³².

1.2.2.4 Interaction par chélation

Les ions métalliques (Ca^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+}) sont capables de se lier à certains sucres. Ils peuvent être complexés par la protéine, généralement coordonnés par des acides aminés chargés ou polarisés négativement. Ces derniers participent également à maintenir et à renforcer les interactions sucre-protéine. L'exemple suivant ³³ (Figure 1.10) montre les interactions du magnésium (sphère verte), des molécules d'eau (sphère rouge) et du résidu protéique.

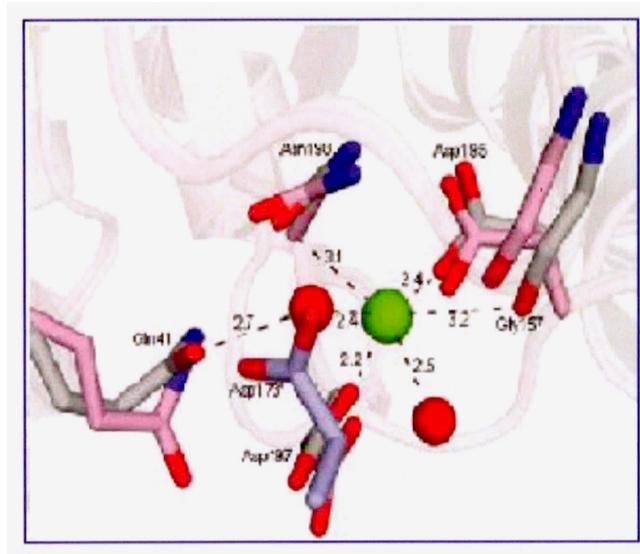


Figure 1.10 Interaction sucre-métal-résidu protéique.

1.3 Les ligands multivalents

Plusieurs architectures de structures multivalentes glycosylées ont été synthétisées pour inhiber un processus biologique lié aux lectines ou plus généralement, pour étudier les interactions multivalentes, l'objectif étant d'avoir des structures multivalentes mimant ces glycoconjugués naturels. Plusieurs classes ont été identifiées dans ce domaine. Nous distinguons les glycoclusters, les glycodendrimères, les glycopolymères, les glyconanoparticules et les néoglycoprotéines.

1.3.1 Les dendrimères

Les dendrimères sont des macromolécules polymériques synthétisées à partir d'un cœur multifonctionnel constitué de séquences répétitives de monomères, appelés "unités de branchement". Les premières molécules de ce type ont été décrites par

Vögtle et coll. en 1978³⁴. Les premières structures dendritiques qui ont fait l'objet d'études antérieures et ayant attiré l'attention générale sont les dendrimères PAMAM développés par Tomalia et coll³⁵. Tomalia a donné à ce type de molécules le nom "dendrimère", basé sur deux mots grecs; «dendros» qui fait référence à l'arbre et «meros» qui correspond à « une partie de ».

La recherche initiale dans ce domaine n'a pas connu de progrès à cause des moyens analytiques limités de l'époque. Ce n'est qu'à partir des années 1990s que le développement des dendrimères a réellement connu des développements en pleine expansion.³⁶

1.3.1.1 Synthèse

La synthèse des dendrimères se fait classiquement suivant trois méthodes : divergente, convergente et synthèse en oignon ou «onion-peel» (Figure 1.11).

La méthode divergente est la plus utilisée. Celle-ci a été développée par D. Tomalia³⁷ et G. Newkome³⁸ et consiste à synthétiser un cœur multivalent en greffant un nombre de plus en plus élevé de petites molécules, appelées "monomères", jusqu'à aboutir à la génération externe désirée.

La méthode convergente a été utilisée par J. M. J. Fréchet pour la synthèse d'un dendrimère en partant de ses extrémités.³⁹ Les différentes parties du dendrimère nommées dendrons ont été synthétisées et branchées au niveau du cœur. Cependant, la

difficulté d'attacher simultanément ces dendrons rend la synthèse de dendrimères de génération importante quelques fois difficile.

La synthèse en oignon ou « onion-peel », utilisée par le groupe R. Roy⁴⁰ est une méthode qui ressemble à la divergente. Cependant, les branches qui ont été ajoutées au niveau du cœur sont de composition chimique différente à chaque génération.

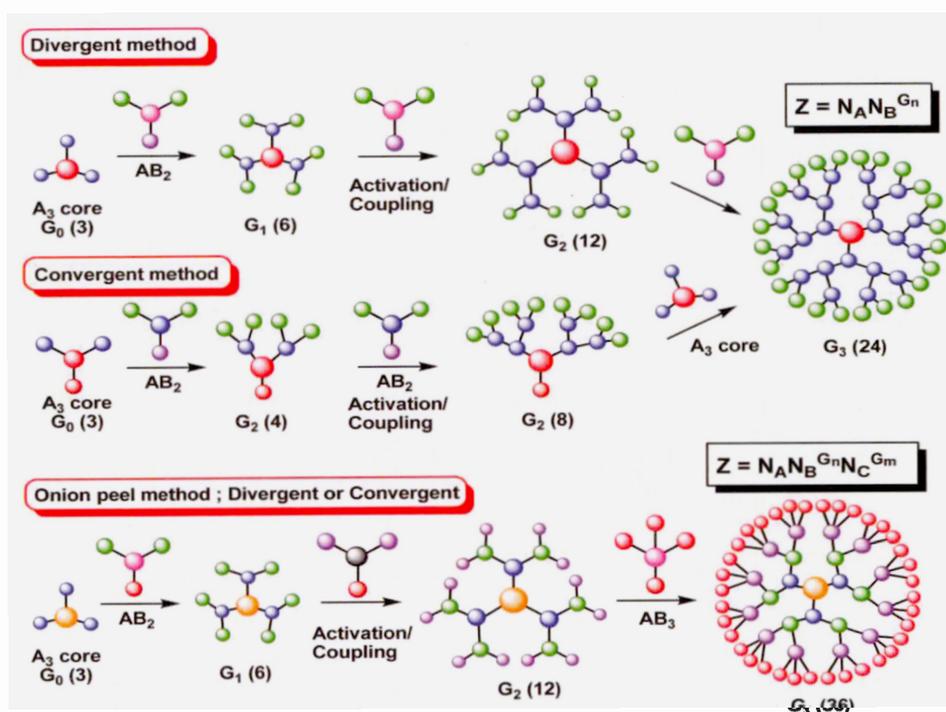


Figure 1.11 Méthodes de synthèse des dendrimères.⁴¹

1.3.2 Les glycodendrimères en "scaffolds" aromatiques.

Les glycodendrimères, nanomatériaux monodispersés, sont avidement recherchés pour des applications biomédicales. Ils se sont avérés efficaces comme biomimétiques et ont

souvent été comparés à des protéines artificielles. Leurs applications sont diverses, ils peuvent être utilisés pour la libération contrôlée de médicaments, comme actifs thérapeutiques et agents porteurs en thérapie génique. Ainsi, un intérêt de recherche supplémentaire nous encourage à synthétiser de nouvelles formes de glycodendrimères avec des scaffolds aromatiques déjà utilisées qui contiennent de l'acylhydrazide et l'hydrazone de l'acide trimésique.

1.3.2.1 Différentes formes des "scaffolds" aromatiques

Le premier "scaffold" aromatique a été fourni par Yariv et al.⁴². Au fil des années, le développement d'architectures de composés aromatiques glycodendritiques a été considérablement étendu. Le plus intéressant est la solubilité satisfaisante de ces composés dans l'eau, réalisée malgré la présence des noyaux hydrophobes. En effet, ces derniers étaient efficacement cachés par les terminaisons de sucres polaires qui ont été assurés par des mesures biophysiques et biologiques dans des milieux aqueux.

Les glycoclusters et glycodendrimères ont été synthétisés généralement autour de noyaux aromatiques, hétéroaromatiques et dérivés polycycliques complexes (Figure 1.12). Ils ont des applications biologiques très intéressantes dont des applications anti-adhésives, les agents d'administration de médicaments, les agents d'imagerie, biocapteurs et des vaccins.

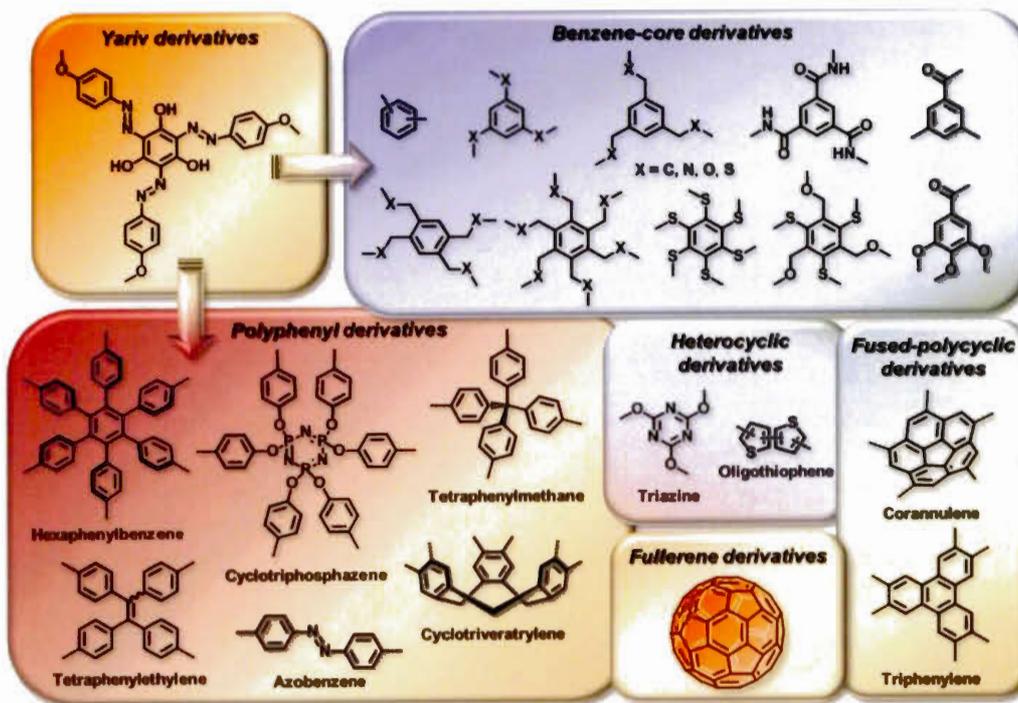


Figure 1.12 Les "scaffolds" aromatiques.⁴³

1.3.2.2 Les glycodendrimères avec des cœurs aromatiques de l'acide trimésique

Nous étions intéressés par la synthèse des glycodendrimères avec des cœurs aromatiques de l'acide trimésique dans le but d'avoir deux cœurs avec des fonctions acylhydrazides et hydrazones. Par la suite, ces deux fonctions nous ont permis d'avoir des hétérocycles aromatiques de 1, 3, 4-oxadiazoles. D'une part, ces hétérocycles sont des produits fluorescents⁴⁴ pouvant être utilisés comme des marqueurs biologiques de nos glycodendrimères dans quelques tests biologiques comme l'imagerie. D'autre part, ce sont des produits qui ont un intérêt biologique inéluctable, dont celui antifongique⁴⁵,

inhibiteurs d' α -glycosidase,⁴⁶ anti-cancer,⁴⁷ activités antiprolifératives et des agents anti-tumoraux.⁴⁸

1.3.2.3 Glycodendrimères des dérivés de l'acide mésique.

Le groupe de J. F. Stoddart⁴⁹ a synthétisé des glycodendrimères dérivés d'un cœur de chlorure de 1, 3, 5-benzène tricarboxyle par la formation de liaisons amides. Le cœur **1** est obtenu par la réaction de trichlorure de 1, 3, 5-benzène tricarboxyle et le glycinate de méthyle (Gly-OMe), suivie d'une hydrolyse des fonctions ester pour obtenir le cœur avec trois fonctions acides.

Les synthèses des dendrimères **2** et **3** ont été effectuées par la construction des premières branches dendritiques par la formation de liaisons amides en présence de DCC / HOBT comme réactifs de couplage avec le cœur **1** (Figure 1.13).

Ces dendrimères mannosides **2** (9 unités) et **3** (18 unités) ont été synthétisés par la catalyse carbodiimide, pour être appliqués dans l'inhibition de liaison de la concanavaleine A et la levure de mannan. Les tests biologiques ont montré que le dendrimère **2** est l'inhibiteur le plus actif ($I_{c50} = 0,65 \mu\text{mol.L}^{-1}$). Son potentiel d'inhibition est 4 fois plus actif que le méthyle α -D- mannopyranoside.

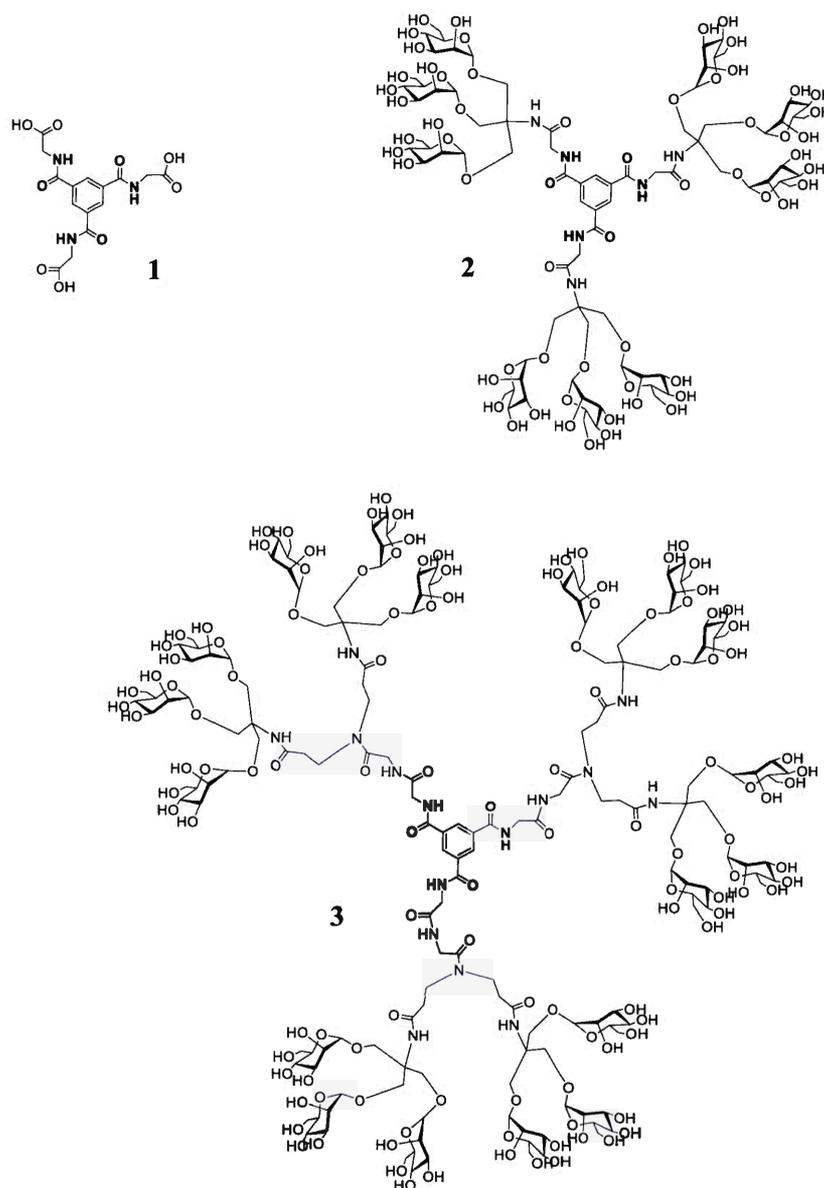


Figure 1.13 Glycodendrimères mannosides pour l'inhibition de la concanavoline
A.

Notre groupe a pu synthétiser plusieurs formes de dendrimères avec des dérivés de l'acide mésique. Les travaux de Y. M. Chabre⁵⁰ sur la synthèse des glycomannosides

dérivés de trichlorure de 1,3,5-benzène tricarbonyle avec deux dérivés propargylés du benzène-1,3,5-tricarboxamide **4** et **5** par la chimie click, ont donné une variété des glycomannosides **6** et **7** (Figure 1.14) ainsi que d'autres glycomannosides **8** et **9** (Figure 1.15).

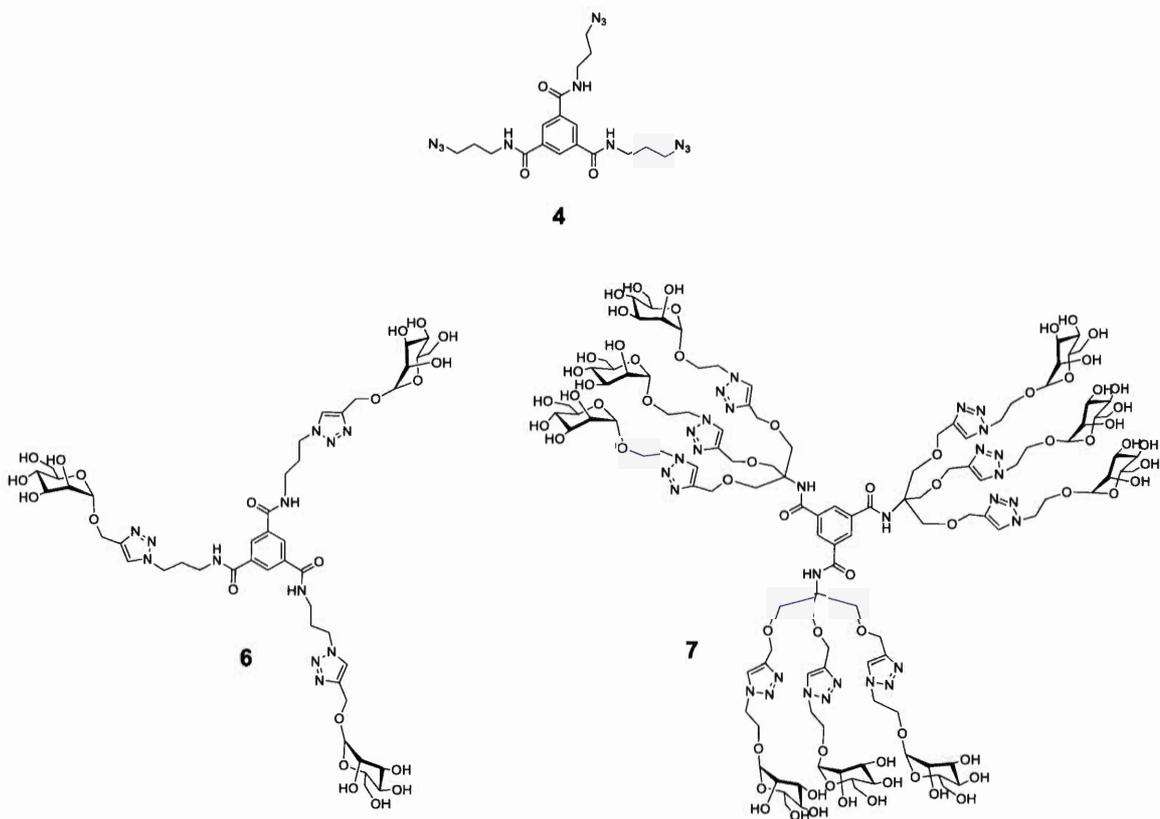


Figure 1.14 Glycomannosides **6** et **7**.

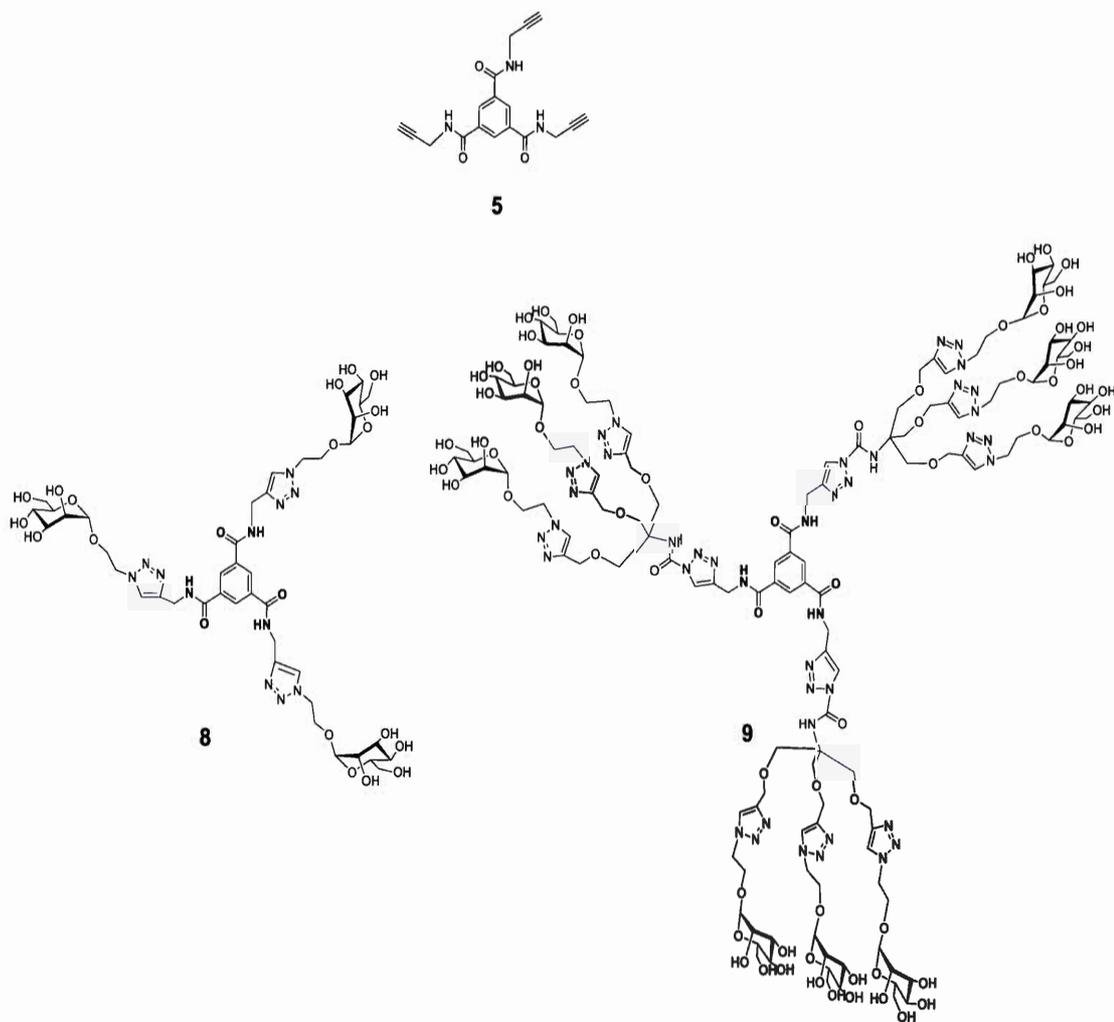


Figure 1.15 Glycomannosides **8** et **9**.

D. Giguère⁵¹ a également isolé un glycolactoside trivalent **10** (Figure 1.16), avec des propriétés inhibitrices IC_{50} de 20 μ M contre la Gal-I pour une affinité relative de 40, ce

qui est 13 fois mieux qu'une unité de lactose. Cependant, l'effet multivalent n'a pas été observé pour la Gal-3 avec des propriétés inhibitrices de 250 μ M et une affinité relative de 3.2 qui correspond à des propriétés d'une unité de lactose.

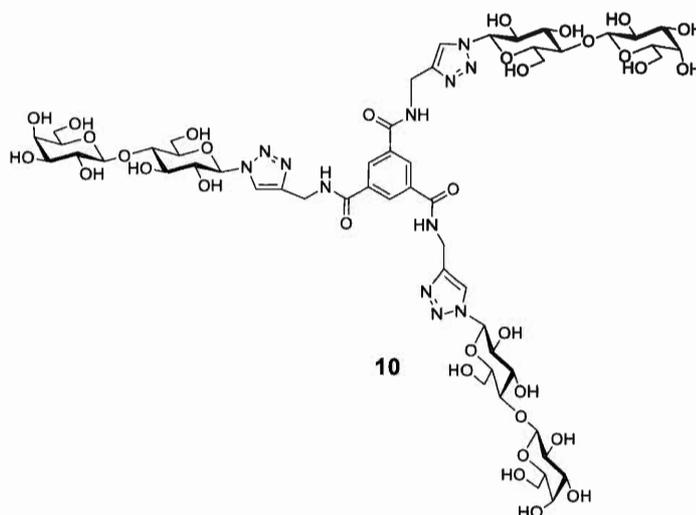


Figure 1.16 Lactoside trivalent **10**.

1.4 Glycodendrimères trivalents en inhibition des galectines

Plusieurs glycodendrimères trivalents ont montré des activités d'inhibition très élevées pour les galectines. Notre laboratoire a synthétisé des séries trivalentes avec différents squelettes. Nous avons aussi isolé un autre lactoside trivalent **11** (Figure 1.17) ayant démontré une inhibition remarquable pour la galectine-3.

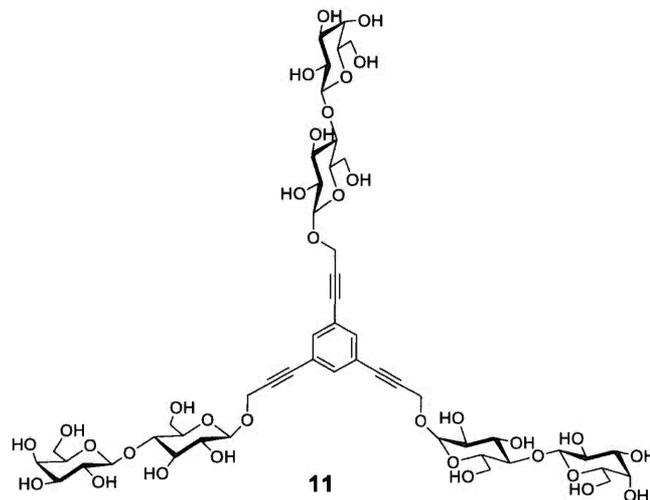


Figure 1.17 Lactoside trivalent pour l'inhibition du Gal-3.⁵²

Ce manuscrit décrit toutes les synthèses que nous avons réalisées pour l'obtention de ligands monovalents, particulièrement tous les nouveaux ligands multivalents que nous avons obtenus, avec une variété de fonctions qui pourraient augmenter leur affinité avec les galectines.

CHAPITRE II

SYNTHÈSE DES LIGANDS MONOVALENTS

Les galectines sont connues pour être capables de reconnaître et réticuler les β -D-galactopyranosides contenant les glycoconjugués à la suite de la présentation de multiples sites de liaison. Ce chapitre résume toutes les synthèses des ligands monovalents que nous avons récapitulées avec un bas poids moléculaire dérivés d'hydrates de carbone modifiés chimiquement en position anomérique et *O-3*.

Plusieurs analogues d'inhibiteurs de faibles poids moléculaires ont été préparés par le groupe de Nilsson, avec des exemples décrits récemment, démontrant qu'il est possible d'améliorer à la fois l'affinité et la sélectivité de ces composés pour les galectines, par la modification chimique du galactose (et d'autres monosaccharides)⁵³.

Dans nos structures, nous avons choisi le lactose, un dérivé galactoside qui a montré des affinités considérables avec les galectines 1 et 3^{54,55}. Leurs modifications ont été faites par l'intermédiaire de la catalyse de transfert de phase pour incorporer des aryles

de la vanilline et de l'acide vanillique fonctionnalisé en position *O-3*, le but étant d'avoir des réactions avec la fonction aldéhyde de la vanilline et d'autre avec la fonction acide de l'acide vanillique.

L'aromaticité des aryles est une caractéristique importante qui pourra augmenter les affinités par des liaisons hydrophobes. Du point de vue économique, la vanilline coûte moins chère, ce que nous a permis d'éviter une étape et d'intégrer une fonction aryle déjà fonctionnelle. D'autres modifications ont été effectuées sur certains *O*-aryle lactosides synthétisés pour pouvoir incorporer des fonctions de sulfate anionique⁵⁶ en position *O-3*.

2.1 Synthèse des *O*-aryle lactosides

Dans cette section les synthèses de la plupart des *O*-aryle lactosides ont été récapitulées stéréosélectivement à partir de l'acétobromolactose.

2.1.1 Synthèse de l'acétobromolactose

Pour synthétiser la première série des ligands monovalents d'inhibiteurs des galectines, nous avons incorporé stéréosélectivement la fonction aryle en position anomérique par une réaction de substitution nucléophile S_N2 sur l'acétobromolactose. Ce dernier est synthétisé par une réaction d'acétylation du lactose monohydrate **12** pour protéger les fonctions hydroxyles, en présence d'anhydride acétique et d'acétate de sodium, afin d'obtenir le composé connu **13** sous forme d'un mélange d'anomères α et β (Schéma 2.1). L'insertion de l'atome de brome sur le carbone anomérique a été réalisée à l'aide de l'acide bromhydrique pour permettre l'obtention stéréosélective de l'acétobromolactose **14** connu.

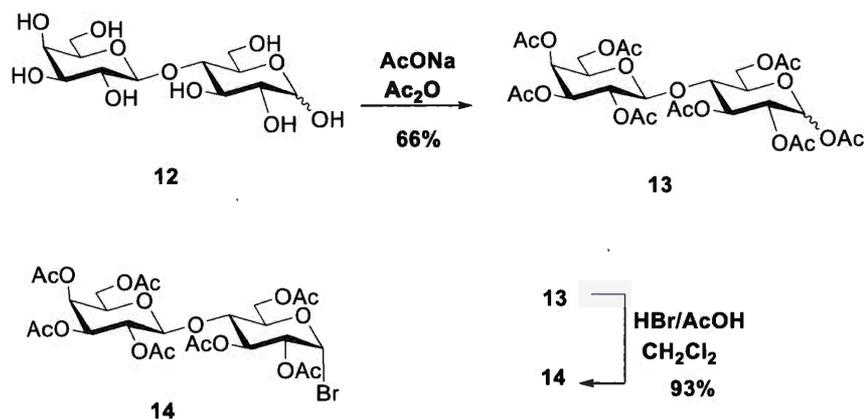


Schéma 2.1 Acétylation du lactose monohydrate suivie par une bromation stéréosélective de la position anomérique.

L'anomère α est le produit le plus thermodynamiquement stable par l'effet anomérique. Cette stéréosélectivité de configuration axiale a été bien démontrée par la RMN avec une constante de couplage vicinale ($J_{1-2} = 4.0$ Hz) observée entre le proton de la position anomérique et celui de la position 2. Selon l'équation de Karplus, la valeur de 4.0 Hz concorde bien avec l'angle dièdre que forment deux protons situés en *cis* (1-2) l'un de l'autre sur un cycle pyranoside. L'anomère α a une grande stabilité en raison d'une rétrodonation électronique par hyper-conjugaison entre l'orbitale n, du doublet d'électrons libres sur l'hétéroatome endocyclique et de l'orbitale antiliante σ^* du lien entre le carbone anomérique et son substituant (Figure 2.1).

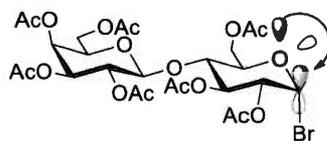


Figure 2.1 Effet anomérique expliquant la formation stéréosélective de la configuration axiale.

2.1.2 Synthèse des *O*-aryles lactosides par CTP

La catalyse de transfert de phase a été employée afin de déplacer l'atome de brome du composé **14** par la vanilline, le méthyle vanillate et le *tert*-butyle vanillate (Schéma 2.2). Cette méthode synthétique est généralement utilisée entre des entités réactionnelles dissoutes dans un milieu biphasique, organique et aqueux non miscible. Typiquement, un sel d'ammonium quaternaire agit à cet effet comme une navette permettant le passage du nucléophile anionique de la phase aqueuse vers la phase organique. Lorsque le nucléophile parvient dans la solution organique, l'amplitude de sa réactivité s'en trouve nettement améliorée grâce à la réduction des phénomènes d'hydratation et de solvatation, diminuant ainsi l'énergie d'activation nécessaire à la réaction.

Les aglycones vanillines, méthyle vanillate et le *tert*-butylvanillate ont été insérés par déplacement nucléophile sur l'acétobromolactose **14** pour l'obtention de différents dérivés **15**, **17** et **19**. Les réactions ont été effectuées à température ambiante dans un milieu biphasique constitué d'un mélange de volume équivalent d'acétate d'éthyle et d'une solution saturée de carbonate de sodium. Le TBAHS a permis le passage du nucléophile, sous forme d'un sel de sodium dans ces conditions alcalines, vers la phase organique afin d'effectuer un déplacement de type S_N2 . Dans notre cas, nous avons remarqué la formation d'un produit secondaire dû à la compétition d'une réaction E_2 avec la réaction S_N2 .

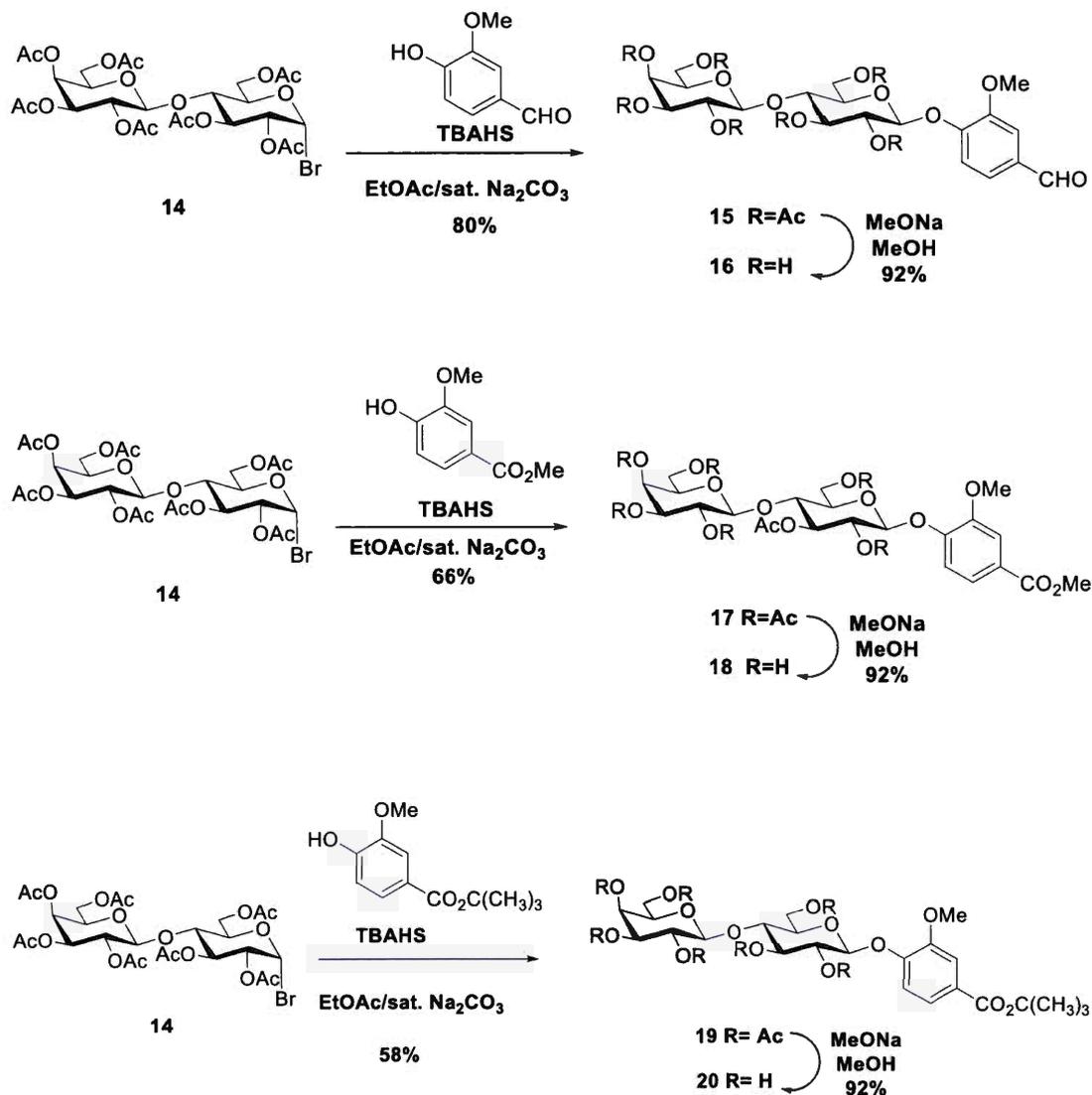


Schéma 2.2 Synthèse des différents *O*-aryllactosides de dérivés vanillines par CTP.

Nous avons constaté que le produit d'E2 se forme plus en présence de groupements électrodonneurs en position C-10. Par conséquent, l'effet mésomère donneur a diminué la réactivité du nucléophile. Ceci explique la diminution du rendement avec le méthyle et le *tert*-butylvanillate de lactoside de 66% et 58% par rapport à la vanilline lactoside

80% en raison de la présence de la fonction aldéhyde qui a augmenté la réactivité du nucléophile par son effet mésomère attracteur (Schéma 2.3).

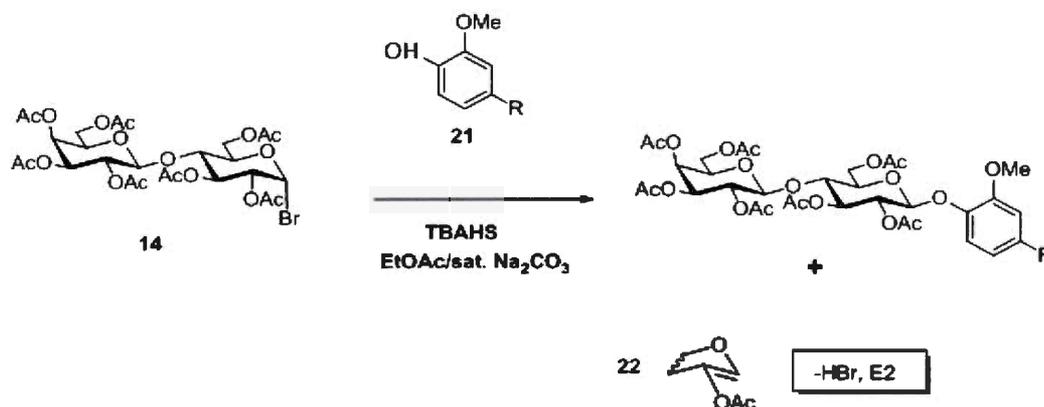


Schéma 2.3 Compétition entre une S_N2 et E2 et la formation du produit secondaire.

La stéréochimie β est confirmée par RMN ¹H où l'on observe une constante de couplage vicinale de 7.5 Hz entre les protons anomériques et celui de la position C-2 pour les trois composés **15**, **17** et **19**. Le composé **15** est déjà connu dans la littérature⁵⁷. Toutefois, avec nos conditions de CTP, nous avons amélioré le rendement de 55% à 80%, la RMN ¹H et ¹³C {¹H} ont donné successivement δ 9.90 et 190.9 ppm qui confirment la présence de la fonction aldéhyde. Les nouveaux composés **17** et **19** ont bien été identifiés avec la RMN ¹H et ¹³C {¹H} avec des signaux de δ 3.91 et 52.1 ppm pour le méthyle ester, δ 1.60 et 28.1 ppm pour le *tert*-butyl ester. L'analyse ESI-HRMS a confirmé les structures de ces composés.

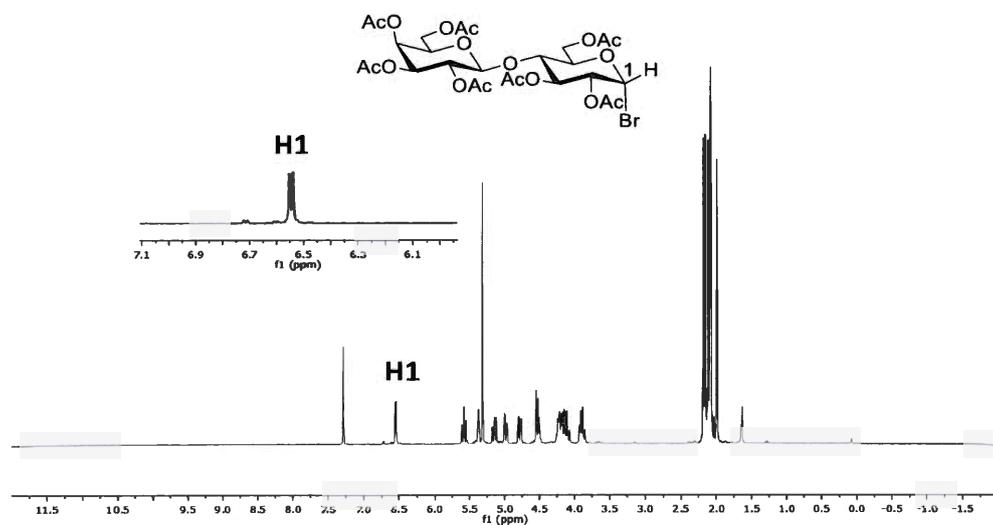


Figure 2.2 RMN ^1H du composé **14** avec agrandissement du proton H-1.

Le spectre RMN ^1H a montré l'apparition d'un doublet du proton anomérique H-1 du produit formé **22** à δ 6.61 ppm et la disparition du pic doublet du δ 6.55 ppm⁵⁸ du proton anomérique H-1 de l'acétobromolactose **14** (Figure 2.2 et Figure 2.3). Ce qui montre la compétition entre la réaction $\text{S}_{\text{N}}2$ et la réaction E2 qui manifeste la formation de ce produit secondaire et diminue le rendement de la réaction.

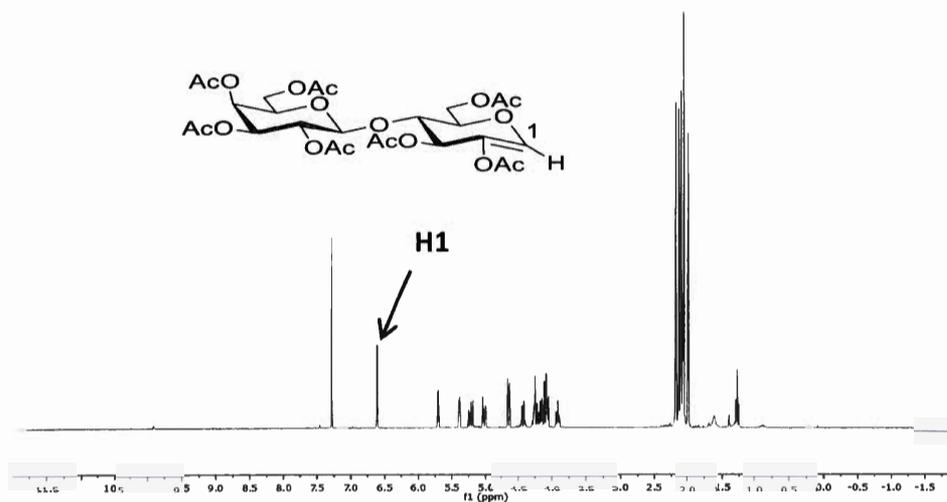


Figure 2.3 RMN ^1H du produit secondaire **22** de l'E2.

Les produits **15**, **17** et **19** ont été soumis aux conditions de dé-*O*-acétylation de Zemplén (Schéma 2.2), en présence de méthanolate de sodium catalytique dans le méthanol afin d'obtenir les composés inconnus **16**, **18** et **20** avec sept fonctions d'alcools libres. La RMN ^1H a confirmé la disparition des signaux de la fonction acétate à 2.22 ppm et l'apparition des protons H-1 et H-1' successivement à δ 5.25 et 4.44 ppm, $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$ a confirmé la disparition des fonctions acétates à δ 20.8 ppm. L'analyse ESI-HRMS a donné des masses pour les produits inconnus **18** et **20** respectivement de 529.15 $[\text{M} + \text{Na}^+]$ et 571.19 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

La fonction aldéhyde du composé **16** représente un risque de toxicité⁵⁹ sur les cellules. Par conséquent, pour éviter ce problème et avoir plus de variété dans nos structures des ligands monovalents, cette fonction aldéhyde a été réduite en fonction alcool par NaBH_4 en présence de méthanol (Schéma 2.4). Le spectre RMN ^1H a bien montré

l'existence un signal à δ 4,46 ppm correspondant à la présence de la fonction alcool. De plus, on a bien remarqué la disparition de la fonction aldéhyde à δ 9.62 ppm.

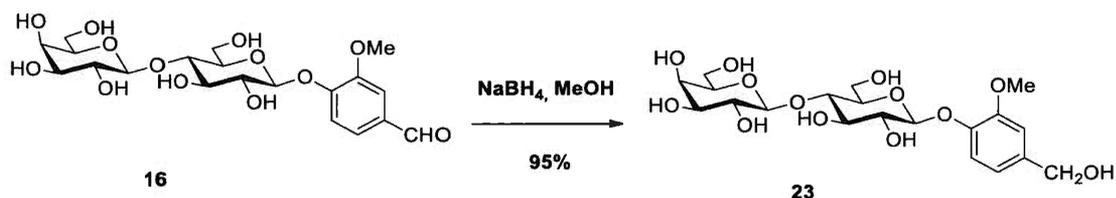


Schéma 2.4 Réduction de la vanilline lactoside par NaBH₄.

La vanilline lactoside **15** a été oxydée par le KMnO₄ (Schéma 2.5) pour avoir une fonction acide en position C-10, le produit **24** est connu⁶⁰, le rendement obtenu est de 52%. Nous avons choisi d'obtenir ce produit par l'oxydation de l'aldéhyde et non pas par l'hydrolyse des esters **17** et **19** pour des raisons de coûts. La vanilline est beaucoup moins chère que le méthyle vanillate, malgré que nous ayons pu la synthétiser avec un bon rendement mais sa purification reste cependant assez difficile en raison de son R_f proche de celui du produit d'E2. Les RMN ¹H et ¹³C {¹H} ont montré la disparition de la fonction aldéhyde. La dé-*O*-acétylation de Zemplén a donné le nouveau composé **25** qui était bien identifié avec les RMN ¹H, ¹³C {¹H} et l'ESI-HRMS.

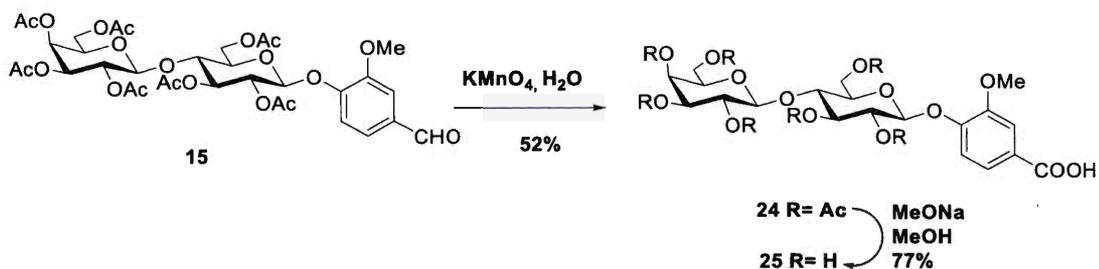


Schéma 2.5 Oxydation du méthyle vanillate lactoside.

2.1.3 Synthèse des *O*-aryles lactosides par réaction de Doebner-Knoevenagel

La modification de Doebner pour la condensation de Knoevenagel a été utilisée par le groupe de Alves pour la synthèse de ligands galactosides dérivés de la vanilline⁶¹ pour avoir un composé carbonylé α , β -insaturé en position C-10 de la vanilline pour élongation de la chaîne carbonyle.

Nous avons utilisé le même principe pour synthétiser une série de ligands monovalents de lactose (Schéma 2.6). La fonction aldéhyde du vanillate lactoside **15** a été condensée avec l'acide malonique. Le nouveau composé inconnu **26** α , β -insaturé a été obtenu avec un bon rendement après une chromatographie sur colonne. L'insaturation est réduite par l'hydrogène et Pd/C (5 ou 10 %) pour obtenir un nouveau produit inconnu **28**. La RMN ^1H du composé **26** a bien montré l'existence des deux signaux correspondant aux protons insaturés H-14 et H-13 successivement à δ 6.33 et 7.68 ppm avec une constante de couplage (J_{13-14}) de 15.9 MHz. Selon l'équation de Karplus, cette valeur concorde bien avec l'angle dièdre formé par les deux protons situés en *trans*. La

réduction du composé **26** a été confirmée par la disparition de ces deux signaux de protons *trans* et l'apparition de nouveaux protons de H-14 et H-13 successivement à δ 2.62 et 2.89 ppm. La RMN¹³C {¹H} et ESI-HRMS ont bel et bien confirmé la nature de ces deux nouveaux produits.

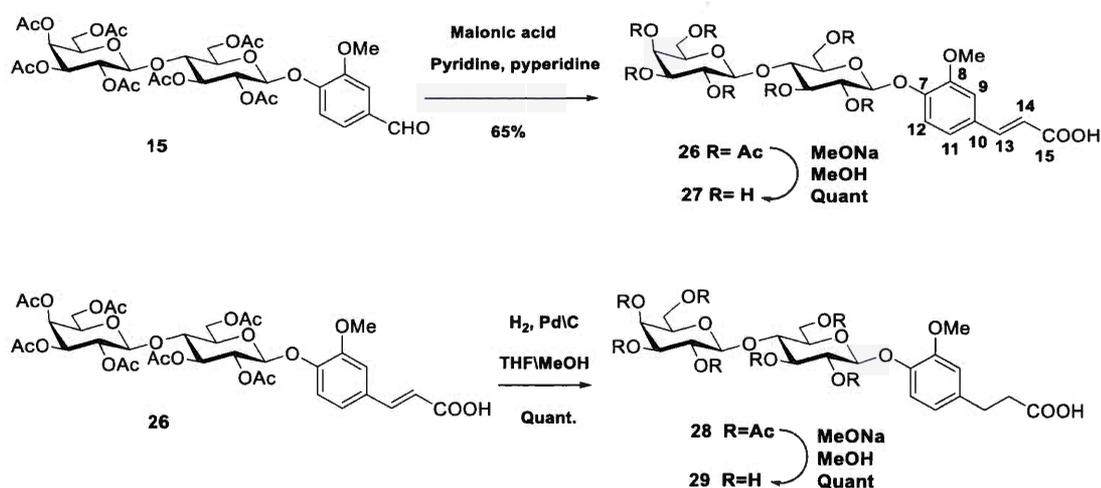


Schéma 2.6 Synthèse des *O*-aryles lactosides par la réaction de Doebner-Knoevenagel.

Par la réaction de Zemplén, nous avons déprotégé les fonctions acétyles en groupement hydroxyles afin d'obtenir les composés inconnus **27** et **29** avec sept fonctions alcools libres. Les RMN ¹H, ¹³C {¹H} et ESI-HRMS ont bel et bien confirmé l'identité de ces nouveaux produits. Le produit **29** est un précurseur pour la synthèse du dendrimère trivalent illustré dans le chapitre III.

2.2 Synthèse des *O*-aryle lactosides modifiés en *O*-3'

La fonctionnalisation sélective des groupes OH se base sur des séquences réactionnelles de type: «protection -réaction -déprotection ». En général, celle-ci dépend de critères thermodynamiques et cinétiques en jeu. Il est connu qu'un hydroxyle primaire est sélectivement plus réactif qu'un hydroxyle secondaire. L'activation sélective des groupes hydroxyles par l'étain est la méthode régiosélective des composés polyalcools la plus commune en chimie des sucres, des nucléosides et des produits naturels. Cette méthode permet d'effectuer de manière directe et efficace plusieurs réactions régiosélectives telles que l'alkylation, l'acylation, et autres.

La formation transitoire d'une espèce clé, éther ou un acétal d'étain entre deux alcools du substrat, résulte de la sélectivité lors de la réaction subséquente avec un électrophile choisi.

La plus importante des modifications de la position *O*-3' lactoside par introduction des groupements fonctionnels hydrophiles est l'incorporation d'un sulfate pour augmenter la solubilité dans l'eau. Comme nous l'avons déjà expliqué dans le chapitre précédent, l'utilité de la fonction sulfate a pour but d'augmenter les interactions sucre-galectines (1 et 3). De nombreuses recherches en la matière ont été publiées dans la littérature⁶². La forte charge négative confère des fonctions biologiques importantes sur les chaînes d'hydrates de carbone sulfatés. Ainsi, plusieurs études ont montré que des séquences sulfatées ont été impliquées dans la reconnaissance des micro-organismes^{63, 64} ou des molécules d'adhésion cellulaire^{65, 66}.

Dans notre travail, nous avons utilisé la méthode connue de sulfatation⁶⁷. Le composé sulfaté a été obtenu par l'activation sélective des groupements *cis*-3', 4' par la formation d'un complexe cyclique stannylène. Par conséquent, le produit obtenu a été traité avec de l'oxyde de dibutylétain dans le DMF/ toluène. Ensuite, il a été traité avec le complexe de triméthylaminetrioxyde de soufre pour donner le composé désiré; le lactoside sulfaté *O*-3'.

2.2.1 La sulfatation de la vanilline lactoside **16**

La première sulfatation a été effectuée sur la vanilline lactoside déprotégée **16**, par l'utilisation de l'oxyde de dibutylétain dans le DMF/ toluène sous reflux. L'acétal d'étain de plus basse énergie à cinq membres se forme majoritairement en *cis*, entre les oxygènes des positions *O*-3'et *O*-4' (Schéma 2.7). La sélectivité observée pour une fonction hydroxyle primaire en présence d'une fonction secondaire est due à la proximité de l'étain et de ses orbitales d qui mènerait par hyperconjugaison, à une densité électronique importante des orbitales non-liantes des oxygènes qui augmenterait la nucléophilie de l'oxygène impliqué. La réactivité accrue de la position équatoriale par rapport à la position axiale s'explique par la plus grande liberté stérique et l'effet de donation électronique qui cause le lien entre les atomes *C*-2'et *C*-3', situé de façon antipériplanaire dans la conformation préférée de l'acétal d'étain au doublet d'électrons libres de l'oxygène équatorial. Par déplacement nucléophile du triméthylamine trioxyde de soufre, la fonction triméthylamine trioxyde de soufre est incorporée sélectivement en position équatorial *O*-3'.^{68, 69}

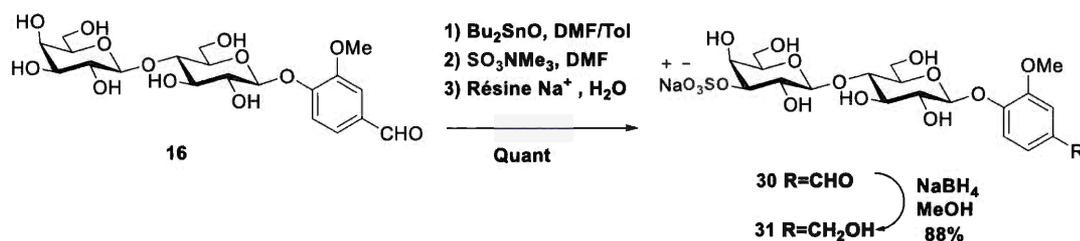


Schéma 2.7 Sulfatation de la vanilline lactoside **16**.

Par une colonne d'échange cationique avec une résine Na^+ et l'eau, les cations NMe_3^+ ont été changés par des cations Na^+ pour obtenir le produit sulfaté désiré **30** (Schéma 2.7). Il y a toujours la possibilité de la formation de produit sulfaté en $O-6'$. Dans un premier lieu, nous avons confirmé la formation du produit sulfaté en position $O-3'$ par analyse RMN ^1H COSY du produit **16** et **30** (Figures 2.4 et 2.5). Les protons H-3' et H-4' sont déplacés successivement de δ 3.56 à 4.24 et de δ 3.83 à 4.15 ppm. Ceci montre leur déblindage vers les champs faibles en raison de l'incorporation de la fonction sulfate. Par RMN-HSQC, nous avons pu corrélérer ces protons pour trouver leurs déplacement chimique de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ et confirmer le déblindage de C-3' de δ 73 à 79 ppm et le C-4' de δ 68 à 69 ppm, ce qui confirme la réussite de la réaction de sulfatation. L'analyse ESI-HRMS a bien confirmé la structure du composé **30**.

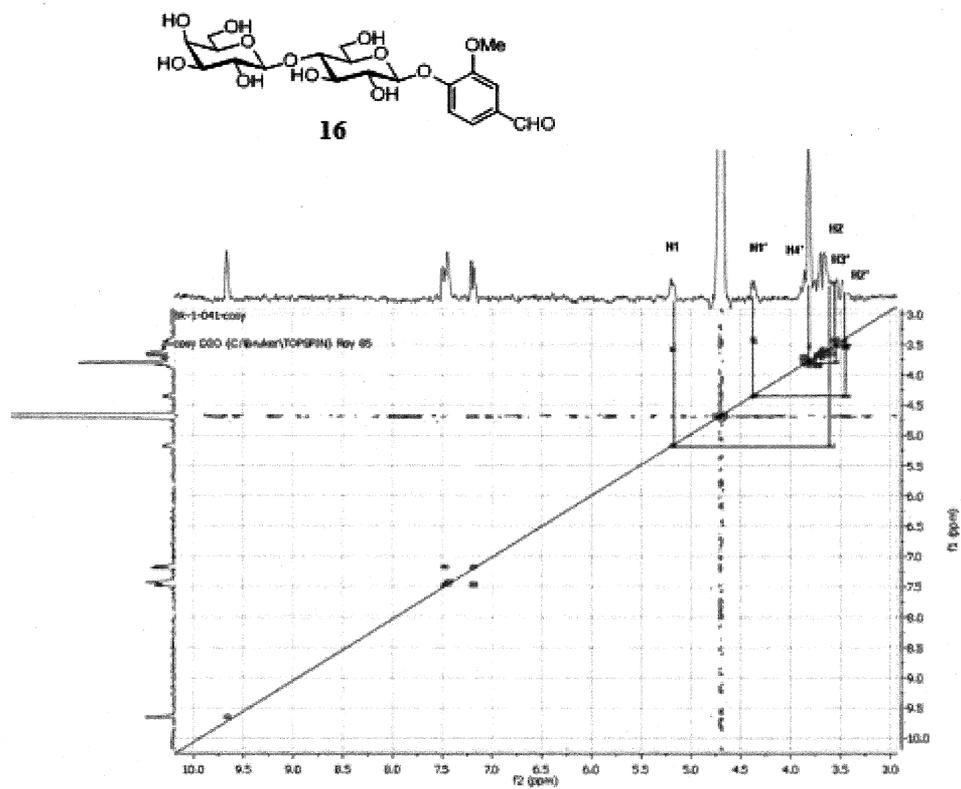


Figure 2.4 Spectre RMN ^1H COSY du composé **16**.

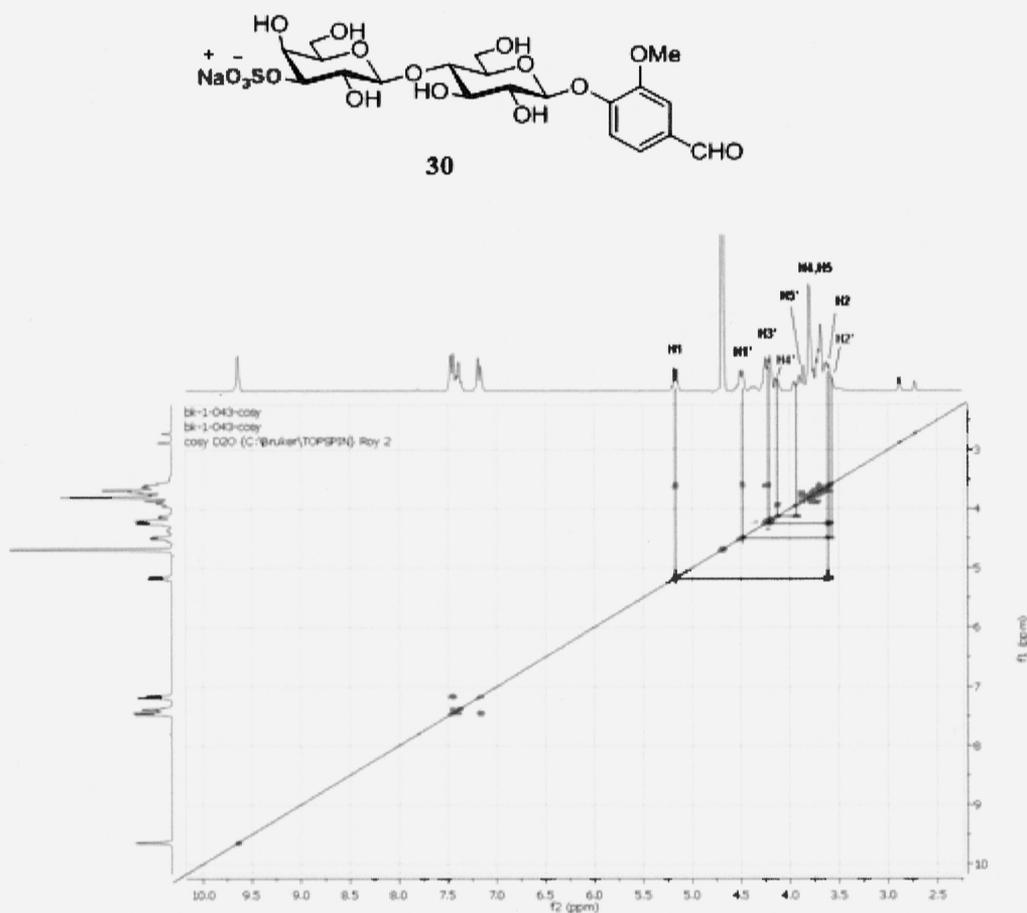


Figure 2.5 Spectre RMN ^1H COSY du composé **30**.

Après l'obtention du composé sulfaté **30**, une réduction de la fonction aldéhyde en fonction alcool en présence du NaBH_4 et du méthanol, le spectre RMN ^1H du composé **31** a montré l'apparition d'un signal correspondant à la fonction alcool à δ 4,61 ppm et la disparition du signal de la fonction aldéhyde à δ 9,67 ppm (Figure 2.6). Nous avons confirmé la structure du composé **31** obtenu par l'analyse ESI-HRMS.

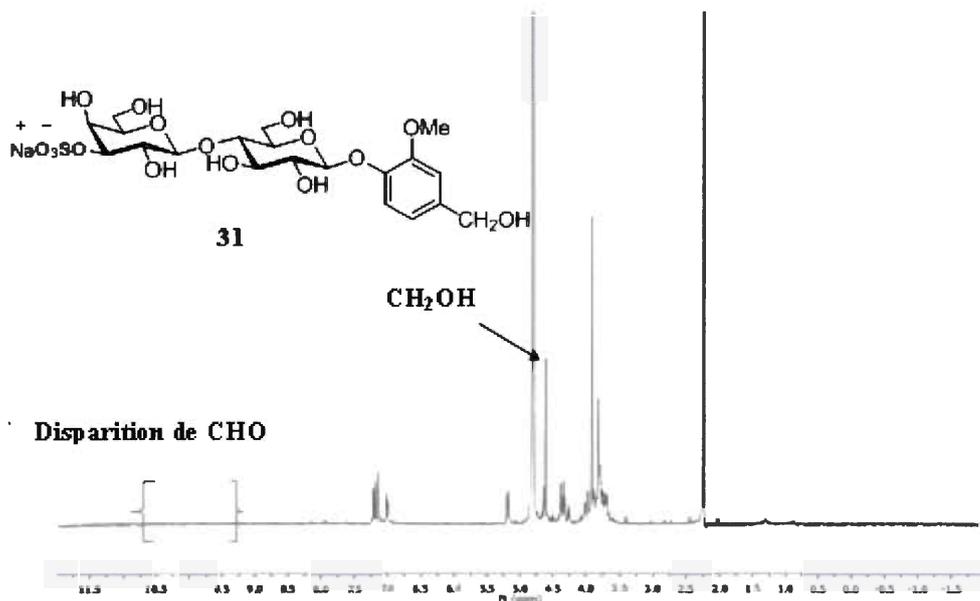


Figure 2.6 Spectre RMN ^1H du composé **31**.

2.2.2 La sulfatation du méthyle vanillate lactoside **18**

Par l'utilisation de la même méthode précédente, nous avons sulfaté le composé **18** afin d'obtenir le nouveau composé sulfaté **32** avec un excellent rendement (Schéma 2.8). Effectivement le RMN ^1H COSY du produit **18** et **32**, nous a montré que les protons H-3' et H-4' sont déplacés de δ 3.62 et 3.88 ppm successivement à δ 4.26 et 4.23 ppm, ce qui confirme leur déblindage vers les champs faibles en raison de l'incorporation de la fonction sulfate. Par l'analyse RMN-HSQC, nous avons corrélié ces protons pour trouver leurs déplacements chimiques de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ et confirmé le déblindage du carbone C-3' de δ 70,9 à 80.0 ppm et du C-4' de δ 68.5 à 69.1 ppm. L'analyse ESI-HRMS a bel et bien confirmé la structure du composé **32** et la réussite de la réaction de sulfatation. Parfois, l'analyse RMN ^{13}C Dept 135 (Figure 2.7) est nécessaire pour

s'assurer que la sulfatation est en position *O*-3' et montrer la présence des signaux négatifs des carbones C-6 et C-6' dans l'intervalle de δ 59-62 ppm.

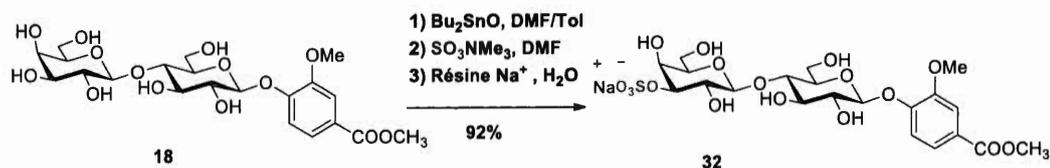


Schéma 2.8 Sulfatation du méthyle vanillate lactoside 18.

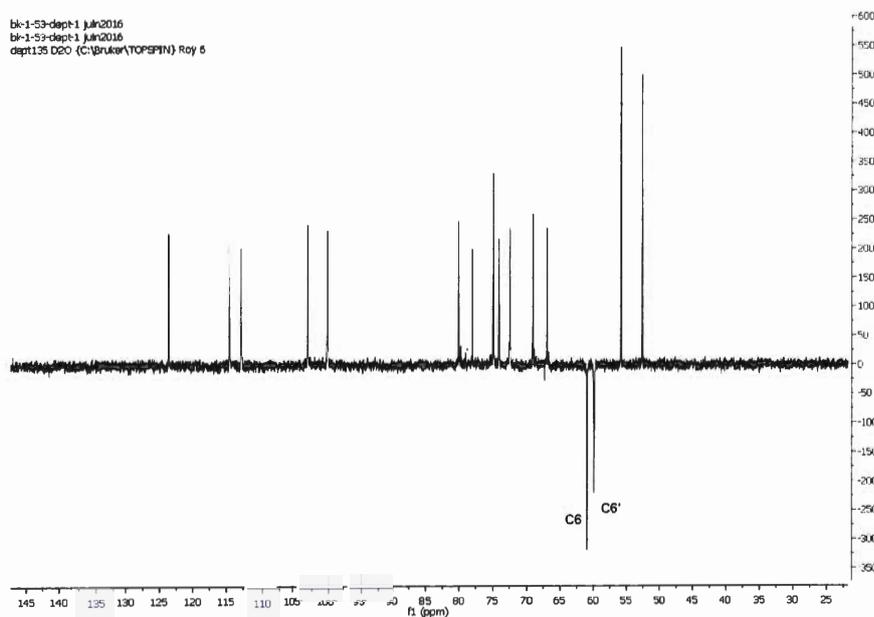


Figure 2.7 Spectre RMN ^{13}C Dept 135 du composé 32.

2.2.3 La sulfatation du *tert*-butyl vanillate lactoside 20

Une troisième sulfatation a été effectuée sur le dérivé vanillique, le *tert*-butyl vanillate lactoside 20 qui a subi les trois étapes de sulfatation décrites auparavant pour obtenir un nouveau ligand sulfaté 33 (Schéma 2.9). Le temps de la réaction était un peu plus

long. Toutes les analyses nécessaires ont été effectuées pour confirmer la formation du produit recherché : RMN¹H, ¹³C {¹H}, COSY, HSQC, HRMS et ¹³C Dept 135.

L'analyse RMN COSY des composés **20** et **33**, nous a confirmé le déplacement chimique du proton H-3' de δ 3.87 à 4.29 ppm. Par le biais de l'analyse RMN-HSQC, la corrélation a montré le déplacement du carbone C-3' de δ 68.8 à 82.5 ppm. Le ¹³C Dept 135 a bien confirmé la présence des signaux négatifs correspondant aux carbones C-6 et C-6' dans leur intervalle de δ 59-62 ppm (Figure 2.8).

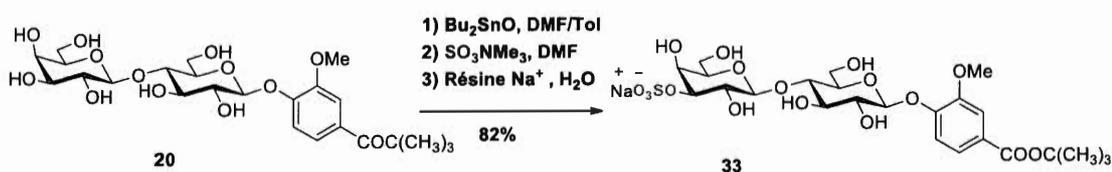


Schéma 2.9 La sulfatation du *tert*-butylvanillate lactoside **20**.

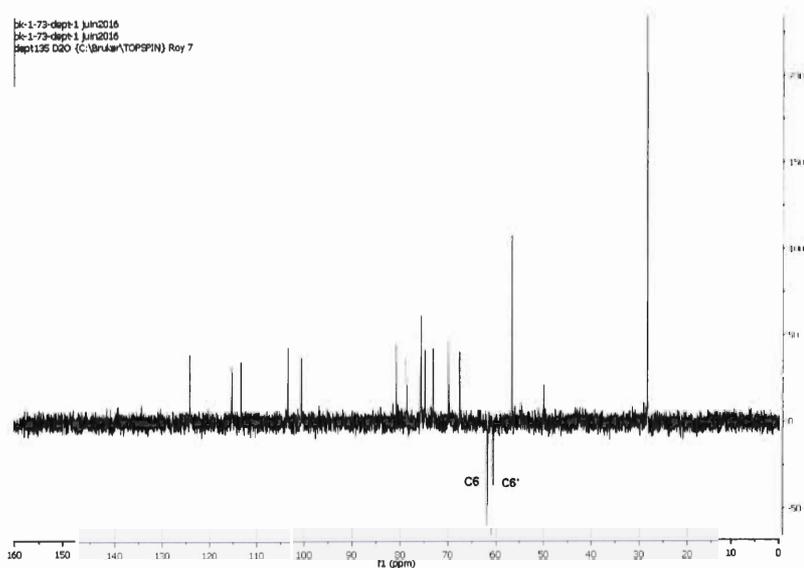


Figure 2.8 Spectre RMN ¹³C Dept 135 du composé **33**.

2.2.4 Les résultats d'inhibition des galectines-1 et -3.

La capacité de liaison de chacun des analogues *O*-lactosides testés a été évaluée par résonance plasmonique de surface (SPR) sur un appareil robot-informatisé BiacoreT200. Les mesures de constante d'affinité du domaine adhésine (CRD) ont été faites par inhibition compétitive entre les galectines 1 et 3 immobilisées en surface d'une puce biosenseur CM5. Chaque analogue lactosidique en solution a été injecté par un système microfluidique dans un flux continu de tampon à la surface de la sensorchip. Le suivi de la variation du signal SPR en fonction du temps (sensorgramme) pour plusieurs concentrations de chaque analogue lactosidique, permet de déterminer les constantes cinétiques d'association et de dissociation, et d'en déduire la valeur de la constante d'affinité.

Les premiers résultats biologiques d'inhibition de la galectine-1 et -3 avec le dérivé vanilline lactoside **18** et son analogue sulfaté **32** sont très encourageants. Nous avons remarqué que le ligand sulfaté est trois fois actif que le ligand non sulfaté pour inhiber les deux galectines, mais, spécifiquement, les deux ligands sont deux fois sélectifs pour inhiber la galectine-1 que la galectine-3 (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 L'inhibition des galectines 1 et 3 par les composés **18** et **32**.

N° de Composé	IC₅₀ μM (50% inhibition de galectine-1)	IC₅₀ μM (50% inhibition de galectine-3)	Kd (μM) avec galectine-1 immobilisé
18	287	464	34.1
32	84	145	N.D.

CHAPITRE III

SYNTHÈSE DES LIGANDS MULTIVALENTS

Le but intrinsèque est la synthèse d'analogues de glycomimétiques pour obtenir une meilleure constante d'affinité avec les lectines et obtenir une sélectivité pour l'inhibition d'une galectine spécifique. Comme nous l'avons déjà expliqué dans le Chapitre I, l'importance de la multivalence pour inhiber une lectine est plus élevée par rapport à son inhibition par des ligands monovalents. Une variété de composés chimiques a été intégrée dans les structures des glycodendrimères synthétisés. Nous avons commencé par la synthèse de clusters dérivés de l'acide trimésique. Deux clusters ont été synthétisés : l'acylhydrazide et l'hydrazone. Par la chimie click, nous avons intégré des aglycones pour avoir des variétés dans nos dendrimères. Ces deux clusters trimésiques ont été utilisés pour la synthèse de glycodendrimères oxadiazole. Par la chimie de thiol-yne, nous avons synthétisé un autre glycodendrimère avec le cluster acylhydrazide pour intégrer des fonctions thioethers.

3.1 La chimie Click

La synthèse d'hétérocycles triazoles entre un azoture et un alcyne par la réaction de la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen⁷⁰ nécessite des temps de réaction prolongés et conduit généralement à des mélanges de régioisomères. En 2002, la découverte du

catalyseur de cuivre par les groupes de Sharpless⁷¹ et de Meldal⁷² a permis de résoudre ce problème de la régiochimie et de la cinétique, en permettant la synthèse rapide et efficace de cycles 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués de manière régiospécifique. Sharpless *et al.* ont redéfini le concept de « click chemistry » par une réaction versatile avec de bons rendements, entièrement sélective et hautement favorisée d'un point de vue énergétique.⁷³

L'équipe de Sharpless a publié en 2005⁷⁴ un article expliquant le mécanisme réactionnel (Figure 3.1) de la réaction par la catalyse de cuivre. Plusieurs étapes ont été effectuées à cette fin: la formation d'un acétylénure de cuivre (étape A), l'azoture serait activé par sa coordination avec l'acétylénure de cuivre (étape B), permettant une cyclisation subséquente pour former un métallocycle inhabituel à six membres (étape C), Un réarrangement 1,2 (étape D) et une protéolyse (étape E) mène alors au produit final désiré.

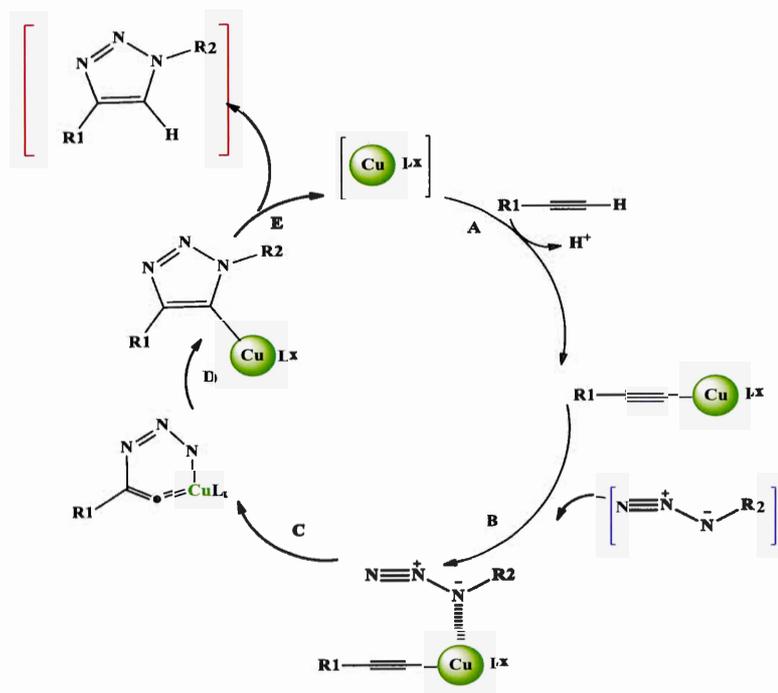


Figure 3.1 Mécanisme réactionnel proposé par Sharpless pour la réaction de cycloaddition catalysée par le cuivre (CuAAC).

3.2 Synthèse des glycodendrimères

3.2.1 Synthèse des produits de départ

Nous avons commencé notre travail par la synthèse du cœur de dendrimères. Le trihydrazide constitue la molécule adéquate de nos structures. Le composé **36** a été synthétisé à partir de l'acide trimésique **34** en deux étapes (Schéma 3.1). La première étape est l'estérification de l'acide suivie par la formation des hydrazides par l'intermédiaire de l'hydrazine monohydrate 64% en excès, les rendements des deux réactions sont excellents. Les produits connus **35** et **36** ont été identifiés par la RMN 1H et ^{13}C $\{^1H\}$, le groupement MeO était observé avec un signal à δ 52.5 ppm pour le composé **35**, puis il est disparu pour confirmer la formation du produit obtenu **36**.

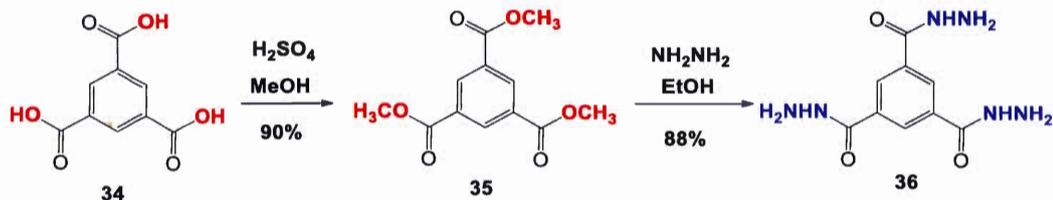


Schéma 3.1 Synthèse du composé trihydrazide **36**.

Des dérivés de l'acide gallique ont été également synthétisés (Schéma 3.2) dans le but de construire des liens acylhydrazides et autres hydrazones avec le trihydrazide **36** synthétisé ci-dessus pour la conception de nouveaux squelettes des dendrimères. Le premier dérivé **39** de l'acide gallique 3, 4, 5-tripropargylé est obtenu par la propargylation de l'acide gallique **37**, suivie par l'hydrolyse de la fonction ester propargylé en position 1 pour l'obtention du composé **39** avec une fonction acide prête à être utilisée pour la formation des liens acylhydrazides avec les fonctions amide du composé **36**.

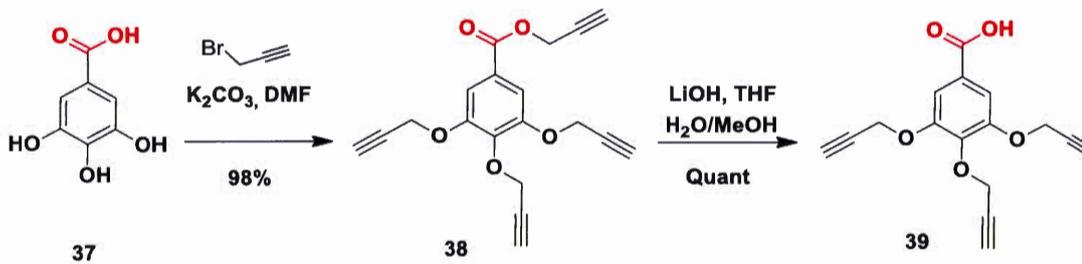


Schéma 3.2 Synthèse de l'acide gallique tripropargylé **39**.

Le deuxième dérivé de l'acide gallique **41** (Schéma 3.3) a été obtenu par la réduction de la fonction ester propargylé du composé **38** à une fonction alcool primaire pour donner le composé connu **40**. Une réaction d'oxydation par la PCC conduit à la

formation du composé **41** avec une fonction aldéhyde prête pour la formation des liens hydrazones pour d'autres prochaines réactions.

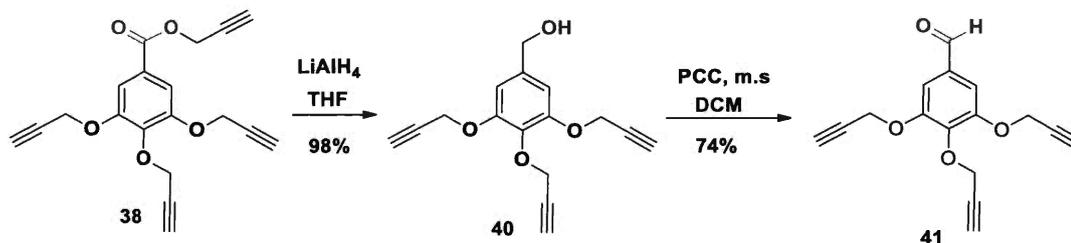


Schéma 3.3 Synthèse de l'aldéhyde gallique tripropargylé **41**.

Dans toute cette série de dérivés de l'acide galliques, les spectres RMN ¹H et ¹³C {¹H} confirment les structures des composés obtenus. Le ¹³C {¹H} a bien montré l'existence de la fonction ester propargyle du composé **38** avec un signal à δ 164.9 ppm, la fonction acide du composé **39** à δ 171.9 ppm, la fonction alcool du composé **40** à δ 68.1 ppm et la fonction aldéhyde du composé **41** à δ 190.6 ppm. Nous avons constaté par le biais des analyses ¹³C {¹H}, la symétrie entre les deux fonctions propargyles en position 3 et 5 et l'asymétrie de la troisième fonction en position 4.

D'autres aglycones ont été synthétisés à partir de lactose octaacétate **13** (Schéma 3.4) pour servir comme produits participant dans des synthèses dendritiques. Le lactose octaacétate **13** a été traité dans le dichlorométhane avec le 2-bromoéthanol en présence de l'éthérate de trifluorure de bore pour mener au composé **42** connu avec un rendement de 50 %. L'acide de Lewis dans cette réaction de glycosidation a pour but d'activer la fonction acétate de la position anomérique afin de faciliter son expulsion dans le milieu réactionnel et de conduire à la formation d'un cation glycosyle. La présence de la fonction acétate sur le carbone adjacent en position équatoriale comme un groupement participant permet de stabiliser la charge positive grâce à la création intramoléculaire d'un acétoxonium sous forme d'un cycle à cinq membres. La face α est bloquée par l'effet anchimérique critique qui contrôle la stéréosélectivité pour rendre la face β plus accessible de l'attaque nucléophile du carbone anomérique de l'acétoxonium pour former le composé **42**.

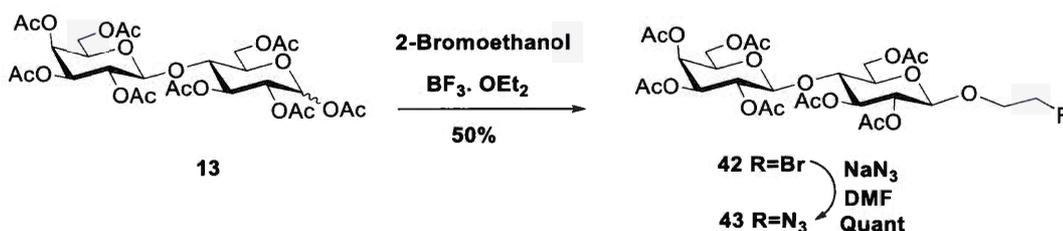


Schéma 3.4 Synthèse du composé 2-azidoéthyl lactoside **43**.

Le 2-azidoéthyl lactoside **43** a été synthétisé, par la suite, à partir du 2-bromoéthyl lactoside **42** en présence de l'azoture de sodium. L'utilisation d'un DMF sec est essentielle dans cette réaction pour mener à un rendement quantitatif (Schéma 3.4). Le 2-azidoéthyl lactoside est utilisé pour les réactions de la chimie click.

La structure du composé connu **43** a été confirmée par ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, et ce par la disparition du CH_2Br à δ 29.8 ppm et l'apparition du signal de CH_2N_3 à δ 50.5 ppm.

Le thioléthane lactoside **45** (Schéma 3.5) a été synthétisé en deux étapes à partir du 2-bromoéthyl lactoside **42** en présence du potassium xanthate. Par une attaque nucléophile, le brome a été remplacé par un ester xanthate pour former le nouveau produit **44**. L'aminolyse a clivé l'ester de xanthate pour former l'éthanethiol lactoside connu **45** qui a été ensuite utilisé pour la chimie de thiol-yne.

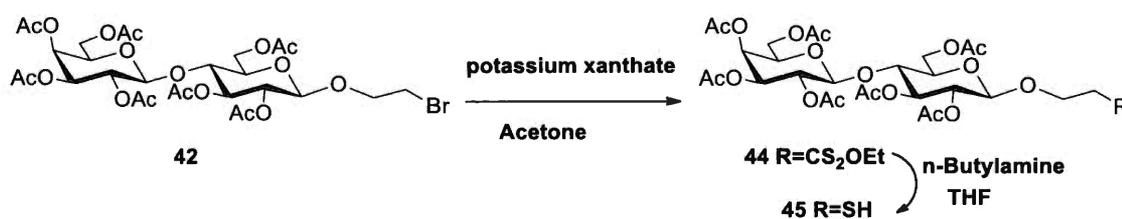


Schéma 3.5 Synthèse du composé éthanethiol lactoside **45**.

Les RMN ¹H et ¹³C {¹H} ont bien confirmé les structures des produits obtenus, les pics du ¹³C de la fonction xanthate étaient présents à δ 13.7, 35.2, 66.6, 67.7 et 214.2 ppm, ce qui montre la formation du composé inconnu **44**. Son analyse ESI-HRMS a donné une masse de 823.14 [M + K]⁺.

L'analyse ¹³C {¹H} du composé connu **45** a confirmé la disparition des carbones de la fonction xanthate et l'apparition d'un nouveau signal CH₂SH à δ 24.2 ppm.

3.2.2 Synthèse d'un dendrimère avec un cœur trihydrazone

Pour la synthèse de ce glycodendrimère, nous avons débuté notre travail par la synthèse d'un nouveau cluster à partir de l'aldéhyde gallique tripropargylé **41** et le 2-azidoéthyl lactoside **43** (Schéma 3.6). Par l'utilisation de la réaction de cycloaddition de « chimie Click », le cycle 1, 2, 3-triazole est formé entre les fonctions alcyne et azoture en présence de l'ascorbate de sodium et d'un sel de cuivre(II) (CuSO₄), dans un

milieu composé d'un mélange 3: 1 THF et de l'eau. Cette procédure, dans laquelle l'ascorbate permet une réduction in situ du cuivre(II) en cuivre(I), a été privilégiée à la méthode du «cuivre organique» en raison de la simplicité accrue de son mode expérimental ayant permis l'obtention du triazole **46**. La réaction a été suivie par l'utilisation de plaques CCM sur lesquelles une tache de forte polarité est apparue. La purification du produit est réalisée par un lavage à l'aide de la solution de l'EDTA pour la complexation de cuivre, suivie par d'autres lavages avec une solution de bicarbonate de sodium saturée et de l'eau, puis d'une chromatographie sur colonne.

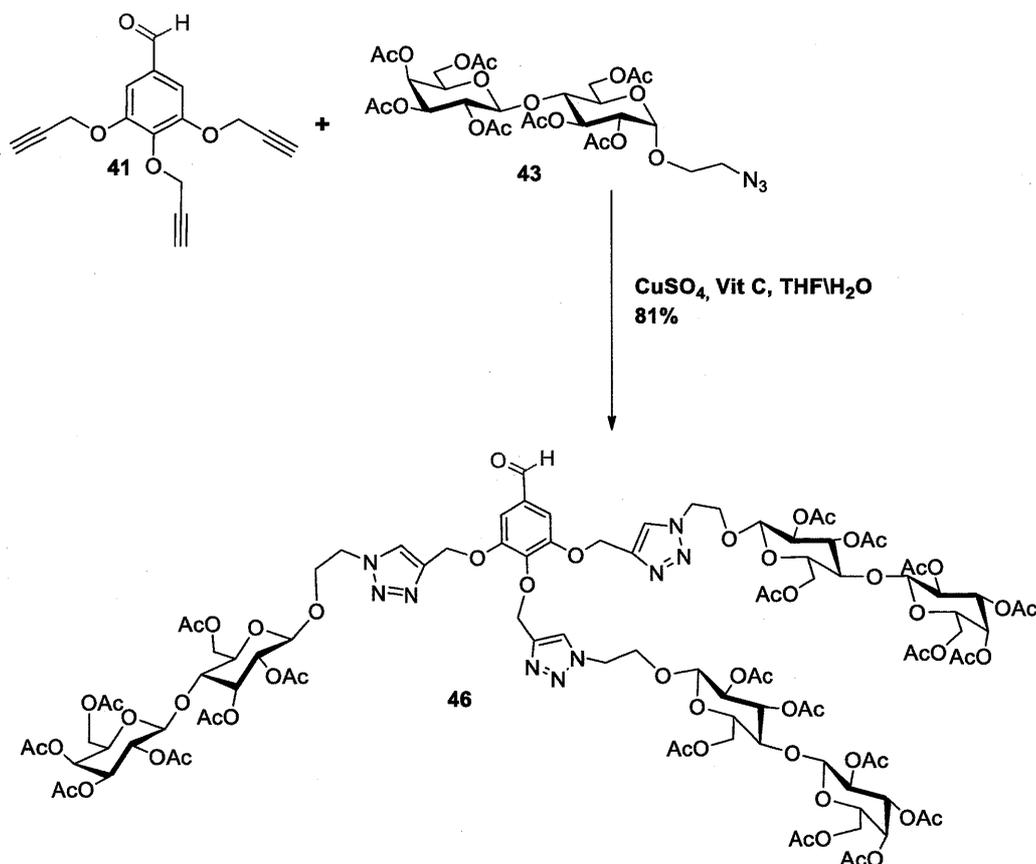


Schéma 3.6 Synthèse d'un « cluster » trivalent **46** par la chimie click.

Le nouveau composé obtenu **46** a été caractérisé par analyse $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$ qui a montré l'existence des protons triazoles à δ 7.86 ppm. L'RMN ^{13}C (Figure 3.2) a confirmé la présence du cycle triazole par ses deux carbones à δ 124.8 et 142.9 ppm. Nous avons bien remarqué l'asymétrie d'une branche par rapport aux deux autres branches qui sont en symétrie. Pour les carbones C-1 et C-1', nous avons trouvé trois signales au lieu de deux. Ceci nous a poussé à faire d'autres analyses COSY et HSQC pour vérifier leurs corrélations. Après l'analyse des spectres, nous avons conclu que les C-1 se présentent par deux signales de carbones, le premier à δ 100.2 ppm qui représente C-1 glucose en asymétrie, et le second à δ 100.4 ppm qui représente les deux autres C-1 glucose qui ont en symétrie. À travers une analyse visuelle, nous observons parfaitement le deuxième signal qui est deux fois plus intense que le premier. L'analyse de masse a bien confirmé la bonne structure du produit recherché **46**.

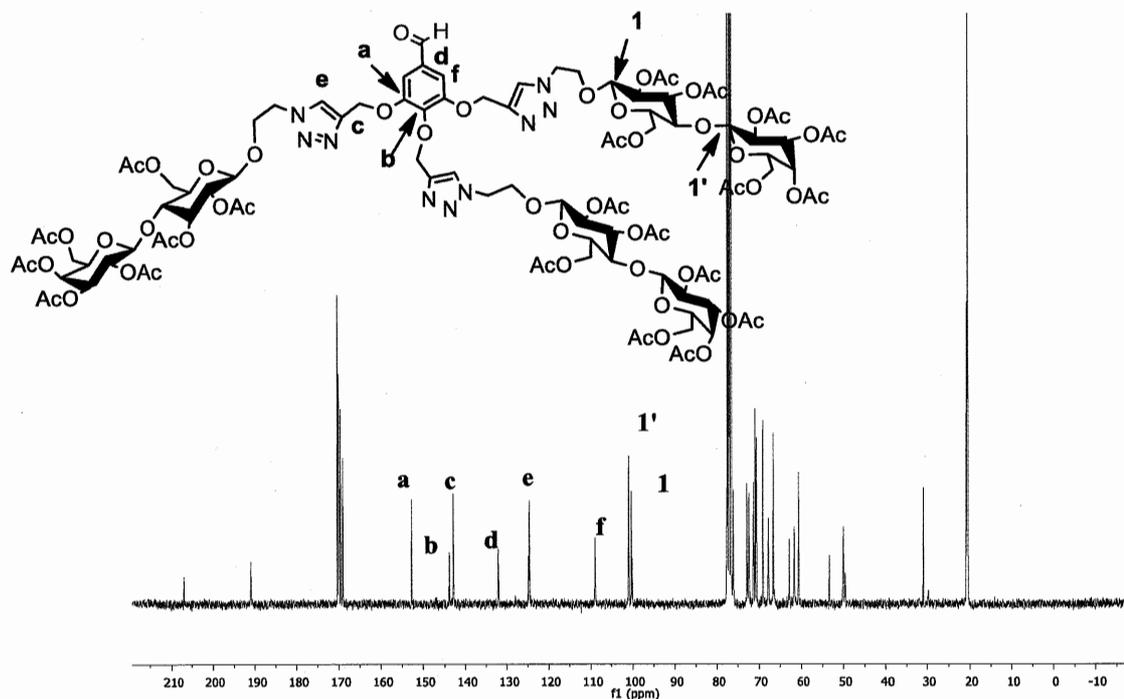


Figure 3.2 Spectre RMN ^{13}C du cluster trivalent **46**.

À partir de ce cluster, un glycodendrimère **47** a été synthétisé par des réactions de condensation de sa fonction aldéhyde sur les fonctions hydrazides du composé **36** (Schéma 3.7). Le glycodendrimère obtenu contient un cœur avec trois fonctions hydrazones et neuf cycles de 1, 2, 3-triazoles lactosides 1, 4-substitué. La réaction a été réalisée dans un tube scellé et en présence d'éthanol chauffé à 95°C. La purification du produit est réalisée par chromatographie sur colonne. Le rendement de la réaction est de 77% comme un meilleur rendement obtenu après trois essais.

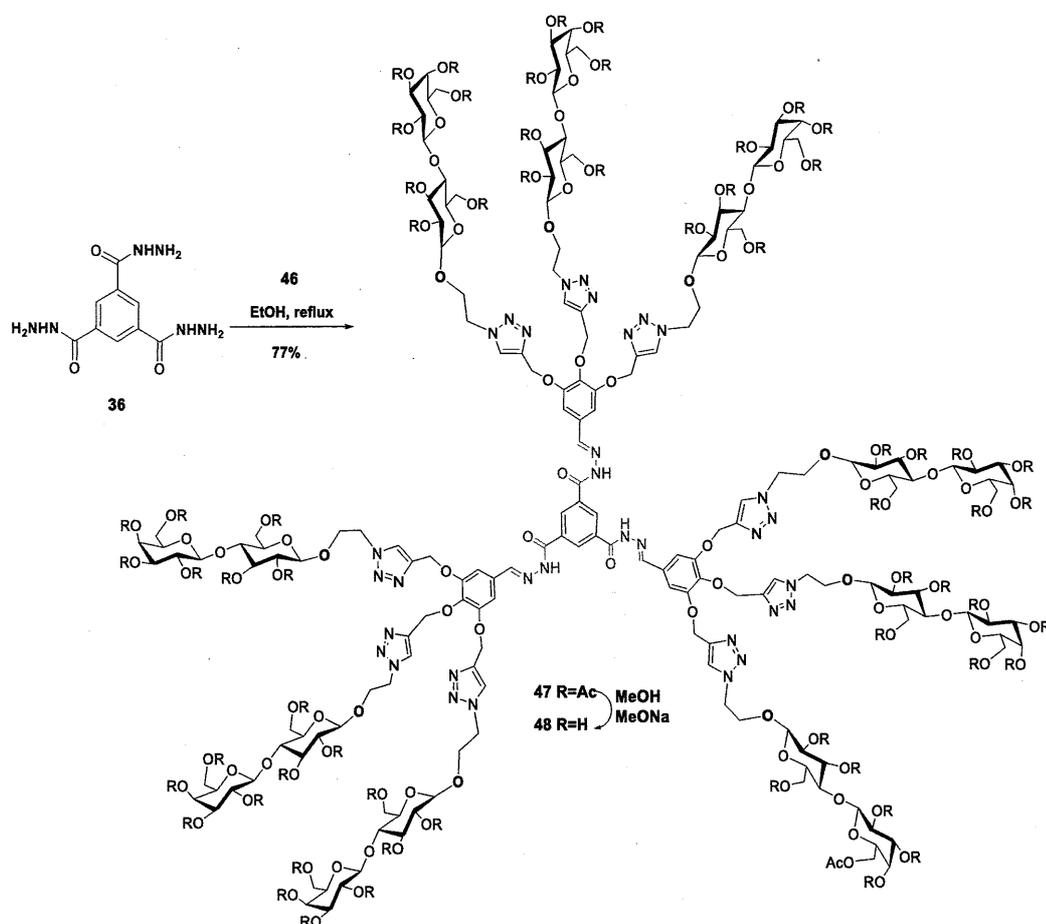


Schéma 3.7 Synthèse de glycodendrimère **48**.

Avec l'analyse de la RMN ^1H , nous avons pu remarquer la présence de nouveaux signaux qui confirment la formation du glycodendrimère **47**. Sauf pour les H-triazoles, l'intégration a donné une valeur de 7 protons au lieu de 9 protons. Nous avons essayé d'utiliser un appareil Bruker de fréquence plus élevée de 600 MHz, mais le résultat d'intégration n'a pas été changé. Ceci nous a conduit à penser que les protons aromatiques ont causé ce phénomène. L'analyse ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a montré l'existence des signaux correspondant au triazole. Cependant, quelques carbones quaternaires n'ont pu être observés.

La masse molaire du composé **47** est très grande, ce qui nous a orienté à mieux caractériser le produit déprotégé **48** (Schéma 3.7) pour confirmer la réussite de la réaction. Cette étape était très efficace étant donné que l'analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C montre la présence des protons et des carbones propres au squelette carbohydate, au cycle aromatique, aux fonctions acétates, aux fonctions hydrazones et à l'hétérocycle triazole. ESI-HRMS a donné 1177.16 $[\text{M} + 4\text{H}]^{+4}$ confirmant la bonne structure du produit **48**.

3.2.3 Synthèse d'un dendrimère avec un cœur triacylhydrazide

Pour cette synthèse, le cluster **49** inconnu a été identifié par RMN ^1H et ^{13}C $\{^1\text{H}\}$. La réaction de la chimie click entre la fonction alcyne de l'acide gallique tripropargylé **39** et la fonction azoture du composé 2-azidoéthyl lactoside **43** a été réalisée dans les mêmes conditions de la réaction Click décrite auparavant. La purification a été réalisée par des lavages successifs à l'aide de la solution d'EDTA pour complexation du cuivre, puis par de bicarbonate de sodium saturée et d'eau. Le produit obtenu **49** a été purifié par une chromatographie sur colonne avec un bon rendement. La fonction acide a été transformée en fonction chlorure par l'intermédiaire du chlorure d'oxalyle pour donner le cluster trivalent **50** (Schéma 3.8). Ce cluster étant un produit instable, nous avons préféré de le traiter directement pour la synthèse du glycodendrimère **51** (Schéma 3.9).

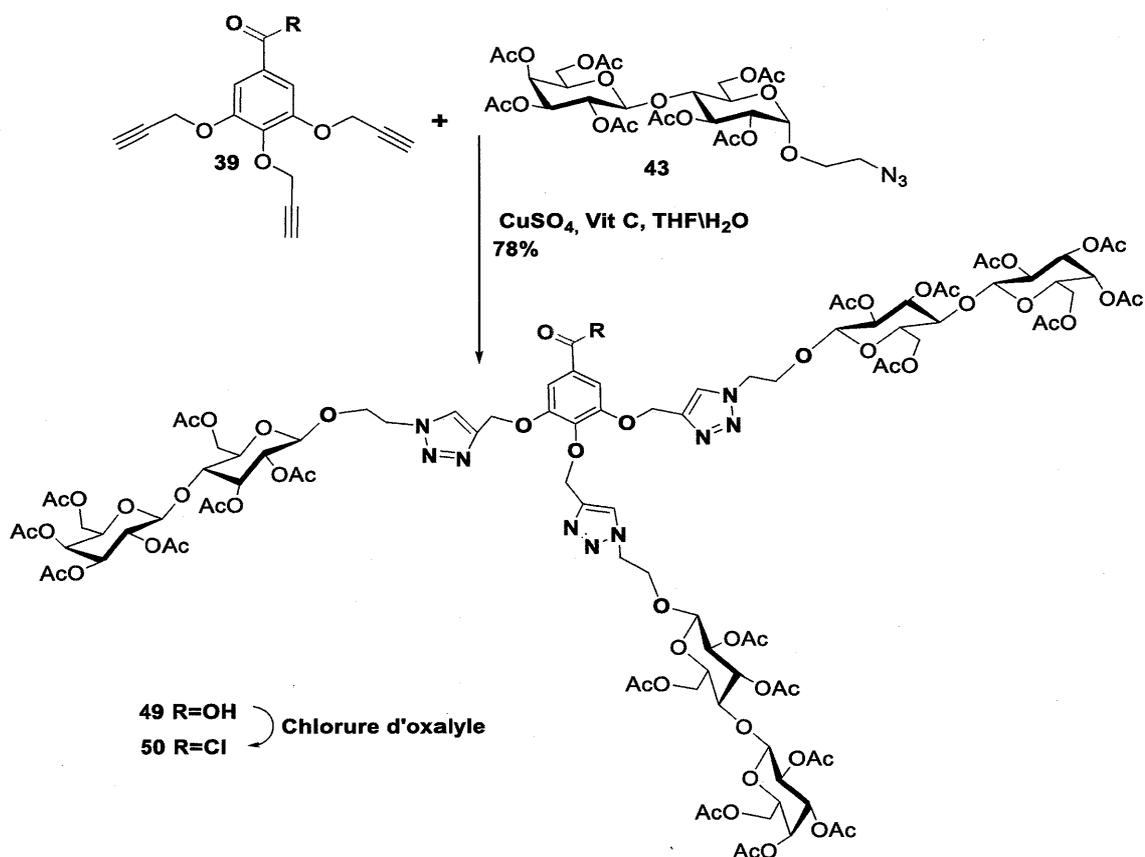


Schéma 3.8 Synthèse d'un « cluster » trivalent **50** par la chimie Click.

L'analyse RMN ^1H a confirmé l'existence des protons triazoles à δ 7.87 ppm, ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a donné un signal correspondant au COCl à δ 166.3 ppm et son carbone adjacent quaternaire à δ 125.7 ppm. Bien évidemment, tous les autres carbones ont été identifiés et ont confirmé la bonne structure du composé **50**.

Par réaction de condensation des fonctions chlorure du cluster **50** avec les fonctions de l'hydrazide du composé **36**, on a obtenu un nouveau glycodendrimère **51** avec trois fonctions acylhydrazides et neuf cycles de 1, 2, 3-triazoles lactosides (Schéma 3.9). La réaction a été réalisée dans la NMP comme solvant réactionnel sous agitation à

température de la pièce. La purification du produit est réalisée par l'ajout de petits morceaux de glace pour éliminer l'NMP, suivie par filtration. Le rendement de la réaction est de 90% comme un meilleur rendement obtenu.

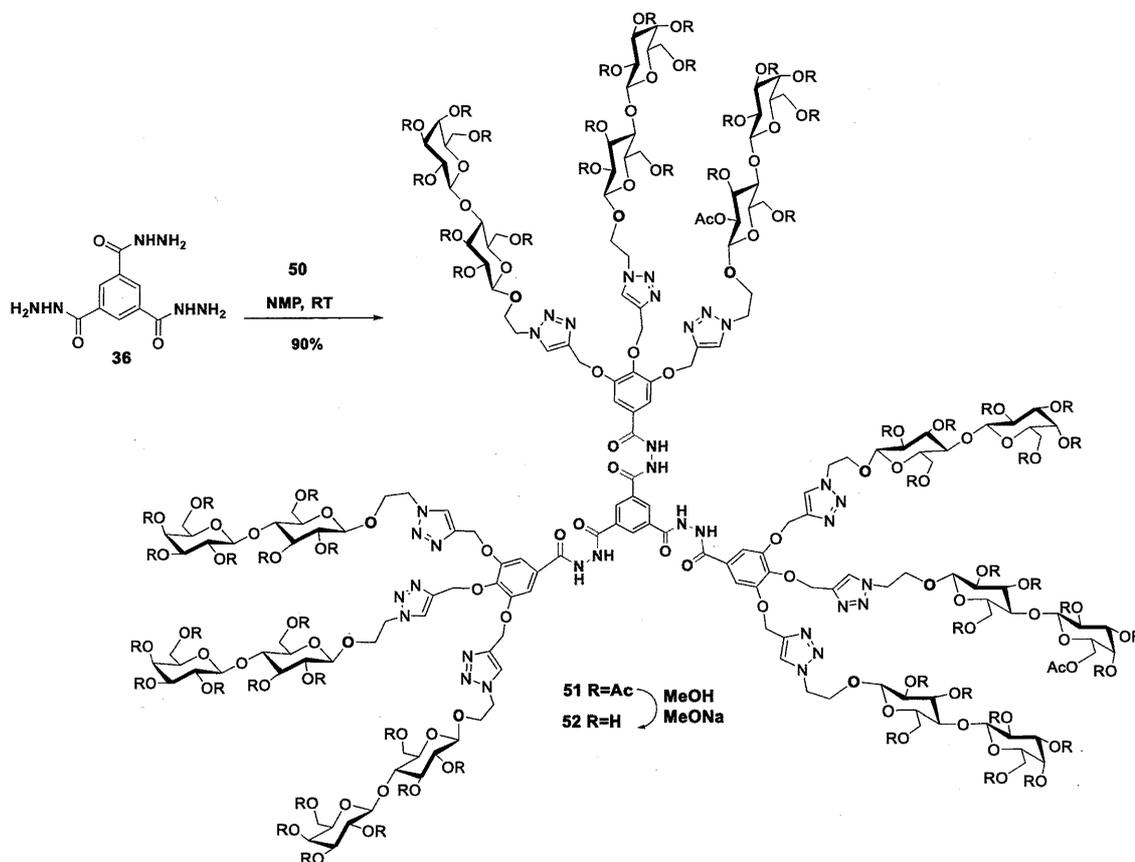


Schéma 3.9 Synthèse du glycodendrimère **52**.

L'analyse du spectre RMN ^1H a bien confirmé la présence de nouveaux signaux qui montrent la formation du glycodendrimère **51**. Par ailleurs, les fonctions amines n'ont pas été observées. L'analyse IR a montré l'existence du signal NH, un peu faible. Pour ces raisons, nous avons effectué deux analyses de masse sur le produit déprotégé **52** (ESI-HRMS et MALDI-TOF) qui ont donné le même résultat, soit la masse d'un fragment de $M=1532.5258$ (m/z) (Figure 3.3) qui montre la formation du composé **52**.

Au début, nous avons pensé que la condensation n'était pas complète sur les trois fonctions hydrazides, mais la RMN ^1H a bien montré la disparition de tous les signaux de l'hydrazide dans le spectre du produit **51** et **52**.

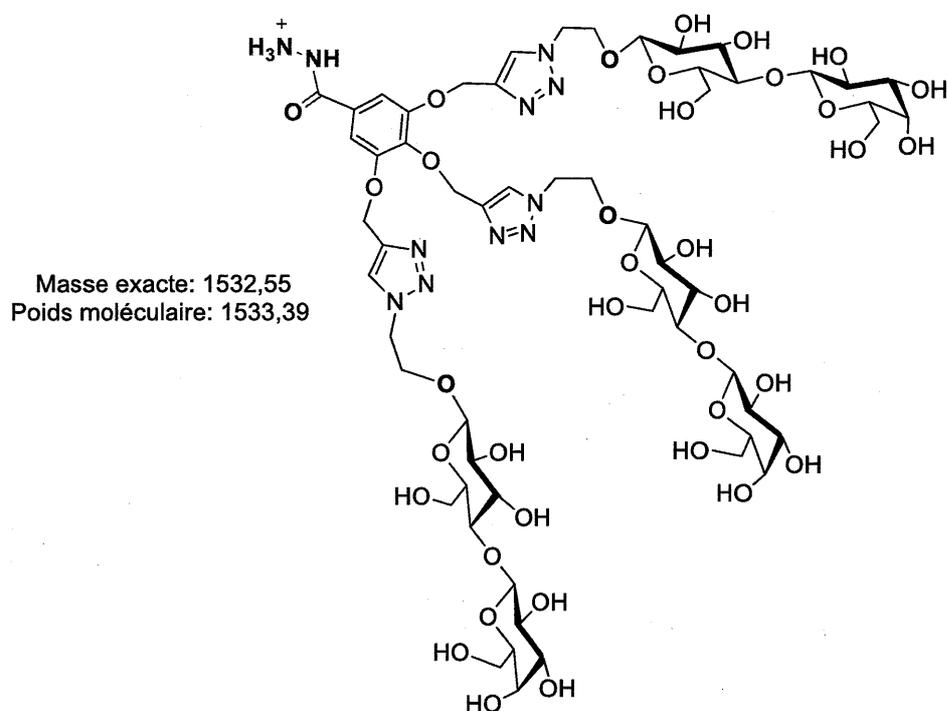


Figure 3.3 Fragment de l'analyse de masse du composé **52**.

3.2.4 Synthèse d'un dendrimère vanillique avec un cœur triacylhydrazide

Ayant réussi à synthétiser des glycodendrimères avec les cœurs triacylhydrazides et trihydrazones précédents, nous avons poursuivi la synthèse d'un troisième composé avec un cœur triacylhydrazide mais cette fois-ci par l'intermédiaire de l'acide vanillique **28** et l'hydrazide **36** (Schéma 3.10). L'utilisation de la même méthode de synthèse du glycodendrimère précédent **51** n'a pas fonctionné. En effet, nous avons obtenu le même produit de départ non réagit.

Un changement des conditions opératoires était important pour la réussite de cette réaction. L'utilisation de catalyse carbodiimide avec DCC et DMAP n'a pas également pas fonctionné. L'analyse RMN ^1H a montré que le produit obtenu n'est qu'un produit secondaire issu de la réaction entre le DCC et le produit de départ **28**.

Un troisième essai avec le catalyseur HOBt et l'EDC a réussi à nous donner le résultat attendu par la formation du glycodendrimère **53** (Schéma 3.10) dans l'NMP comme solvant réactionnel. Le rendement moyen de la réaction est de 45%. C'était le meilleur rendement obtenu par rapport à une réaction faite dans le DMF.

L'analyse RMN ^1H a bien justifié la présence des fonctions NH du lien acylhydrazide à 9.14 et 10.05 ppm. Les trois protons aromatiques du cœur ont été observés à 8.19 ppm et neuf protons aromatiques de la vanilline ont été confirmés par la présence des signaux aux 6.67, 6.75 et 6.93 ppm. Le ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a signalé un déblindage du carbone CH_2 de 36.0 ppm à 30.9 ppm. La structure a été également bien confirmée avec une analyse ESI-HRMS qui a donné une masse de 2642.83 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

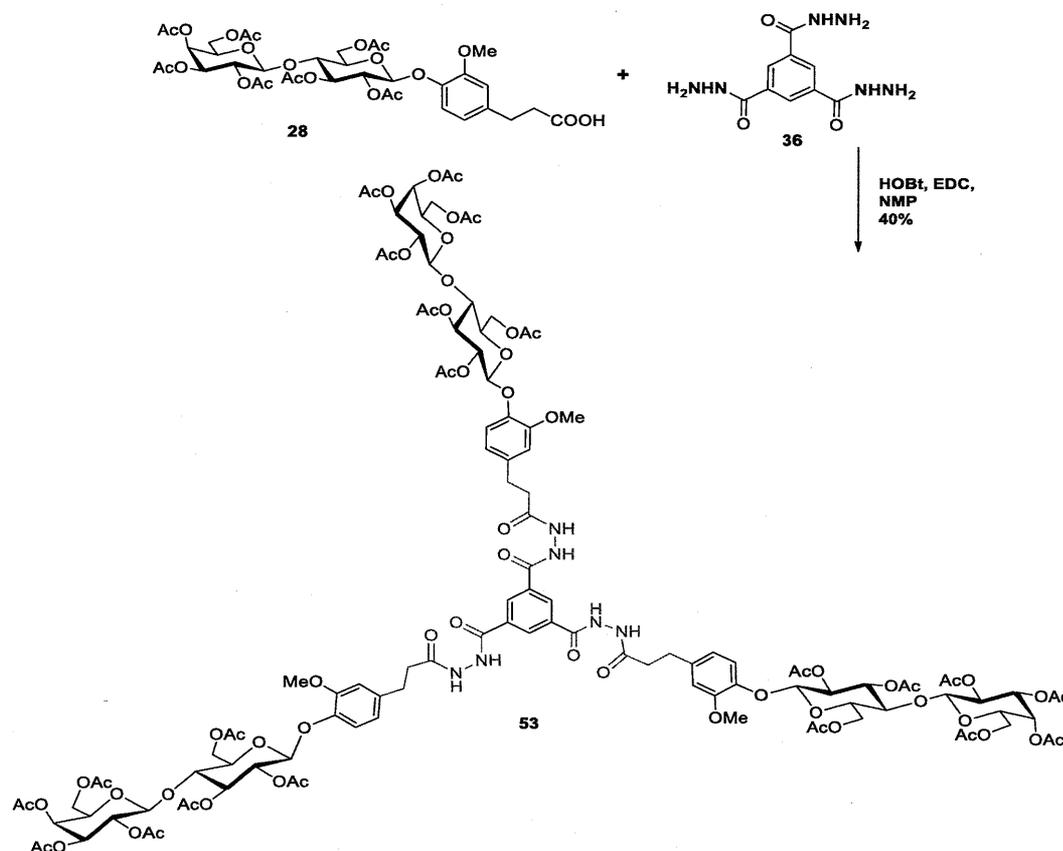


Schéma 3.10 Synthèse d'un cluster vanillique trivalent **53** avec un cœur triacylhydrazide.

3.3 Synthèse de glycodendrimère avec le 1, 3, 4-oxadiazole à partir de l'acylhydrazide **47**

L'intégration d'un autre hétérocycle azoté dans notre structure dendritique constitue un second objectif de notre projet. Comme nous l'avons déjà mentionné dans le premier chapitre, les oxadiazoles sont des molécules fluorescentes qui possèdent diverses activités chimiques et biologiques.

Une nouvelle découverte a été publiée en 2014 dans la revue *J. Am. Chem. Soc.*, sous le titre "Discovery of a New Class of Non- β -lactam Inhibitors of Penicillin-Binding

Proteins with Gram-Positive Antibacterial Activity". Cette découverte⁷⁵ pourra permettre de lutter contre des bactéries résistantes à d'autres classes d'antibiotiques, et plus particulièrement, contre le staphylocoque doré résistant à la méthicilline. Les oxadiazoles ont notamment pour effet d'inhiber la synthèse de la paroi cellulaire qui permet aux bactéries de résister aux antibiotiques.

Nous avons pensé d'inclure des oxadiazoles dans la structure dendritique pour la première fois pour tester si cela entraîne une augmentation des sites d'interaction et donne une bonne inhibition des galectines.

Le glycodendrimère **54** a été synthétisé à partir du glycodendrimère **47** par agitation à température de la pièce en présence de l'agent de cyclisation le Bis (trifluoracétoxy) iodobenzène PIFA⁷⁶ (Schéma 3.11). La fermeture de l'anneau oxadiazole par l'intermédiaire de l'agent oxydant PIFA est proposé par Shang⁷⁷. Sa méthode est reconnue pour sa commodité, les produits à haut rendement dans des conditions de réaction très douce et de courte durée. Dans notre cas, le rendement obtenu est de 75% après 24 heures de réaction.

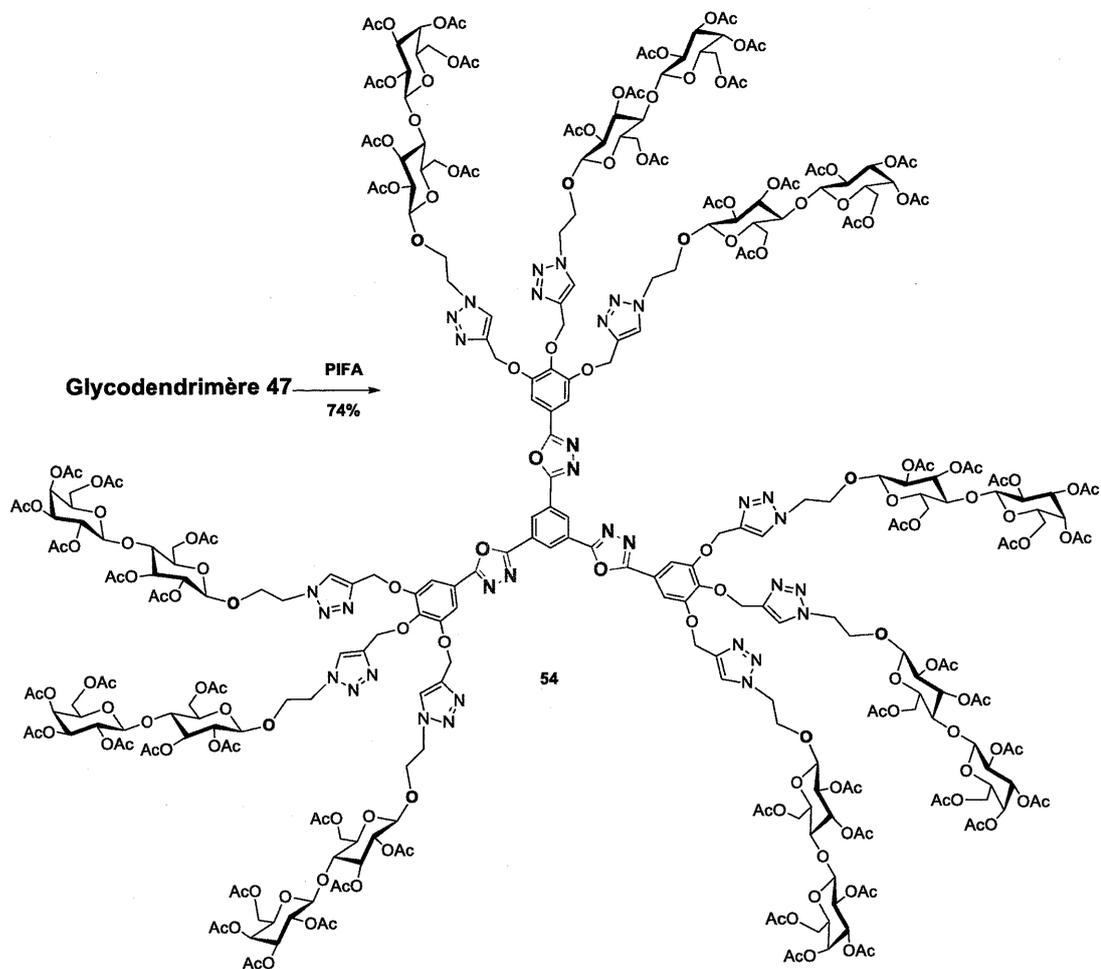


Schéma 3.11 Synthèse de glycodendrimère **54** avec des anneaux d'oxadiazole.

3.4 Synthèse de glycodendrimère avec la chimie de thiol-yne.

Les glycodendrimeres contenant du soufre ont régulièrement émergé durant les dernières décennies⁷⁸. L'efficacité de l'incorporation de l'atome de soufre à travers la puissante réaction de click « thiol-ène »^{79, 80} a donné un grand intérêt à ces synthèses

dendritiques. Le succès de cette synthèse a inspiré la communauté scientifique à développer une double hydrothiolation d'alcynes via un mécanisme de chaîne radicalaire. Cette réaction, maintenant appelé couplage thiol-yne (TYC), répond à tous les " processus de clic ". L'utilisation de la chimie thiol-yne pour les constructions dendritiques reste assez limitée et seuls quelques exemples ont été décrits jusqu'à présent.

Nous avons essayé la méthode convergente de réagir le 3, 4, 5-triisopropargyl benzoyle **55** avec l'éthanedithiol lactoside **45** en premier, mais la réaction n'a pas fonctionné; le ESI-MSHR n'a pas donné la masse du produit recherché.

Notre deuxième stratégie était l'utilisation de la méthode divergente. Nous avons commencé par la synthèse de cluster avec le cœur triacylhydrazide à partir de chlorure de 3, 4, 5-triisopropargyl benzoyle **55** et l'hydrazide **36** en présence de NMP, et après une agitation pendant une nuit, le cluster **56** a été obtenu avec un rendement de 68% (Schéma 3.12). Toutes les analyses spectroscopiques ont bien confirmé la structure obtenue. L'analyse RMN ^1H a affirmé la présence du lien acylhydrazide par les signaux 10.90 ppm et 10.61 ppm correspondant aux NH amides, des signaux de 8.67 ppm et 7.43 ppm correspondant successivement aux protons aromatiques des protons du benzène central, et les protons aromatiques des trois cycles des benzènes propagylés. Le ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a bel et bien prouvé l'existence du CONH à 170.5 et 169.6 ppm. La structure a été aussi parfaitement confirmée avec un analyse ESI-HRMS qui a donné une masse de 1051.27 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ce cluster a réagi avec l'éthanedithiol lactoside **45** sous des irradiations UV 365 nm en présence de 2,2-diméthoxy-phényl acetophénone DMPA dans le DMF/MeOH. Le produit obtenu **57** (Schéma 3.13) est purifié par chromatographie sur colonne et le rendement de la réaction était de 34%.

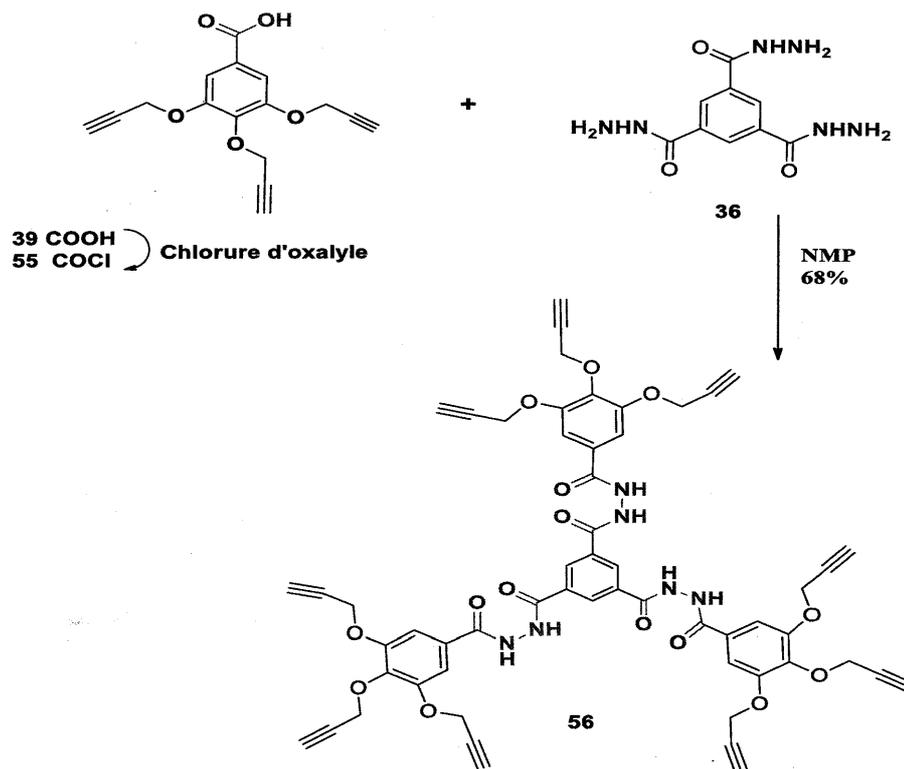


Schéma 3.12 Synthèse de cluster propargylé.

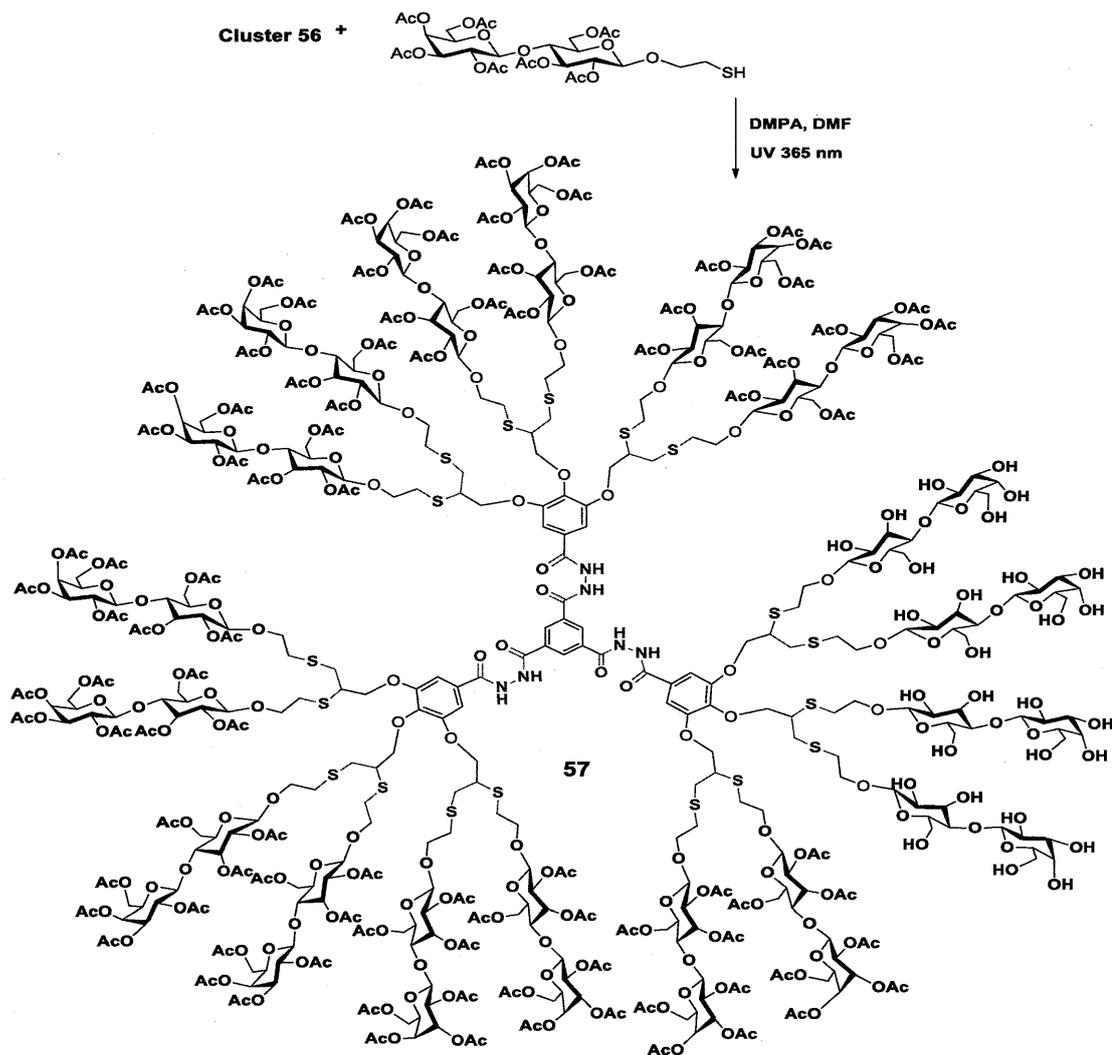


Schéma 3.13 Synthèse de glycodendrimère 57.

Teaming up synthetic chemistry and histochemistry for activity screening in galectin-directed inhibitor design

René Roy^{1,*} · Yihong Cao^{1,§} · Herbert Kaltner^{2,§} · Naresh Kottari¹ · TzeChieh Shiao¹ · Karima Belkhadem¹ · Sabine André² · Joachim C. Manning² · Paul V. Murphy³ · Hans-Joachim Gabius^{2,*}

¹Pharmaqam and Nanoqam, Department of Chemistry, Université du Québec à Montréal, P.O. Box 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3P8, Canada

² Institute of Physiological Chemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University Munich, Veterinärstr. 13, 80539 Munich, Germany

³ School of Chemistry, National University of Ireland Galway, University Road, Galway, Ireland

* Correspondence: roy.rene@uqam.ca ; Tel.: +1 514-987-3000, ext. 2546
gabius@tiph.vetmed.uni-muenchen.de; Tel. : +49 89 2180 2290

§ These authors contributed equally.

Abstract A hallmark of endogenous lectins is their ability to select a few distinct glycoconjugates as counterreceptors for functional pairing from the natural abundance of cellular glycoproteins and glycolipids. As consequence, assays to assess inhibition of lectin binding should necessarily come as close as possible to the physiological situation, to characterize an impact of a synthetic compound on biorelevant binding with pharmaceutical perspective. We here introduce in a proof-of-principle manner work with sections of paraffin-embedded, fixed tissue (jejunum, epididymis) and

labeled adhesion/growth-regulatory galectins, harboring one (galectins-1 and -3) or two (galectin-8) types of lectin domain. Six pairs of synthetic lactosides from tailoring of the headgroup (3'-*O*-sulfation) and the aglycone (β -methyl to aromatic *S*- and *O*-linked extensions) as well as three bi- to tetravalent glycoclusters were used as test compounds. Varying extents of reduction of staining intensity by synthetic compounds relative to unsubstituted/free lactose proved the applicability and sensitivity of the method. Flanking cytofluorimetric assays on lectin binding to native cells gave similar grading, excluding a major impact of fixation. The experiments revealed cell/tissue binding of galectin-8 preferentially via one domain, depending on the cell type so that the effect of an inhibitor in a certain context cannot be extrapolated to other cells/tissues. Moreover, the work with the other galectins attests that this assay enables comprehensive analysis of the galectin network in serial sections to determine overlaps and regional differences in inhibitory profiles.

Keywords Agglutinin · Glycocluster · Glycosylation · Glycoprotein · Lectin

IDS9, Montreal July 12-17, 2015

Synthesis and Characterization of Novel Skeleton of Glycodendrimers with 1, 3, 4-oxadiazole and thiadiazole Cores bearing Triazole Functionality through Click Chemistry

Karima Belkhadem, Tze Chieh Shiao, Yihong Cao, Rabi Rej, Rahul Bagul and René Roy*

Pharmaqam, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montreal, Quebec, Canada H3C 3P8. E-mail: roy.rene@uqam.ca

The chemistry of 1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles and their fused heterocyclic derivatives has received considerable attention owing to their synthetic and effective biological importance, and their range of biological activities which includes antimicrobial¹, antifungal¹, α -glycosidase inhibitors², anticancer activities³, antiproliferative activities⁴ and antitumor agents⁵.

Galectin-3 and Galectin-1, the most studied members, are commonly up or down regulated in different cancers and are implicated in tumor formation and proliferation, apoptosis, angiogenesis, and B cell activation⁶. Glycodendrimer cores with new skeleton bearing 1,3,4-oxadiazole moieties were synthesized using tris-propargylated gallic acid, hydrazine, triacid, and sugar azides. Subsequently, the sugar azides were using click chemistry to afford the final dendrimers which tested in the solid phase binding studies with various carbohydrates-binding proteins.

CHAPITRE IIV

PARTIE EXPÉRIMENTALE

4.1 Généralité

La nomenclature a été adaptée à celle de : "International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry and Molecular Biology" (1997) Nomenclature of carbohydrates, *J. Carbohydr. Chem.*, 16, 1191-1280.

4.1.1 Solvants

Les solvants usuels (DCM, DMF, toluène et THF) sont purifiés sur un purificateur de solvant sur filtre MBRAUN MB-SBS et conservés sur tamis moléculaire et sous atmosphère d'azote. Les solvants employés pour la chromatographie sont de qualité HPLC et ont été évaporés grâce à un évaporateur rotatif de marque Heidolph (Laborota 4000-efficient) où la pression réduite a été obtenue par l'utilisation d'une trompe à eau.

4.1.2 Chromatographie

La progression des réactions est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice sur aluminium (Merk 60 F254) en utilisant des systèmes d'éluants appropriés. La révélation est effectuée par irradiation sous lumière UV ($\lambda = 254$ nm) d'une part, et d'autre part, par trempage dans des révélateurs spécifiques, un mélange acide (acide sulfurique/méthanol/eau : 5/45/45 ; v/v/v) pour les composés protégés.

4.1.3 Analyses physico-chimiques

La purification des produits bruts a été effectuée par chromatographie sur colonne de gel de silice de marque Silicycle (Silica-P Flash Silica Gel). Les solvants étaient de qualité HPLC. Ceux-ci ont été évaporés grâce à un évaporateur rotatif de marque Heidolph (Laborota 4000-efficient) où la pression réduite a été obtenue par l'utilisation d'une trompe à eau.

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés avec un polarimètre JASCO P-10 10 et sont enregistrés à la température correspondante. Les points de fusion sont mesurés sur un appareil de type Fisher Jones et ne sont pas corrigés. Les lyophilisations sont effectuées sur un appareil Freeze Mobile 24 (Virtis).

Les mesures de masse nominale sont réalisées sur un instrument LC-MSD et les mesures de masses exactes par spectrométrie de masse haute résolution sont réalisées sur un instrument LC-MSD TOF (liquid chromatography mass spectrometry time off light) modèle 6210 d'Agilent technologies par le Laboratoire de Spectrométrie de Masse de l'Université de Montréal en ionisation par «électrospray» (ESI) et par le Laboratoire «Plateforme analytique pour molécules organiques» de l'Université du Québec à Montréal. La source utilisée sur le MS-TOF est «l'électrospray» en mode positif avec la condition de la source (capillaire à 4000V pour le scan; température de gaz à 350 °C ; débit du gaz à 12 L/min ; nébuliser à 35 PSI) et avec la condition du MS (fragmenteur à 100V; 95 «skimmer» à 60V). Un volume de 1 µL est injecté en utilisant une phase mobile d'ACN/H₂O 50% avec 0.1 % d'acide formique.

4.1.3.1 Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) proton (¹H) et carbone (¹³C {H}) ont été enregistrés avec des appareils Varian-Gemini 2000 ou Varian-Innova AS600. Les spectres du ¹H sont enregistrés à une fréquence de 300 MHz ou 600 MHz, et ceux du ¹³C sont enregistrés à 75 MHz ou 150 MHz. Les solvants de référence interne

employés pour faire ces mesures étaient le chloroforme deutéré (CDCl_3), l'oxyde de deutérium (D_2O), le méthanol deutéré (CD_3OD) et le sulfoxyde de diméthyle deutéré ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$). Les valeurs de références utilisées de ces derniers, pour la RMN du proton, sont respectivement 7.27 ppm, 4.79 ppm, 3.31 ppm. Pour la RMN du carbone, les valeurs suivantes ont été employées: 77.0 ppm (CDCl_3), 49.0 ppm (CD_3OD) et 39.5 ppm (DMSO-d_6). Des mesures de spectroscopie de corrélation des protons (COSY) et (HSQC) ont également été effectuées pour certains produits.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme une référence interne pour les autres solvants; les constantes de couplage (J) sont mesurées en Hz. La notation utilisée pour la description des spectres est la suivante : s (singulet), sl (singulet large), d (doublet), dd (doublet de doublet), m (massif ou multiplet), H_{arom} (protons aromatiques), C_q (carbone quaternaire) et C_{arom} (carbone aromatique).

4.2 Procédures générales

4.2.1 Procédure générale de dé-*O*-acétylation (Zemplén)

Le composé désiré est dissout dans du MeOH sec (0.1M), puis une quantité catalytique (généralement 0.1 équivalent) de méthanolate de sodium est ajoutée, le pH de la solution ait une valeur compris entre 9 à 10. Le mélange est agité à température ambiante sous atmosphère d'azote. Lorsque la déprotection est terminée, la solution est neutralisée par de la résine Amberlite IR-120 (H+), filtrée et concentrée.

4.2.2 Procédures générales de la réaction de CuAAC « chimie Click »

Le composé possédant une fonction propargylique est dissous dans un mélange 2 : 1 de THF et de l'eau, et le sulfate cuprique (5 mol %) ainsi que l'ascorbate de sodium (10 mol %) sont ajoutés à la mixture. Après ajout de l'azoture (1.5 équiv), la solution est

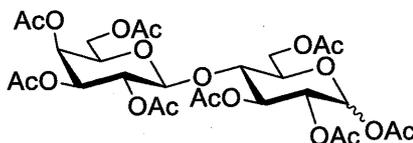
laissée sous agitation à température ambiante pour une durée d'environ 15-24 heures. Le milieu réactionnel est repris dans l'eau et une extraction à l'aide de l'éther diéthylique est effectuée. La phase organique obtenue est lavée successivement à l'aide de solutions aqueuses de l'EDTA saturée, de bicarbonate de sodium saturée et de l'eau. Après séchage sur sulfate de sodium anhydre, la solution est concentrée et le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne.

4.2.3 Procédures générales de la réaction de sulfatation

Un mélange de lactoside (1 équiv) et d'oxyde de dibutylétain (1.15 équiv) dans du DMF et du toluène 3/2 a été agité pendant 6 h à 90 ° C avec élimination azéotropique de l'eau. Ensuite, la solution a été évaporée sous vide. Le $\text{Me}_3\text{N}.\text{SO}_3$ (1,3 équiv) a été ajouté à la solution du résidu ci-dessus avec le DMF. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 18-23 heures. Une fois la réaction complétée, le solvant a été évaporé avec l'air comprimé et le résidu a été passé à travers une résine Dowex-Na + pour obtenir le composé mono-sulfaté.

4.3 Modes opératoires et caractérisations

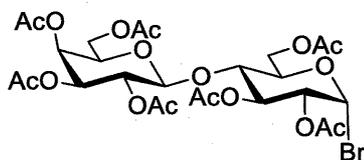
2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl-(1-4)-1,2,3,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose (13)



Une solution en suspension de l'acétate de sodium anhydre (0.5g, 6.10 mmol, 1.1equiv) dans l'anhydride acétique 102 ml, est agitée et chauffée sous reflux à 140°C, après avoir atteint cette température, le α -lactose (2.00g, 5.55 mmol) est ajoutée en petites portions et le mélange réactionnel est chauffé pendant 20 min pour donner le composé **13** (2.48g, 66%) obtenu sous forme de solide blanc. Le produit est obtenu après un bon lavage

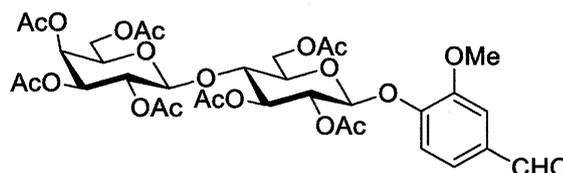
avec de l'eau glacée et une solution saturée de bicarbonate de sodium, puis séché sur sulfate de sodium et concentré sous pression réduite et cristallisé avec de l'éthanol; **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 5.70 (d, 1H, $J= 8.23$ Hz, $H1$), 5.37 (d, 1H, $J= 2.68$ Hz, $H3$), 5.27 (dd, 1H, $J= 2.93$ Hz, $H4'$), 5.12 (dd, 1H, $J= 2.44$ Hz, $J= 10.31$ Hz, $H2'$), 5.05 (d, 1H, $J= 9.37$ Hz, $H3'$), 4.97 (dd, 1H, $J= 3.43$ Hz, $J= 10.31$ Hz, $H2$), 4.43–4.51 (m, 2H, $H1'$ et $H6a$), 4.07–4.19 (m, 3H, $H6b$, $H6a'$ et $H5'$), 3.84–3.92 (m, 2H, $H6b'$ et $H4$), 3.71–3.80 (m, 1H, $H5$), 2.17–1.90 (m, 21H, 7 x OCH_3); **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75. MHz, CDCl_3): δ (ppm) 170.3, 170.3, 170.1, 170.0, 169.6, 169.5, 169.0, 168.8, (CO), 100.8 (C-1'), 91.4 (C-1), 75.5 (C-4), 73.4 (C-5), 72.5 (C-3), 70.9 (C-5'), 70.6 (C-3'), 70.4 (C-2), 68.9 (C-4'), 66.6 (C-6'), 61.7 (C-6), 60.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 et 20.4 ppm (COCH_3).

Bromure de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl-(1-4)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- α -D-glucopyranose (14)



RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 6.55 (d, 1H, $J=4.0$ Hz, H-1), 5.58 (dd, 1H, $J= 9.6$ Hz, H-3), 5.38 (dd, 1H, $J= 2.7$ Hz, H-4'), 5.15 (dd, 1H, $J= 7.9$ Hz, $J= 10.4$ Hz, H-2'), 4.98 (dd, 1H, $J= 3.4$ Hz, $J= 10.4$ Hz H-3'), 4.78 (dd, 1H, $J= 10.0$, $J= 4.1$ Hz, H-2), 4.57–4.49 (d, 2H, H-1' et H-6a), 4.28–4.04 (m, 4H, H-6a', H-6b et H-5'), 3.89 (dd, $J= 16.0$, $J=8.3$ Hz, H-6b'), 2.22–1.95 (m, 2H, H-5 et H-4), 2.16, 2.13, 2.09, 2.06, 2.06, 2.05 et 1.96 ppm (7s, 21H, COCH_3); **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 170.3, 170.2, 170.1, 170.0, 170.0, 169.2, 168.9 (CO), 100.8 (C-1'), 86.4 (C-1), 74.9 (C-4), 72.9 (C-5), 70.9 (C-3), 70.8 (C-5'), 70.7 (C-3'), 69.6 (C-2), 69.0 (C-2'), 67.9 (C-4'), 61.0 (C-6'), 60.9 (C-6), 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.6 et 20.5 ppm (COCH_3).

**3-Methoxy-4-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl- β -D-lactopyranosyloxy)
benzaldéhyde (15)**

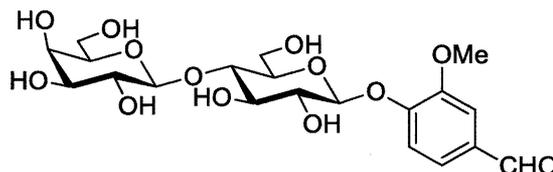


À une solution de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl-(1-4)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- α -D-bromoglucopyranosyle (200 mg, 0.285 mmol) dissous dans l'acétate d'éthyle (2 mL), est ajouté l'hydrure de sulfate de tetrabutylammonium (106.79 mg, 0.314 mmol). Une autre solution aqueuse saturée de carbonate de sodium (2 mL) et la vanilline (106.4 mg, 0.699 mmol) est ajoutée par la suite, puis le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante, pour une durée de 5 heures. De l'acétate d'éthyle est alors ajoutée à la fin de la réaction pour récupérer la phase organique. Le produit est lavé successivement à l'aide de solutions aqueuses de bicarbonate de sodium saturée, de chlorure de sodium saturée et de l'eau, puis séchée sur sulfate de sodium anhydre, et enfin, concentrée sous pression réduite. Le produit brut est alors purifié par chromatographie sur colonne de silice. Le composé **15**, solide blanc (176 mg, 80%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 9.91 (s, 1H, CHO), 7.38-7.46 (m, 2H, H_{arom}), 7.19 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H_{arom}), 5.38 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H-4'), 5.28 (dd, 2H, $J = 13.9$, $J = 8.0$ Hz, H-3 et H-2), 5.17 (dd, 1H, $J = 14.7$, $J = 6.9$ Hz, H-2'), 5.10 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, H-1), 4.99 (dd, 1H, $J = 10.4$, $J = 3.4$ Hz, H-3'), 4.52-4.57 (m, 2H, H-1', H-6a), 4.04-4.24 (m, 3H, H-6b, H-6'ab), 3.91-3.96 (m, 2H, H-4 et H-5'), 3.90 (s, 3H, OMe), 3.76-3.81 (m, 1H, H-5), 1.94-2.22 (21H, 7OAc). **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 190.9 (CHO), 170.3, 170.2, 170.1, 170.0, 169.7, 169.5, 169.0 (CO), 151.1, 150.8, 132.6, 125.3, 117.7, 110.6 (C_{arom}), 101.1 (C-1'), 99.3 (C-1), 76.0 (C-4), 72.9 (C-5),

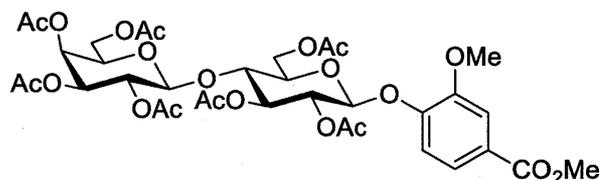
72.4 (C-3), 71.2 (C-2), 70.9(C-3'), 70.7 (C-5'), 69.0(C-2'), 66.5 (C-4'), 61.8 (C-6'), 60.8 (C-6), 56.0 (OMe), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5.

3-Méthoxy-4-(β-D-lactopyranosyloxy) benzaldéhyde (16)

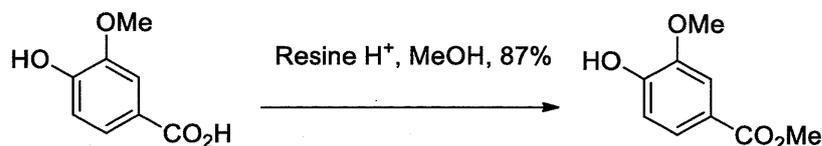


Procédure générale de dé-*O*-acétylation; solide blanc (92 %); p.f. : 215-220°C; **RMN** ¹H (300 MHz, D₂O): δ (ppm) 9.73 (s, 1H, CHO), 7.55 (d, 1H, *J* = 6.7 Hz, H_{arom}), 7.50 (s, 1H, H_{arom}), 7.26 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H_{arom}), 5.25 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-1), 4.44 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-1'), 3.92-3.96 (m, 1H, H-4'), 3.89 (s, 3H, OMe), 3.62-2.84 (m, 9H, H-5', H-5, H-2, H-3, H-6_{ab}, H-6' _{ab} et H-4), 3.61 (d, 1H, *J* = 3.1 Hz, H-3'), 3.47 (dd, 1H, *J* = 9.0 Hz, H-2'). **RMN** ¹³C{¹H}(75 MHz, DMSO-d₆): δ(ppm) 192.0 (CHO), 152.0, 149.7, 131.0, 125.8, 114.8, 110.8 (C_{arom}), 104.3(C-1'), 99.2(C-1), 80.4 (C-4), 76.0 (C-5), 75.4 (C-5'), 75.4 (C-2'), 73.7 (C-3'), 73.2 (C-3), 71.0 (C-2), 68.6 (C-4'), 60.9 (C-6'), 60.4 (C-6), 56.0 (OMe).

Méthyle-3-Methoxy-4-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl-β-D-lactopyranosyloxy) benzoate (17)

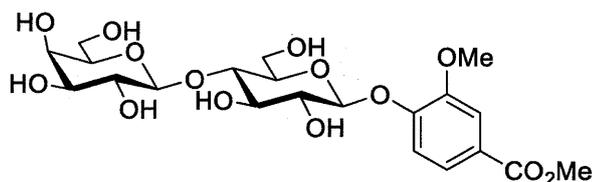


Pour cette synthèse, on a préparé le méthyle vanillate par la réaction de l'acide vanillique avec le méthanol en présence de la résine acide. Le produit est obtenu après une purification par chromatographie sur colonne, solide blanc (87%).



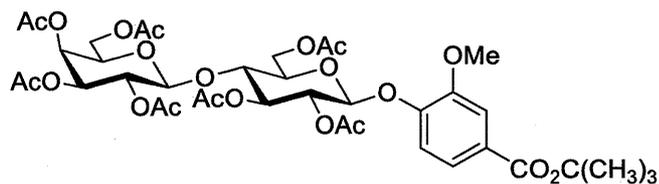
Une solution de bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyl-(1-4)-2,3,6-tri-*O*-acétyl- α -D-glucopyranosyle (200 mg, 0.285 mmol) est dissous dans l'acétate d'éthyle (2 mL) puis l'hydrure de sulfate de tetrabutylammonium (106.79 mg, 0.314 mmol) est ajouté. Une solution aqueuse saturée de carbonate de sodium (2 mL) et le méthyle vanillate (129.78 mg, 0.712 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est laissé sous agitation et à température ambiante pour une durée de 5 heures. Le composé **17** est lavé et purifié par la même méthode précédente, solide blanc (151 mg, 66%); p.f. : 85-90 °C; $[\alpha]_D -32.96$ (c 0.25, DCM); **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.76-7.50 (m, 2H, Ar), 7.10 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, Ar), 5.37 (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, H4'), 5.28 (dd, 2H, $J = 15.4$, $J = 8.1$ Hz, H-2 et H-3), 5.16 (dd, 1H, $J = 18.1$, $J = 7.9$ Hz, H-2'), 5.05 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, H-1), 4.99 (dd, 1H, $J = 10.4$, $J = 3.0$ Hz, H-3'), 4.52-4.51 (m, 2H, H-1' et H-6a), 4.20-4.08 (m, 3H, H-6b et H-6'ab), 3.94-3.88 (m, 2H, H-4 et H-5'), 3.92 (s, 3H, CO_2Me), 3.88 (s, 3H, OMe), 3.80-3.75 (m, 1H, H-5), 2.18 (s, 3H), 2.18-1.99 (21H, 7OAc). **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 170.3, 170.2, 170.1, 170.0, 169.7, 169.5, 169.1, 166.5, 150.0, 149.8, 126.0, 122.9, 117.9, 113.4, 101.1 (C-1'), 99.6 (C-1), 76.1 (C-4), 72.9 (C-5), 72.4 (C-3), 71.3 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.7 (C-5'), 69.0 (C-2'), 66.6 (C-4'), 61.9 (C-6), 60.8 (C-6'), 56.1 (OMe), 52.2 (CO_2Me), 20.8, 20.6, 20.5. **ESI-HRMS** de $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{O}_{21}$: 800.71; trouvée: 818.26 $[\text{M} + \text{NH}_4^+]$.

Methyl 3-methoxy-4-(β -D-lactopyranosyloxy) benzoate (**18**)

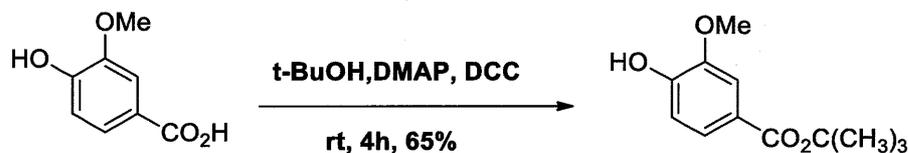


Procédure générale de dé-*O*-acétylation; solide blanc (92 %); p.f. : 187-189°C; $[\alpha]_D$ -25.12 (c 0.25, méthanol); **RMN ^1H** (300 MHz, D_2O): δ (ppm) 7.76-7.74 (m, 2H, H_{Arom}), 7.31 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, H_{Arom}), 5.32 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1), 4.53 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 4.07-3.90 (m, 9H, H-4',6', OMe and CO_2Me), 3.90-3.69 (m, 6H, H-3,4,5,5',6), 3.66 (m, 2H, H-2,3'), 3.55 (m, 1H, H-2'). **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, $\text{D}_2\text{O} + \text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) 167.31(CO-OMe), 150.2, 148.5, 123.7, 114.8, 112.8, 103.4 (C-1'), 99.3 (C-1), 78.8; 75.6; 75.1 et 74.5 (C-3,4,5,5'), 72.9(C-3'), 72.7 (C-2), 70.9 (C-2'), 68.5 (C-4'), 61.0 (C-6'), 60.0 (C-6), 56.1 (OMe), 52.7 (CO_2Me). **ESI-HRMS** de $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: 506.45; trouvée: 529.15 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

Tert-butyl-3-méthoxy-4-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl- β -D-lactopyranosyloxy) benzoate (19)



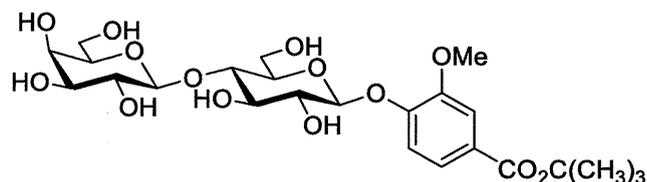
On a utilisé les mêmes conditions de catalyse CTP, utilisées précédemment, mais cette fois-ci on a réagi le tert-butyle vanillate qu'on a déjà préparé avec le tert-butanol et l'acide vanillique en présence d'un catalyseur carbodiimide. Après une purification par chromatographie sur colonne, le tert-butyle vanillate est obtenu sous forme de solide blanc (65%).



Le produit **19** est obtenu, solide blanc (58%); p.f. : 98 °C; $[\alpha]_D$ -21.48 (c 0.25, DCM); **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3): 7.59 – 7.51 (m, 2H, H_{Arom}), 7.19 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H_{Arom}), 5.38 (d, 1H, $J = 2.7$ Hz, H-4'), 5.31 (dd, 1H, $J = 9.0$ Hz, H-3), 5.22 (dd, 1H,

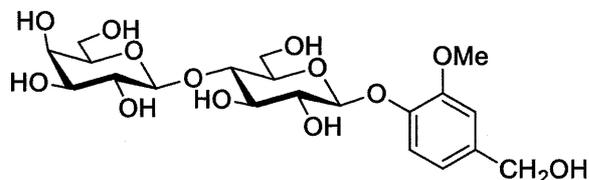
$J = 10.4, J = 7.8$ Hz, H-2), 5.15 (dd, 1H, $J = 10.4, J = 7.8$ Hz, H-2'), 5.03 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H-1), 4.99 (dd, 1H, $J = 10.4, J = 3.4$ Hz, H-3'), 4.50-4.54 (m, 2H, H-1', H-6a), 4.24 - 4.05 (m, 3H, H-6b, H-6'ab), 3.88-3.94 (m, 2H, H-4 et H-5'), 3.87 (s, 3H, OMe), 3.81 - 3.69 (m, 1H, H-5), 2.21 - 1.94 (21H, 7OAc), 1.60 (s, 9H, 3CH₃). **RMN** ¹³C{¹H}(75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 170.170.2, 170.1, 170.0, 169.7, 169.5, 169.0, 165.2, 149.9, 149.4, 128.0, 122.6, 118.0, 113.4, 101.1 (C-1'), 99.8 (C-1), 81.1 (C-CH₃), 76.1 (C-4), 72.9 (C-5), 72.5 (C-3), 71.3 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.7 (C-5'), 69.0 (C-2'), 66.6 (C-4'), 61.8 (C-6), 60.8 (C-6'), 56.0 (OMe), 28.1 (3CH₃), 20.7, 20.6, 20.5. **ESI-HRMS** de C₃₈H₅₀O₂₁: 842.79; trouvée: 865.26 [M + Na⁺].

Tert-butyl-3-méthoxy-4-(β -D-lactopyranosyloxy) benzoate (20)



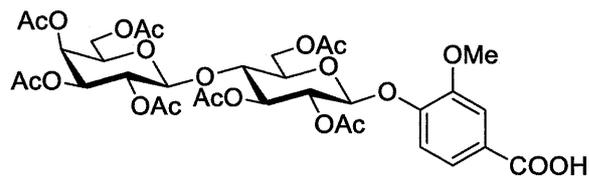
Procédure générale de dé-*O*-acétylation; solide blanc (92 %); p.f. : 206.3°C; $[\alpha]_D -66.04$ (c 0.25, méthanol); **RMN** ¹H (300 MHz, CD₃OD-d₄): δ (ppm) 7.52-7.62 (m, 2H, H_{Arom}), 7.19 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_{Arom}), 5.09 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz, H-1), 4.42 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 3.90 (sl, 4H, H-3', et OMe), 3.49-3.85 (m, 11H, H-2, 2', 3, 4, 4', 5, 5', 6, 6'), 1.60 (s, 9H, 3CH₃); **RMN** ¹³C{¹H}(75 MHz, CD₃OD-d₄): δ (ppm) 166.0 (CO-C(CH₃)), 150.1, 148.7, 125.8, 123.1, 114.7, 112.5, 103.4 (C-1'), 100.1 (C-1), 81.3 (C-CH₃), 78.4, 75.6, 75.2 et 74.6 (C-3, 4, 5, 5'), 73.2 (C-3'), 72.8 (C-2), 71.1 (C-2'), 68.8 (C-4'), 61.1 (C-6'), 60.0 (C-6), 55.4 (OMe), 27.1 (CH₃); **ESI-HRMS** de C₂₄H₃₆O₁₄: 548.53; trouvée: 571.19 [M + Na⁺].

3-Méthoxy-4-(β-D-lactopyranosyloxy) alcoolbenzylique (23)



Le composé **23** est obtenu par la réduction de la fonction aldéhyde du composé **16** par l'utilisation du NaBH₄ (1,2 equi) dans le méthanol comme solvant réactionnel et sous agitation à température de la pièce, le composé **23** (poudre blanche, 95%); p.f. : 202 °C; [α]_D -71.48 (c 0.25, méthanol); RMN ¹H (300 MHz, D₂O): δ (ppm) 7.04 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H_{arom}), 6.98 (s, 1H, H_{arom}), 6.86 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H_{arom}), 5.03 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H-1), 4.47 (s, 2H, CH₂OH), 4.37 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-1'), 3.82-3.87 (m, 1H, H-5 et H-2), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.75-3.57 (m, 8H, H-5', H-4', H-2', H-3, H-6_{ab}, H-6' _{ab} et), 3.55 (d, 1H, *J* = 2.6 Hz, H-3'), 3.47 (dd, 1H, *J* = 9.0 Hz, H-4). RMN ¹³C{¹H} (75 MHz, D₂O): δ (ppm) 152.0, 148.6, 144.7, 135.8, 120.2, 116.0, 112.0 (C_{arom}), 102.9 (C-1'), 100.2 (C-1), 77.9 (C-4), 75.3 (C-5), 74.8 (C-5'), 74.1 (C-3'), 72.4 (C-3 et C-2'), 70.9 (C-2), 68.5 (CH₂), 63.4 (C-4'), 61.0 (C-6'), 59.7 (C-6), 55.7 (OMe). ESI-HRMS de C₂₀H₃₀O₁₃: 478.44; trouvée: 501.15 [M + Na⁺].

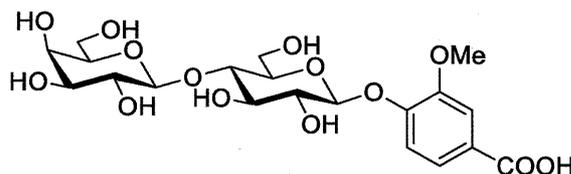
3-Méthoxy-4-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-β-D-lactopyranosyloxy) acide benzoïque (24)



L'oxydation du composé **15** (50 mg, 0.063 mmol) est effectuée dans un 1 ml d'eau et en présence de KMnO₄ (12.04 mg, 0.076 mmol) qui a été ajouté goutte à goutte sous agitation sous reflux de 70-80 °C pendant environ 20 min. Le résidu est lavé avec de l'eau chaude, filtré, concentré puis acidifié pour donner le composé **24** sous forme de

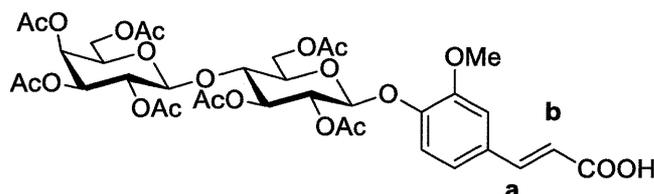
solide blanc (26.5mg, 52%); **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.67 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, H_{arom}), 7.61 (s, 1H, H_{arom}), 7.19 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H_{arom}), 5.36 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H-4'), 5.26 (ddd, 2H, $J = 13.9, J = 8.0$ Hz, H-3 et H-2), 5.12 (dd, 1H, $J = 10.3, J = 7.9$ Hz, H-2'), 5.05 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H-1), 4.97 (dd, 1H, $J = 10.4, J = 3.4$ Hz, H-3'), 4.50-4.54 (m, 2H, H-1', H-6a), 4.03-4.21 (m, 3H, H-6b, H-6'ab), 3.89-3.91 (m, 2H, H-4 et H-5'), 3.87 (s, 3H, OMe), 3.69-3.81 (m, 1H, H-5), 1.81-2.34 (21H, 7OAc). **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 170.4, 170.3, 170.1, 170.1, 169.8, 169.6 (CO), 169.1 (COOH), 150.5, 150.0, 125.3, 123.7, 117.7, 113.8 (C_{arom}), 101.1 (C-1'), 99.4 (C-1), 76.1 (C-4), 72.9 (C-5), 72.4 (C-3), 71.3 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.7 (C-5'), 69.1 (C-2'), 66.6 (C-4'), 61.8 (C-6'), 60.8 (C-6), 56.1 (OMe), 20.8, 20.6, 20.5.

3-Méthoxy-4-(β -D-lactopyranosyloxy) acide benzoïque (25)



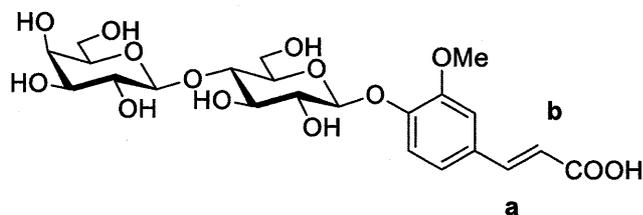
Procédure générale de dé-*O*-acétylation; solide blanc (77 %); p.f. : 177-180 °C; $[\alpha]_{\text{D}} -62.04$ (c 0.25, méthanol); **RMN ^1H** (300 MHz, D_2O): δ (ppm) 7.47 (d, 1H, $J = 6.7$ Hz, H_{arom}), 7.43 (s, 1H, H_{arom}), 7.05 (d, 1H, $J = 5.9$ Hz, H_{arom}), 5.10 (d, 1H, $J = 4.7$ Hz, H-1), 4.38 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 3.84-3.96 (m, 2H, H-5 et H-2), 3.78 (sl, 4H, OMe et H-2'), 3.53-2.74 (m, 8H, H-5', H-4', H-3, H-6ab, H-6'ab et H-4), 3.48 (dd, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-4). **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 169.6 (CH_2OH), 149.6, 148.2, 124.7, 124.0, 114.7, 113.2 (C_{arom}), 102.9 (C-1'), 99.4 (C-1), 77.8 (C-4), 75.3 (C-5), 74.9 (C-5'), 74.1 (C-2'), 72.5 (C-3'), 72.4 (C-3), 70.9 (C-2), 68.5 (C-4'), 61.0 (C-6'), 59.9 (C-6), 55.9 (OMe). **ESI-HRMS** de $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$: 492.14; trouvée: 515.13 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

4-E-[(2-Carboxy) éthényl]-2-méthoxyphenyl 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl- β -D-lactopyranoside (26)



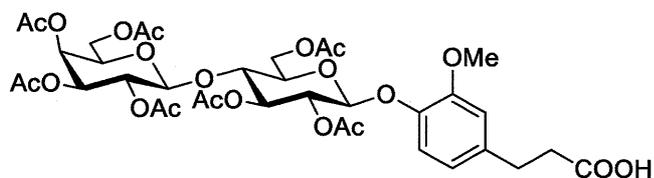
Une solution du composé **15** (50 mg, 0.063 mmol), l'acide malonique (40 mg, 0.381mmol) dans la pyridine 0.2mL et la pipéridine 0.01mL, est agitée sous reflux à 95°C. Après 3 heures la réaction est complétée. Le produit brut est refroidi dans la glace pour l'acidifier à pH 1-2 avec HCl (6M), puis lavé avec le DCM et l'eau, séché sur sulfate de sodium anhydre, et enfin, concentré sous pression réduite. Le produit brut est alors purifié par chromatographie sur colonne de silice. Le composé **26** solide jaune pâle (34mg, 65%); p.f. : 120-125°C; $[\alpha]_D^{20}$ -20.72 (c 0.25, DCM); **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.68 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz, H_a), 7.06 (s, 3H, 3H_{arom}), 6.33 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz, H_b), 5.34 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, $\text{H-4}'$), 5.19-5.30(m, 2H, H-3 et H-2), 5.08-5.15(m, 1H, $\text{H-2}'$), 4.90-5.01(m, 2H, H-1 et $\text{H-3}'$), 4.49-4.52 (m, 2H, $\text{H-1}'$, H-6a), 4.00-4.21 (m, 3H, H-6b , H-6'ab), 3.85-3.91 (m, 2H, H-4 et $\text{H-5}'$), 3.83 (s, 3H, OMe), 3.65-3.77 (m, 1H, H-5), 1.90-2.20 (21H, 7OAc). **RMN** $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 171.7 (COOH), 170.4, 170.3, 170.1, 170.1, 169.8, 169.6, 169.1 (CO), 150.6, 148.1, 130.4, 122.0, 119.0, 111.4 (C_{arom}), 146.2 (C- H_a), 116.5 (C- H_b), 101.1 (C-1'), 99.8 (C-1), 76.1 (C-4), 72.9 (C-5), 72.5(C-3), 71.3 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.7 (C-5'), 69.0 (C-2'), 66.6 (C-4'), 61.8 (C-6'), 60.8 (C-6), 56.0 (OMe), 20.8, 20.6, 20.5. **ESI-HRMS** de $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{O}_{21}$: 812.23; trouvée: 835.24 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

4-E-[(2-Carboxy) éthényl]-2-méthoxyphenyl- β -D-lactopyranoside (27)



Procédure générale de dé-*O*-acétylation; solide blanc (quantitative); p.f. : 190-206°C; $[\alpha]_D^{20}$ -201.52 (c 0.25, méthanol); **RMN ^1H** (300 MHz, D_2O): δ (ppm) 7.22 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, H_a), 7.18 (s, 1H, H_{arom}), 7.06 (dd, 2H, $J = 16.8$, $J = 8.5$ Hz, 2H_{arom}), 6.34 (d, 1H, $J = 16.0$ Hz, H_b), 5.03 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H-1), 4.37 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.80-3.88 (m, 5H, H-5, H-2 et OMe), 3.78 – 3.53 (m, 9H, H-5', H-4', H-3, H-6_{ab}, H-6' _{ab}, H-2' et H-3'), 3.46 (dd, 1H, $J = 9.0$ Hz, H-4). **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, D_2O): δ (ppm) 175.70 (COOH), 148.6, 146.3, 130.6, 123.2, 121.6, 111.2 (C_{arom}), 140.2 (C- H_a), 115.6 (C- H_b) 102.9 (C-1'), 99.9 (C-1), 77.8 (C-4), 75.3 (C-5), 74.9 (C-3), 74.0 (C-2), 72.4 (C-3' et C-2'), 70.9 (C-5'), 68.5 (C-4'), 61.0 (C-6'), 59.8 (C-6), 56.8 (OMe), 20.8, 20.6, 20.5. **ESI-HRMS** de $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: 518.46; trouvée: 541.15 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

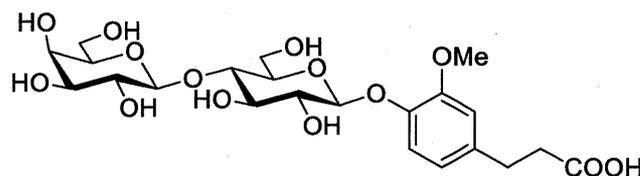
4-(2-Carboxyethyl)-2-méthoxyphenyl 2, 3, 6, 2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl- β -D-lactopyranoside (28)



Une solution du composé **26** (200 mg, 0.246 mmol) dans le THF/MeOH (4/2mL), est agitée avec le Pd/C (50 mg) sous azote pendant 10min, puis est agitée sous l'hydrogène

pendant 5h. Le catalyseur est retiré par filtration sur célite. La phase récupérée et évaporée sous vide. Le composé **28** est un solide jaune pâle (200 mg, 99 %); p.f. : 101 °C; $[\alpha]_D -18.12$ (c 0.25, DCM); **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 6.99 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, H_{arom}), 6.74 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_{arom}), 6.69 (dd, 1H, $J = 8.2$, $J = 1.7$ Hz, H_{arom}), 5.35 (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, H-4'), 5.27 (t, 1H, H-3), 5.04-5.21 (m, 2H, H-2 et H-2'), 4.97 (dd, 1H, $J = 10.4$, $J = 3.4$ Hz, H-1), 4.89 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-3'), 4.47-4.53 (m, 2H, H-1', H-6a), 4.00-4.21 (m, 3H, H-6b, H-6'ab), 3.83-3.95 (m, 2H, H-4 et H-5'), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.61-3.72 (m, 1H, H-5), 2.90 (t, 2H, $J = 7.6$ Hz, $\text{CH}_{2\text{a}}$), 2.64 (t, 2H, $J = 7.7$ Hz, $\text{CH}_{2\text{b}}$), 1.90-2.20 (21H, 7OAc). **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 177.8 (COOH), 170.4, 170.1, 170.0, 169.8, 169.7, 169.1 (CO), 150.5, 144.5, 137.1, 120.2, 120.0, 112.9 (C_{arom}), 101.0 (C-1'), 100.5 (C-1), 76.2 (C-4), 72.7 (C-5), 72.6 (C-3), 71.5 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.7 (C-5'), 69.1 (C-2'), 66.6 (C-4'), 61.9 (C-6'), 60.8 (C-6), 56.0 (OMe), 30.6 (C- H_a), 36.0 (C- H_b), 20.8, 20.6, 20.6, 20.5. **ESI-HRMS** de $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_{21}$: 814.25; trouvée: 837.23 $[\text{M} + \text{Na}^+]$.

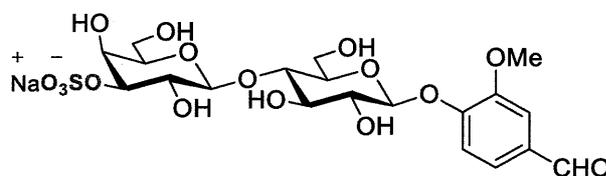
4-(2-Carboxyéthyl)-2-méthoxyphenyl- β -D-lactopyranoside (**29**)



Procédure générale de dé-O-acétylation; solide blanc(quantitative); p.f. : 190-222 °C; $[\alpha]_D -55.76$ (c 0.25, méthanol); **RMN ^1H** (300 MHz, D_2O): δ (ppm) 6.96(d, 1H, $J = 8.3$, H_{arom}), 6.86 (s, 1H, H_{arom}), 6.72 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_{arom}), 4.94 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H-1), 4.36 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.81 (d, 2H, H-5 et H-2), 3.73 (sl, 2H, OMe et H-5'), 3.60 – 3.72 (m, 5H, H-3, H-6_{ab}, H-6'_{ab}), 3.60 – 3.50 (m, 3H, H-4', H-2' et H-3'), 3.40-3.50 (m, 1H, H-4), 2.73 (t, 1H, $J = 7.4$ Hz, H_a), 2.40 (t, 1H, $J = 7.4$ Hz, H_b); **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, D_2O): δ (ppm) 175.7 (COOH), 148.6, 146.3, 130.6, 123.2, 121.6,

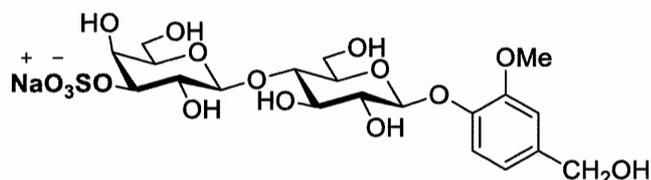
111.2 (C_{arom}), 140.2 (C-H_a), 115.6 (C-H_b) 102.9 (C-1'), 99.9 (C-1), 77.8 (C-4), 75.3 (C-5), 74.9 (C-3), 74.0 (C-2), 72.4 (C-3' et C-2'), 70.9 (C-5'), 68.5 (C-4'), 61.0 (C-6'), 59.8 (C-6), 56.8 (OMe), 20.8, 20.6, 20.5. **ESI-HRMS** de C₂₂H₃₂O₁₄: 520.48; trouvée: 543.16 [M + Na⁺].

Méthyl-3-méthoxy-4-(3'-O-sulfo-β-D-lactopyranosyloxy) benaldéhyde, sel de sodium (30)



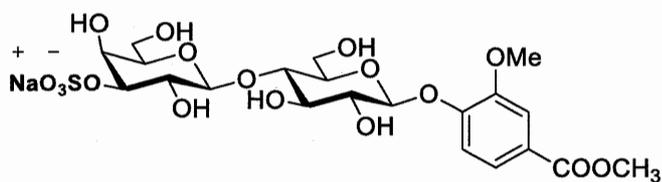
Suivant la procédure générale de sulfatation, le composé **30** est obtenu à partir du lactoside **16**; solide blanc (quantitatif); p.f. : 218-232 °C; [α]_D-60.24 (c 0.25, méthanol); **RMN** ¹H (300 MHz, D₂O): δ (ppm) 9.66 (s, 1H, CHO), 7.47 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_{arom}), 7.40 (t, 1H, J = 5.4 Hz, H_{arom}), 7.19 (d, 1H, J = 8.7 Hz, H_{arom}), 5.19 (d, 1H, J = 7.9 Hz, H-1'), 4.51 (d, 1H, J = 7.9 Hz, H-1') 4.26 (d, 2H, J = 18.4, 8.4, 3.2 Hz, H-3' et H-4'), 3.89-3.98 (m, 2H, H-6), 3.80-3.85 (m, 4H, OMe, H-6'), 3.68-3.78 (m, 5H, H-2', H-4, H-3 et H-5, H-5'), 3.58-3.68 (m, 1H, H-2). **RMN** ¹³C{¹H}(75 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 194.7 (CHO), 151.0, 148.8, 130.9, 126.7, 114.7, 111.2 (C_{arom}), 102.5 (C-1'), 99.3 (C-1), 79.9 (C-3'), 77.6 (C-4), 75.0, 74.9 et 74.0 (C-3,5,5'), 72.3 (C-2), 66.7 (C-2'), 69.0 (C-4'), 60.9 (C-6'), 59.7 (C-6), 55.7 (OMe). **ESI-HRMS** de C₂₀H₂₈O₁₆S: 556.49; trouvée: 579.09 [M + Na⁺].

Méthyl-3-méthoxy-4-(3'-*O*-sulfo- β -D-lactopyranosyloxy) alcool benzélique, sel de sodium (31)



La réduction du composé sulfaté **30** par le NaBH₄ (1.2 equi) dans le méthanol a donné le composé **31** après 3 heures d'agitation à température de la pièce; solide blanc (88%); p.f. : 264 °C; **RMN** ¹H (300 MHz, D₂O): δ (ppm) 7.09 (d, 2H, J = 8.2 Hz, H_{arom}), 7.02 (s, 1H, H_{arom}), 6.91 (d, 1H, J = 8.2 Hz, H_{arom}), 5.07(d, 1H, J = 7.3 Hz, H-1'), 4.51(s, 2H, CH₂.OH), 4.42 (d, 1H, J = 7.9 Hz, H-1') 4.15 (d, 1H, J = 5.6 Hz, H-3'), 3.86-3.92 (m, 2H, H-6ab, et H-6'b), 3.81 (sl, 4H, , OMe, H-6'a), 3.49-3.74 (m, 8H, H-2', H-4, H-4', H-3 et H-5, H-5', H-2). **ESI-HRMS** de C₂₀H₃₀O₁₆S: 558.12; trouvée: 557.11 [M – H].

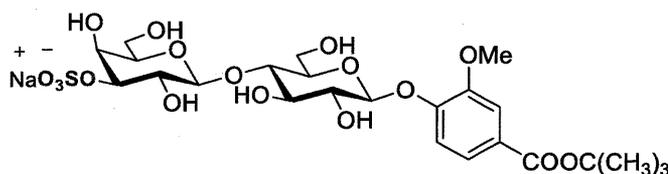
Méthyl-3-méthoxy-4-(3'-*O*-sulfo- β -D-lactopyranosyloxy) benzoate, sodium salt (32)



Suivant la procédure générale de sulfatation, le composé **32** est obtenu à partir du lactoside **18**; p.f. : 244-252 °C; $[\alpha]_D$ -58.76 (c 0.25, méthanol); **RMN** ¹H (300 MHz, D₂O): δ (ppm) 7.41-7.68 (m, 2H, H_{arom}), 7.12(d, 1H, J = 8.5 Hz, H_{arom}), 5.16(d, 1H, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.52 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1') 4.19-4.33 (m, 2H, H-3'et H-4'), 3.87-3.98 (m, 2H, H-6a), 3.83 (m, 7H, H-6b, OMe et CO₂Me), 3.56-3.78 (m, 8H, H-6', H-2', H-4, H-3, H-2, H-5 et H-5'). **RMN** ¹³C{¹H}(75 MHz, D₂O): δ (ppm) 168.2(COOCH₃), 149.4, 147.8, 123.8, 123.6, 114.5, 112.7 (C_{arom}), 102.6 (C-1'), 99.6

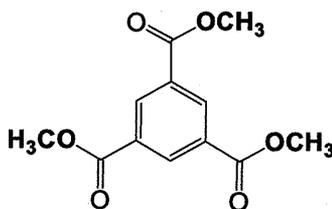
(C-1), 80.0 (C-3'), 77.9 (C-4), 74.9 et 74.0 (C-3,5,5'), 72.3 (C-2), 66.8 (C-2'), 66.8 (C-4'), 60.9 (C-6'), 59.8 (C-6), 55.7 (OMe), 52.5 (CO₂Me). **ESI-HRMS** de C₂₁H₃₀O₁₇S : 586.1204; trouvée: 585.11 [M -H].

Tert-butyl-3-méthoxy-4-(3'-O-sulfo-β-D-lactopyranosyloxy) benzoate, sodium salt (33)



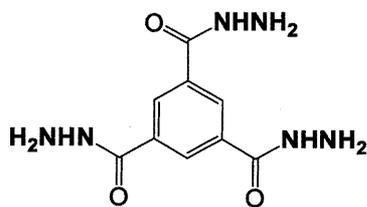
Par la procédure générale de sulfatation, le composé **33** est obtenu à partir du lactoside **20**; solide blanc (quantitatif); p.f.: 218°C; [α]_D-104.75 (c 0.25, méthanol); **RMN** ¹H (300 MHz, D₂O): δ (ppm) 7.34 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H_{arom}), 7.19 (s, 1H, H_{arom}), 6.94 (d, 1H, J = 8.8 Hz, H_{arom}), 5.00 (d, 1H, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.54 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1') 4.28 (ddd, 2H, J = 22.6, 14.7, 4.7 Hz, H-3' et H-4'), 3.78-4.02 (m, 3H, H-6 et H-5), 3.68-3.78 (m, 7H, OMe, H-6', H-2', H-4), 3.54-3.68 (m, 3H, H-2, H-3 et H-5'), 1.44 (s, 9H, 3CH₃). **RMN** ¹³C{¹H} (75 MHz, D₂O): δ (ppm) 166.71 (COO(CH₃)₃), 149.26, 147.86, 125.76, 123.43, 114.46, 112.54 (C_{arom}), 102.64 (C-1'), 99.85 (C-1), 80.08 (C-3'), 77.97 (C-4), 74.09, 74.94 et 74.07 (C-3, 5, 5'), 72.41 (C-2), 66.87 (C-2'), 69.13 (C-4'), 60.96 (C-6'), 59.96 (C-6), 49.15 (C-(CH₃)₃), 27.49 (CH₃). **ESI-HRMS** de C₂₄H₃₆O₁₇S : 628.16; trouvée : 627.59 [M -H].

1,3,5-Tris(methoxycarbonyl) benzène (35)



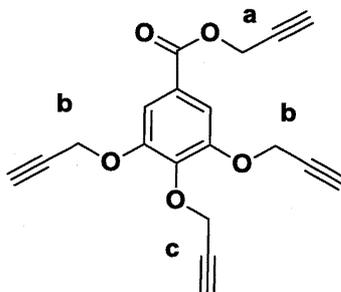
L'acide trimésique (5g, 23.79 mmol) est dissout dans le méthanol 50 mL et le mélange est chauffé et agité à reflux en présence de l'acide sulfurique comme catalyseur (1mL). Après 12h, le volume de l'alcool est réduit sous pression réduite. La phase organique est extraite à l'aide de dichlorométhane, puis lavée à l'aide de solution aqueuse de bicarbonate de sodium et de l'eau, séchée sur sulfate de sodium et concentrée sous pression réduite. Le composé **35** est une poudre blanche, (5.40g, 90%), **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.88 (s, 3H, H_{arom}), 4.00 (s, 9H, 3OMe). **RMN ¹³C{¹H}**(75 MHz, CDCl₃): δ (ppm)165.3 (COOMe), 134.5 et 131.1 (C_{arom}), 52.5 (OMe).

1,3,5-Benzènetricarbohydrazide (36)



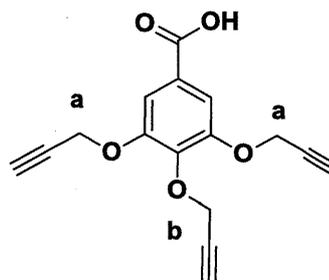
L'ester 35 (2 g, 7.39 mmol) est dissout dans l'éthanol avec un excès d'hydrazine monohydrate (64%),. Après agitation de 36 heures, l'hydrazide **36** est sous forme de solide blanc, récupéré après une filtration et lavage à l'éthanol (1.77g, 88%); **RMN ¹H** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 8.32 (s, 3H, H_{arom}); **RMN ¹³C{¹H}**(75 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm)165.4 (CONHNH₂), 134.2, 128.5 (C_{arom}).

3,4,5-Tris(2-propynyloxy)benzoate (38)



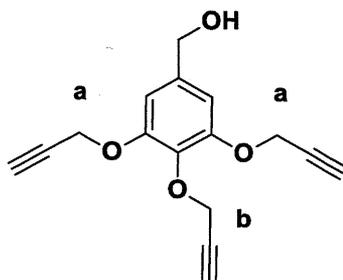
Une solution de l'acide gallique (3 g, 17.63 mmol) dans 27 mL de DMF est agitée. K_2CO_3 (18g, 105.80 mmol) et le bromure de propargyle sont ajoutés, après 18 heures d'agitation, la phase organique est filtrée, puis lavée avec de l'eau 3-4 fois, séchée sur sulfate de sodium et concentrée sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne pour donner le composé **38** solide jaune pâle (3.47, 98%), **RMN 1H** (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.72 (s, 2H, H_{arom}), 4.94 (d, 2H, $J = 2.4$ Hz, CH_{2a}), 4.86 (d, 2H, $J = 2.4$ Hz, CH_{2c}), 4.83 (d, 4H, $J = 2.4$ Hz, CH_{2b}), 2.59 – 2.51 (m, 3H, CH_a et CH_b), 2.48 (t, 1H, $J = 2.4$ Hz, CH_c). **RMN ^{13}C** { 1H } (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 164.9 (CO), 151.3, 141.4, 124.9, 110.1 (C_{arom}), 78.6 (C_{qc}), 77.9 (C_{qb}), 77.6 (C_{qa}), 76.3 (CH_b), 75.7 (CH_c), 75.2 (CH_a), 60.3 (CH_{2c}), 57.1 (CH_{2b}), 52.6 (CH_{2a}).

3,4,5-Tris(2-propynyloxy) acide benzoïque (39)



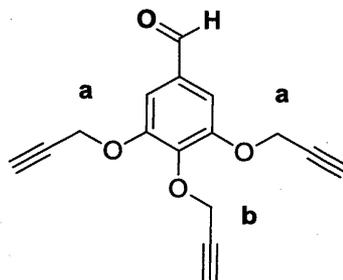
Pour la réduction de la fonction ester, une solution du composé **38** (3.41 g, 10.60 mmol) dans le MeOH/THF/ H_2O (86/29/29ml) et l'hydroxyde de lithium (2.52g, 105.26mmol), est agitée pendant 20 heures. Le mélange réactionnel est neutralisé par la résine H+, puis filtré. Les solvants sont évaporés sous pression réduite. Le composé **39** est un solide blanc (quantitatif) ; **RMN 1H** (300 MHz, $CDCl_3+CD_3OD-d_4$): δ (ppm) 7.43 (s, 2H, H_{arom}), 4.80 (d, 2H, $J = 2.2$ Hz, CH_{2b}), 4.72 (sl, 4H, CH_{2a}), 2.46-2.50 (m, 3H, CH_a et CH_b). **RMN ^{13}C** { 1H } (75 MHz, $CDCl_3+ CD_3OD-d_4$): δ (ppm) 171.9 (COOH), 155.10, 144.83, 130.06, 113.95 (C_{arom}), 82.5 (C_{qb}), 81.5 (C_{qa}), 80.1 (CH_a), 79.6 (CH_b), 64.2 (CH_{2b}), 60.9 (CH_{2a}).

3,4,5-Tris(2-propynyloxy) alcool benzylique (40)



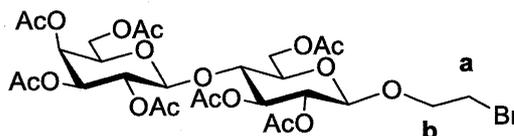
Une solution du composé **38** (700 mg, 2.17 mmol) dans le THF (21 ml) est agitée, puis le LiAlH_4 (170 mg, 4.47mmole) est ajouté. Le mélange est agité pour une période de 45min. Après un traitement de la solution par un volume de 10 ml de Eau/NaOH/Eau ajoutés successivement en goutte à goutte, la phase est filtrée sur la célite et lavée plusieurs fois avec acétate d'éthyle, puis séchée sur sulfate de sodium et évaporée. Le composé **40** est un solide blanc (585mg, 98%); **RMN ^1H** (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}-d_4$): δ (ppm) 6.81 (s, 2H, H_{arom}), 4.80(sl, 4H, CH_{2a}), 4.76 (sl, 2H, CH_{2b}), 4.68 (d, 2H, $J = 4.6$ Hz, CH_2OH), 2.53 (s, 2H, CH_a), 2.48 (s, 1H, CH_b). **RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}-d_4$): δ (ppm) 155.4, 141.7, 139.8, 110.7 (C_{arom}), 82.9 (C_{qa}), 82.3 (C_{qb}), 79.8 (CH_b), 79.2 (CH_a), 68.1 (CH_2OH), 64.1 (CH_{2b}), 60.8 (CH_{2a}).

3,4,5-Tris(2-propynyloxy) benzaldéhyde (41)



L'oxydation d'une solution du composé **40** (250 mg, 0.91 mmol) dans le DCM (20ml), avec le Chlorochromate de pyridinium (PCC), un tamis moléculaire en poudre bien séchée (430 mg) , après agitation de 45min, le DCM est ajoutée, puis le tout est filtré sur la célite et bien lavé avec le DCM. Le solvant est s'évaporé par pression réduite et le composé **41**, solide blanc (185mg, 74%); **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm)9.91 (s, 1H, CHO), 7.33 (s, 2H, H_{arom}), 4.85-4.89 (m, 6H, CH_{2a} et CH_{2b}), 2.57 (s, 2H, CH_a), 2.49 (s, 1H, CH_b). **RMN ¹³C{¹H}** (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 190.6 (CHO), 152.0, 142.3, 132.0, 109.5 (C_{arom}), 78.5 (C_{qb}), 77.8 (C_{qa}), 76.5 (CH_a), 75.8 (CH_b), 60.3 (CH_{2b}), 57.0 (CH_{2a}).

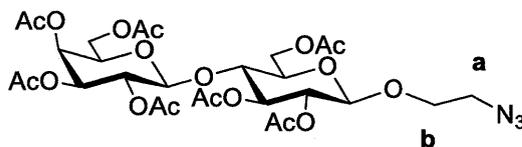
2-Bromoéthyl 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-β-D-lactopyranoside (**42**)



Une solution de bromure lactose octaacétate **13** (2g, 2.948 mmol) dans le DCM (35 mL), le 2-bromoéthanol (1.5 ml, 14.74 mmol) est ajoutée, après agitation le BF₃OEt₂ (3.7 mL, 29.48 mmol) est ajouté goutte à goutte pendant 25 min au mélange réactionnel. Après 12 heures d'agitation, la réaction est complétée et la phase organique a été lavée deux fois par l'eau, séchée sur sulfate de sodium et concentrée sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne. Le composé **42** est un solide blanc (1.09g, 50%); **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm)5.36 (d,1H, *J* = 3.1 Hz, H-4'), 5.22 (t,1H,*J* = 9.2 Hz, H-3), 5.12(dd, 1H, *J* = 10.0, *J* = 8.2 Hz, H-2), 5.03 – 4.86 (m, 2H, H-2' et H-1), 4.99 (dd,1H,*J* = 13.8, *J* = 7.5 Hz, H-3', H-6a et H-1'), 4.24 – 4.03 (m, 4H, H-6b, H-6'ab et H-4), 3.76-3.94 (m, 3H, H-5', CH_{2b}), 3.63 (dd, 1H, *J* = 9.6, *J*=4.6 Hz, H-5), 3.53 – 3.38 (m, 2H, CH_{2a}),1.94-2.22 (21H, 7OAc). **RMN ¹³C{¹H}** (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 170.3, 170.1, 170.0, 169.7, 169.7, 169.0 (CO), 101.0 (C-

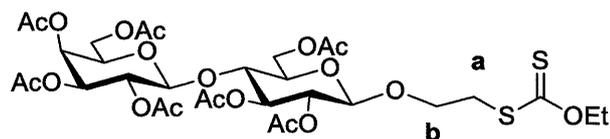
1'), 100.7 (C-1), 76.1 (C-4), 72.7(C-5), 72.6(C-3), 71.4(C-2), 70.9 (C-3'), 70.7(C-5'), 69.7(C-2'), 69.1 (C-4'), 66.6 (CH_{2b}), 61.8(C-6'), 60.8 (C-6), 29.8 (CH_{2a}), 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5.

2-Azidoéthyl 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-β-D-lactopyranoside (43)



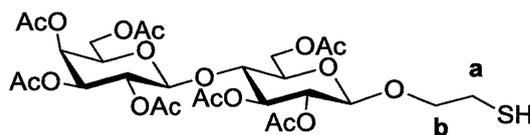
Un mélange de bromoéthyl lactoside **42** (356 mg, 0.478 mmol) et l'azoture de sodium (155 mg, 2.394 mmol) dans 2 mL de DMF fraîchement distillé, le tout est agité sous reflux de 70°C pendant 3 heures. Une extraction est alors effectuée à l'aide d'éther. La phase organique a été séchée avec le sulfate de sodium, puis le solvant a été évaporé sous pression réduite. Le composé **43** est un solide blanc (quantitatif); **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 5.35 (d, 1H, *J* = 3.0 Hz, H-4'), 5.21 (t, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-3), 5.12 (dd, 1H, *J* = 10.0, *J* = 8.1 Hz, H-2), 4.87-5.01 (m, 2H, H-2' et H-1), 4.54 (dd, 1H, *J* = 18.3, *J* = 7.7 Hz, H-3', H-6a et H-1'), 4.05 – 4.20 (m, 3H, H-6b, H-6'ab), 3.95-4.04 (m, 1H, H-4), 3.78-3.95 (m, 2H, CH_{2b}), 3.59-3.75 (m, 2H, CH_{2a}), 3.39-3.56 (m, 1H, H-5'), 3.28 (dt, 1H, *J* = 13.3, *J* = 3.9 Hz, H-5), 1.92-2.22 (21H, 7OAc). **RMN ¹³C{¹H}** (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 170.3, 170.1, 170.0, 169.7, 169.6, 169.0 (CO), 101.0(C-1'), 100.4 (C-1), 76.1 (C-4), 72.8(C-5), 72.7(C-3), 71.4(C-2), 70.9(C-3'), 70.7(C-5'), 69.1(C-2'), 68.6 (C-4'), 66.6 (CH_{2b}), 61.7 (C-6'), 60.7 (C-6), 50.5 (CH_{2a}), 20.8, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5.

2-Éthylxanthogenatoéthyl 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl-β-D-lactopyranoside
(44)



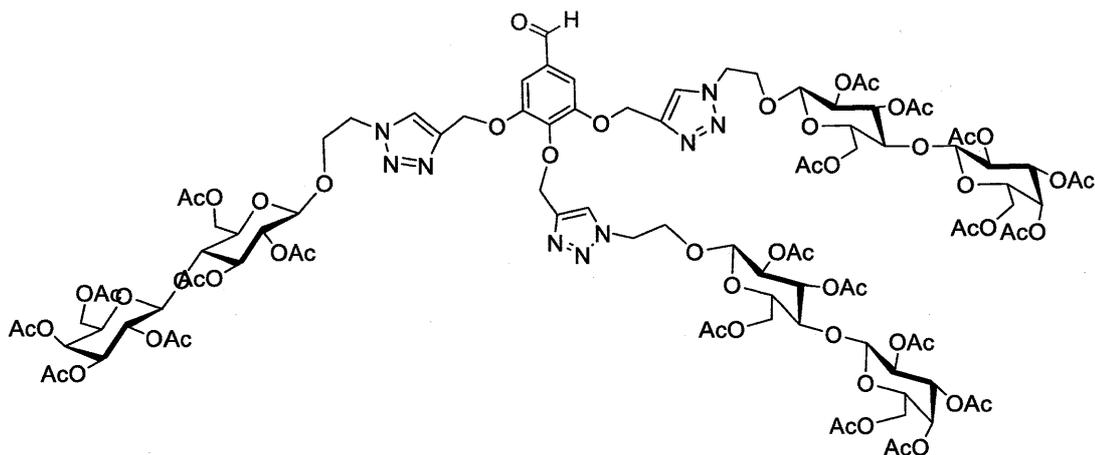
Une solution de l'azide **43** (710 mg, 0.954 mmol) dans l'acétone 4.5 mL, est ajoutée goutte à goutte à une solution en suspension de potassium éthyle xanthate (231 mg, 1.43 mmol) dans 4.5 mL de l'acétone sous atmosphère inerte d'azote. Après 4 heures, une extraction a été effectuée à l'aide du DCM, une solution 5% de HCl, une solution de chlorure de sodium saturée et d'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre et le solvant est évaporé sous pression réduite. le composé **44** est un solide blanc (700 mg, 93%); p.f. : 74°C; **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 5.37 (d, 1H, *J* = 3.0 Hz, H-4'), 5.22 (t, 1H, *J* = 9.4 Hz, H-3), 5.12 (dd, 1H, *J* = 10.0, *J* = 8.0 Hz, H-2), 4.84-5.04 (m, 2H, H-2' et H-1), 4.67 (q, 1H, *J* = 7.1, OCH₂CH₃), 4.52 (dd, 3H, *J* = 12.2, *J* = 7.8 Hz, H-3', H-6a et H-1'), 3.99-4.23 (m, 4H, H-6b, H-6'ab et H-4), 3.88 (dd, 1H, H-5'), 3.71- 3.83 (m, 2H, , CH_{2b}), 3.57-3.71 (m, 1H, H-5), 3.19 – 3.54 (m, 2H, CH_{2a}), 1.91-2.23 (21H, 7OAc), 1.44 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃). **RMN ¹³C{¹H}** (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 214.2 (CS₂OEt), 170.3, 170.2, 170.0, 169.9, 169.7, 169.6, 169.0 (CO), 101.0 (C-1'), 100.6 (C-1), 76.1 (C-4), 72.6 (C-5), 72.6 (C-3), 71.4 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.6 (C-5'), 70.2 (OCH₂CH₃), 69.0 (C-2'), 67.7 (C-4'), 66.6 (CH_{2b}), 61.9(C-6'), 60.8 (C-6), 35.2 (CH_{2a}), 20.8, 20.8, 20.8, 20.7, 20.7, 20.5, 20.4, 13.7 (OCH₂CH₃). ESI-MS de C₃₁H₄₄O₁₉S₂ : 784.19; trouvé: 823.14 [M + K]⁺.

2-Thioéthyl 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetyl- β -D-lactopyranoside (45)



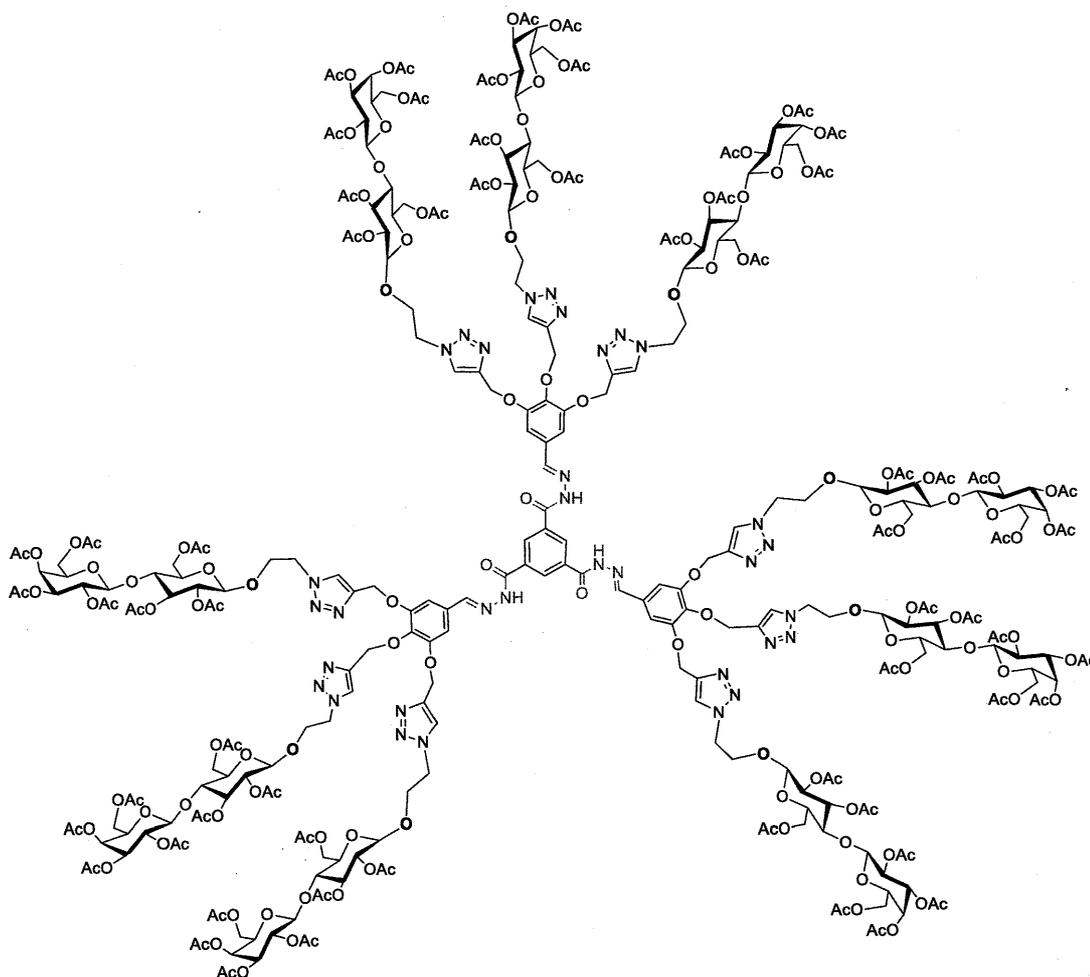
Une solution du composé **44** (500 mg, 0.637 mmol) dans THF (3 mL) est agitée sous atmosphère inerte d'azote, puis le n-butylamine (55 mg, 0.764) est ajouté goutte à goutte. Après 2 heures la réaction est complétée. Le THF est évaporé et le produit obtenu est purifié par chromatographie sur colonne. Le composé **45** est un solide blanc (328 mg, 74%); **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 5.37 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, H-4'), 5.22 (t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-3), 5.13 (dd, 1H, $J = 10.2$, $J = 8.1$ Hz, H-2), 4.88-5.01 (m, 2H, H-2' et H-1), 4.47-4.57 (m, 3H, H-3', H-6a et H-1'), 4.05-4.20 (m, 3H, H-6b et H-6'ab), 3.98 (dt, 1H, $J = 11.7$, 6.0 Hz, H-4), 3.89 (t, 1H, $J = 6.8$ Hz, H-5), 3.82 (t, 1H, $J = 9.3$ Hz, H-5'), 3.56-3.70 (m, 2H, CH_{2b}), 2.60-2.80 (m, 2H, CH_{2a}), 1.92-2.22 (21H, 7OAc), **RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$** (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 170.3, 170.2, 170.1, 169.9, 169.7, 169.6, 169.0 (CO), 100.9 (C-1'), 100.5 (C-1), 76.1 (C-4), 72.6 (C-5 et C-3), 71.5 (C-2), 71.5 (C-3'), 70.9 (C-5'), 69.0 (C-2'), 70.6 (CH_{2b}), 66.6 (C-4'), 24.2 (CH_{2a}), 61.9 (C-6'), 60.8 (C-6), 20.8, 20.8, 20.7, 20.7, 20.5, 20.4.

Le cluster 46



Procédure générale de la chimie click, équivalents d'azoture **43**: 1.2; pour chaque propargyle de l'aldéhyde gallique composé **41**; temps de réaction: 36 heures; solide blanc (81 %); **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.90 (s, 1H, CHO), 7.86 (s, 3H, H-triazole), 7.34 (s, 2H, H_{arom}), 5.36 (sl, 3H, H-4'), 5.27 (s, 6H, 3CH₂), 5.06-5.22 (m, 3H, H-3 et H-2'), 4.94-5.04 (m, 3H, H-3'), 4.78-4.94 (m, 3H, H-2), 4.57-4.66 (m, 6H, CH₂-N), 4.46-4.56 (m, 9H, H-1, H-1' et H-6a), 4.18-4.28 (m, 3H, O-CH₂), 4.04-4.17 (m, 9H, H-6b et H-6'ab), 3.95-4.03 (m, 3H, O-CH₂), 3.87-3.95 (m, 3H, H-5'), 3.82 (t, 3H, *J* = 9.4 Hz, H-4), 3.55-3.73 (m, 3H, H-5), 1.92-2.22 (66H, 21OAc); **RMN ¹³C{¹H}** (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 190.9 (CHO), 170.3, 170.1, 170.0, 169.6, 169.6, 169.6, 169.1, 169.0 (CO), 152.7, 143.9, 132.1, 109.0 (C_{arom}), 143.0, 142.8, 124.9, 124.6 (C_{triazole}), 101.0 (C-1'), 100.4 et 100.2 (C-1), 76.1 et 76.0 (C-4), 72.8 et 72.8 (C-5), 72.5 et 72.4 (C-3), 71.3 et 71.2 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.6 (C-2'), 69.1 (C-5'), 67.7 (O-CH₂), 66.6 (C-4'), 66.4 et 62.9 (OCH₂), 61.7 (C-6'), 60.7 (C-6), 50.0, 49.6 (CH₂-N), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5. **ESI-HRMS** de C₁₀₀H₁₂₉N₉O₅₈ : 2383.74; trouvée : 1193,37 [M + 2H]⁺2.

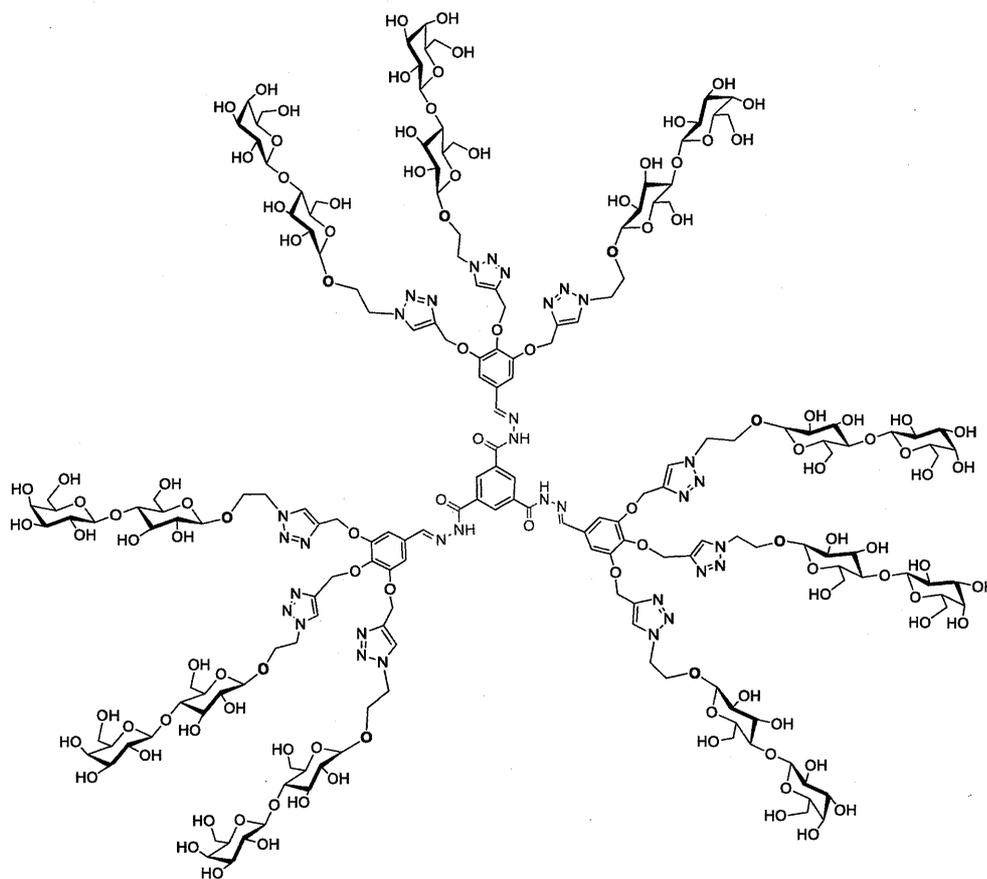
Le glycodendrimère 47



Le cluster **46** (110 mg, 0.0464) et l'hydrazide **36** (3 mg, 0.0119) sont mélangés dans 10 mL d'éthanol et chauffés dans un tube scellé à 95 °C pendant 24 heures. Le solvant est évaporé et le produit obtenu est purifié par colonne de chromatographie sur silice. Le glycodendrimère **47** est un solide blanc jaunâtre (67mg, 77%); p.f. : 182 °C; **RMN** ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 8.67 (s, 3H, CH=N), 8.48 (s, 3H, NH), 8.12 (s, 9H, H-triazole), 7.94 (s, 3H, H_{arom}), 7.27 (s, 6H, H_{arom}), 5.10-5.22 (m, 45H, OCH $_2$, H-4', H-3 et H2'), 4.59-4.86 (m, 54H, H-3', H-2, H-1, H-1' et CH $_2$ -N), 4.32 (d, 9H, $J = 11.2$

Hz, H-6a), 4.21 (sl, 9H, H-6b), 3.99-4.11 (m, 45H, **O-CH₂**, H-6'ab, H-5'), 3.70-3.88 (m, 18H, H-4 et H-5), 1.81-2.09 (198H, 63OAc).

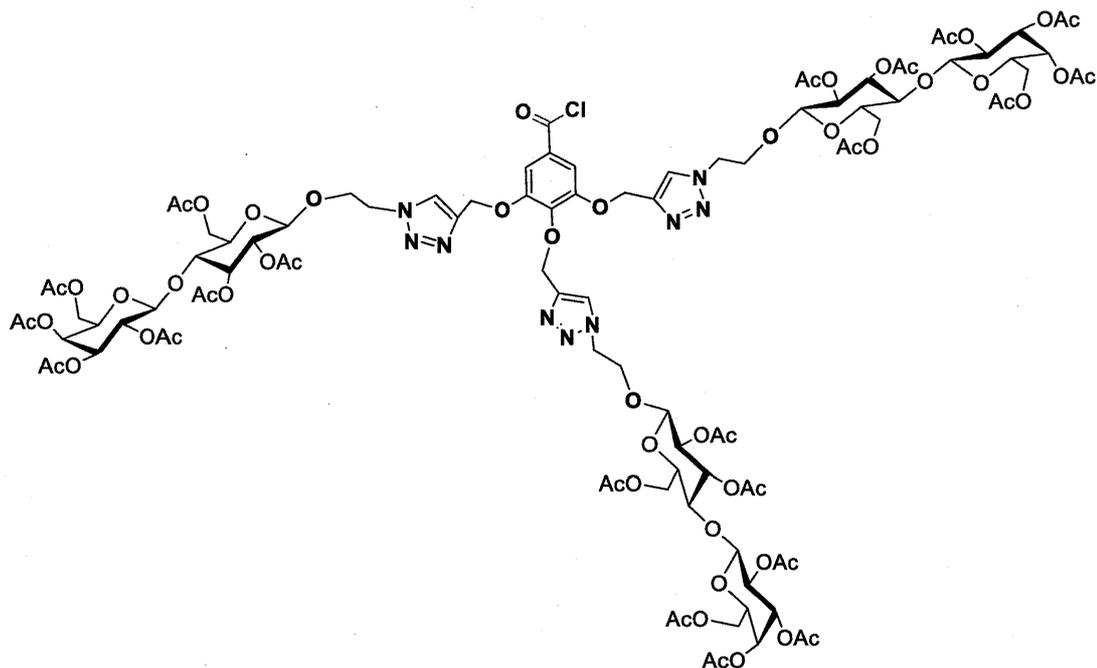
Le glycodendrimère 48



Procédure générale de dé-*O*-acétylation; mais pour le glycodendrimère on a ajouté 1 mL de DCM en milieu réactionnel, solide blanc (94%); p.f. : 186°C; RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆ + D₂O): δ (ppm) 8.70 (s, 3H, CH=N), 8.46 (s, 3H, NH), 8.31(s, 9H, H-triazole), 8.05 (s, 3H, H_{arom}), 7.44 (s, 6H, H_{arom}), 5.27 (s, 9H, H-4'), 5.08 (s, 9H, H-3), 4.55-4.75 (m, 18H, OCH₂), 4.37 (d, 9H, *J* = 7.2 Hz, H₂'), 4.26 (d, 9H, *J* = 5.7 Hz, H-3'), 3.92-4.09 (m, 9H, H-2), 3.83 (d, 9H, *J* = 11.0 Hz, H-1), 3.70 (s, 9H, H-1'), 3.60 (sl, 36H, CH₂-Net H-6ab), 3.31-3.47 (m, 45H, **O-CH₂**, H-6'ab et H-5'), 3.12 (t,

9H, $J = 7.9$ Hz, H-5); **RMN** $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (150 MHz, DMSO- d_6 +D $_2$ O): δ (ppm) 163.4 (CONH), 149.6 (C=N), 166.3 (COCl), 152.5, 138.8, 134.1, 129.9, 107.1 (C_{arom}), 143.5, 142.8, 126.0, 125.8 ($\text{C}_{\text{triazole}}$), 103.7 (C-1'), 102.8 (C-1), 80.1 (C-4), 75.6 (C-5), 75.0 (C-3), 74.8 (C-2), 73.1 (C-3'), 73.0 (C-2'), 70.8 (C-5'), 68.4 (**O-CH $_2$**), 67.9 (C-4'), 65.6 et 62.3 (OCH $_2$), 60.8 (C-6'), 60.5 (C-6), 50.3, 50.2 (**CH $_2$ -N**), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4. **ESI-HRMS** de $\text{C}_{183}\text{H}_{267}\text{N}_{33}\text{O}_{111}$: 4702.63; trouvée: 1177.16 $[\text{M} + 4\text{H}]^{+4}$.

Le cluster 50

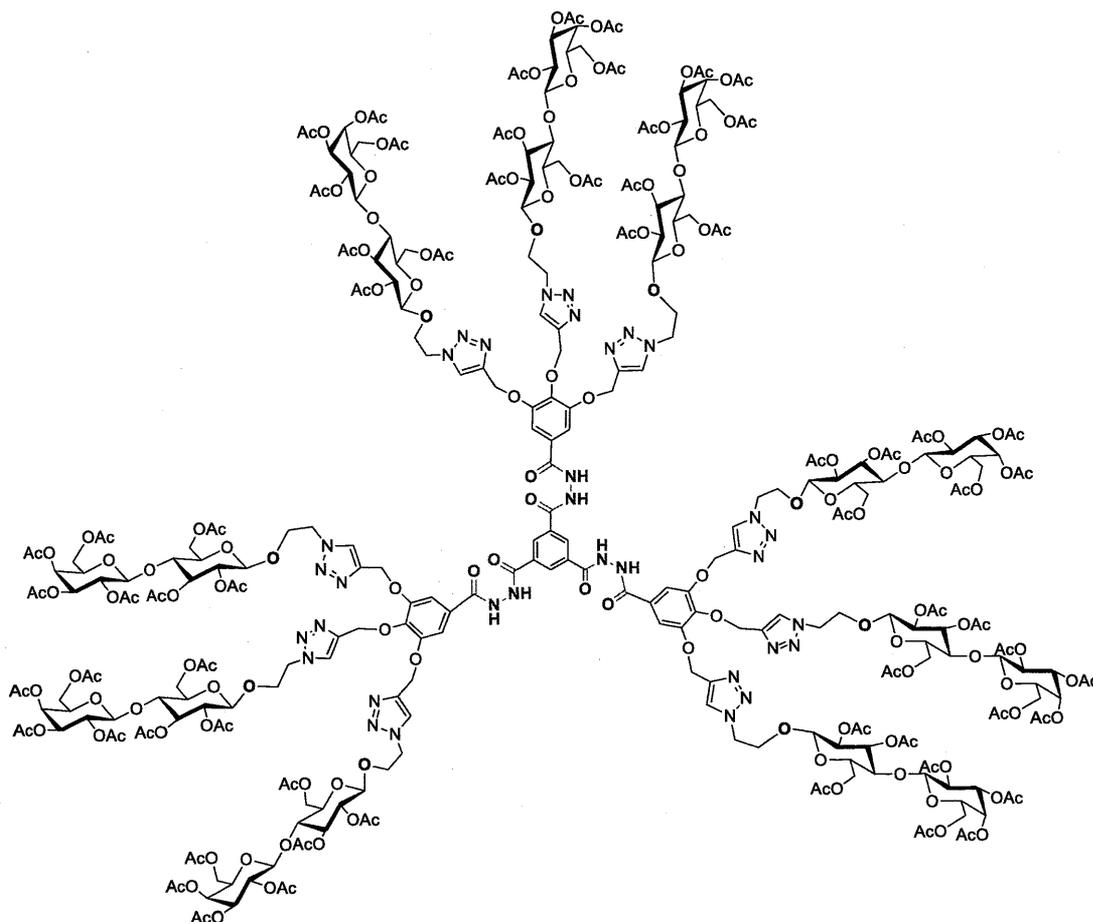


Procédure générale de la chimie click, équivalents d'azoture **43**: 1.2; pour chaque propargyle de l'acide gallique composé **39**; temps de réaction: 36 heures; solide blanc (81 %); le cluster obtenu (348 mg, 0.144 mmol) est purifié par chromatographie sur colonne de silice puis réagi avec le chlorure d'oxalyle (1 mL, 1.44 mmol) dans 10 mL de DCM et une goutte de DMF. Après agitation de 24 heures le produit est obtenu après évaporation à pression réduite, le cluster **50**, solide blanc (78%); **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.87 (s, 3H, H-triazole), 7.47 (s, 2H, H_{arom}), 5.36 (sl, 3H, H-4'), 5.24

(s, 6H, 3CH₂), 5.06 -5.21 (m, 3H, H-3 et H-2'), 4.99 (d, 3H, $J = 10.4$ Hz, H-3'), 4.88 (dd, 3H, $J = 17.7, 8.8$ Hz, H-2), 4.57-4.70 (m, 6H, CH₂-N), 4.47-4.57(m, 9H, H-1, H-1' et H-6a), 4.17-4.28 (m, 3H, **O-CH₂**), 4.06-4.17 (m, 9H, H-6b et H-6'ab), 3.96-4.05 (m, 3H, **O-CH₂**), 3.86 – 3.96 (m, 3H, H-5'), 3.82 (t, 3H, $J = 9.2$ Hz, H-4), 3.57 – 3.73 (m, 3H, H-5), 1.85-2.24 (66H, 21OAc); **RMN** ¹³C{¹H} (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 170.3, 170.1, 170.0, 169.6, 169.0, (CO), 166.3 (COCl), 151.9, 141.6, 125.7, 109.2 (C_{arom}), 144.1, 143.1, 124.8, 124.5 (C_{triazole}), 101.0 (C-1'), 100.4 et 100.0 (C-1), 76.2, 76.1 (C-4), 72.8, 72.7 (C-5), 72.5, 72.4 (C-3), 71.3, 71.2 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.6 (C-2'), 69.0 (C-5'), 67.7 (**O-CH₂**), 66.6 (C-4'), 63.0 (OCH₂), 61.8 (C-6'), 60.7 (C-6), 50.0, 49.5 (CH₂-N), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4.

Le glycodendrimère **51**

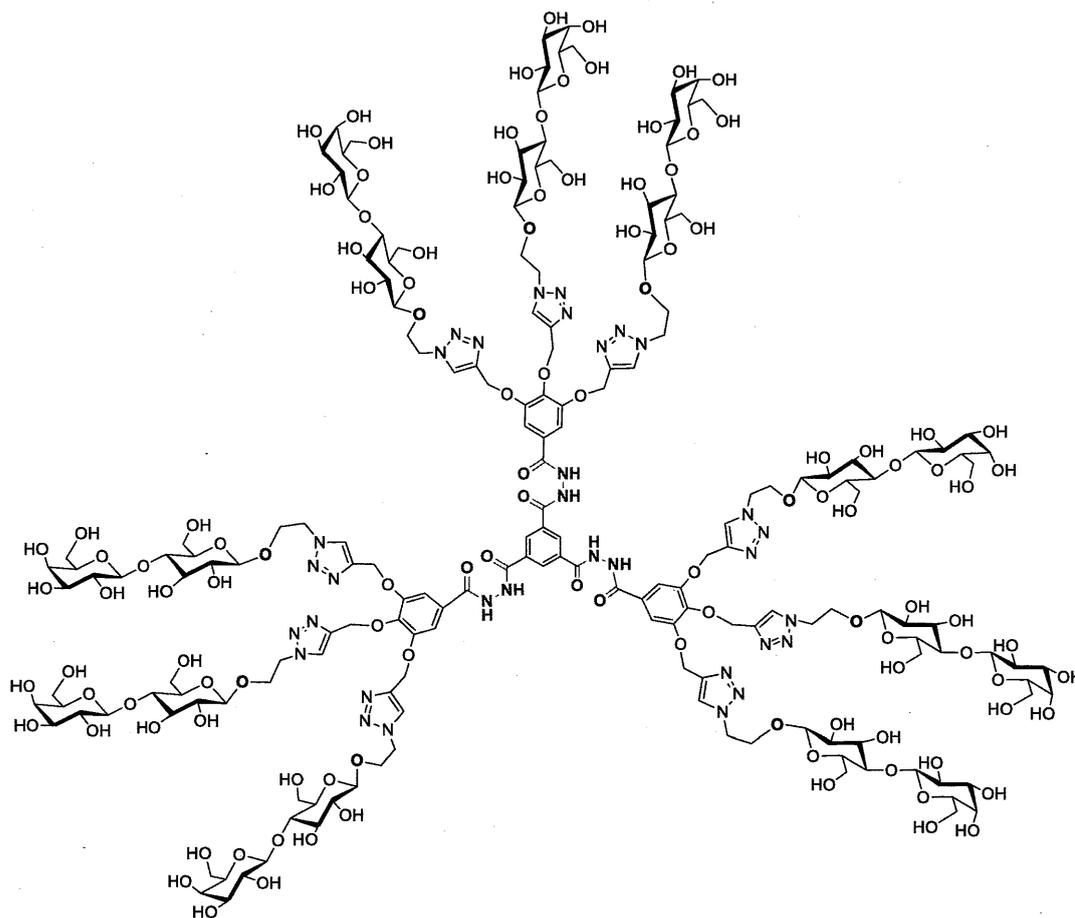
Le cluster **50** (112 mg, 0.0464) et l'hydrazide **36** (3 mg, 0.0119) sont mélangés dans 2 mL de NMP, le tout est agité pendant 24- 36 heures. Le solvant est débarrassé par l'ajout des petits morceaux de glaces, suivie par filtration et une extraction avec le DCM. Le composé **51** un solide de couleur blanc jaunâtre (50mg, 90%); p.f. : 137°C; **RMN** ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.07 (s, 9H, H-triazole), 7.90 (s, 3H, H_{arom}), 7.45 (s, 6H, H_{arom}), 5.12-5.27 (m, 27H, OCH₂, H-4'), 5.03-5.11 (m, 18H, H-3 et H-2'), 4.72-4.87 (m, 27H, H-3', H-2, H-1, 4.44-4.70 (m, 27H, H-1' et CH₂-N), 4.32 (d, 9H, $J = 11.5$ Hz, H-6a), 4.22 (t, 18H, **O-CH₂**), 4.13-3.96 (m, 36H, H-6b, H-6'ab, H-5'), 3.71-3.91 (m, 18H, H-4 et H-5), 1.77-2.14 (198H, 63OAc).



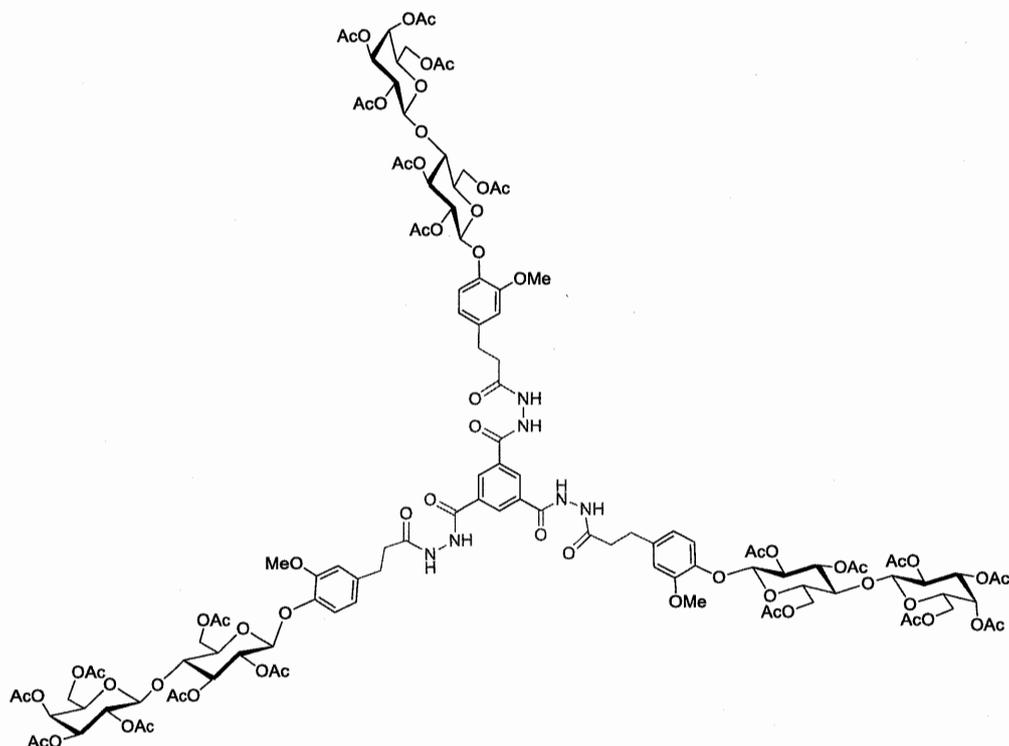
Le glycodendrimère 52

Procédure générale de dé-*O*-acétylation; mais pour le glycodendrimère on a ajouté 1 mL de DCM, solide blanc (quantitatif); p.f. : 173 °C, **RMN ¹H** (300 MHz, D₂O): δ (ppm) 8.06 (s, 9H, H-triazole), 7.77 (s, 3H, H_{arom}), 7.41 (s, 6H, H_{arom}), 5.16 (s, 9H, H-4'), 5.05 (s, 9H, H-3), 4.49 (s, 9H, H-2'), 4.31 (d, 9H, *J* = 7.0 Hz, OCH₂), 4.15-4.25 (m, 9H, H-3'), 3.97-4.13 (m, 9H, H-2), 3.76-3.96 (m, 27H, CH₂-N et H-1), 3.53-3.76 (m, 54H, O-CH₂, H-6ab, H-1' et H-5'), 3.34-3.53 (m, 36H, H-6'ab, H-4 et H-5). **ESI-HRMS** de C₁₈₃H₂₆₇N₃₃O₁₁₄ : 4750,61; trouvée: 1532.52 [M +4H]⁺². Cette masse trouvée est correspondante à un pic de fragment de base qui montre le lien formé acylhydrazone, un lien très fragile à l'ionisation, c'est pour cette raison on n'a pas pu trouver le pic de

masse complète qui est disparait à cause de la fragmentation rapide de tout la masse utilisée.



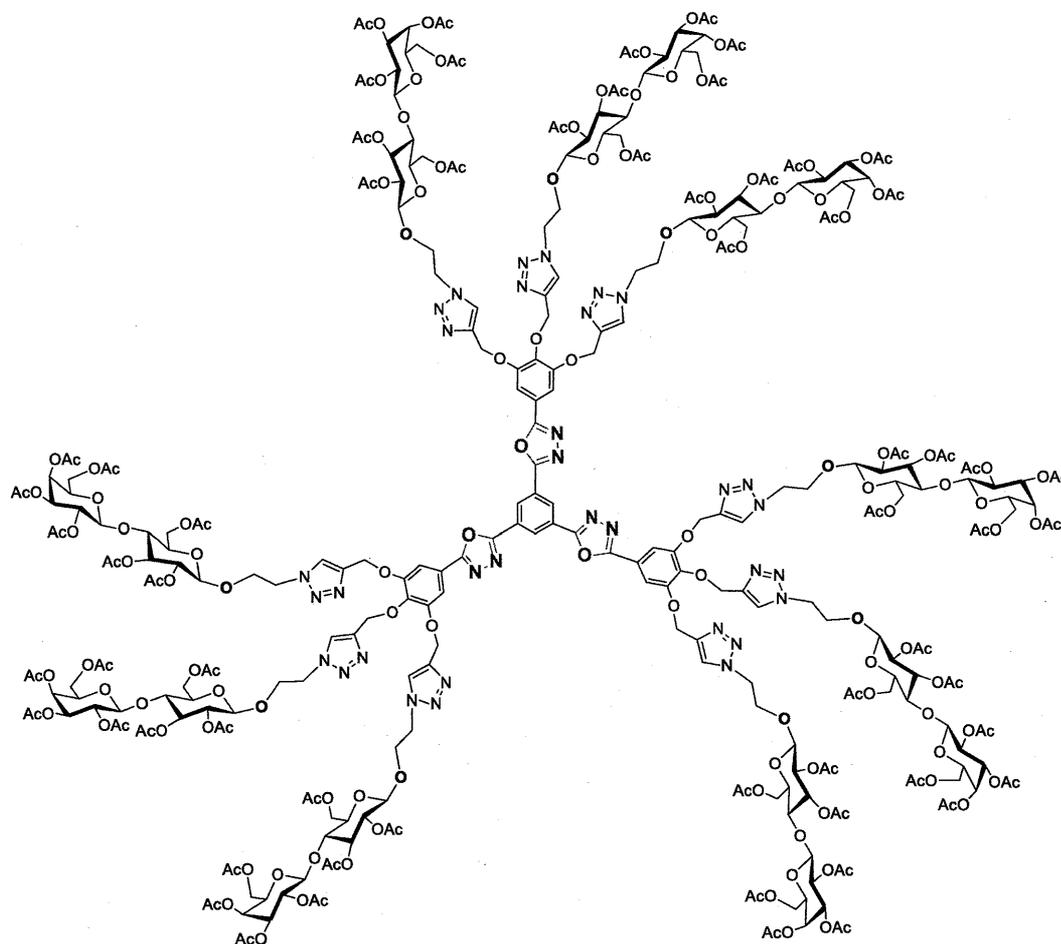
Le glycodendrimère 53



Le lactopyranoside **28** (81 mg, 0.1 mmol), l'hydrazide **36** (7 mg, 0.027 mmol), EDC (21 mg, 0.1 mmol) et le HOBt (15mg, 0.1 mmol), sont dissout dans 2 mL de NMP et agités pendant 36 heures. Les mêmes traitements que le glycodendrimère **51** sont effectués. Le glycodendrimère **53** est un solide blanc (29 mg, 43%); p.f. : 168 °C; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.09 (s, 3H, CONH), 9.18 (s, 3H, CONHNH), 8.18 (s, 3H, H_{arom}), 6.93 (s, 3H, H_{arom}), 6.76 (s, 3H, H_{arom}), 6.68 (s, 3H, H_{arom}), 5.38 (d, 3H, $J = 2.9$ Hz, H-4'), 5.27 (t, 3H, $J = 9.0$ Hz, H-3), 5.12 (dd, 6H, H-2 et H-2'), 4.96-5.07 (m, 3H, H-1), 4.87 (d, 3H, $J = 7.7$ Hz, H-3'), 4.55 (d, 3H, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.49 (d, 3H, $J = 11.7$ Hz, H-6a), 4.12 (dd, 9H, $J = 17.6, 9.1$ Hz, H-6b, H-6'ab), 3.94-3.99 (m, 3H, H-4), 3.84-3.89 (m, 3H, H-5'), 3.75 (sl, 12H, OMe et H-5), 2.89 (sl, 6H, $\text{CH}_{2\text{a}}$), 2.63 (sl, 6H, $\text{CH}_{2\text{b}}$), 1.85-2.32 (66H, 21OAc). **RMN** $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (75 MHz, CDCl_3): (ppm) 173.9 (CONH), 170.5, 170.4, 170.1, 170.0, 169.8, 169.1 (CO), 164.1 (CONH \emptyset), 150.3,

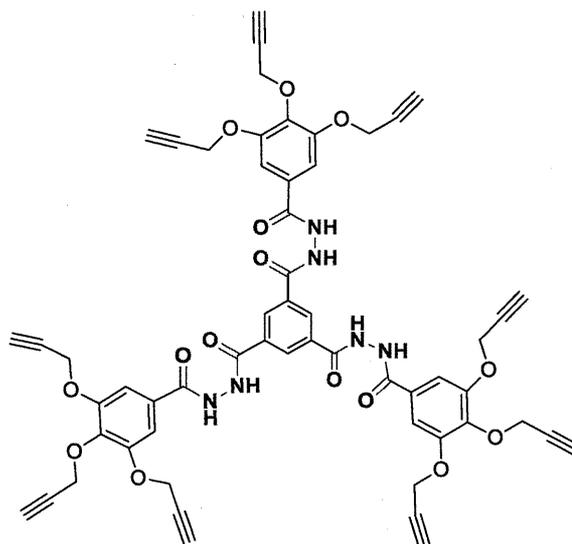
144.5, 136.9, 129.9, 120.3, 119.8, 113.0 (C_{arom}), 101.0 ($C-1'$), 100.5 ($C-1$), 76.1 ($C-4$), 2.7 ($C-5$), 72.6 ($C-3$), 71.5 ($C-2$), 70.9 ($C-3'$), 70.6 ($C-5'$), 69.1 ($C-2'$), 66.6 ($C-4'$), 61.9 ($C-6'$), 60.7 ($C-6$), 56.0 (OMe), 29.7 ($C-H_a$), 30.9 ($C-H_b$), 20.8, 20.6, 20.5. **ESI-HRMS** de $C_{117}H_{144}N_6O_{63}$: 2640.82; trouvée: 2642.83 $[M + H]^+$.

Le cluster 54



Le cluster **54** est déprotégé pour être mieux identifié, la Procédure générale de dé-*O*-acétylation; mais on a ajouté 1mL de DCM. Le cluster obtenu est un solide blanc (quantitatif); **ESI-HRMS** a montré le succès de la réaction de cyclisation de l'oxadiazole, $C_{183}H_{261}N_{33}O_{111}$: 4696,58; trouvée: 1176.65 $[M + 4H]^+$.

Le cluster 56



Le chlorure d'acide propargylé **55** est synthétisé à partir de l'acide **39** et le chlorure d'oxalyle. Le composé **55** (quantitatif) est traité (216 mg, 0.714) avec l'hydrazide **36** (50 mg, 0.198) avec 1.5 mL de NMP. Le composé **56** est purifié avec la même procédure décrite auparavant. Le produit obtenu est un solide beige; p.f. : 134 °C; **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 10.90 (s, 3H, NH), 10.61 (s, 3H, NH), 8.67 (s, 3H, H_{arom}), 7.43 (s, 6H, H_{arom}), 4.88 (d, 12H, *J* = 1.6 Hz, OCH₂), 4.75 (d, 6H, *J* = 2.3 Hz, OCH₂), 3.64 (s, 6H, CH), 3.49 (t, *J* = 2.4 Hz, 3H, CH). **RMN** ¹³C{¹H} (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 170.5 et 169.6 (CONH), 155.3, 144.2, 136.5, 134.2, 131.0, 111.9 (C_{arom}), 82.4 et 81.8 (CH), 81.7 et 81.3 (C_q), 64.1 et 61.0 (OCH₂). **ESI-HRMS** de C₅₇H₄₂N₆O₁₅: 1050,27; trouvé: 1051.27 [M + H]⁺. On n'a pas encore complété les identifications du glucodendrimère **57** présenté dans le chapitre III pour le présenter dans la partie expérimentale.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

La catalyse par transfert de phase nous a permis d'installer stéréoselectivement des aglycones *O*-aryles en position anomérique sur l'acétobromolactose avec de bons rendements. Dans certains cas, la compétition entre la réaction S_N2 et E2 était présente et la formation d'un produit secondaire d'E2 nous a causé des problèmes de rendement et de purification. Cependant, les structures des produits obtenus sont intéressantes pour faire d'autres réactions et avoir plus de variété dans la série des ligands monovalents pour les tests biologiques. L'utilisation de l'oxyde de dibutylétain a conduit à des produits de sulfatation régiosélectifs avec des rendements de 80-91 %. Ces lactosides possèdent une fonction sulfate. Ce choix est motivé par le fait que la plupart des galectines contiennent une fonction cationique (Arg) complémentaire provenant d'un résidu arginine dans le but d'améliorer l'affinité des ligands synthétisés avec les galectines.

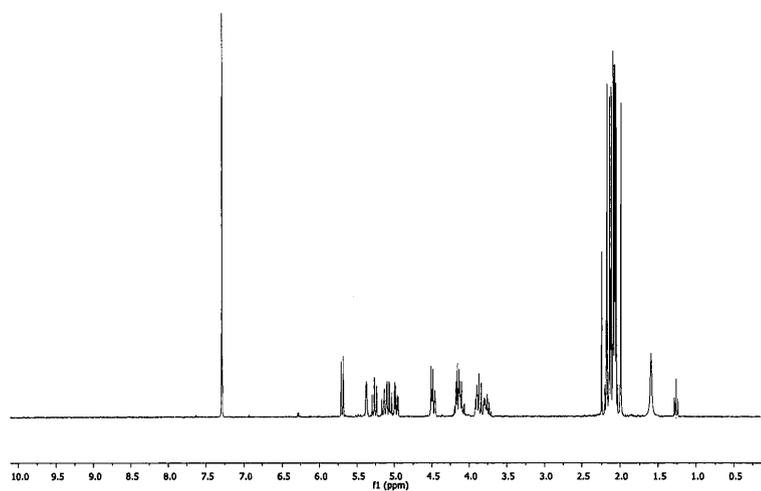
Nous avons synthétisé une variété des glycodendrimères qui contiennent des cœurs avec des cycles aromatiques benzéniques et hétérocycliques. D'autres cœurs comme l'acylhydrazine et hydrazone sont également très intéressants vue les exemples cités dans le chapitre I. Les squelettes synthétisés sont nouveaux sur l'échelle dendritique. L'utilisation de la méthodologie de synthèse de «click chemistry » nous a permis, grâce au catalyseur de cuivre (I), d'intégrer le cycle 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué de manière régiospécifique et d'obtenir des rendements généralement très bons. L'utilisation de la chimie de thiol-yne revêt un grand intérêt pour faciliter la formation du cluster et intégrer des fonctions thio-éthers qui sont intéressantes dans nos structures. L'intégration des oxadiazoles est un élément majeur dans ce projet. En effet, pour la première fois, ce genre d'hétérocycles est intégré dans des squelettes dendritiques.

Nous nous sommes basés sur plusieurs avantages de ce choix, et nous espérons bien que les tests biologiques aboutiront à de nouveaux résultats dans ce domaine de recherche sur les galectines.

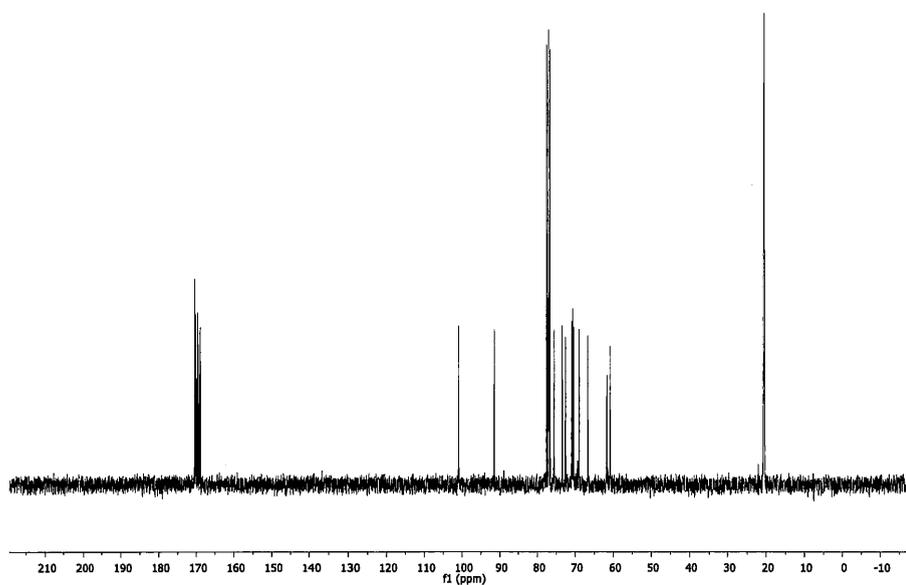
La mesure des interactions galactines/ analogues du méthyle vanillate lactoside et son analogue sulfaté en O-3` a été évaluée par la technique de résonance plasmonique de surface (SPR). Les résultats ont montré une inhibition sélective avec la galectine-1 deux fois plus forte qu'avec la galectine-3. Ces premiers résultats ont été publiés avec d'autres travaux de notre groupe, en collaboration avec le groupe du professeur Gabius au journal *Histochem Cell Biol.* 2017. Ils sont très encourageants pour tester le reste des ligands monovalents et beaucoup plus intéressants avec les nouveaux squelettes multivalents.

APPENDICE A

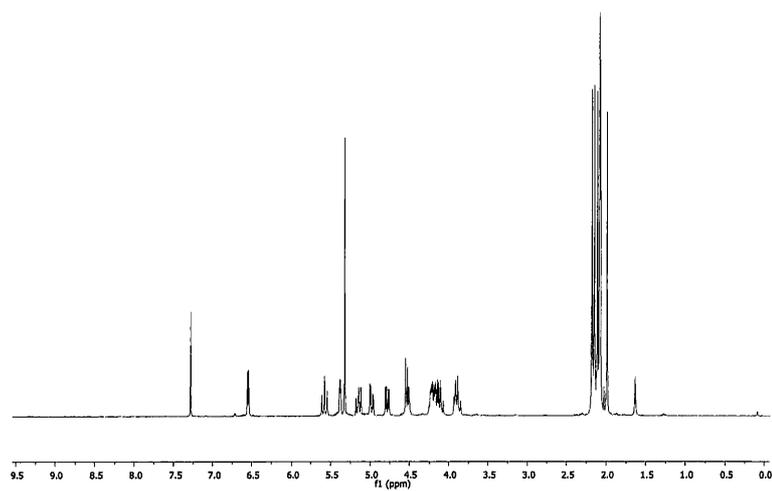
LES SPECTRES RMN DE TOUS LES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS



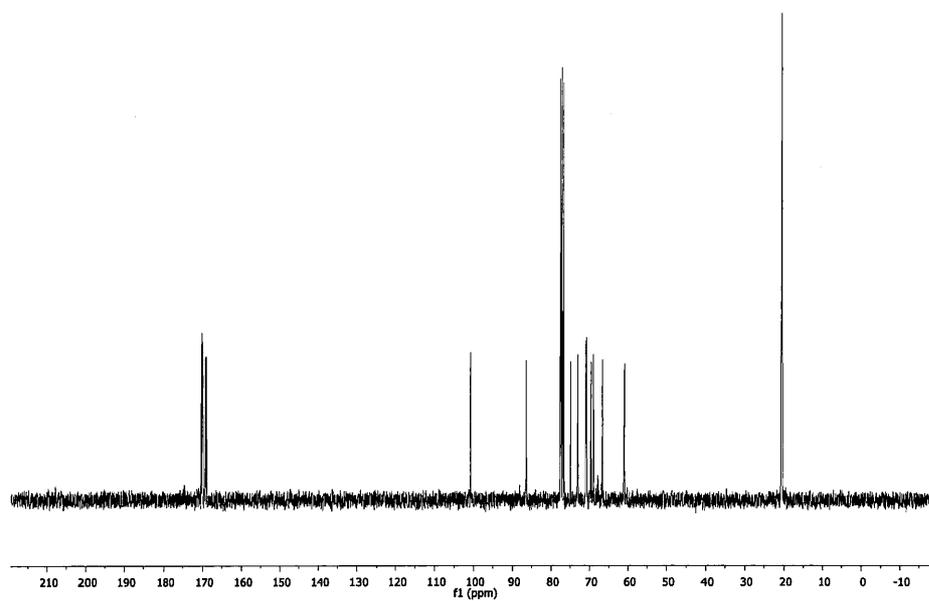
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **13**.



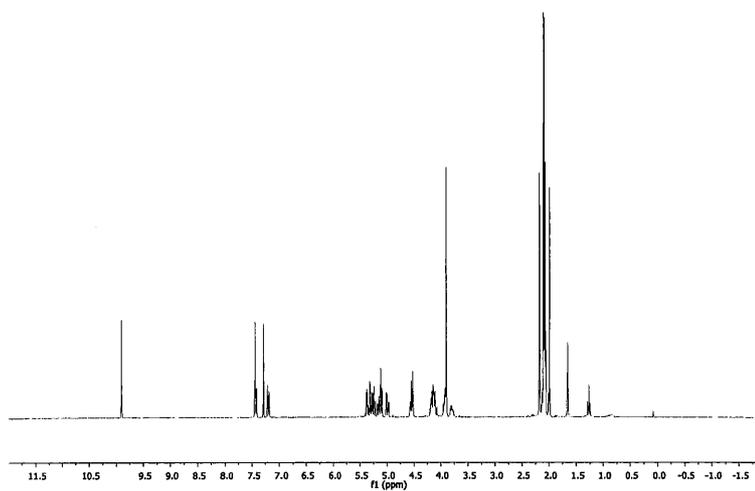
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **13**.



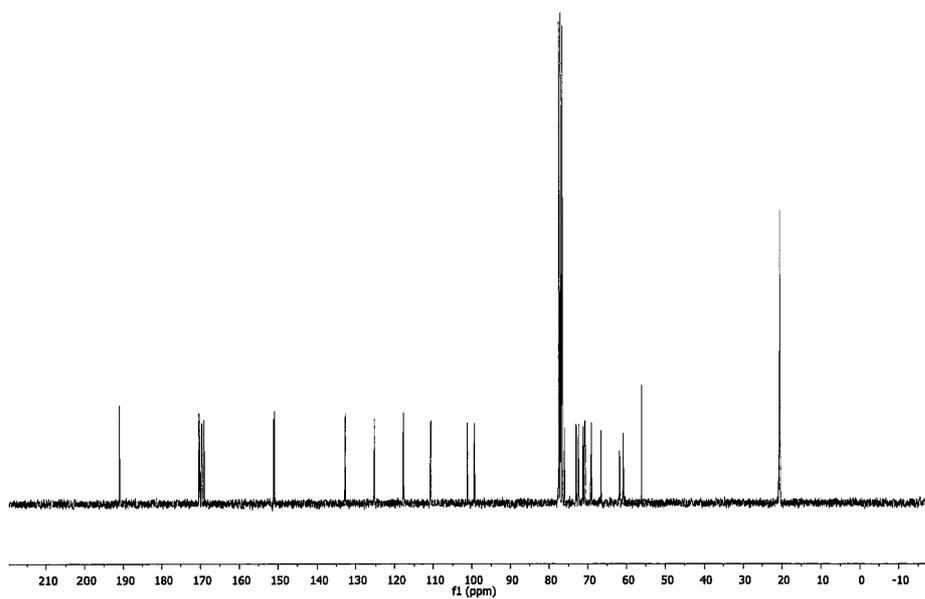
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **14**.



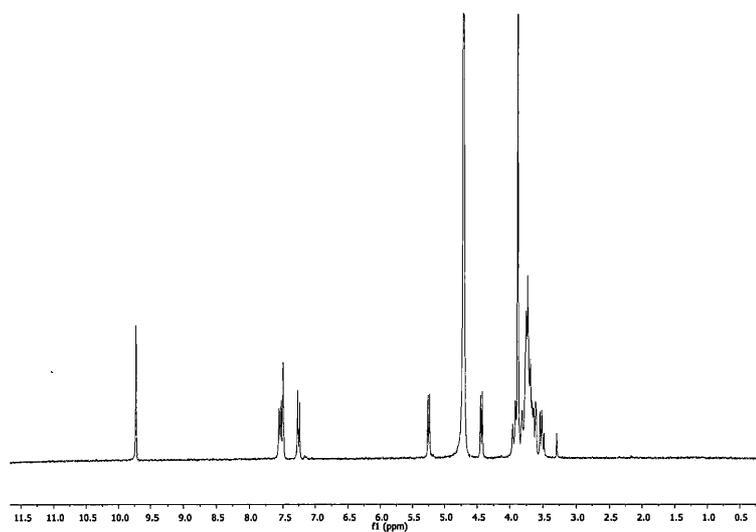
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **14**.



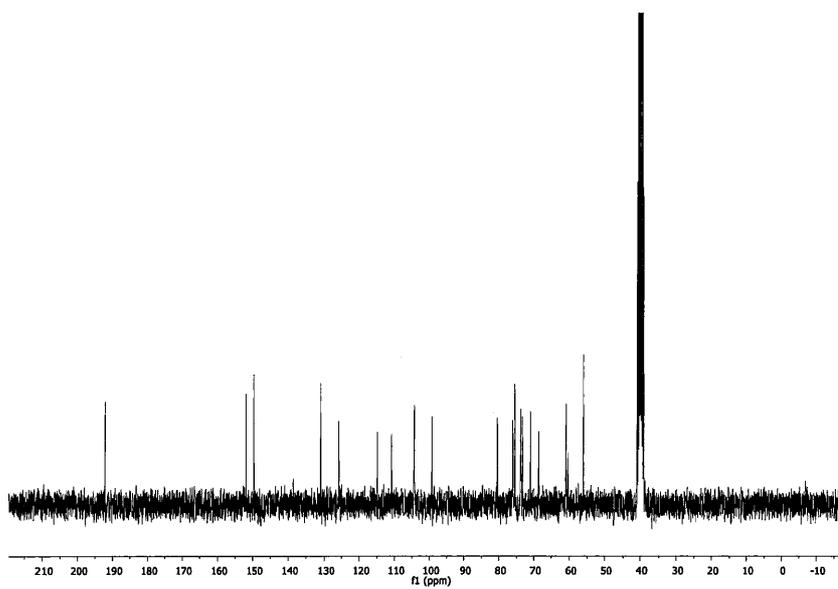
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **15**.



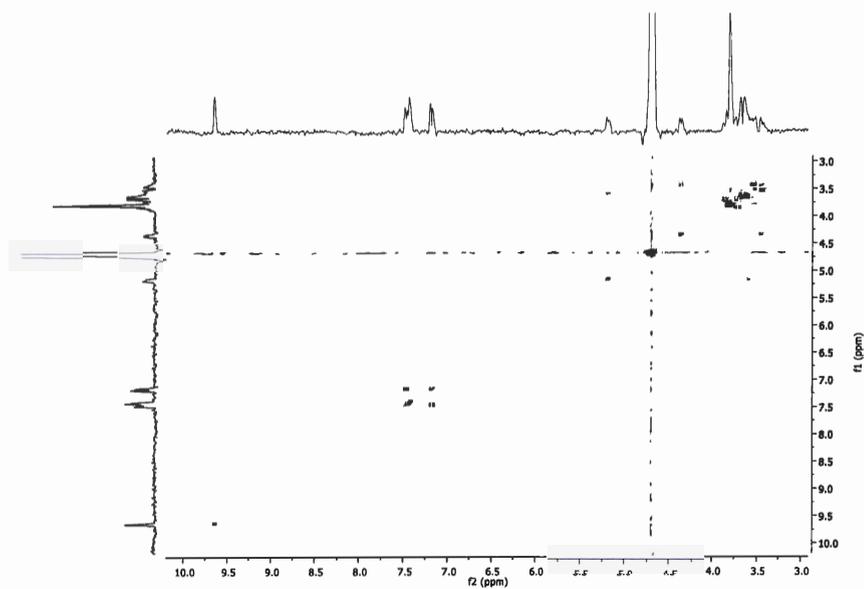
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **15**.



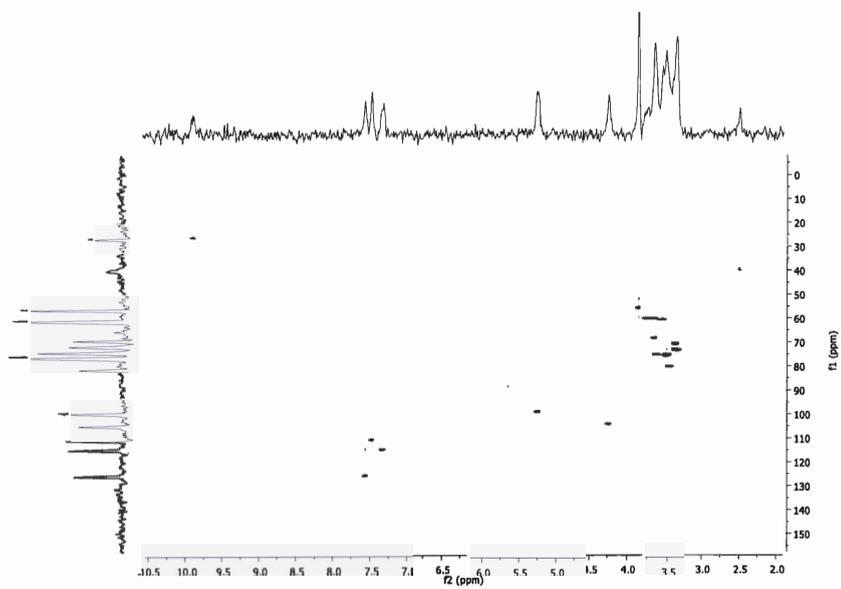
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **16**.



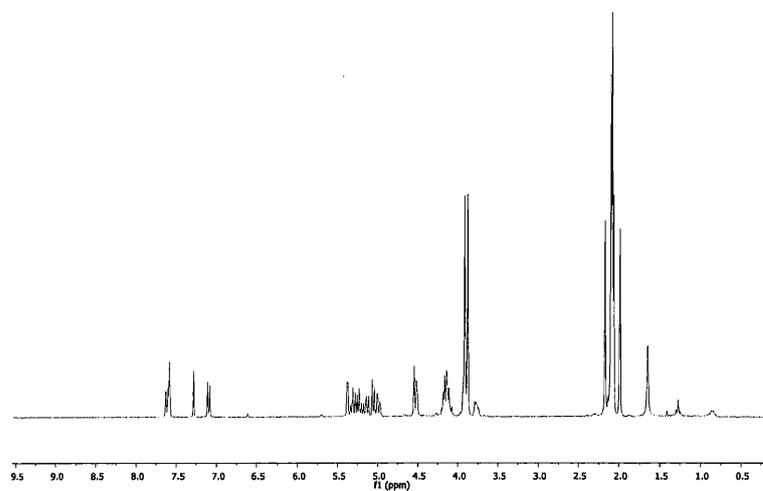
Spectre RMN ^{13}C (75MHz, DMSO-d_6) du composé **16**.



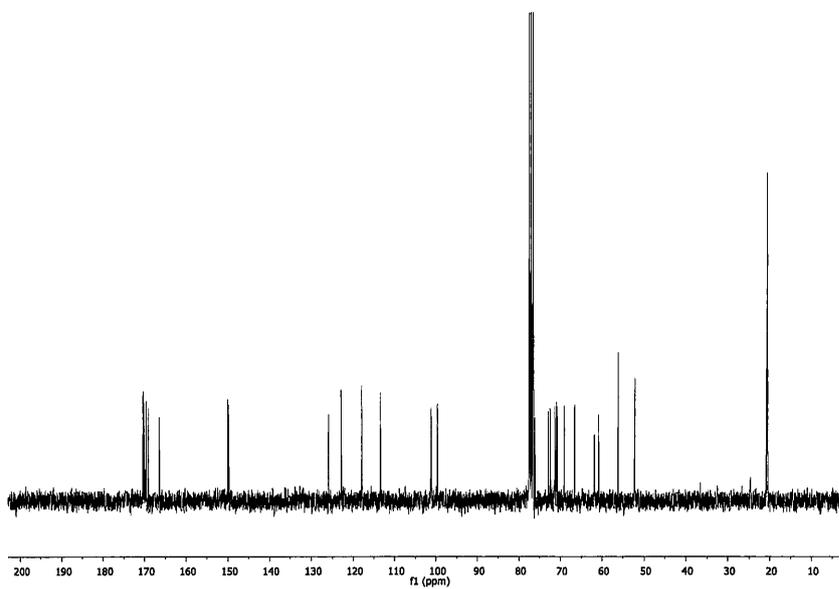
Spectre RMN (300 MHz, D₂O) Cosy du composé 16.



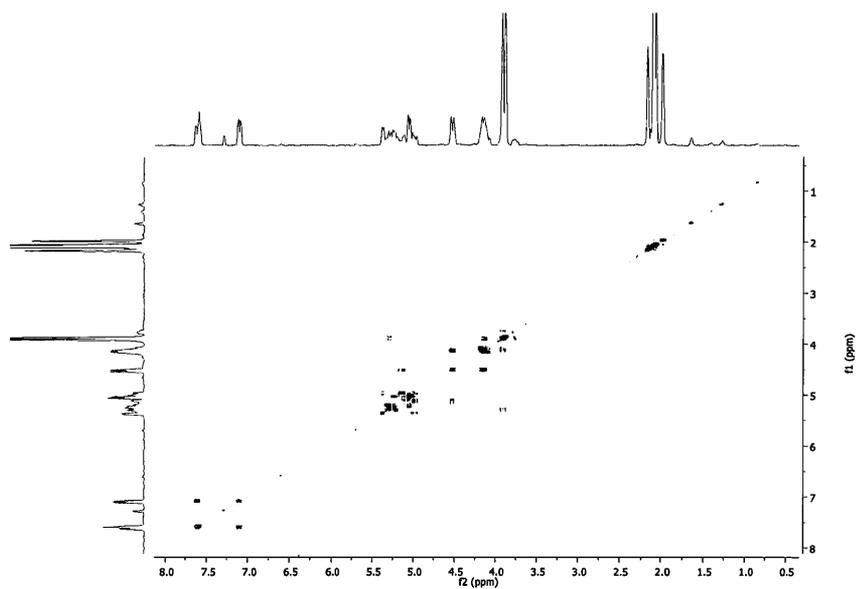
Spectre RMN Hsqc (75 MHz, DMSO-d₆) du composé 16.



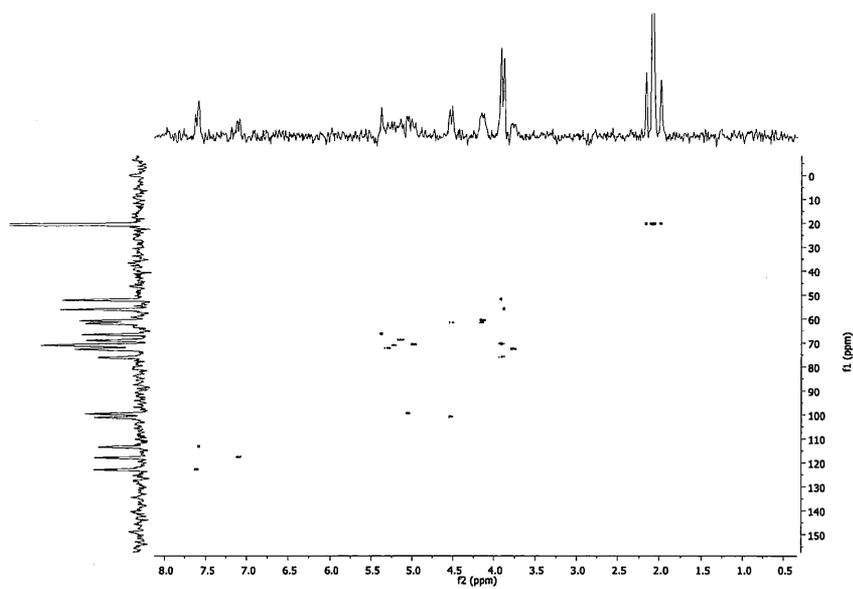
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **17**.



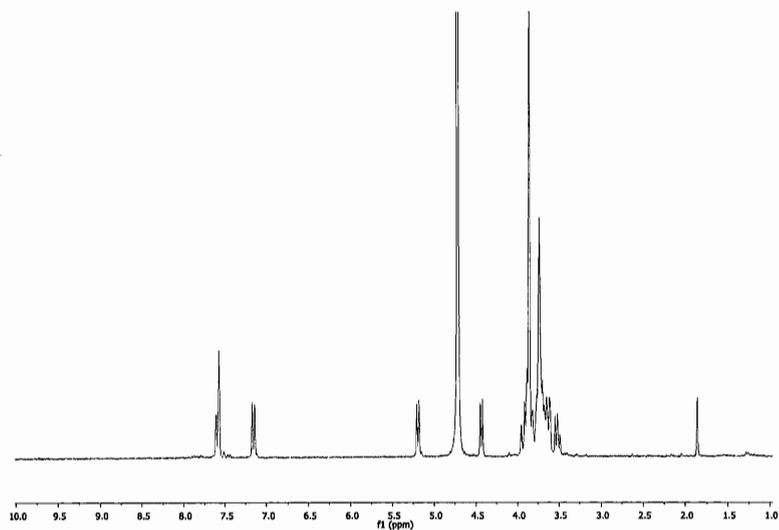
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **17**.



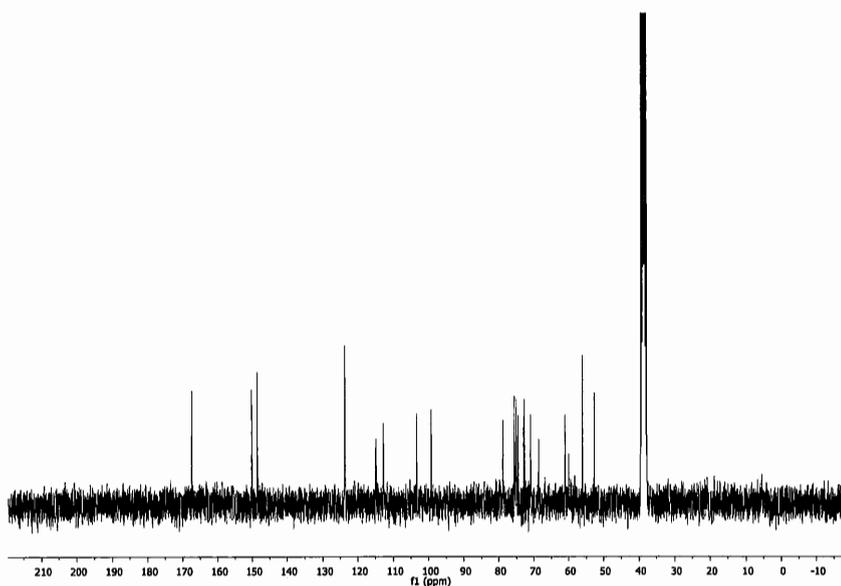
Spectre RMN Cosy (300 MHz, CDCl₃) du composé **17**.



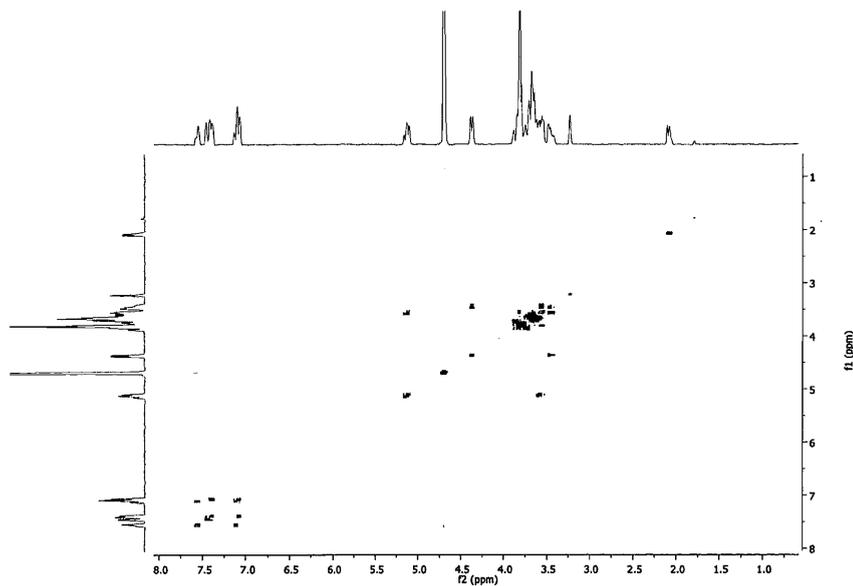
Spectre RMN Hsqc (75 MHz, CDCl₃) du composé **17**.



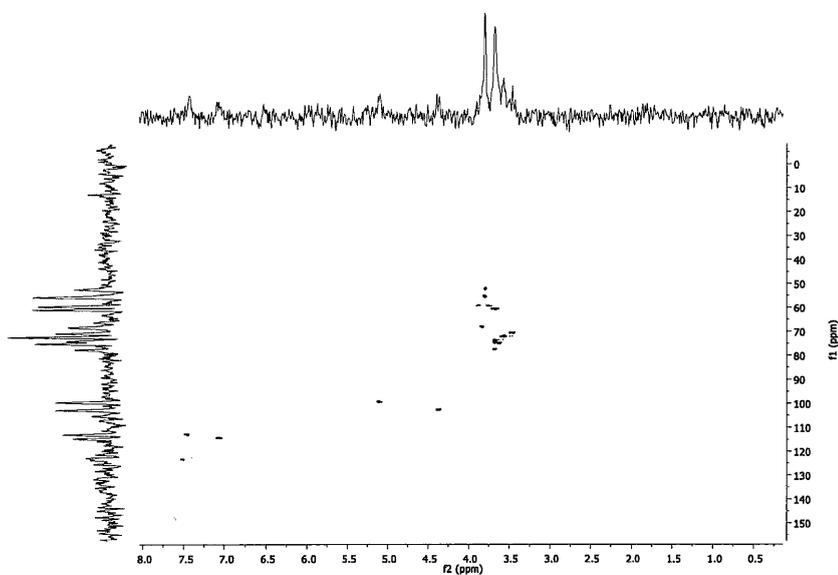
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **18**.



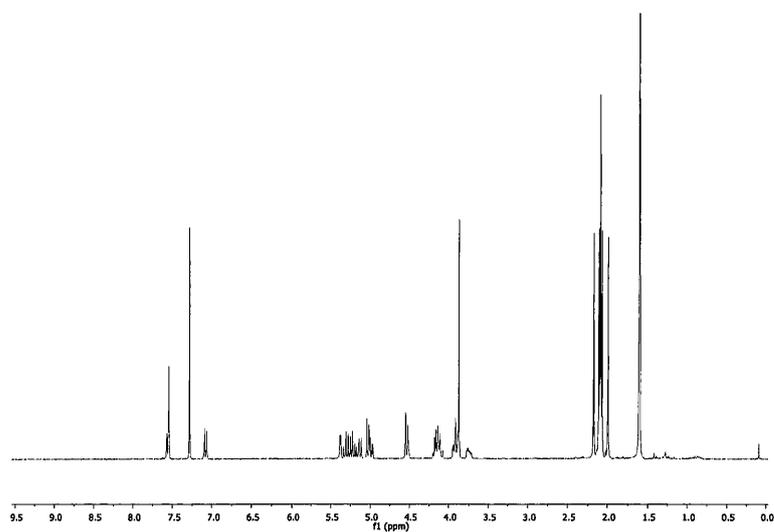
Spectre RMN ^{13}C (75MHz, DMSO-d_6) du composé **18**.



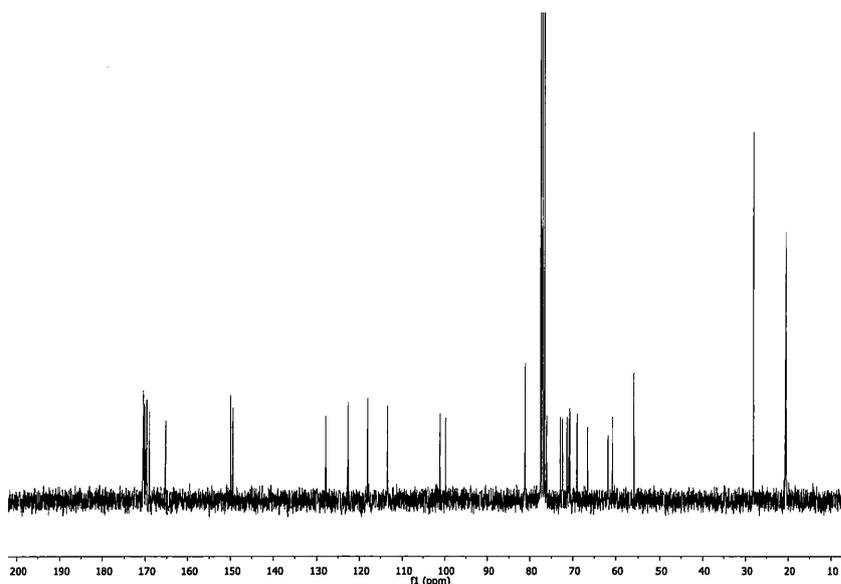
Spectre RMN Cosy (300 MHz, D₂O) du composé **18**.



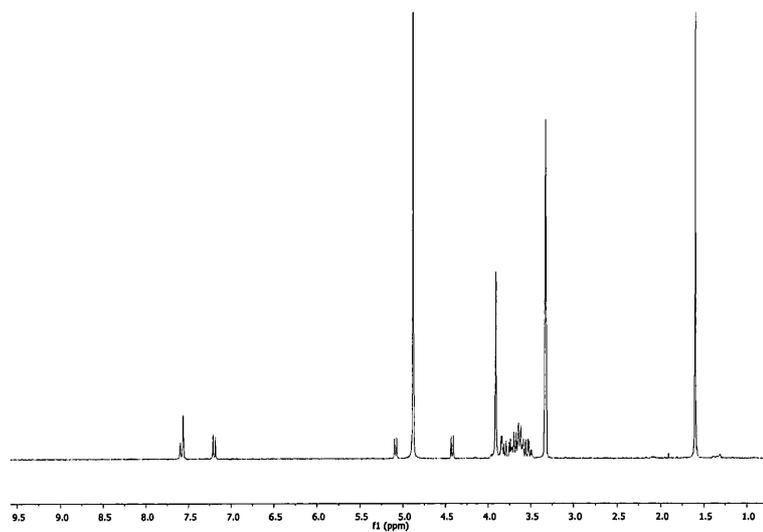
Spectre RMN Hsqc (75 MHz, D₂O) du composé **18**.



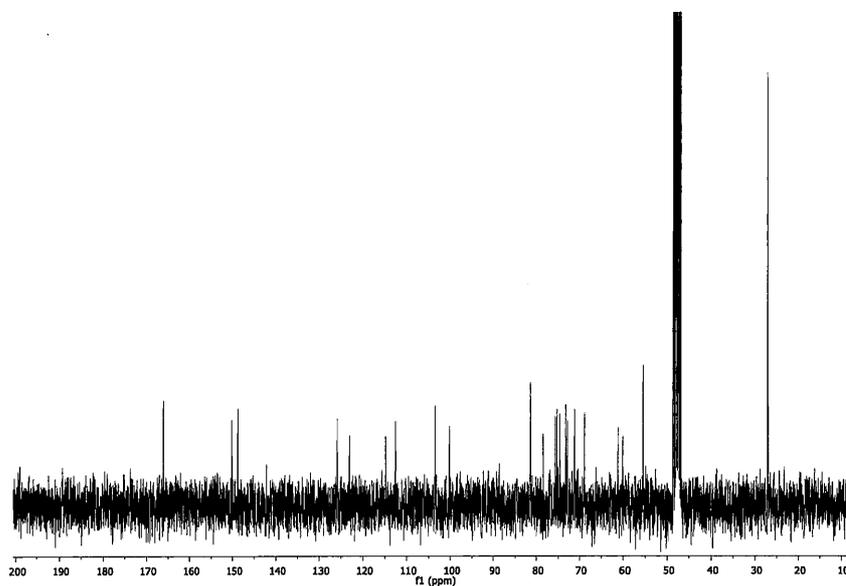
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **19**.



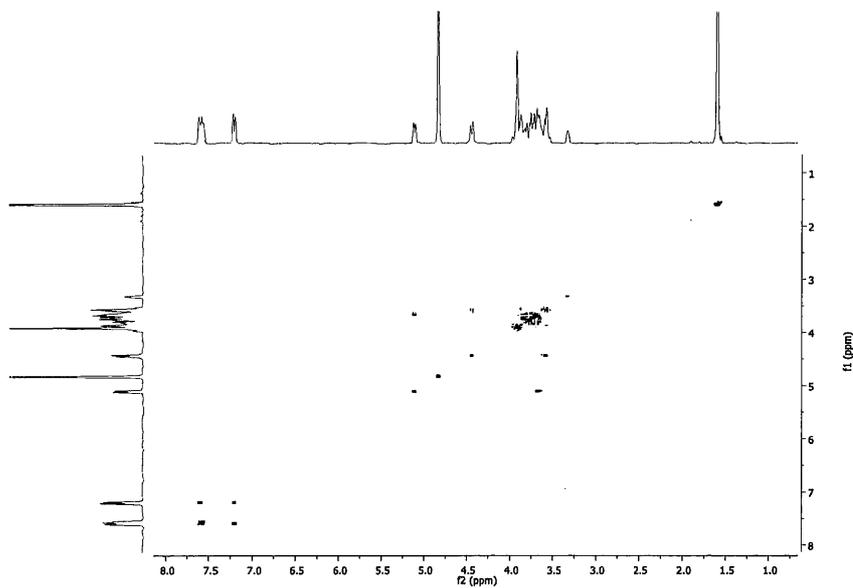
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **19**.



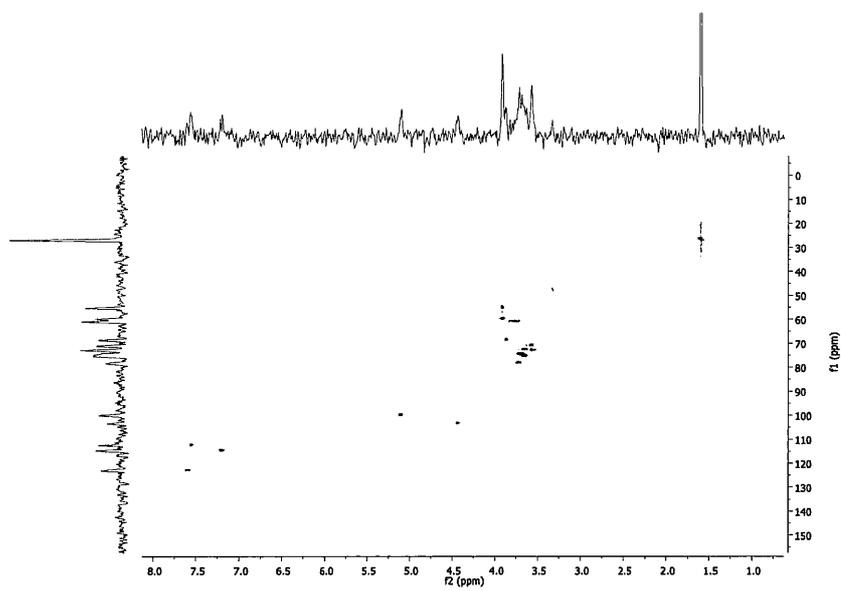
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **20**.



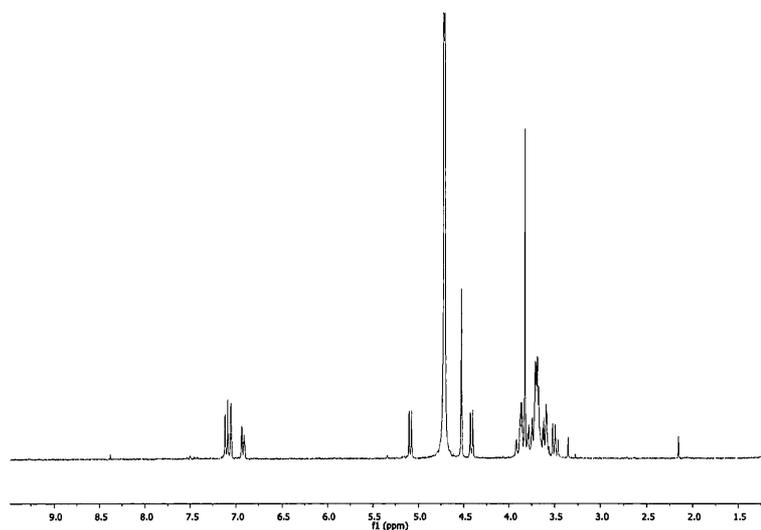
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD-d}_4$) du composé **20**.



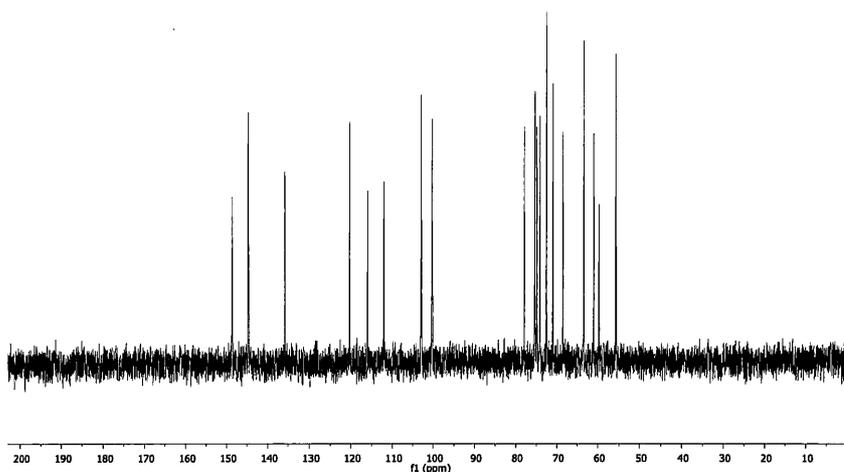
Spectre RMN Cosy (300 MHz, D₂O) du composé **20**.



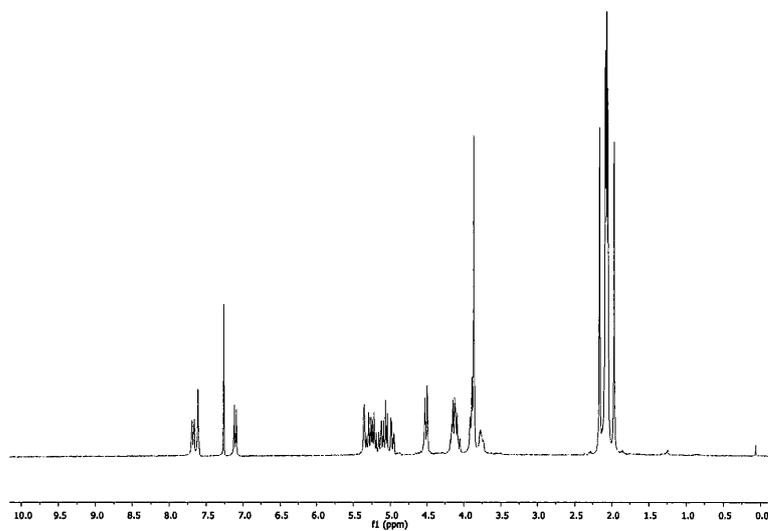
Spectre RMN Hsqc (75 MHz, D₂O) du composé **20**.



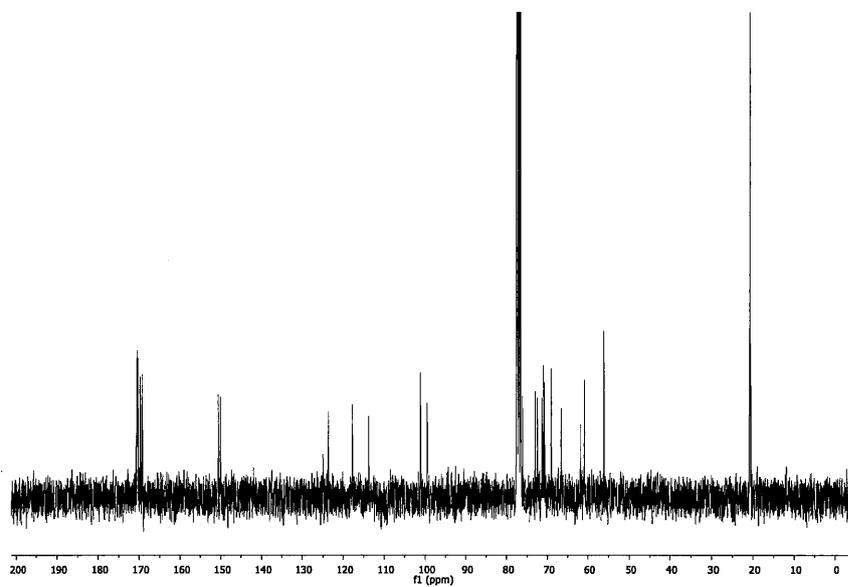
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **23**.



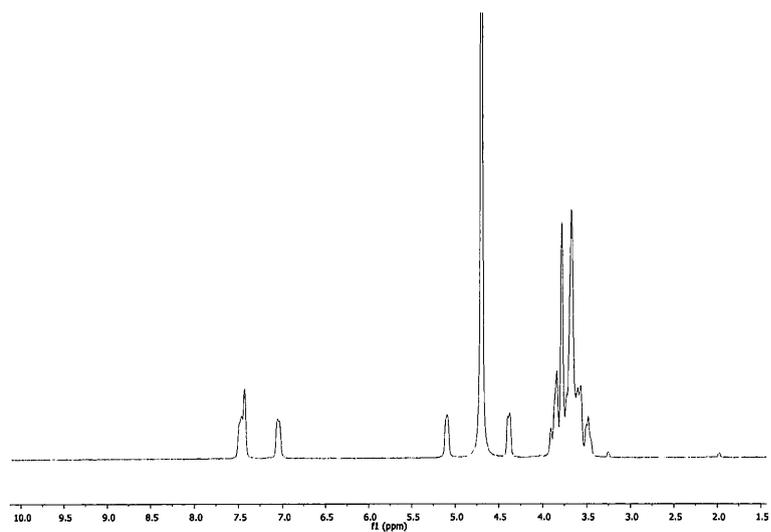
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, D_2O) du composé **23**.



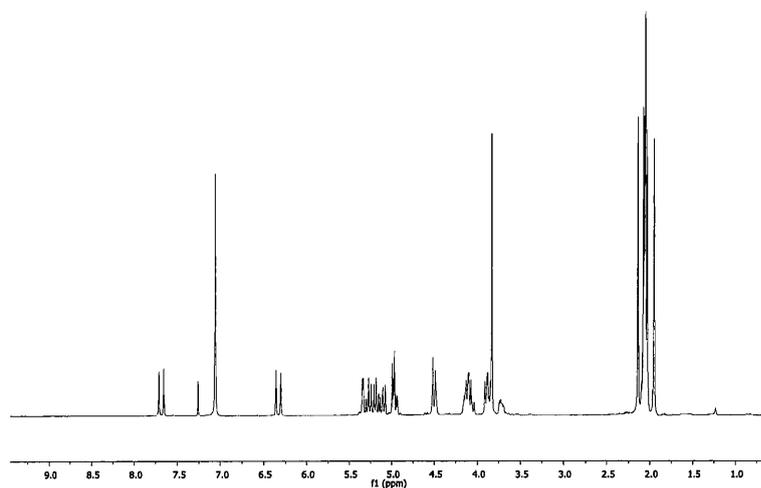
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **24**.



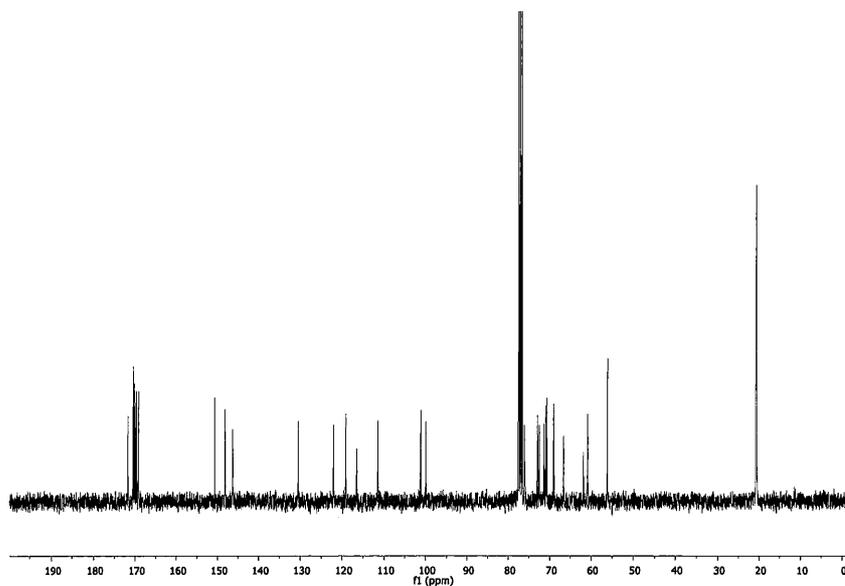
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **24**.



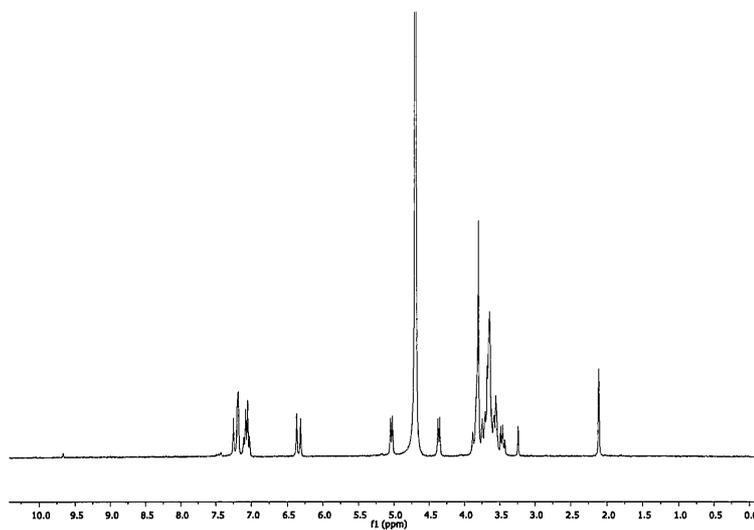
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **25**.



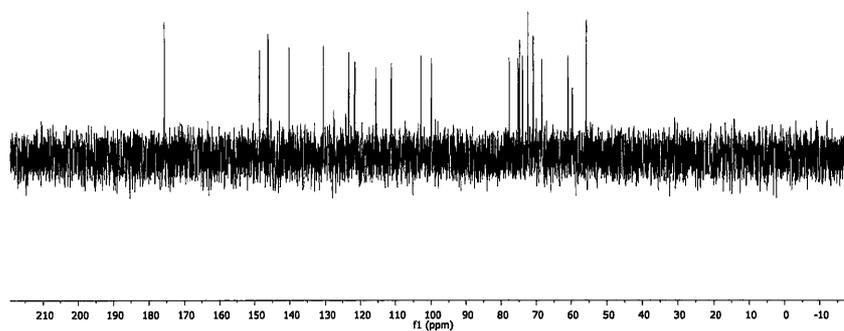
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **26**.



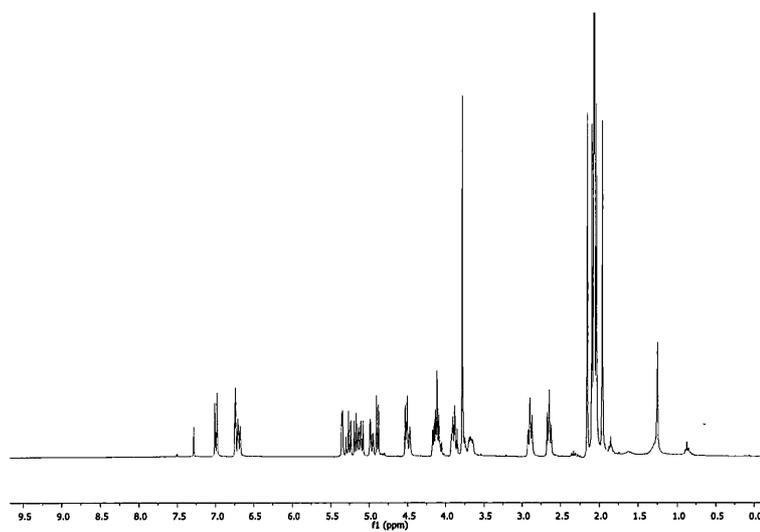
Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) du composé **26**.



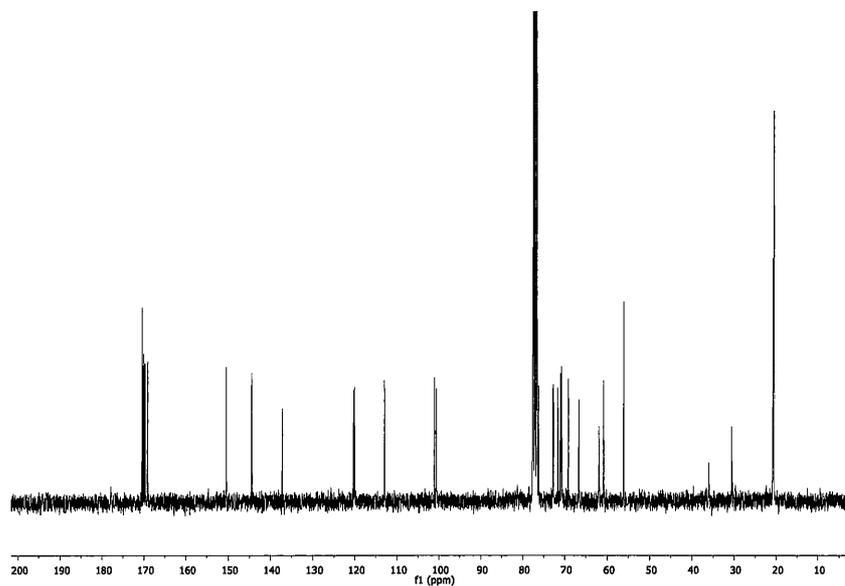
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **27**.



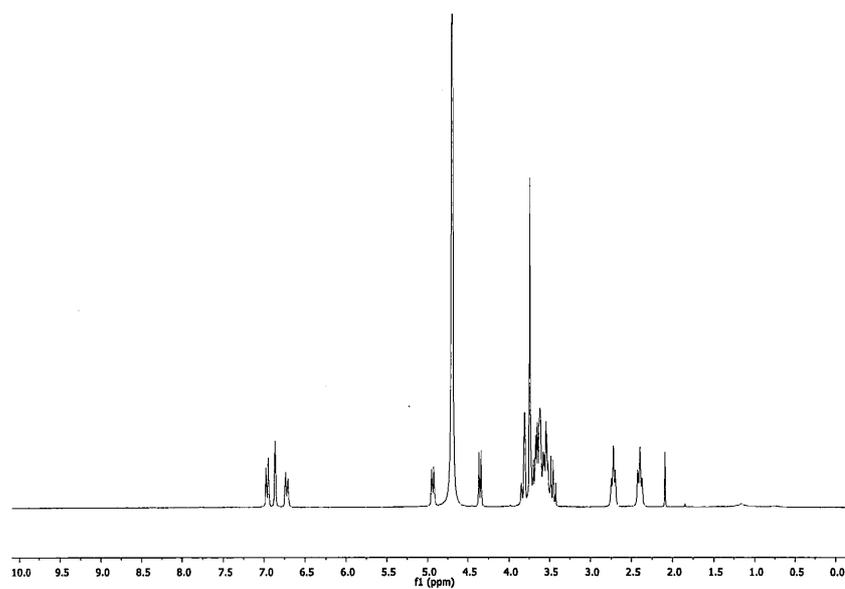
Spectre RMN ^{13}C (75MHz, D_2O) du composé **27**.



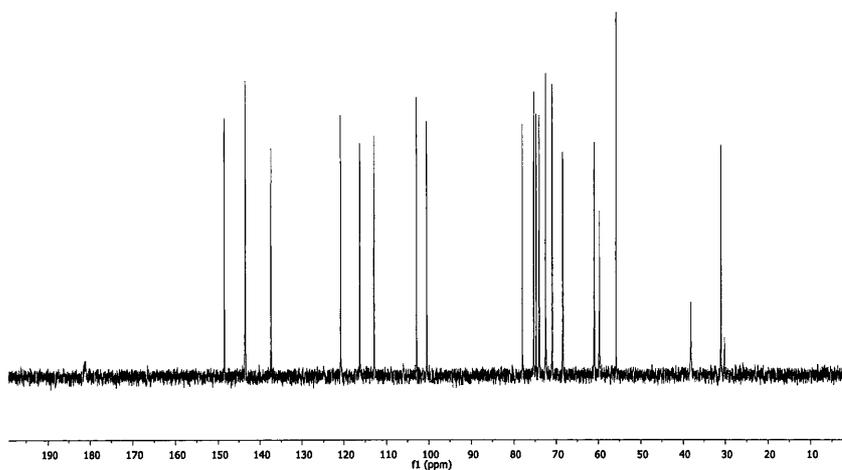
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **28**.



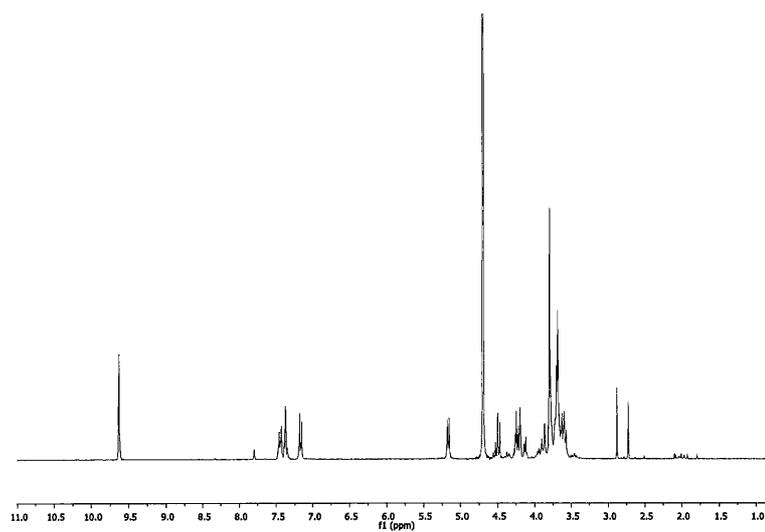
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **28**.



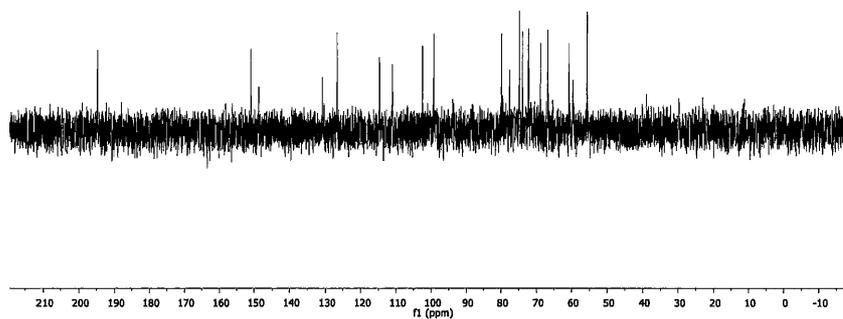
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **29**.



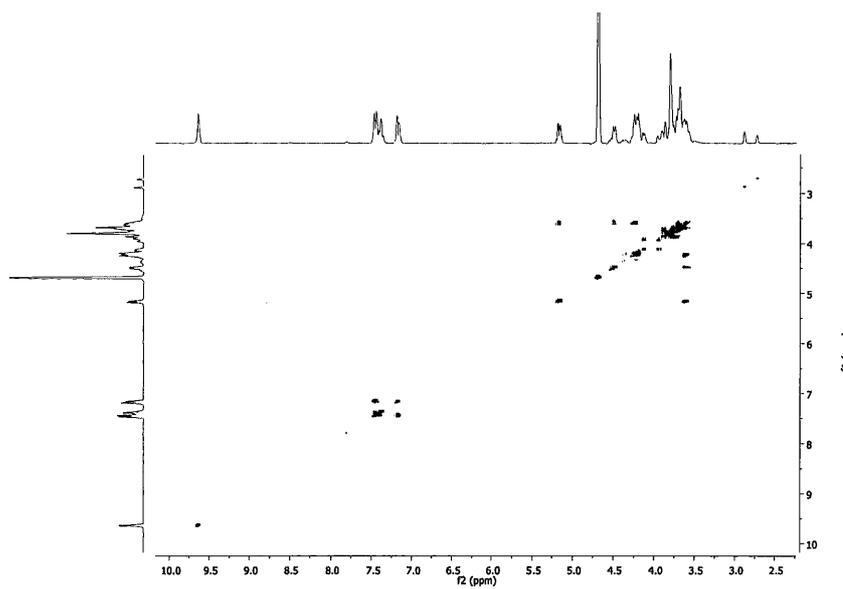
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, D_2O) du composé **29**.



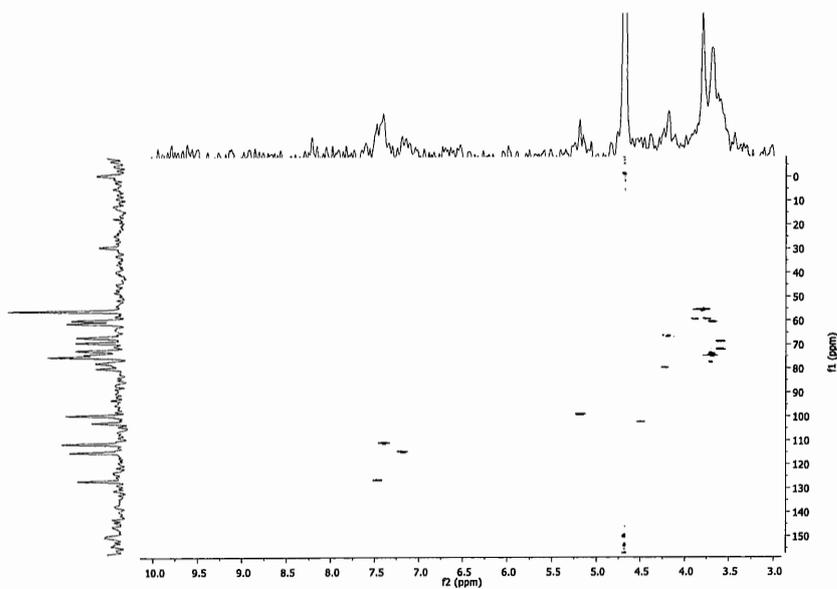
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **30**.



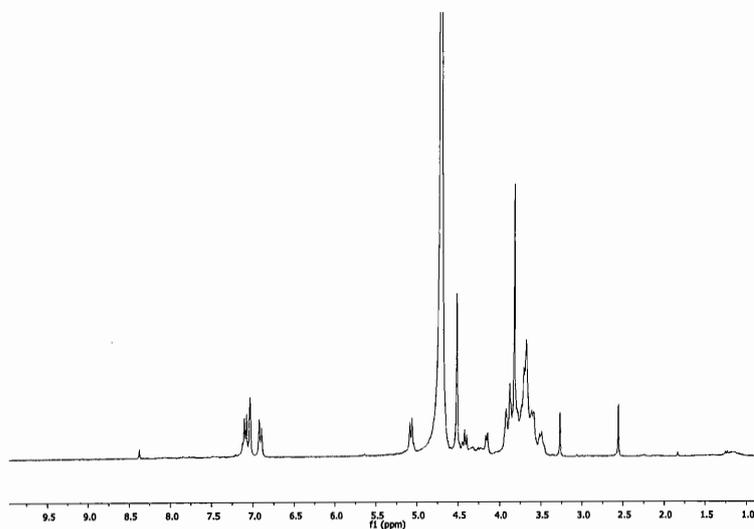
Spectre RMN ^{13}C (75MHz, D_2O) du composé **30**.



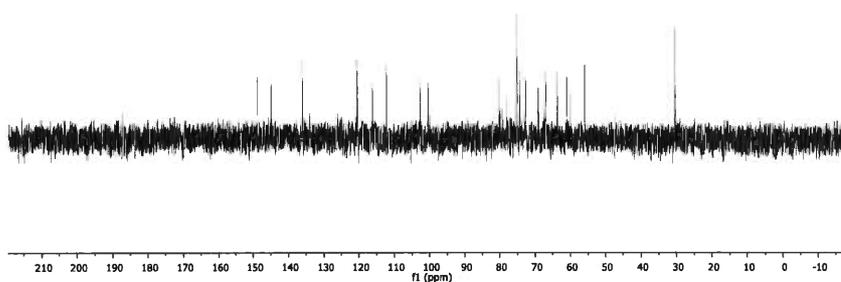
Spectre RMN Cosy (300 MHz, D_2O) du composé **30**.



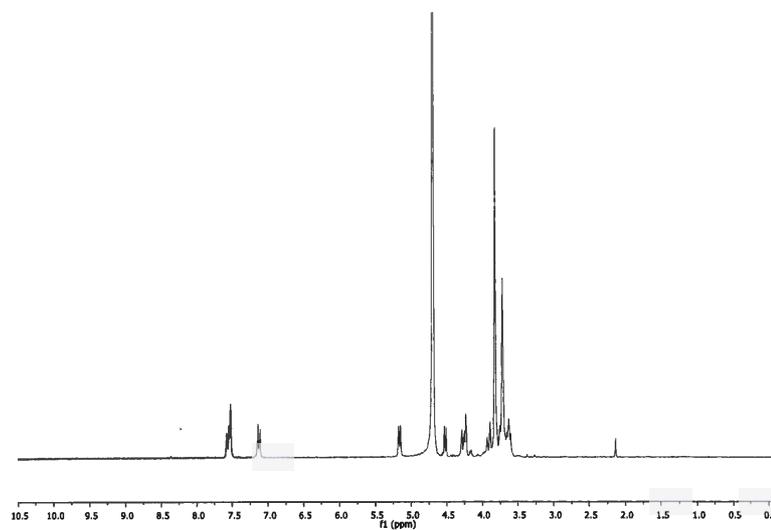
Spectre RMN Hsqc (75 MHz, D_2O) du composé **30**.



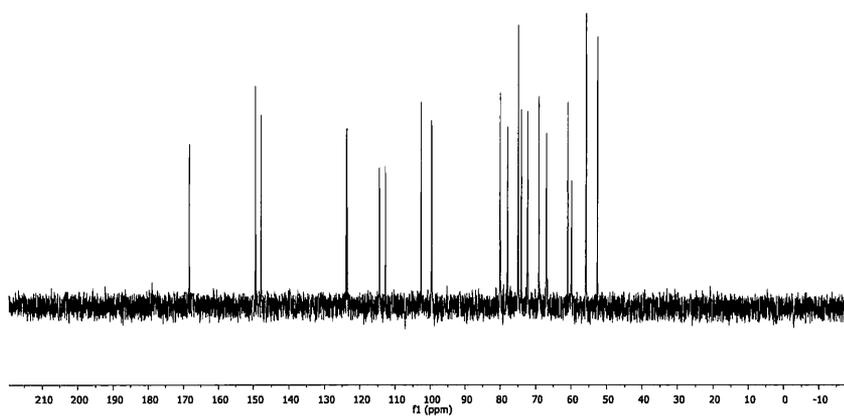
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **31**.



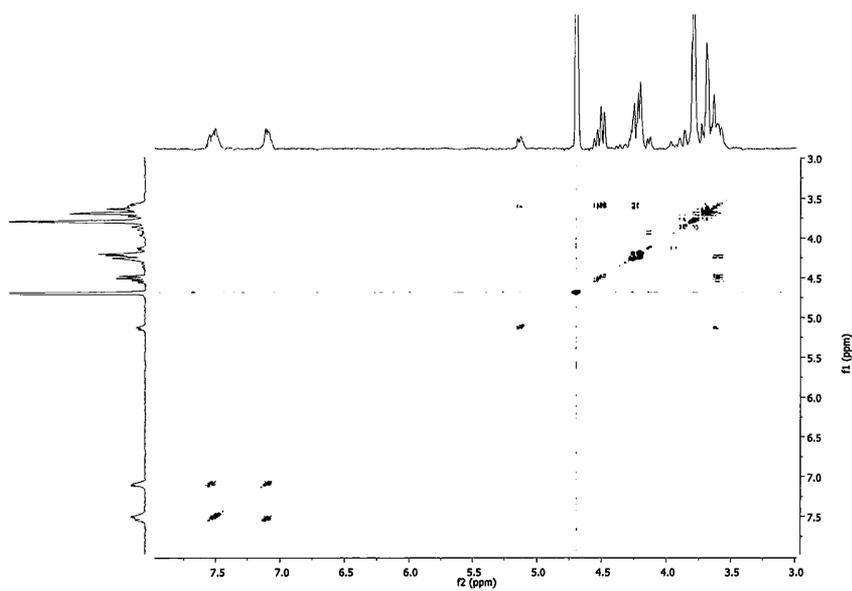
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, D_2O) du composé **31**.



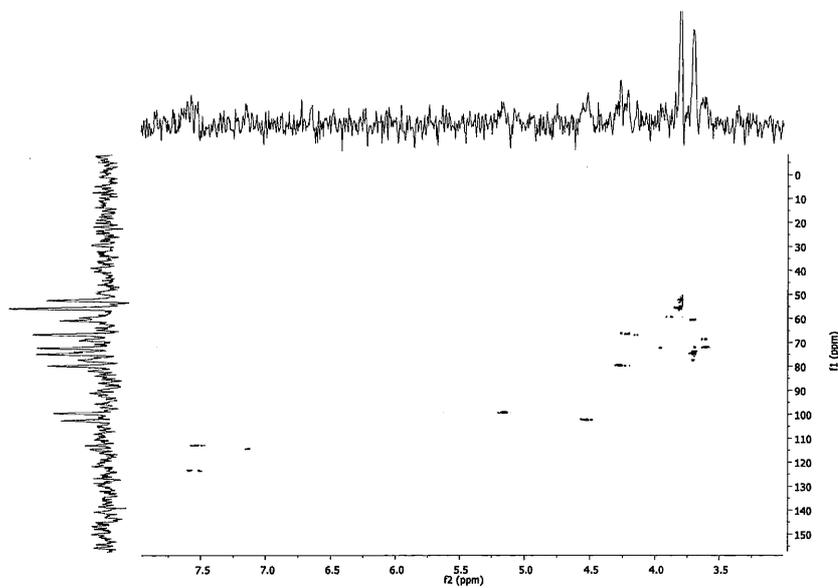
Spectre RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du composé **32**.



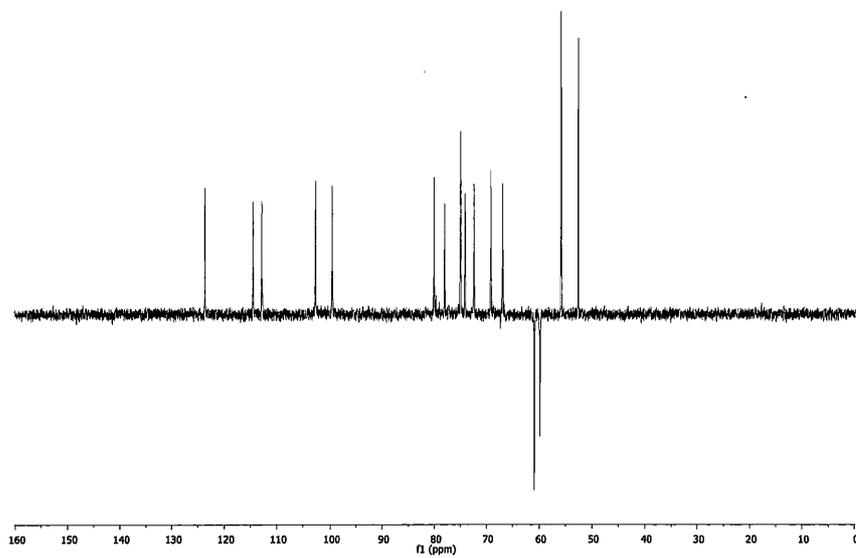
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, D_2O) du composé **32**.



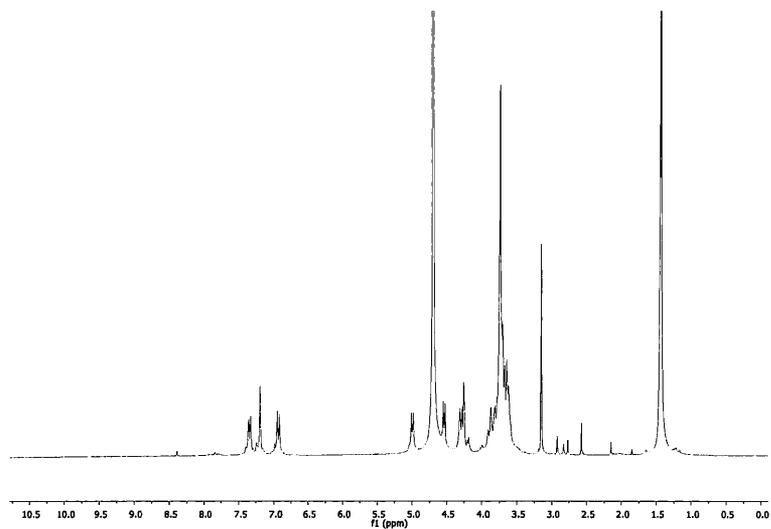
Spectre RMN Cosy (300 MHz, D_2O) du composé **32**.



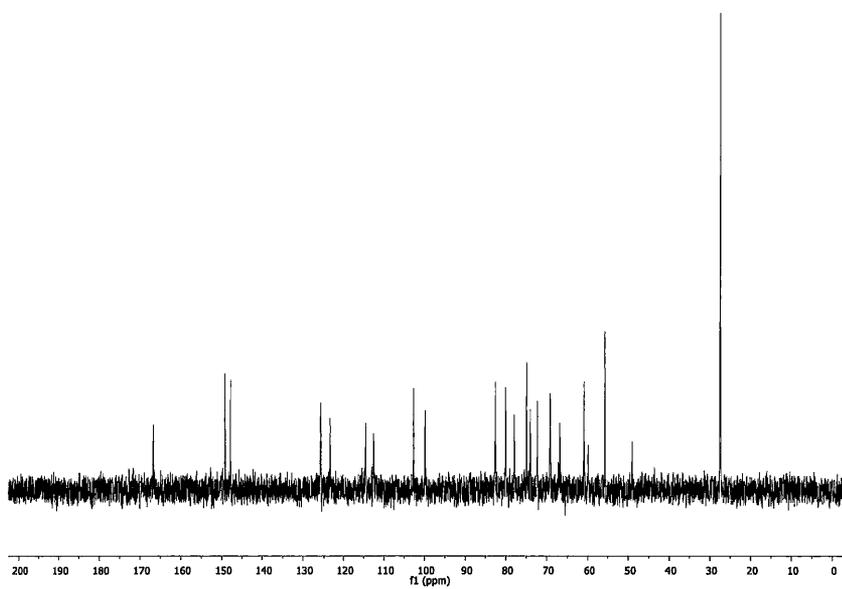
Spectre RMN Hsqc (75 MHz, D_2O) du composé **32**.



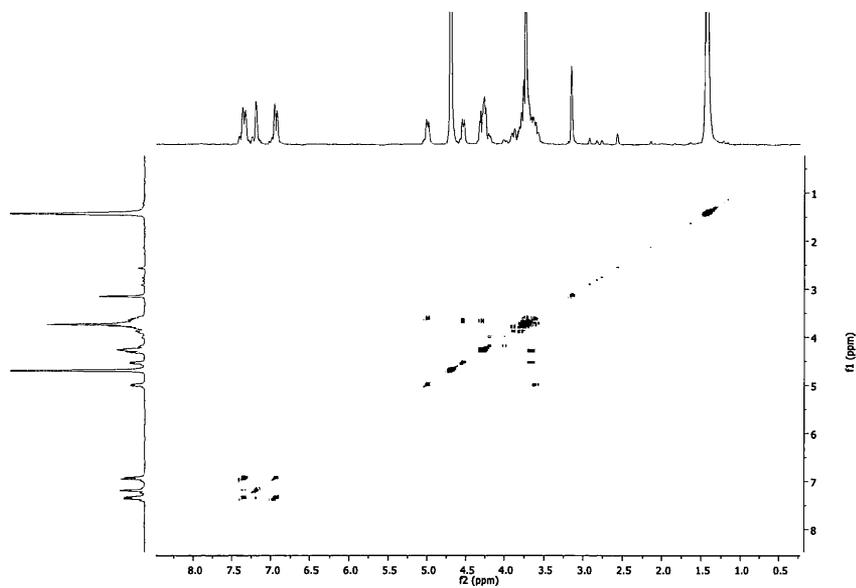
Spectre RMN ^{13}C Dept135 (75 MHz, D_2O) du composé **32**.



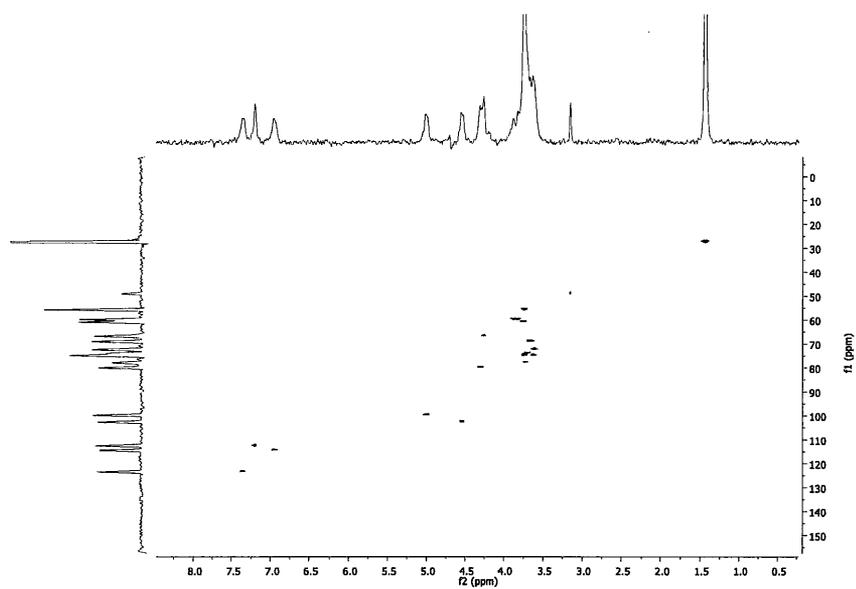
Spectre RMN ^1H (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD-d}_4$) du composé **33**.



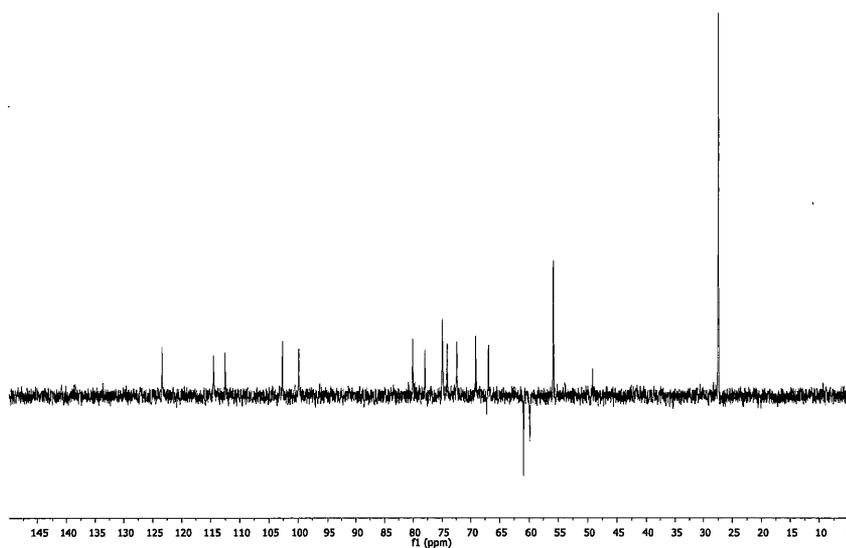
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD-d}_4$) du composé **33**.



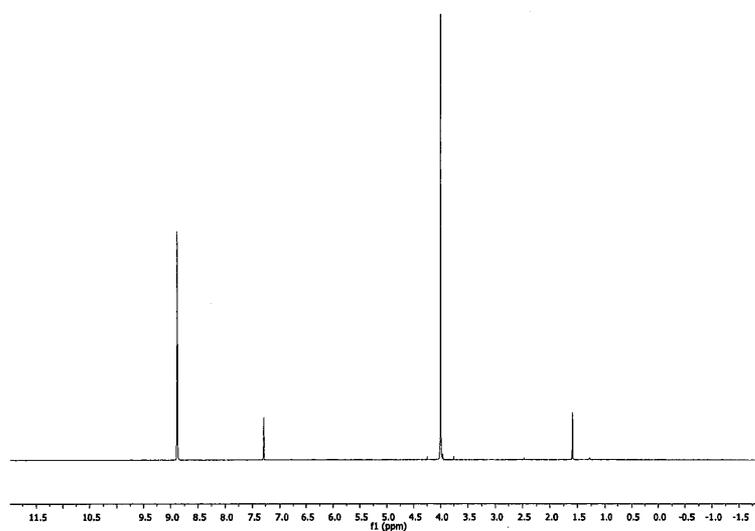
Spectre RMN Cosy (300 MHz, CD₃OD-d₄) du composé **33**.



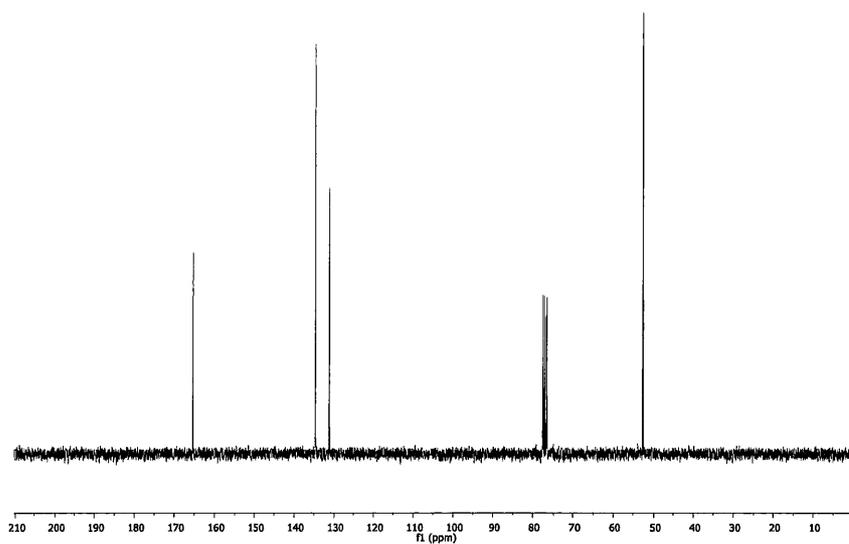
Spectre RMN Hsqc (75 MHz, CD₃OD-d₄) du composé **33**.



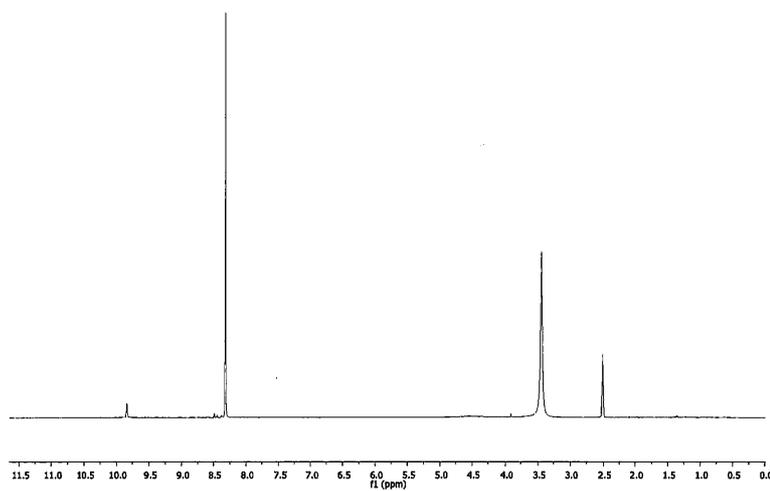
Spectre RMN ^{13}C Dept135 (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) du composé **33**.



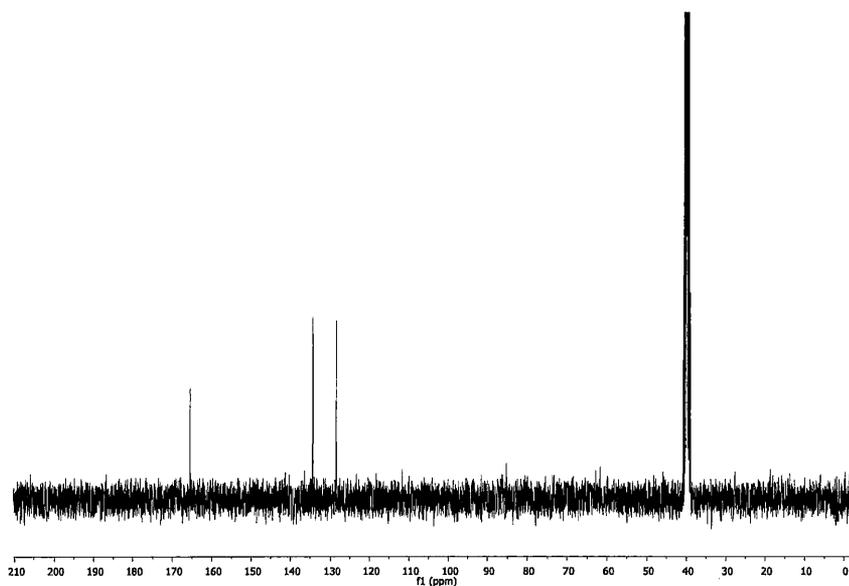
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **35**.



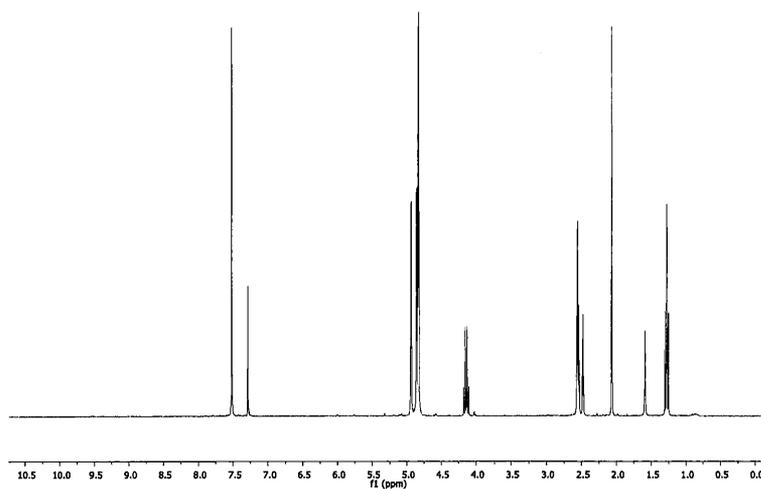
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **35**.



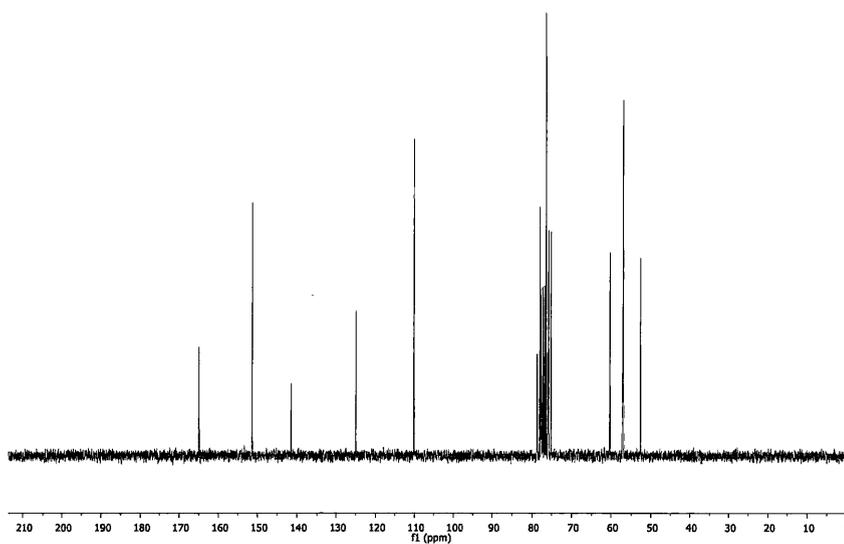
Spectre RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) du composé **36**.



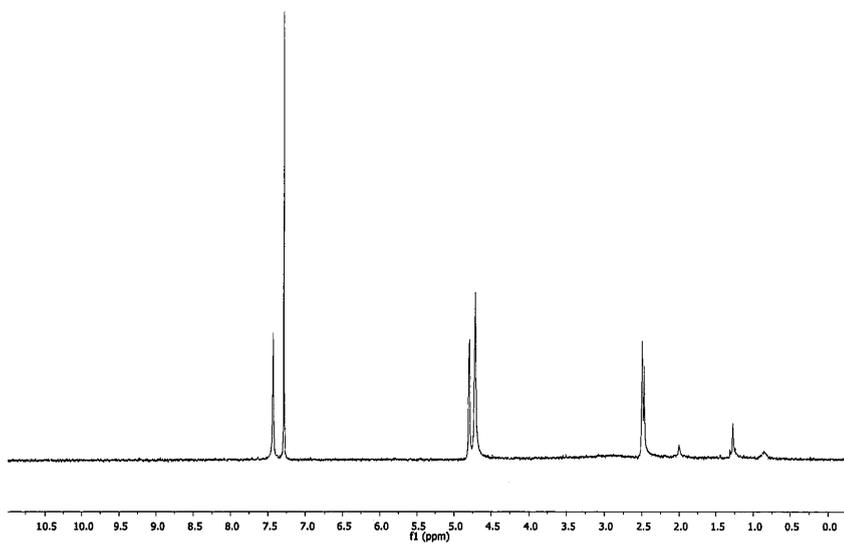
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) du composé **36**.



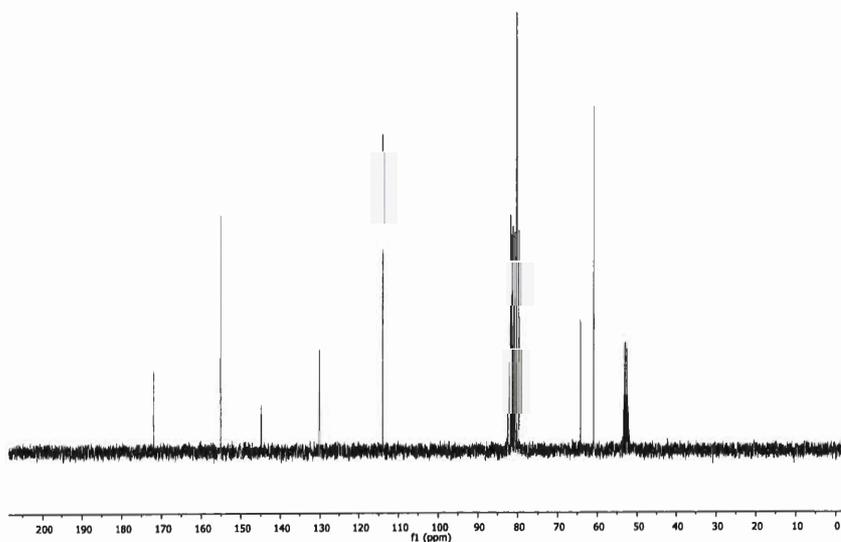
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **38**.



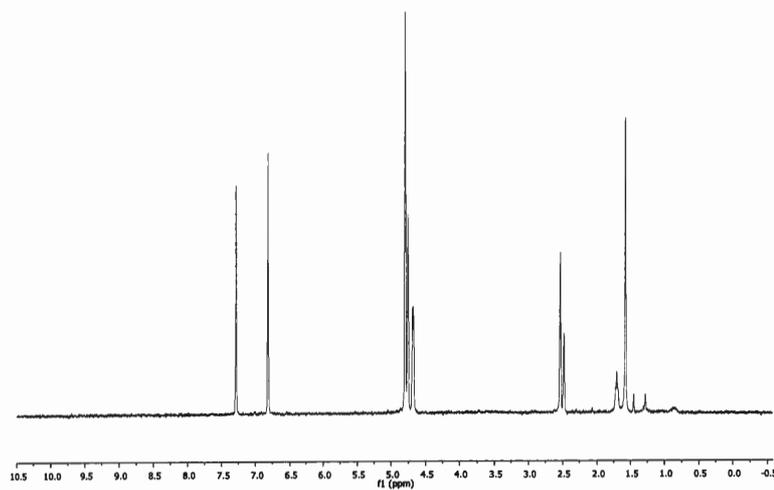
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **38**.



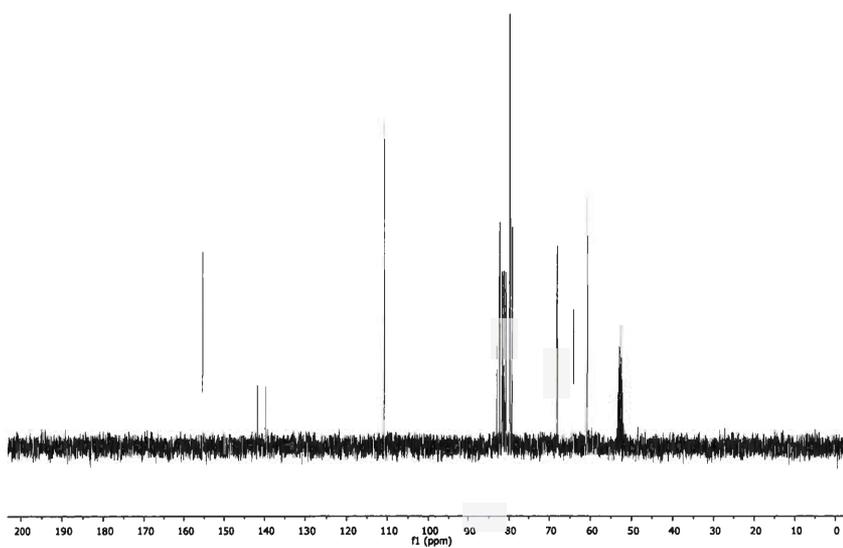
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **39**.



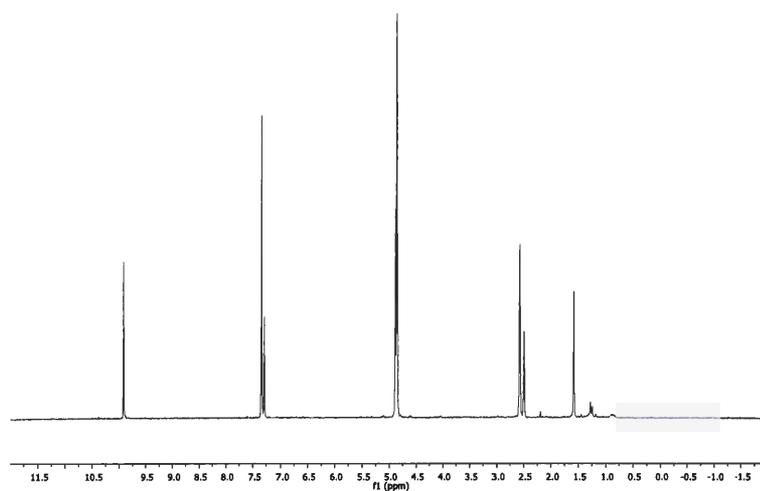
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}-d_4$) du composé **39**.



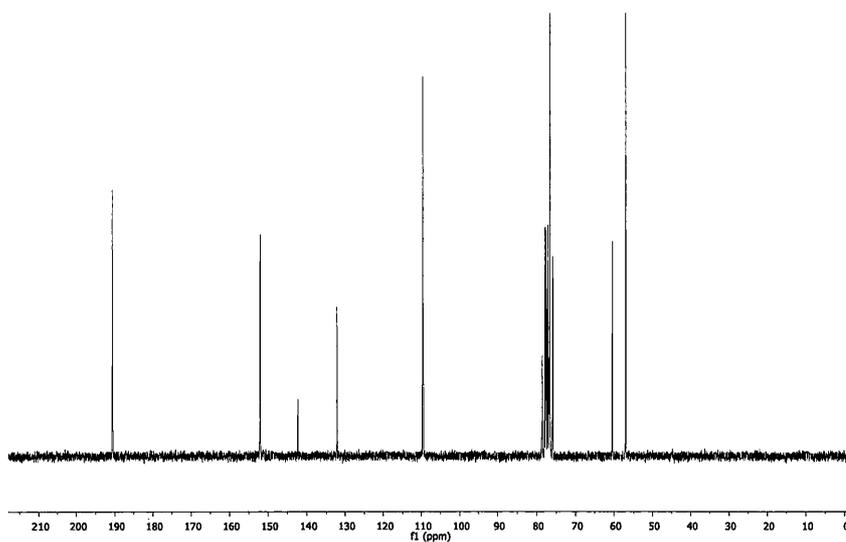
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **40**.



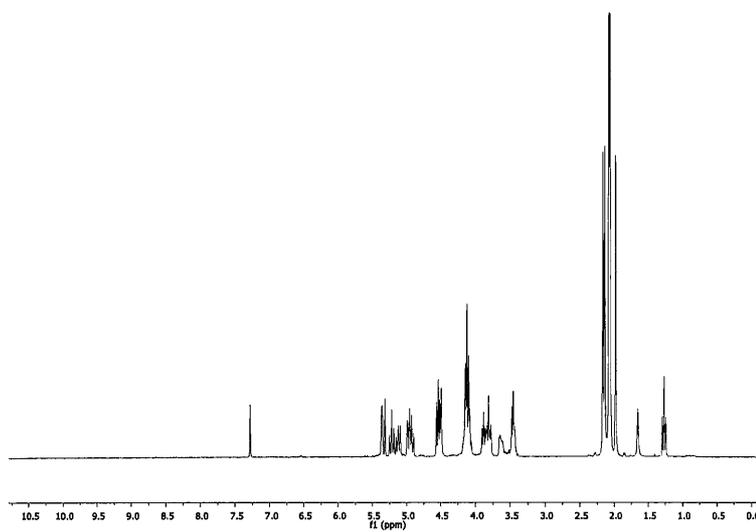
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}-d_4$) du composé **40**.



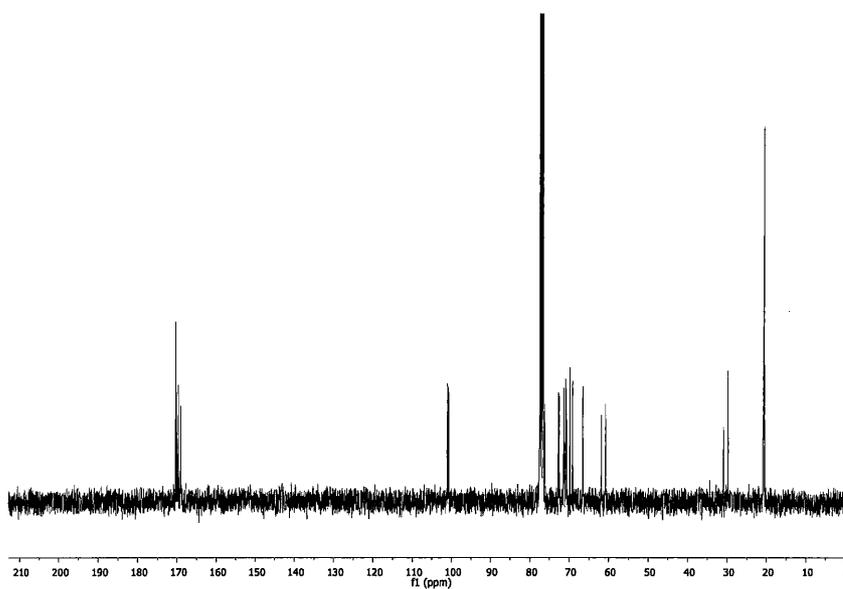
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **41**.



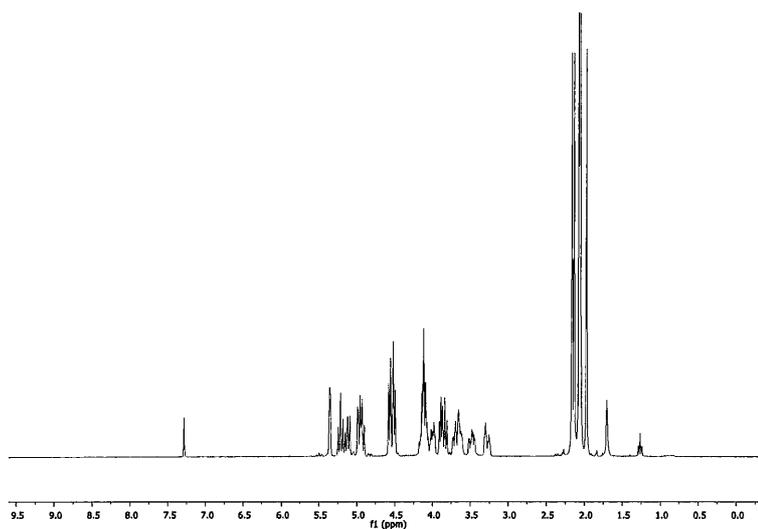
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **41**.



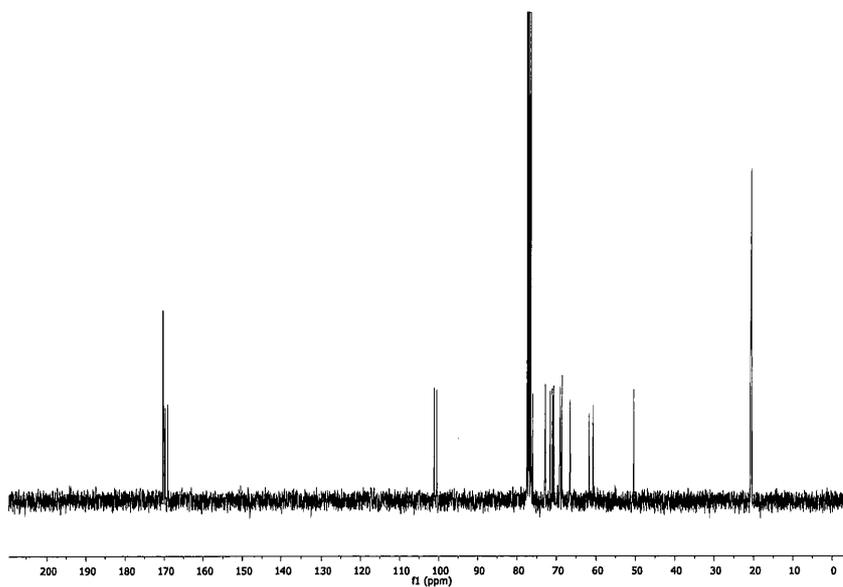
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **42**.



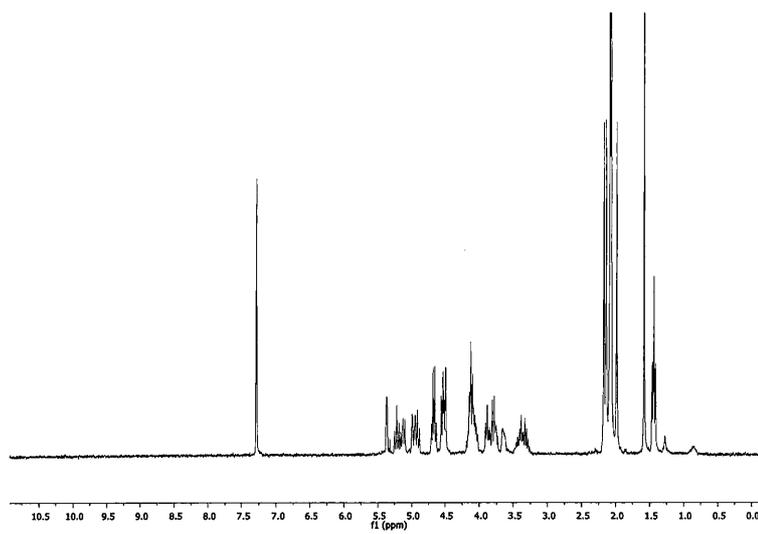
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **42**.



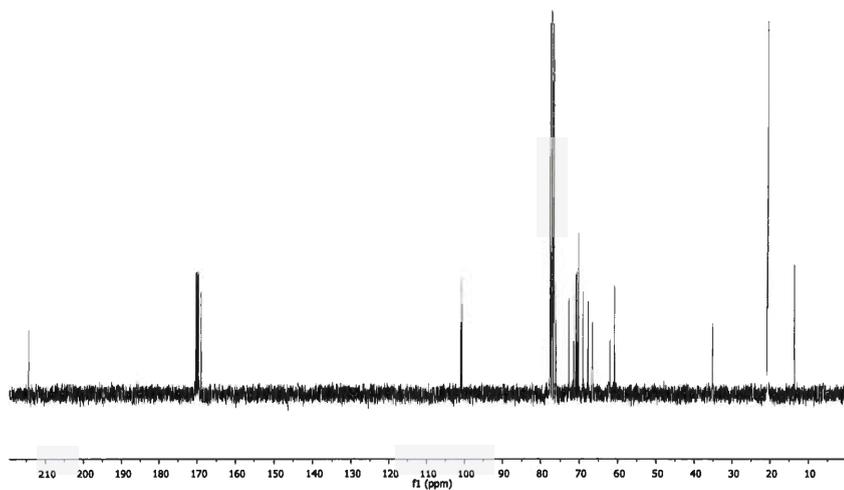
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **43**.



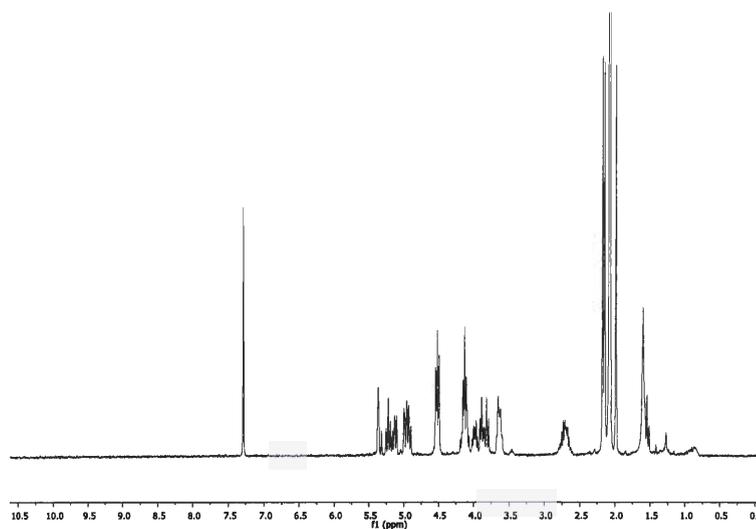
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **43**.



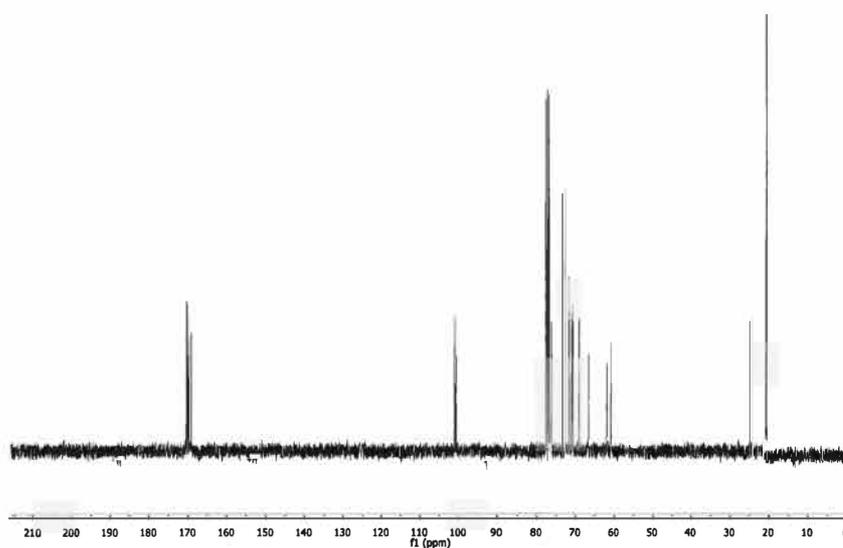
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **44**.



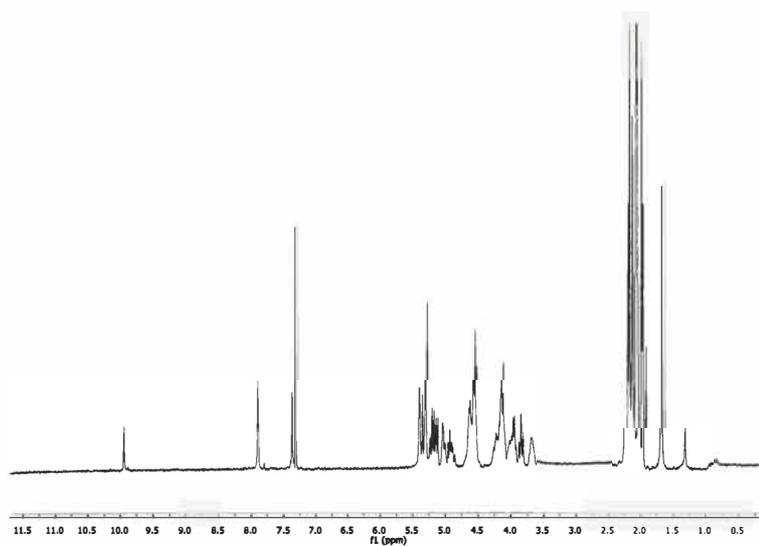
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **44**.



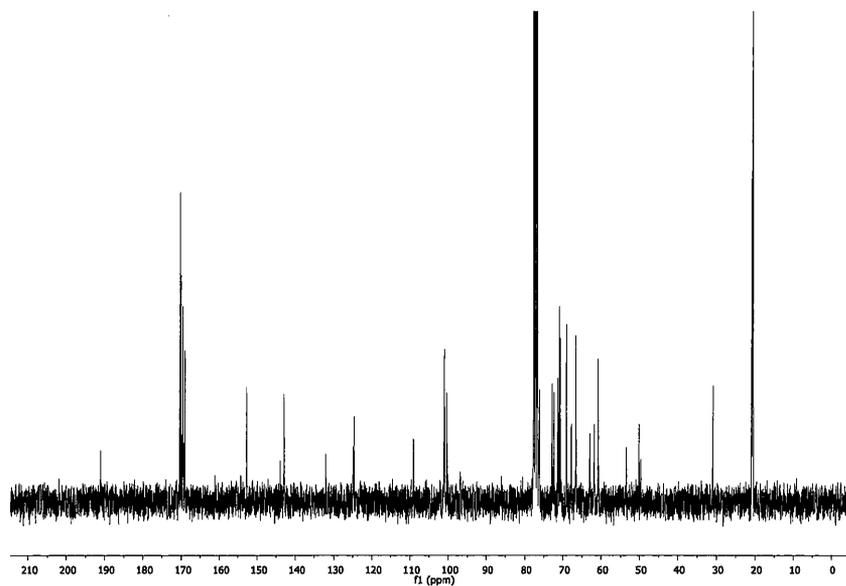
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **45**.



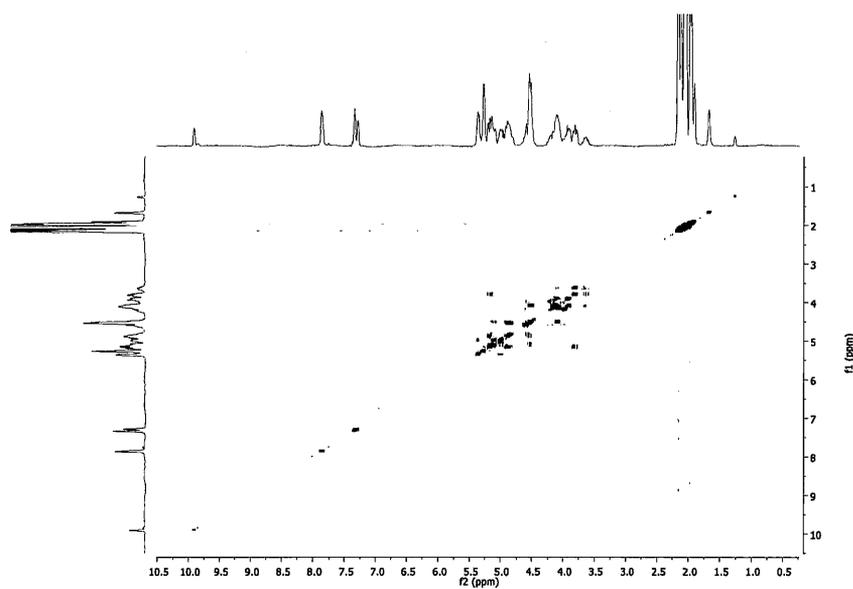
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé 45.



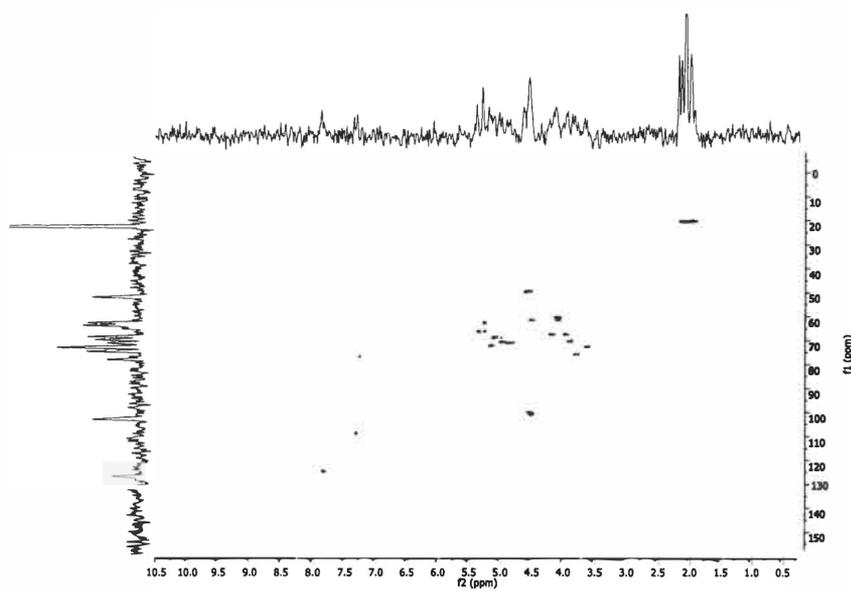
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé 46.



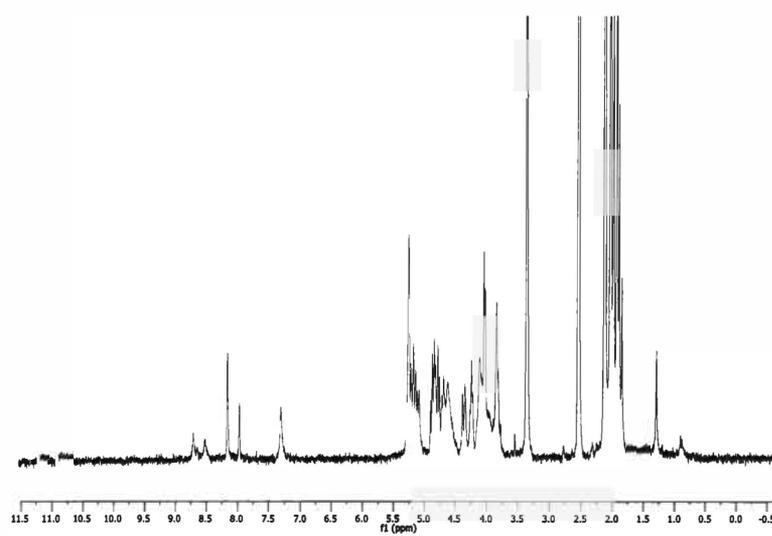
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **46**.



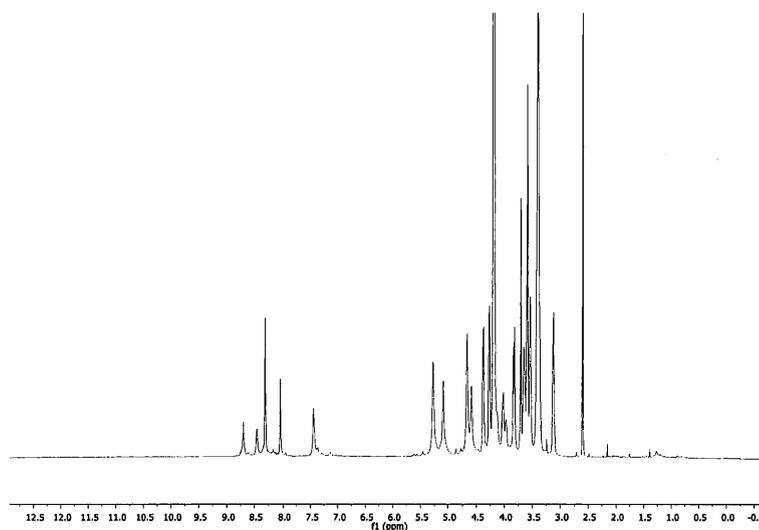
Spectre RMN Cosy (75 MHz, CDCl_3) du composé **46**.



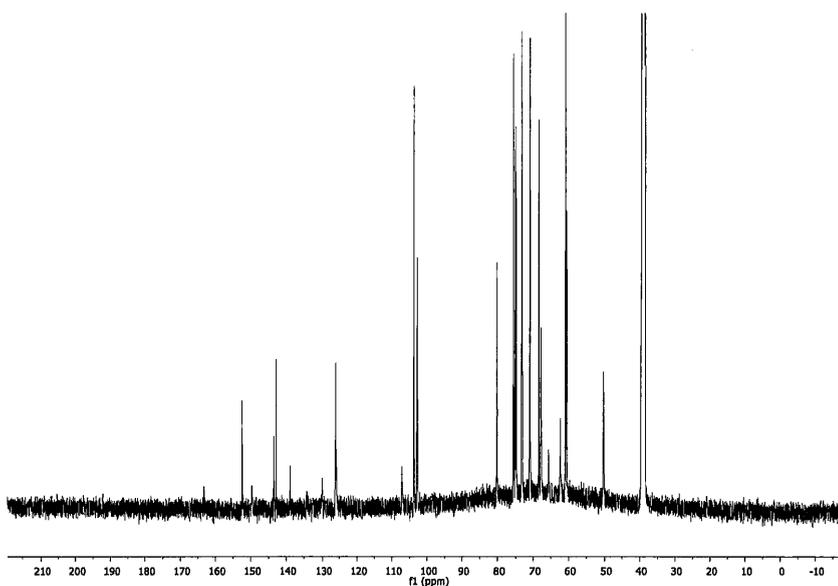
Speetre RMN Hsqc (75 MHz, CDCl_3) du composé 46.



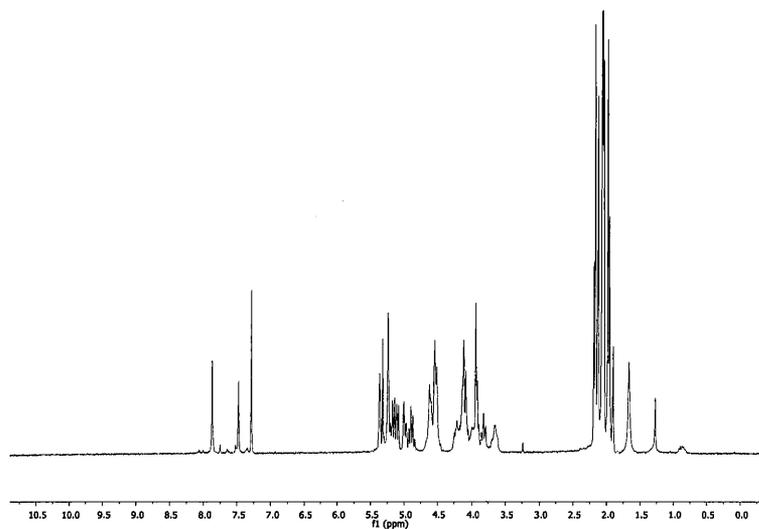
Speetre RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) du composé 47.



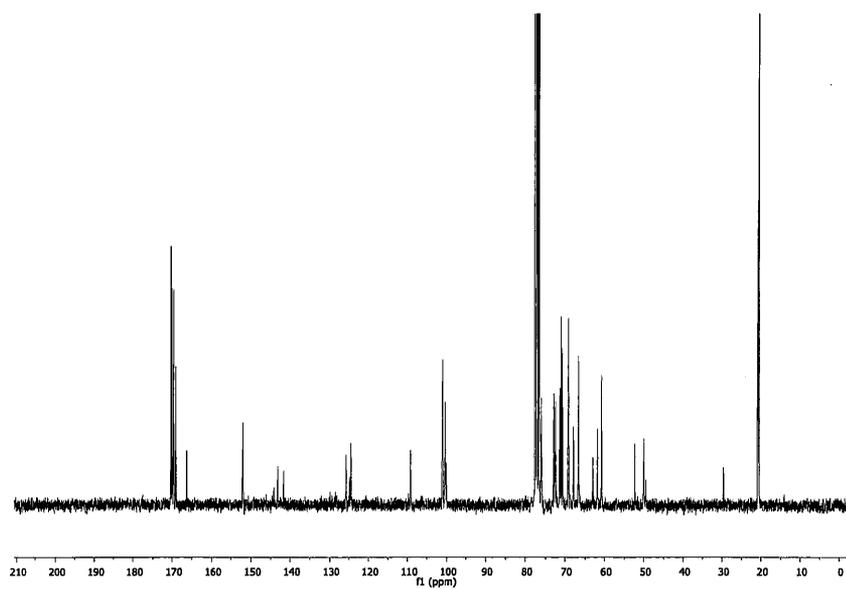
Spectre RMN ^1H (600 MHz, DMSO+D₂O) du composé **48**.



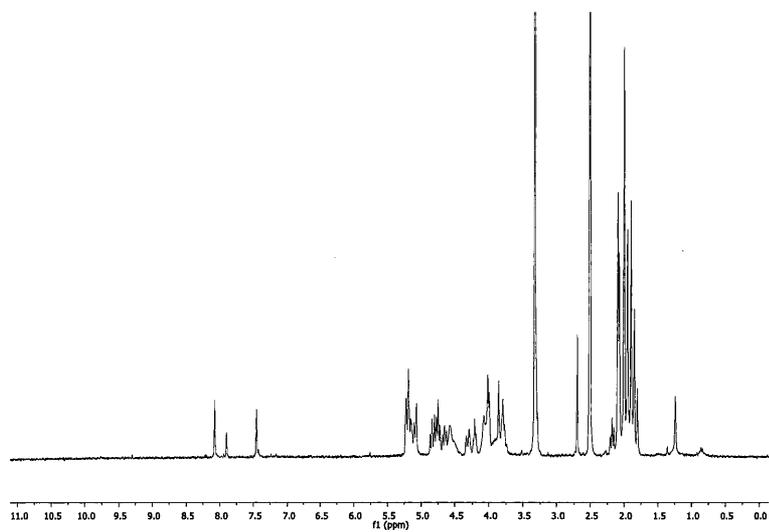
Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO+D₂O) du composé **48**.



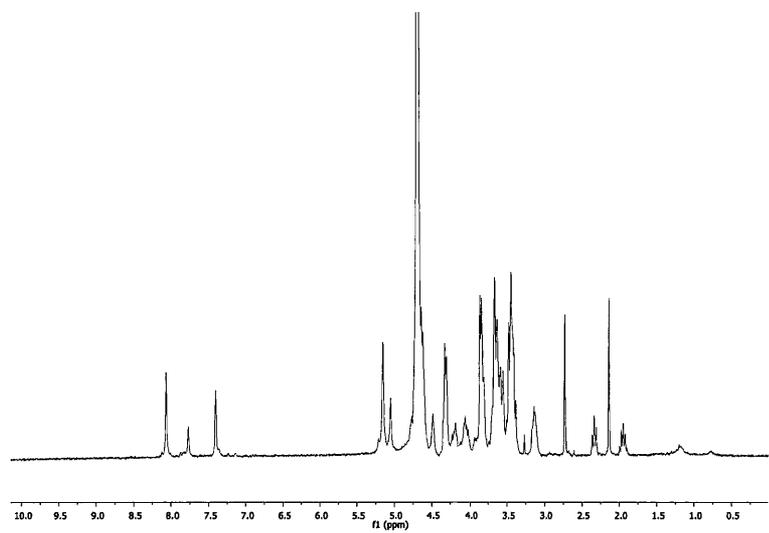
Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **50**.



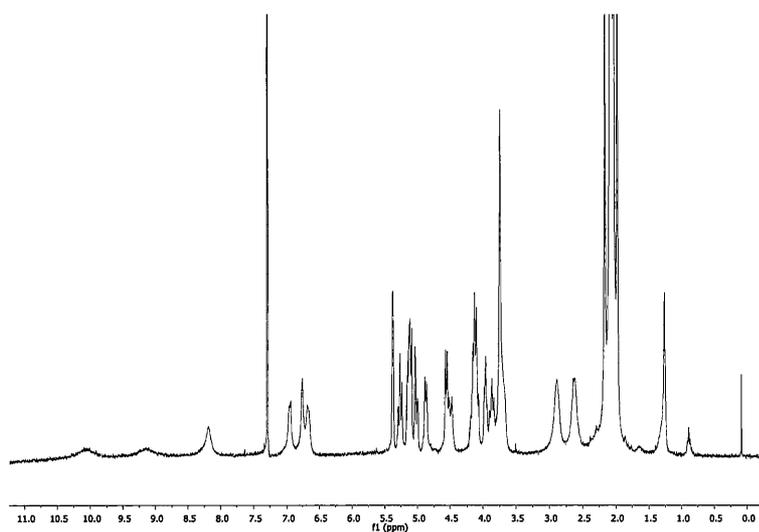
Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) du composé **50**.



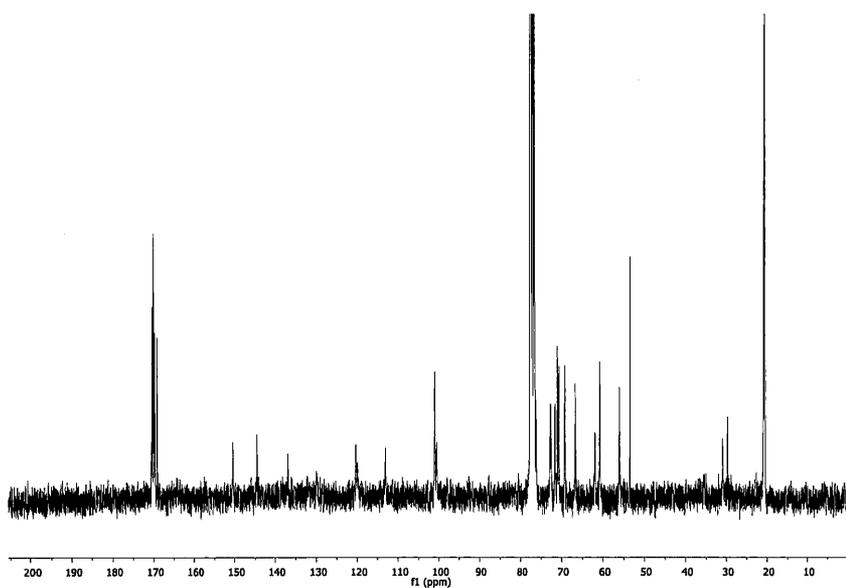
Spectre RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) du composé **51**.



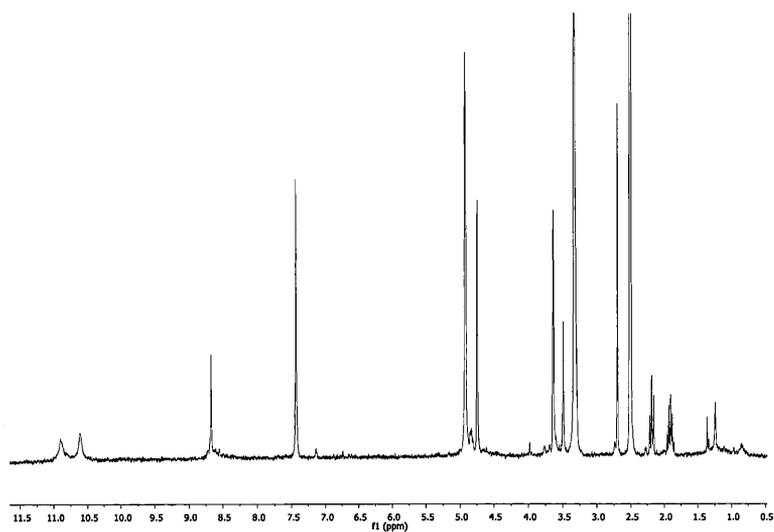
Spectre RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) du composé **52**.



Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **53**.



Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé **53**.



Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé **56**.

APPENDICE B

LISTE DES RÉFÉRENCES

- 1- Solís, D.; Bovin, N.V.; Davis, A.P.; Jiménez-Barbero, J.; Romero, A.; Roy, R.; Smetana, K., Jr.; Gabius, H. J. *Biochim. Biophys. Acta.* **2015**, *1850*, 186–235.
- 2- Kinberger, G. A.; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15162–15163.
- 3- Kale, R. R.; Mukundan, H.; Price, D. N.; Harris, J. F.; Lewallen, D. M.; Swanson, B. I.; Schmidt, J. G.; Iyer, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8169–8171.
- 4- Patel, A.; Lindhorst, T. K. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1657–1668.
- 5- Sharon, N. *Complex Carbohydrates, Their Chemistry, Biosynthesis and Function*, Addison-Wesley, Reading, MA, USA, **1975**.
- 6- Rademacher, T. W., Parekh, R. B.; Dwek, R. A. *Annu. Rev. Biochem.* **1988**, *57*, 785–838.
- 7- Varki, A. *Glycobiology.* **1993**, *3*, 97-130.
- 8- http://www.gch.ulaval.ca/agarnier/bcm20329/Hur_c07.htm
- 9- Barondes, S.; et al. *Cell.* **1994**, *76*, 597-8.
- 10- Cooper, D. N. W. *Biochim Biophys Acta.* **2002**, *1572*, 209-231.
- 11- Hirabayashi, J.; Kasai, K. *Glycobiology.* **1993**, *3*, 297-304.
- 12- Barondes, S.H.; Cooper, D.N.W.; Gitt, M.A.; Leffler, H. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 20 807-20 810.
- 13- Kasai, K.I.; Hirabayashi, J. *J. Biochem.* **1996**, *119*, 1-8.
- 14- Gabius, H. J. *Eur. J. Biochem.* **1997**, *243*, 543-576.
- 15- Sansone, F.; Baldini, L.; Casnati, A.; Ungaro, R. *New J. Chem.* **2010**, *34*, 2715–2728.

- 16- Sato, S.; Niemien, J. *Glycoconj. J.* **2004**, *19*, 575.
- 17- Rabinovich, G., et al. *Trends Immunol.*, **2002**, *23*, 313.
- 18- Nakaraha, S.; Oka, N.; Raz, A. *Apoptosis*. **2005**, *10*, 267.
- 19- Hsu, D. K.; Liu, F. T. *Glycoconj. J.* **2004**, *19*, 507.
- 20- Ahmad, N.; et al. *Can. J. Chem.* **2002**, *80*, 1096–1104.
- 21- Geijtenbeek, T.; Torensma, R.; Vliet, S. V.; et al. *Cell*, **2000**, *100*, 575–585.
- 22- Hernandez, E. G.; Arana, A. H. *Protein Sci.* **1999**, *8*, 1075–86.
- 23- Toone, E. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 719–28.
- 24- Bundle, D., Young, M. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1992**, *2*, 666–73.
- 25- Pauling, L. *In The Nature of the Chemical Bond*; 3rd ed.; Cornell University Press: Ithaca, **1963**.
- 26- Desiraju, G. R. ; Steiner, T . *The weak hydrogen bond in structural chemistry and Biology.*, Oxford University Press: Oxford, **1999**.
- 27- Sharon, N.; Ofek, I. *In Protein-Carbohydrate Interactions in Infectious Diseases.*, C. Ed. Bewley., *The Royal Society of Chemistry: Cambridge*, **2006**, 49-72.
- 28- Sirois, S., Giguère, D.; Roy. R. *Med. Chem.* **2006**, *2*, 481–489.
- 29- Rose, I. A.; et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1980**, *77*, 2439-2441.
- 30- Vyas, N.K. *Curr. Opinion Struct. Biol.* **1991**, *1*, 732–740.
- 31- Di Lella, S.; et al. *Biochemistry.* **2009**, *48*, 786–791.
- 32- Roy, R.; Murphy, P. V.; Gabius, H.J. *Mol.* **2016**, *21*, 629.
- 33- Santos, C. R.; et al, *Biochem. J.* **2012**, *441*, 95–104.
- 34- Buhleier, E. ; Wehner, F.; Vögtle, F. *Synthesis.* **1978**, *78*, 155.
- 35- a) Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J. R.; Hall, M.; et al. *Polym. J.* **1985**, *17*, 117-132; b) D. A. Tomalia, H. Baker, J. R. Dewald, M. Hall, et al, *Macromolecules.* **1986**, *19*, 2466-2468.
- 36- Vögtle, F.; Fischer, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 884-905.
- 37- Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J. R.; Hall, M.; et al. *Polym. J.* **1985**, *17*, 117-132.

- 38- Newkome, G. R.; et al. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2003–2004.
- 39- Hawker, C. J.; Frechet, J. M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7638–7647.
- 40- Sharma, R.; et al, *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 4321.
- 41- Roy, R.; Shiao, T. C. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 3924-41.
- 42- Yariv, J.; Rapport, M. M.; Graf, L. *Biochem. J.* **1962**, *85*, 383–388.
- 43- Chabre, Y. M.; Roy, R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4657-4708.
- 44- Zhou, J. A.; Tang, X. L.; et al, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 10626–10632.
- 45- Sharma, L. K.; et al. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. A Phys. Sci.* **2015**, *85*, 29–34.
- 46- Kashtoh, H.; et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 5454–5465.
- 47- Kamel, M.M.; Abdo, N. Y. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 75-80.
- 48- Murty, M.S.R.; et al. *Lett. Drug Des. Discovery.* **2014**, *11*, 1133-1142.
- 49- Ashton, P. R.; Hounsell, E. F.; et al. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3429-3437.
- 50- Chabre, Y. M.; Papadopoulos, A.; Arnold, A. A.; Roy, R. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 1524–153.
- 51- Giguère, D.; Patnam, R.; et al. *Chem. Commun.* **2006**, *22*, 2379–2381.
- 52- André, S.; Liu, B.; Gabius, H.J.; Roy, R, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3909–3916.
- 53- Leffler, H.; Nilsson, U. *ACS Symp. Ser.* **2012**, *1115*, 47–59.
- 54- Cousin, J. M.; Cloninger, M. J. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 739–747.
- 55- Fort, S.; Kim, H. S.; Hindsgaul, O. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7146-7154.
- 56- Sörme, P.; Arnoux, P.; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1737–1743.
- 57- Chen, C.; Sun, J.; Liu, F.; et al. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 2598-2606.
- 58- Shiao, T. C.; Giguère, D.; Galanos, N.; Roy, R. *Carbohydrate Chemistry: Proven Synthetic Methods.* **2014**, *2*, 257-262.
- 59- O'Brien, P. J.; Siraki, A. G.; Shangari, N. *Crit. Rev. Toxicol.* **2005**, *35*, 609–662.
- 60- Chen, C.; Sun, J.; Liu, F.; et al. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 2598-2606.
- 61- de Andrade, S. F.; Figueiredo, R. C.; et al. *Braz. Chem. Soc.* **2012**, *6*, 1062-1069.

- 62- Sörme, P.; Arnoux, P.; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1737–1743.
- 63- Krivan, H. C.; Olson, L. D; Barile, M. F. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 9283–9288.
- 64- Dalton, J. P.; Hudson, D.; Adams, J. H.; Miller, L. *Eur. J. Biochem.* **1991**, *195*, 789–794.
- 65- Aruffo, A.; Kolanus, W.; et al. *Cell.* **1991**, *67*, 35–44.
- 66- Yuen, C.T.; Bezouska, K.; et al. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 1595–1598.
- 67- Wang, L.-X.; Pavlova, N. V.; Yang, M.; Li, S.C.; Li, Y. T.; Lee, Y. C. *Carbohydr. Res.* **1998**, *306*, 341–348.
- 68- David, S.; Hanessian, S. *Tetrahedron.* **1985**, *41*, 643–663.
- 69- Alais, J.; Maranduba, A.; Veyrières, A. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 2383–2386.
- 70- Huisgen, R. ; *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 613–628.
- 71- Rostovtsev, V.; Green, G.; Fokin, V.; Sharpless, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
- 72- Tornøe, W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- 73- Kolb, C.; Finn, G.; Sharpless, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.
- 74- Himo, F.; Lovell, T. ; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210–216.
- 75- O’Daniel, P. I.; Peng, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 3664–3672.
- 76- Paraschivescu, C. C.; et al. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 3961–3964.
- 77- Shang, Z. *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 2927–2937.
- 78- Gingras, M.; Chabre, Y. M.; Roy, R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4823–4841.
- 79- Dondoni, A.; Marra, A. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 573–586.
- 80- Ortiz, R. A.; Garcia Valde`z, A. E.; et al. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *78*, 282–286.