

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

SYNTHÈSE DE STRUCTURES DENDRITIQUES MANNOSYLÉES

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR

ALY EL RIZ

FÉVRIER 2022

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.04-2020). 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.»

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, le professeur René Roy, professeur de renommée internationale pour m'avoir offert l'opportunité d'appartenir à son équipe de recherche et de pouvoir effectuer mon apprentissage en chimie médicinale.

Je tiens également à remercier mon co-directeur, le professeur Abdelkrim Azzouz de m'avoir accepté et je le remercie pour son encadrement et ses conseils judicieux et précieux.

Je tiens également à remercier toute l'équipe du Pr. Roy dont la Dre Leila Moussavifar pour son soutien et ses conseils et le Dr. Shuay Abdullayev pour ses conseils et son soutien tout au long de cette maîtrise.

Je tiens également à remercier le directeur du programme le professeur Sylvain Canesi pour ses précieux conseils et son soutien de même que tous les professeurs que j'ai côtoyé dont le professeur Steve Bourgault et la professeure Lekha Sleno mais aussi le personnel administratif dont Mme Pascale Beauchemin, le personnel du magasin de chimie ainsi que Mme Charlotte de la Chevrotière de la maintenance.

Je tiens finalement à remercier les membres de ma famille et en particulier ma femme qui m'a soutenue tout au long de cette maîtrise.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES SCHÉMAS	x
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	xiii
RÉSUMÉ	xv
ABSTRACT	xvi
CHAPITRE I INTRODUCTION.....	17
1.1 Introduction au chapitre.....	17
1.2 Monovalence, multivalence et « Effet Cluster Glycosidique »	19
1.3 Les glycoconjugués	23
1.3.1 Les glycolipides.....	24
1.3.2 Les glycoliposomes	26
1.4 Les dendrimères.....	28
1.4.1 Méthodes de synthèse des dendrimères.....	30
1.5 Chimie click.....	32
1.6 Diffusion dynamique de la lumière	33
CHAPITRE II SYNTHÈSE DE STRUCTURES MANNOSYLÉES	34
2.1 Synthèse des mannosyliposomes 2.12 et 2.13	34
2.1.1 Objectif de la première partie du travail.....	34
2.1.2 Rétrosynthèse des mannosyliposomes 2.12 et 2.13	36

2.1.3 Synthèse des mannoliposomes 2.12 et 2.13	39
2.1.4 Synthèse des mannoliposomes formés à partir des mannolipides 2.12 et 2.13 47	
2.2 Synthèse de structure dendritique mannosylée.....	51
2.2.1 Objectif de la seconde partie	51
2.2.2 Stratégie de synthèse du dendrimère hybride	53
CHAPITRE III PARTIE EXPÉRIMENTALE	61
3.1 Matériels et méthodes	61
3.2 Procédure expérimentale	63
3.2.1 Procédure expérimentale des mannoliposomes	63
3.2.2 Partie expérimentale du dendrimère hybride.....	108
CONCLUSION.....	119
PERSPECTIVES	121
ANNEXE A	123
BIBLIOGRAPHIE	131

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
Figure 1.1 Représentation de la mosaïque de la membrane plasmique. ⁴	18
Figure 1.2 Exemple de mécanisme des agents pathogènes sur les cellules hôtes. ¹⁰ ..	19
Figure 1.3 Interactions ligands-récepteurs. ¹²	20
Figure 1.4 Multivalence. (a) Interaction multivalente d'un virus avec ses récepteurs sur la cellule hôte. (b) Interaction monovalente d'un médicament avec la protéine de fixation virale. (c) Interaction multivalente d'un médicament avec la protéine de fixation virale. ¹³	21
Figure 1.5 Exemple d'échafaudages synthétiques ³⁵	22
Figure 1.6 Représentation schématique de la membrane cellulaire. ³⁷	24
Figure 1.7 Structure d'une nanoémulsion. ⁴⁵	25
Figure 1.8 Structure simplifiée d'un glycolipide.	26

Figure 1.9 Schéma représentatif d'un glycoliposome, tiré et réadapté. ⁵²	27
Figure 1.10 Composition structurale d' un dendrimère. ⁶⁰	29
Figure 1.11 Stratégie divergente ⁶³	31
Figure 1.12 Stratégie convergente. ⁶³	32
Figure 1.13 Schéma représentatif du fonctionnement du DLS. ⁷²	33
Figure 2.1 Graphique illustrant la taille des mannosomes en fonction de leur concentration.	49
Figure 2.2 Spectre de la RMN ¹ H confirmant la triazole du composé 3.3	57
Figure 3.1 RMN ¹ H (300MHz, DMSO-d ₆) du composé 2.1	64
Figure 3.2 RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO-d ₆) du composé 2.1	65
Figure 3.3 RMN ¹ H du composé 2.2	67
Figure 3.4 RMN ¹³ C du composé 2.2	68
Figure 3.5 RMN ¹ H Composé 2.3	70
Figure 3.6 RMN ¹³ C du composé 2.3	71
Figure 3.7 RMN ¹ H Composé 2.4	73
Figure 3.8 RMN ¹³ C du composé 2.4	74

Figure 3.9 RMN ^1H Composé 2.5	76
Figure 3.10 RMN ^1H Composé 2.5	77
Figure 3.11 RMN ^1H Composé 2.6	79
Figure 3.12 RMN ^{13}C du Composé 2.6	80
Figure 3.13 RMN ^1H Composé 2.7	82
Figure 3.14 RMN ^{13}C du composé 2.7	83
Figure 3.15 RMN ^1H Composé 2.8	85
Figure 3.16 RMN ^{13}C du composé 2.8	86
Figure 3.17 RMN ^1H Composé 2.9	88
Figure 3.18 RMN ^{13}C du composé 2.9	89
Figure 3.19 RMN ^1H Composé 2.10	91
Figure 3.20 RMN ^{13}C du composé 2.10	92
Figure 3.21 RMN ^1H Composé 2.11	94
Figure 3.22 RMN ^1H Composé 2.12	96
Figure 3.23 Spectre 2D-RMN-COSY ^1H - ^1H du composé 2.12	97

Figure 3.24 RMN ^{13}C du composé 2.12	98
Figure 3.25 DEPT du composé 2.12	99
Figure 3.26 HSQC du composé 2.12	100
Figure 3.27 RMN ^1H du composé 2.13	103
Figure 3.28 Spectre 2D-RMN-COSY ^1H - ^1H du composé 2.13	104
Figure 3.29 RMN ^{13}C du composé 2.13	105
Figure 3.30 DEPT du composé 2.13	106
Figure 3.31 HSQC du composé 2.13	107
Figure 3.32 RMN ^1H du composé 3.1	109
Figure 3.33 RMN ^1H du composé 3.2	111
Figure 3.34 RMN ^{13}C du composé 3.2	112
Figure 3.35 RMN ^1H du composé 3.3	114
Figure 3.36 RMN COZY- 2D ^1H - ^1H du composé 3.3	115
Figure 3.37 RMN ^{13}C du composé 3.3	116
Figure 3.38 DEPT du composé 3.3	117

Figure 3.39 HSQC du composé 3.3	118
---	-----

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma	Page
Schéma 2.1 Réaction d'amidation in-situ effectuée entre un azoture et un groupe carboxyle.....	35
Schéma 2.2 Représentation du glycoliposome constitué de mannoipide 2.12 ou 2.13	36
Schéma 2.3 Analyse rétrosynthétique des composés 2.12	38
Schéma 2.4 Synthèse d'ester méthylique d'acide α -résorcylique par réaction d'estérification de Fischer.....	39
Schéma 2.5 Synthèse des composés 2.2 et 2.4 <i>via</i> la réaction d'éthérfication de Williamson.	40
Schéma 2.6 Réaction de saponification de l'ester méthylique.....	40
Schéma 2.7 Monotosylation du triéthylène glycole.	41
Schéma 2.8 Synthèse du produit 2.7	41
Schéma 2.9 Synthèse de la tête hydrophilique avec le groupement azido au point focal.	42

Schéma 2.10 Substitution de groupement tosyle de PEG ₃ par azidation.	43
Schéma 2.11 Synthèse du composé 2.11	44
Schéma 2.12 Synthèse du produit 2.12	45
Schéma 2.13 Représentation de la synthèse du composé 2.13	46
Schéma 2.14 Analyse rétrosynthétique de la molécule cible.	53
Schéma 2.15 Synthèse du composé 3.2	54
Schéma 2.16 Représentation de la synthèse du composé 2.3	55
Schéma 2.17 Synthèse du composé 3.4.....	58
Schéma 2.18 Schéma de synthèse anticipée du composé 3.6	60

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
Tableau 2.1 Données compilées des résultats de la DLS.....	48

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

Ac ₂ O	Anhydride acétique
AcOEt	Acétate d'éthyle
BSA	Albumine de sérum bovin
Bu ₃ P	Tributylphosphine
Bu ₄ NHSO ₄	Hydrogénosulfate de tétrabutylammonium
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
COSY	Correlated Spectroscopy
CuAAC	Cycloaddition 1,3-dipolaire azoture-alcyne catalysée par le cuivre
CuSO ₄ ·5H ₂ O	Sulfate de cuivre (II) pentahydraté
DCM	Dichlorométhane
DDAB	Bromure de diméthylodioctadécylammonium
δ	Déplacement chimique
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimide
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
D ₂ O	Oxyde de deutérium

DMSO	Diméthylsulfoxyde
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
eq.	Équivalent
HSQC	Spectroscopie de cohérence hétéronucléaire Single-Quantum
Hz	Hertz
HOBt	Hydroxybenzotriazole
K ₂ CO ₃	Carbonate de potassium
MDP	Muramyl dipeptide
MeOH	Méthanol
NaN ₃	Azoture de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
NaOMe	Méthanolate de sodium
PAMAM	Poly(amidoamine)
PEG	Poly(éthylène glycol)
RMN ¹ H	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ¹³ C	Résonance magnétique nucléaire du carbone
TsCl	Chlorure de tosyle
THF	Tétrahydrofurane

RÉSUMÉ

Ce présent mémoire est dédié à une recherche sur la synthèse de structures dendritiques pour des applications biomédicales. Dans ce contexte, des mannosomes dotés de queues lipidiques de différentes longueurs ont été synthétisés. Ces glycoconjugués synthétiques, mimétiques de leurs congénères naturels ont pour but de lutter contre les agents pathogènes. Les nanoparticules mannosylées ciblées par cette recherche sont des inhibiteurs ayant une affinité avec l'adhésine FimH, et vont empêcher les bactéries *E. Coli* de se fixer sur les cellules et d'adhérer à l'épithélium d'où leur rôle antibactérien.

La première partie est axée sur la synthèse de mannosides auto-assemblés. La deuxième partie s'est concentrée sur le développement de la voie la plus courte pour la synthèse convergente du mannodendrimère G(1) constitué de blocs de construction de pentaérythritol et d'hydroquinone. Intermédiaire clé – le tripropargyl pentaérythritol halogéné **3.2** et son dérivé trimère contenant du mannose acétylé – le dendron **3.3** ont été synthétisés respectivement avec un rendement de 44% (en 2 étapes) et 22% (en 3 étapes) en utilisant uniquement l'éthérisation de Williamson et les réactions de chimie click.

Les composés ont été synthétisés et caractérisés principalement par la RMN ^1H , ^{13}C , COSY, DEPT et HSQC. Une caractérisation de ces mannosides amphiphiles auto-assemblés a été effectuée pour évaluer l'influence de la longueur de la chaîne carbonée en tant que terminaison lipophile sur les paramètres physiques des vésicules glucidiques formées. Les analyses DLS ont montré qu'une augmentation de la longueur de la chaîne carbonée affecte la taille des mannosomes, la polydispersité demeurant dans notre cas stable.

Mots clés: mannose, mannosides, mannodendrimère, dendron, amidation *in situ*.

ABSTRACT

This thesis is dedicated to a research on the synthesis of dendritic structures for biomedical applications. In this context, mannosylated nanoparticles targeted by this research are inhibitors having an affinity with FimH adhesin and will prevent *E. Coli* bacteria from attaching to cells and adhering to the epithelium, hence their antibacterial role.

The first part focused on the synthesis of self-assembled mannolipids. The second part focused on developing the shortest route for the convergent synthesis of mannodendrimer G (1) consisting of the building blocks of pentaerythritol and hydroquinone. Key intermediate—halogenated tripropargyl pentaerythritol **3.2** and its trimer derivative containing acetylated mannose—dendron **3.3** were synthesized respectively at 44% (in 2 steps) and 22% (in 3 steps) using only the etherification of Williamson and the click chemistry reactions.

The compounds were synthesized and characterized mainly by ¹H, ¹³C, COZY, DEPT and HSQC NMR. A characterization of these self-assembled amphiphilic mannolipids was performed to assess the influence of the length of the carbon chain as a lipophilic termination on the physical parameters of the carbohydrate vesicles formed. The DLS analyzes showed that an increase in the length of the carbon chain affects the size of the mannosylated nanoparticles, the polydispersity remaining stable in the present case.

Keywords: mannose, mannolipids, mannodendrimer, dendron, *in-situ* amidation.

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Introduction au chapitre

Le processus de reconnaissance entre les bactéries et leurs hôtes est d'une grande importance pour notre compréhension des processus vitaux ce qui va permettre d'élucider de nombreuses maladies infectieuses. La glycobiologie est au cœur de ce processus de reconnaissance.¹ La glycobiologie est une science qui permet l'étude biologique des glycoconjugués dans des systèmes simples mais aussi dans des systèmes complexes.² Elle est considérée comme étant à la frontière entre la biochimie et la biologie moléculaire et permet l'étude et la compréhension structurelle et biologique des glycanes.³ Les glycanes qui vont se retrouver sur la surface cellulaire des mammifères sont ainsi dénommés des glycoconjugués. Les glycoconjugués sont donc la dénomination des glucides ou glycanes qui sont reliés par une liaison covalente à certains composants tels que les protéines, les lipides, les peptides et autres. De leur liaison avec les lipides ou autres il ressortira des classes différentes telles que les glycolipides. On retrouve les glycoconjugués le plus souvent dans la partie externe de la membrane cellulaire (Figure 1.1).

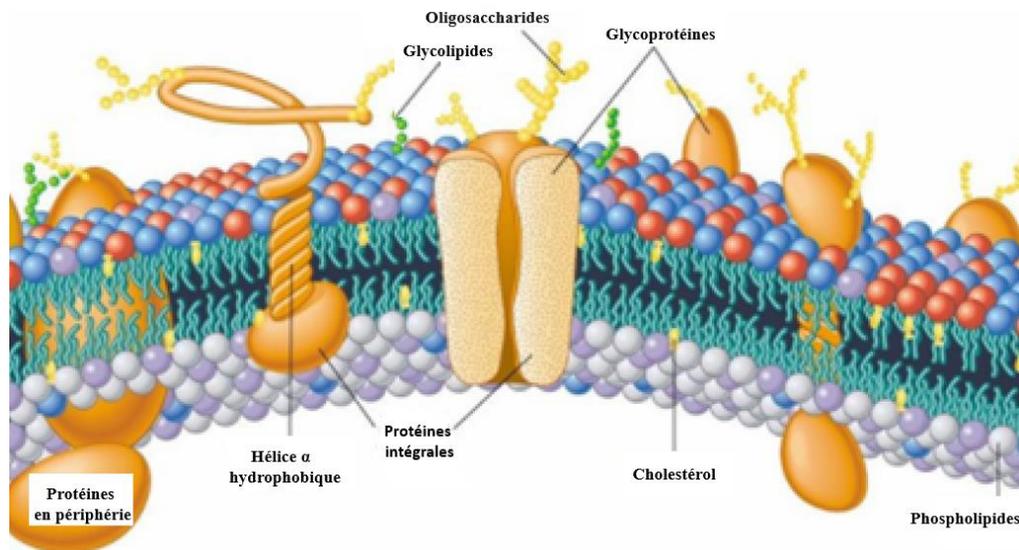


Figure 1.1 Représentation de la mosaïque de la membrane plasmique tiré et réadapté.⁴

Les sucres présents sur la membrane plasmique sont à l'origine de la transduction de signal entre les deux milieux cellulaires à savoir le milieu extra-cellulaire et le milieu intracellulaire au cours de processus biologiques.⁵ Certaines réactions sur les sucres telles que la phosphorylation sont des joueurs clés dans le métabolisme cellulaire.⁶ Ce sont les hydroxyles présents dans les sucres et les liens glycosidiques qui vont refléter le fait que les glucides soient capables du codage de l'information biologique.⁷ Les sucres ont la capacité d'ancrer les agents pathogènes et sont responsable du choix spécifique de l'hôte et des tissus. La relation entre les glycanes et des récepteurs de liaison aux glycanes va influencer grandement les interactions entre les agents pathogènes et leurs hôtes. Cela est dû au fait que les glycanes ont une forte présence au sein de la membrane externe.⁸ Les sucres peuvent donc être la cible de divers éléments exprimés par les pathogènes.⁹ Les pathogènes vont devoir être capables de favoriser un attachement aux cellules hôtes¹⁰ et donc une adhérence aux surfaces cellulaires et c'est cette adhérence qui est à la base de nombreuses maladies infectieuses. L'adhésion ou l'adhérence microbienne va être possible *via* des protéines dénommées lectines qui vont se lier aux glycanes. Les mécanismes d'adhérence bactérienne aux surfaces des

cellules hôtes sont hautement organisés (Figure 1.2). Les pili ou fimbriae sont constitués d'une sous-unité structurale répétitive et d'une protéine à leur extrémité qui est responsable de la reconnaissance d'un motif glycane spécifique de la cellule hôte. Les adhésines afimbriales sont des protéines de la paroi cellulaire bactérienne ou des glycoprotéines qui engagent directement les récepteurs de la cellule hôte favorisant ainsi la colonisation cellulaire. Les Pili ou fimbriae sont des organites se projetant à partir de la surface cellulaire et sont constitués d'une sous-unité structurale répétitive et d'une protéine à leur extrémité qui assure la reconnaissance d'un motif glycane spécifique de la cellule hôte (Figure 1.2-A). Les adhésines afimbriales sont des protéines ou des glycoprotéines bactériennes intégrales de la paroi cellulaire qui engagent directement les récepteurs de la cellule hôte pour favoriser la colonisation (Figure 1.2-B).

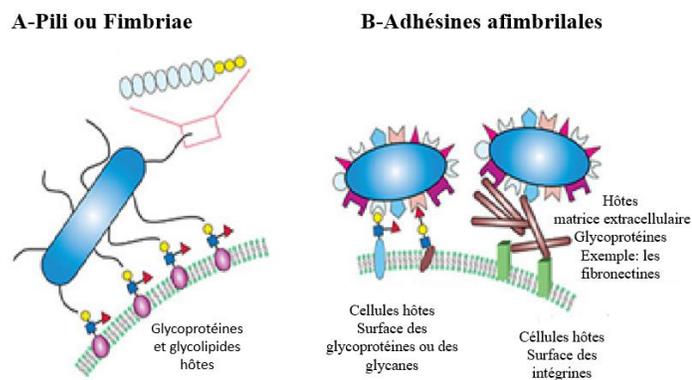


Figure 1.2 Exemple de mécanisme des agents pathogènes sur les cellules hôtes tiré et réadapté.¹⁰

1.2 Monovalence, multivalence et « Effet Cluster Glycosidique »

La valence d'une structure peut être considérée comme la quantité d'unités structurales ayant la capacité de formation d'interactions ligand-récepteur avec une entité distincte. La structure concernée peut être une molécule, une protéine, un oligosaccharide, un

acide nucléique, un virus voire une cellule.¹¹ Avant d'aborder la multivalence, il serait intéressant de passer en revue la monovalence et les interactions monovalentes. Une interaction monovalente est une interaction entre deux entités monovalentes par exemples un ligand et un récepteur, le ligand étant le sucre et le récepteur une lectine dans une interaction sucre-protéine (Figure 1.3). D'un point de vue thermodynamique, les interactions entre le ligand et le récepteur vont mener à un équilibre en réduisant l'enthalpie et en augmentant l'entropie. Les interactions vont former un seul complexe ligand récepteur en partant d'un ligand et d'un récepteur. Pour ce qui est des interactions multivalentes, les ligands et récepteurs multivalents vont donner naissance à une panoplie de complexes.

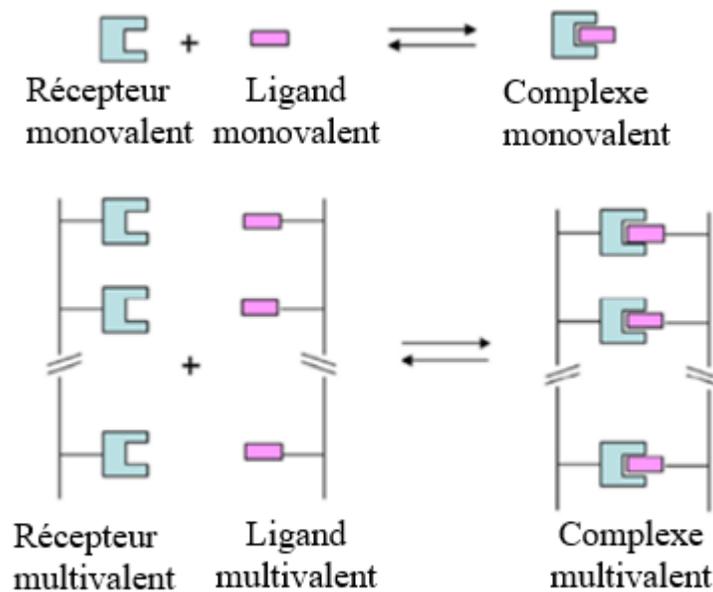


Figure 1.3 Interactions ligands-récepteurs tiré et réadapté.¹²

La multivalence aussi dénommée polyvalence peut être considérée comme un évènement de la nature au cours duquel des molécules vont être reliées par de fortes liaisons. Les interactions multivalentes ou polyvalentes vont donc lier un regroupement

de ligands ou épitopes qui se retrouvent sur une molécule à des récepteurs se retrouvant sur une entité distincte. La multivalence va jouer un rôle de premier plan dans l'autoassemblage de la matière mais aussi dans les processus de reconnaissance cellulaire et de transduction du signal dans un nombre élevé de systèmes biologiques. Les interactions multivalentes sont des liaisons fortes mais réversibles et cela est dû à la séparation séquentielle des liens individuels, ce qui va permettre aux interactions au sein des cellules, ou entre les cellules et des pathogènes (tels que les virus) d'être dynamiques. Les sucres qui se retrouvent à la surface cellulaire tels que glycoprotéines, et les glycolipides peuvent donc être considérés comme répondant à la multivalence et désignées ainsi comme des entités multivalentes. Dans la nature, les interactions multivalentes sont nombreuses et elles vont impliquer simultanément une liaison de plusieurs ligands sur une entité biologique qui comprend plusieurs récepteurs sur une autre entité.¹¹ Comme exemples de ces interactions nous pouvons citer l'ancrage des virus sur des cellules cibles et la liaison d'anticorps à des agents pathogènes.

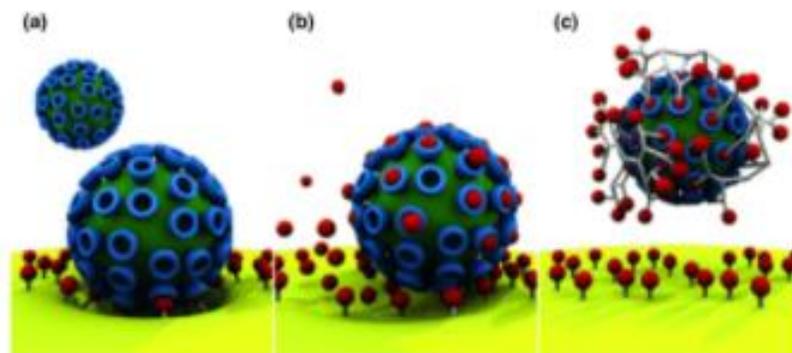


Figure 1.4 Multivalence. (a) Interaction multivalente d'un virus avec ses récepteurs sur la cellule hôte. (b) Interaction monovalente d'un médicament avec la protéine de fixation virale.

(c) Interaction multivalente d'un médicament avec la protéine de fixation virale.¹³

Les interactions multivalentes comportent de multiples avantages parmi lesquels le fait que la force de ces interactions est beaucoup plus élevée que celle des interactions monovalentes correspondantes.¹¹ Cet avantage est particulièrement intéressant du fait

qu'il influence de façon positive les interactions biologiques.¹⁴ Les inhibiteurs synthétiques multivalents sont utilisés pour l'inhibition des virus¹⁵ et des toxines bactériennes¹⁶ ce qui va permettre d'augmenter les réponses cellulaires désirées.¹⁷ La multivalence va également permettre d'obtenir des interactions plus fortes.¹⁸ Aujourd'hui, l'une des principales stratégies contre les agents pathogènes consiste à créer des ligands multivalents qui entreront en compétition avec les ligands naturels des lectines microbiennes. Pour atteindre cet objectif, les glucides érigés sur des blocs de construction synthétiques avec diverses valences sont prometteurs. Les échafaudages glucidiques sont jusqu'à présent classés en raison de leur conception architecturale: glycoprotéines,¹⁹⁻²¹ glycopeptides,²²⁻²⁴ glycopolymères,²⁵⁻²⁷ glycoliposomes,²⁸⁻³⁰ glyoclusters de glycodendrimères,³¹⁻³³ glyconanoparticules d'or,³⁴ etc. (Figure 1.5). Par souci de clarté, nous donnerons un exemple de ces classes de glycoconjugués synthétiques.

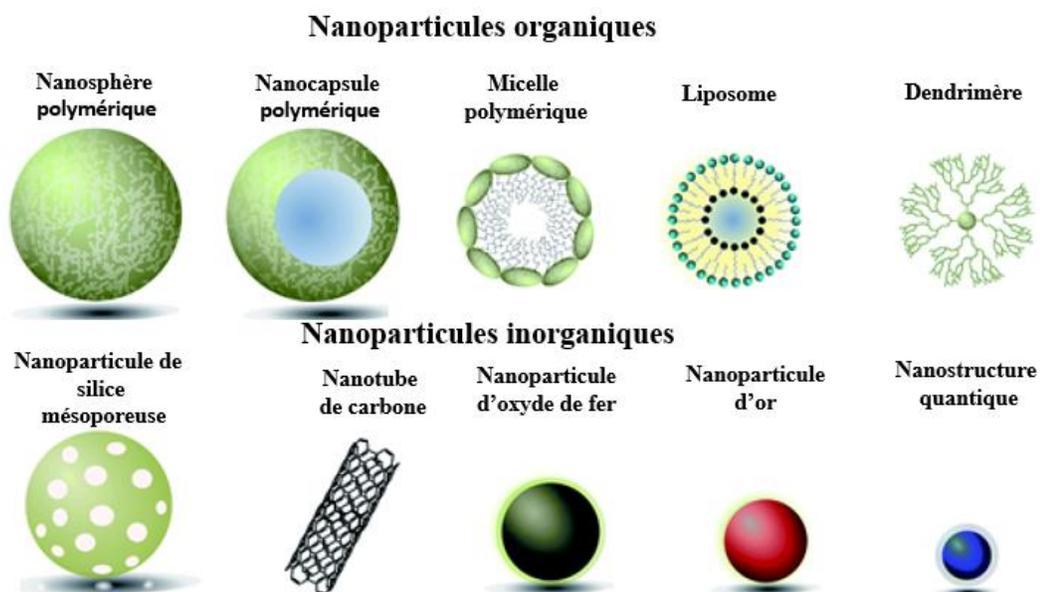


Figure 1.5 Exemple d'échafaudages synthétiques tiré et réadapté ³⁵

Dans la nature, les infections causées par certains virus, parasites ou bactéries vont nécessiter la reconnaissance de l'hôte par l'agent pathogène à médiation par les glucides. Il est donc important de maîtriser ces événements avec des inhibiteurs sélectifs. La liaison entre les ligands saccharidiques et leurs récepteurs protéiques est généralement faible et nécessite une affinité plus élevée. Les protéines qui se lient aux glucides sont des entités mono-disperses soit des agrégats de valence élevée comme les particules virales.³⁴ L'utilisation d'hydrates de carbone comme ligands multivalent liés à des protéines va permettre l'augmentation de l'activité comparativement au ligand monovalent par mole de saccharide, ou à valence corrigée. C'est « l'effet de cluster glycoside. »³⁶

1.3 Les glycoconjugués

Le terme glycoconjugué est utilisé afin de classer les glucides qui ont une liaison covalente avec des familles moléculaires telles que les protéines, les peptides, les lipides et autres. Ce processus permettant de lier les deux familles et qui va aboutir au glycoconjugué est appelé glycosylation et c'est la partie glucidique du glycoconjugué que l'on dénomme glycane. Les glycoconjugués sont d'une importance capitale en biologie du fait de leur participation à plusieurs processus biologiques. Les glycoconjugués vont ainsi être impliqués dans des processus de reconnaissance spécifiques entre les cellules incluant l'adhésion cellule-cellule mais aussi dans les interactions cellule-matrice. Les glycoconjugués sont des molécules primordiales pour la détermination des propriétés des cellules. De plus ces nanoparticules glucidiques participent à la transduction du signal et sont impliqués dans des processus de reconnaissance cellulaire, d'adhésion et de signalisation au niveau des bactéries et des virus de même que dans la réponse immunitaire des anticorps.

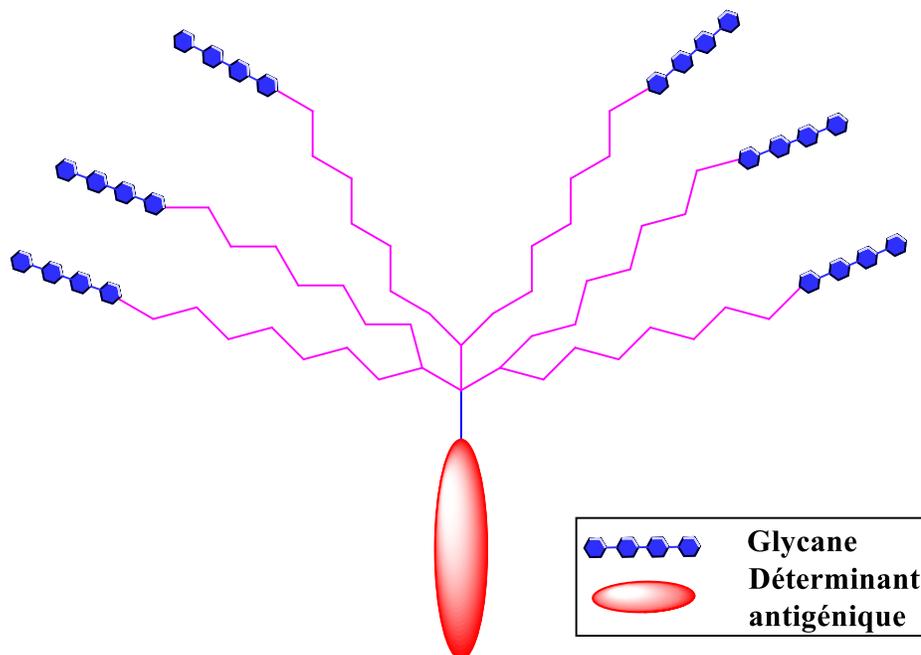


Figure 1.6 Représentation schématique d'un glycoconjugué pour le développement potentiel de vaccins : Unité de glycane active qui est conjuguée à un dendron fonctionnalisé et rendu immunogène par sa conjugaison à un déterminant antigénique.

La richesse des glycoconjugués se trouve dans la diversité de leur structure et de leur fonction et leur utilisation comme biomarqueurs spécifiques pour les cellules,³⁷ comme vaccins,³⁸ et comme agent thérapeutique³⁹ est dorénavant un phénomène approuvé. Il existe de nombreux glycoconjugués naturels qui sont produits par les plantes, les animaux et autres et qui sont dotés d'excellentes caractéristiques. De plus ces structures saccharidiques issues de la nature sont biocompatibles, ce qui augmente leur valeur ajoutée mais aussi leur potentiel d'utilisation dans de nombreuses applications. Parmi les exemples de glycoconjugués on peut citer les glycolipides et les glycoliposomes.

1.3.1 Les glycolipides

Les glycolipides sont des glycoconjugués composés d'une partie lipidique et qui portent des glucides sur leurs surface. Les lipides sont des chaînes carbonées saturées

et insaturées qui sont solubles dans plusieurs solvants organiques apolaires tels que le benzène et l'éther.^{40, 41} Les lipides sont originaires de deux sources, l'une naturelle et l'autre synthétique et ont en leur sein au minimum un acide gras. En 1815, Henri Braconnot classifiait les lipides en deux grandes classes, celle des graisses et celle des huiles.⁴² Dans un passé plus récent, la classification des lipides s'effectue de manière beaucoup plus détaillée soit de par leur composition ou de par leur fonction. Les glycolipides sont des molécules dont la composition confère des avantages très intéressants du fait que leur partie lipidique est hydrophobe et le sucre représentant la partie osidique ou glucidique est hydrophile. Ces molécules lipido-saccharidiques sont donc des entités amphiphiles.⁴³ Cela va permettre de générer des nanoparticules telles que des nanomicelles ou des nanoémulsions car dans l'eau il y a un autoassemblage et c'est la concentration en lipides qui va influencer la nanostructure formée. Les nanomicelles ont un diamètre compris entre 5 à 100 nm de diamètre. Le diamètre des nanoémulsions varie entre 20 et 500 nm (Figure 1.7).

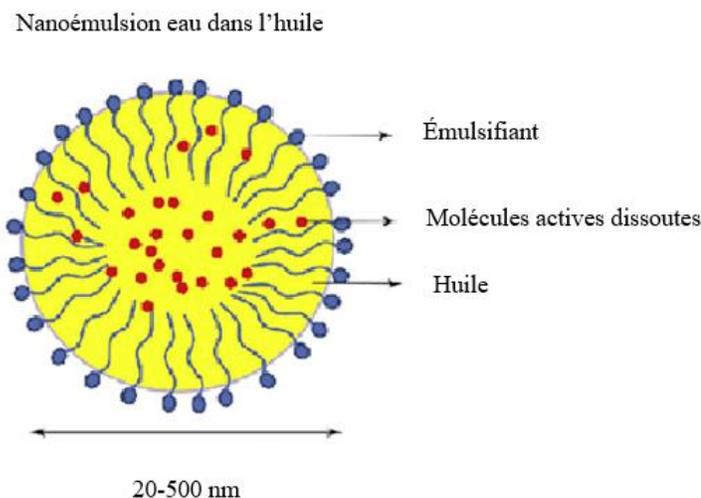


Figure 1.7 Structure d'une nanoémulsion tiré et réadapté.⁴⁴

Les molécules amphiphiles sont impliquées dans de nombreux processus biologiques complexes et peuvent être des tensioactifs ou surfactants.

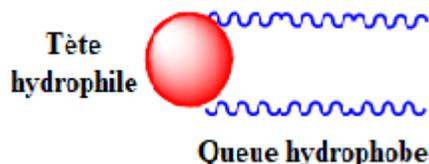


Figure 1.8 Structure simplifiée d'un glycolipide.

Les tensioactifs ont l'avantage de pouvoir moduler ou modifier la tension superficielle présente entre deux milieux immiscibles. Ce sont des molécules amphiphiles qui sont dotées d'une partie polaire hydrophile miscible dans l'eau et d'une partie apolaire hydrophobe qui permet de retenir les acides gras. La modification de la tension de surface va ainsi être un avantage important dès qu'il existe un contact entre la partie aqueuse et non aqueuse ce qui va permettre la stabilisation des émulsions mais aussi l'incorporation de principes actifs par l'intermédiaire de micelles.⁴⁵ Le fait que les glycolipides soient des agents surfactants va entraîner leur utilisation dans plusieurs types d'industrie tels que l'industrie alimentaire, textile ou cosmétique.⁴⁶ Les glycolipides ont l'avantage d'être biodégradables et sont le plus souvent non ou très peu toxiques. Les glycolipides sont de ce fait, des concurrents potentiels des tensioactifs issus de l'industrie pétrolière, ces derniers ayant une toxicité élevée qui représente un fléau environnemental.

1.3.2 Les glycoliposomes

Les liposomes sont des vésicules sphériques constituées d'au moins une bicouche phospholipidique.⁴⁷ Cette découverte révolutionnaire qui remonte à la seconde moitié du 20 -ème siècle fut l'œuvre du professeur Alec D. Bangham et de son équipe au cours de leur recherche sur les bicouches lipidiques du plasma.⁴⁷ Le terme liposome est issu de la fusion de mots grecs soit le mot « Lipos » qui signifie graisse et le mot « Soma » qui signifie corps. De façon structurale, les liposomes peuvent être considérés comme

des vésicules dans lesquelles le noyau aqueux se trouve entouré d'une, voire plusieurs bicouches lipidiques. L'assemblage des liposomes s'effectue à partir de blocs de construction.⁴⁸ Les liposomes sont formés en majorité de phospholipides qui vont se regrouper en structure fermées au moment de la dispersion de l'eau. Les liposomes étant des entités amphiphiles, les queues de phospholipides vont former la couche lipidique hydrophobe et les têtes de phospholipides la partie hydrophile polaire. Les glycoliposomes sont des vésicules synthétiques riches en glucides qui ont été synthétisées pour imiter le glycocalyx.⁴⁹ Ils vont participer aux interactions à base de glucides contre les agents pathogènes, ces structures polyvalentes sont utilisées pour mimer la biomembrane.⁵⁰ Ces nanoparticules polyvalentes sont utilisées pour le renforcement de l'immunité mais aussi comme vecteurs de médicaments dans l'administration de médicaments.³⁰

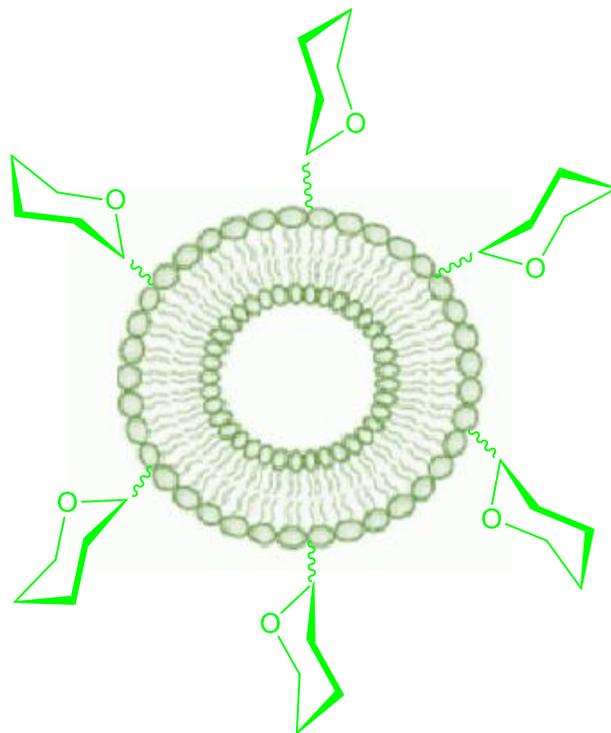


Figure 1.9 Schéma représentatif d'un glycoliposome, tiré et réadapté.⁵¹

Les glycoliposomes sont des vésicules le plus souvent de forme sphérique ayant une partie glucidique hydrophile et une partie lipidique lipophile, dotés d'un cœur central de matière aqueuse entouré de bicouches lipidiques qui sont constituées de lipides naturels ou synthétiques.⁵² Divers lipides synthétiques pour générer des liposomes sont disponibles dans le commerce aujourd'hui.

1.4 Les dendrimères

Les dendrimères dont l'étymologie provient d'une association de deux mots grecs, le premier soit dendron ayant pour signification arbre ou branche et le second soit meros qui signifie partie. Les dendrimères peuvent être définis comme étant des macromolécules de taille nanométrique synthétiques, homogènes, hautement ramifiées et qui tendent vers la monodispersité. Historiquement, la conceptualisation des dendrimères fut introduite par Flory dans un article publié en 1941.⁵³ Pour ce dernier il est question de polymérisation hyperbranchée et tridimensionnelle.⁵⁴ Il faudra attendre une quarantaine d'année plus tard soit en 1978 pour assister à une avancée majeure dans le domaine avec le professeur allemand Fritz Vögtle qui va effectuer la synthèse de molécules polyamines dénommées molécules en cascade.⁵⁵ En 1981 le professeur R. G. Denkewalter va déposer un brevet pour la synthèse de polymères qui contiennent en périphérie des acides aminés de lysine.⁵⁶ Cependant ce sera le professeur Donald Tomalia qui va introduire le terme dendrimère lors de la synthèse de la première famille de dendrimères, terme qu'il a choisi du fait de leur architecture arborescente.⁵⁷ La même année soit en 1985 le professeur Newkome va aussi synthétiser des dendrimères qu'il va dénommer arborols.⁵⁸ De manière structurale, un dendrimère peut être divisé en 4 parties à savoir un cœur central, des générations liées entre elles et au cœur central, des espaces internes et des groupements terminaux comme l'indique la Figure 1.10 ci-dessous.

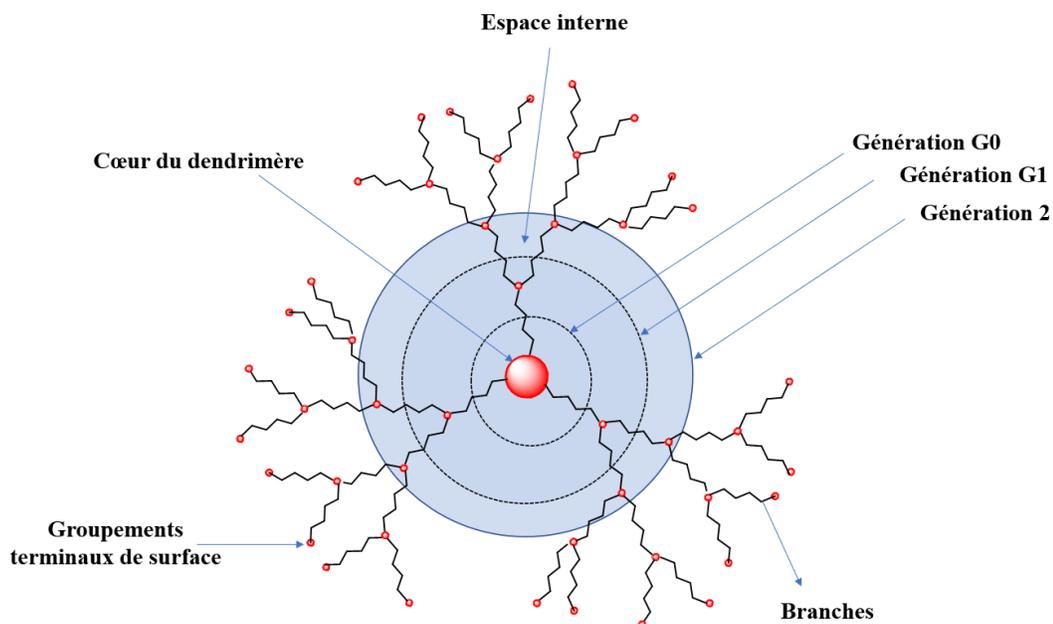


Figure 1.10 Composition structurale d'un dendrimère.

Les groupements terminaux permettent aux dendrimères de bénéficier d'une solubilité, d'une miscibilité et d'une réactivité très élevée.⁵⁹ De plus, le nombre élevé et précis des groupements terminaux situés en périphérie comparativement à la taille fait des dendrimères un joueur potentiel dans l'administration de médicaments mais aussi comme agents antiviraux.⁶⁰

Depuis la première synthèse des dendrimères, différentes stratégies ont été élaborées afin de les synthétiser. La première stratégie élaborée fut la stratégie divergente suivie par la suite d'une stratégie dénommée stratégie convergente. Un nombre élevé de molécules dendritiques ont été synthétisées par ces deux voies de synthèse.⁶¹ Ces dernières années, de nouvelles approches de synthèse ont pu voir le jour permettant ainsi la réduction du nombre d'étapes de synthèse, accompagnée d'une purification plus facile, le tout orné par une augmentation des rendements de synthèse.⁶² Les principales méthodes de synthèse sont expliquées dans les paragraphes subséquents

1.4.1 Méthodes de synthèse des dendrimères

1.4.1.1 Stratégie divergente

La stratégie divergente est considérée comme étant la plus ancienne stratégie ayant été utilisée afin de synthétiser des dendrimères.⁵⁸ Cette stratégie a été utilisée en 1985 par le professeur Donald Tomalia pour synthétiser des dendrimères Poly(amidoamine) dénommés PAMAM selon une séquence itérative de deux réactions soit une addition de Michael et une amidation.⁶³ Cette méthodologie a permis l'obtention de résultats intéressants à ses débuts du fait qu'elle a représenté un meilleur outil de purification ce qui a donc permis une augmentation des rendements comparativement à la synthèse en «cascade» effectuée par Vögtle. Cette stratégie va permettre l'obtention d'un dendrimère de génération n par le processus suivant. En effet, la croissance va s'effectuer de l'intérieur vers l'extérieur donc en allant d'un cœur multifonctionnel situé au centre vers la périphérie. La croissance va donc s'effectuer en utilisant un cœur et va se dérouler suivant un processus itératif qui repose sur des réactions d'activation et d'addition et de ce fait un déplacement allant des couches proches du cœur vers les couches en périphérie, ce passage s'effectuant d'une couche à une autre. Le premier dendrimère est obtenu par un rattachement d'une unité répétitive plurifonctionnelle au cœur de la molécule et il est dénommé première génération. Le dendrimère de seconde génération est obtenu par le rattachement du groupement activé ainsi obtenu en

périphérie à un groupement chimique complémentaire. Chaque passage d'une génération à une autre va ainsi nécessiter le même cheminement effectué pour le passage de la première à la seconde génération et ce jusqu'à l'obtention de la génération voulue. Bien que la méthode divergente comporte des avantages, elle comporte aussi des inconvénients. A titre d'exemple, une augmentation rapide du point de réaction va s'accompagner d'une augmentation du poids moléculaire ce qui diminue la cinétique de la réaction de synthèse de la génération supérieure. Au cours du processus nous pouvons assister à une augmentation du nombre de produits secondaires qui ont le plus souvent une similarité en taille et en propriétés avec la molécule attendue ce qui affecte la séparation.⁶⁴

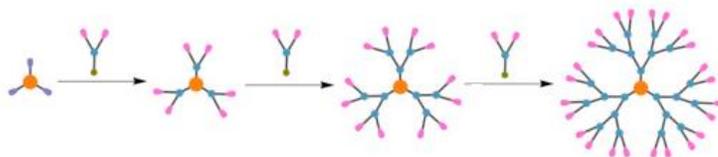


Figure 1.11 Stratégie divergente ⁶¹

1.4.1.2 Stratégie convergente

Cette présente approche a été initiée dans un article publié en 1990 par Hawker et Fréchet.⁶⁵ Cette voie de synthèse de dendrimères a représenté une approche alternative réelle à la méthode divergente. La synthèse du dendrimère *via* cette approche est différente de la méthode divergente. En utilisant la méthode convergente le cheminement s'effectue de la périphérie vers le cœur. En utilisant la stratégie convergente, la première étape va consister à synthétiser les dendrons. Une fois que les dendrons sont synthétisés, un couplage sera effectué entre les dendrons et le cœur ce qui va donner naissance au dendrimère. Dans la stratégie convergente, lorsque des grosses molécules sont couplées, il peut y advenir un encombrement stérique. Cependant la stratégie convergente comparativement à la stratégie divergente a

l'avantage d'éviter le surplus de monomères, de pouvoir éliminer les produits secondaires et de limiter le nombre de réactions à chaque étape. Aussi le nombre de sous-produits étant réduit, leur taille et leurs propriétés étant différentes du produit désiré, cela va faciliter l'étape de purification. Cependant l'inconvénient majeur de cette méthode est qu'elle est réduite à des dendrimères de basse génération du fait de l'encombrement stérique.

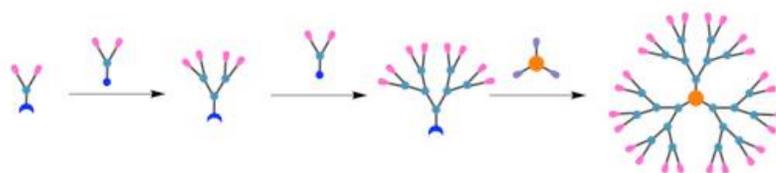


Figure 1.12 Stratégie convergente.⁶¹

1.5 Chimie click

La chimie click a été introduite par le professeur Sharpless et ses collaborateurs au début du 21ème siècle.^{66, 67} La chimie click constitue une révolution en synthèse organique du fait qu'elle représente une des méthodes de couplage les plus prisées et les plus efficaces au cours de ces dernières années. Elle va ainsi permettre la synthèse des produits issus de couplage de petites unités avec une efficacité, une rapidité, une rentabilité, une reproductibilité, une régiosélectivité de même que l'obtention de rendements assez élevé.⁶⁷ La réaction de chimie click qui est souvent dénommée CuAAC est une version catalysée et non concertée de la cycloaddition de Huisgen et nécessite de part et d'autre de chaque molécule insaturée une fonction terminale azoture et une fonction terminale alcyne.⁶⁸ Un des avantages de cette réaction est qu'elle permet la formation d'un cycle 1,2,3-triazole. De plus, les rendements de la réaction sont élevés et les conditions opératoires sont beaucoup plus douces que la cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen qui aboutit à une triazole di-substituée en 1,4 et 1,5 alors que la dite réaction va permettre de former de façon exclusive la substitution en 1,4 de la

triazole⁶⁹ et va ainsi donner des hétérocycles à cinq chaînons. Un des avantages de cette réaction est qu'elle permet l'utilisation de différents solvants ou différents systèmes de solvants. Il est possible d'utiliser des systèmes de solvants en intégrant des solvants comme l'acétone, l'acétonitrile, le DMF, le DMSO ou encore le THF en mélange avec l'eau.

1.6 Diffusion dynamique de la lumière

La diffusion dynamique de la lumière est une technique de diffusion de la lumière qui sert à la caractérisation de systèmes de nanoparticules en dispersion.

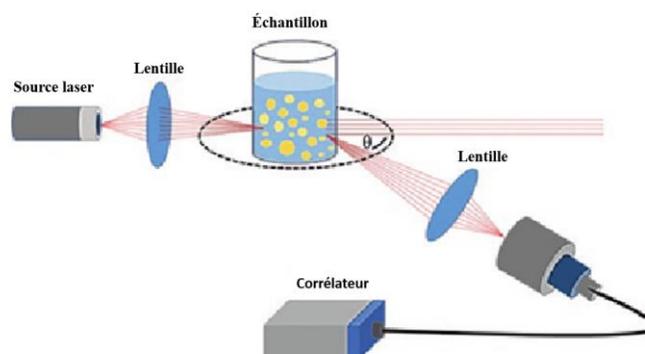


Figure 1.13 Schéma représentatif du fonctionnement du DLS tiré et réadapté.⁷⁰

C'est l'intensité mesurée de ces fluctuations qui va permettre la détermination de la taille moyenne des liposomes et qui va ainsi fournir les renseignements sur la distribution des tailles des liposomes. Le Z_{ave} représente le diamètre moyen pondéré et le PDI représente l'indice de polydispersité.⁷¹ La DLS est une technique simple, facile et peu coûteuse.⁷²

CHAPITRE II

SYNTHESE DE STRUCTURES MANNOSYLÉES

2.1 Synthèse des mannosomes **2.12** et **2.13**

2.1.1 Objectif de la première partie du travail

Les mannosides synthétiques auto-assemblés sont des composés attractifs en raison de l'accessibilité facile de leur bloc de construction à partir de sources renouvelables naturelles (mannose, acides gras). De plus, la synthèse chimique des mannosides en tant que mimétique des *O*-mannosides naturels est considérée comme simple et nécessite un nombre limité d'étapes de réaction. De nombreuses propriétés avantageuses des mannosides synthétiques telles que la biocompatibilité et la biodégradabilité en font des candidats potentiels dans les domaines pharmaceutique, agrochimique et biotechnologique. Parmi les glycolipides synthétiques auto-assemblés, les chaînes carbonées lipidiques contenant des dérivés d'acide benzoïque-mannosides conjugués sont particulièrement intéressantes.⁷³ Par conséquent, les vésicules synthétiques générées à partir de mannosides *via* la méthode d'injection d'éthanol présentent des propriétés biologiques, physiques et mécaniques remarquables telles que l'imitation de la membrane phospholipidique naturelle, la stabilité de la durée de conservation, la prévisibilité de la taille en fonction de la concentration, etc. Cependant, les mannosides synthétiques auto-assemblés précédemment rapportés sont synthétisés en conjuguant des segments lipophiles contenant du PEG et des dérivés d'acide benzoïque *via* la chimie de clic CuAAC.⁷⁴ Plus récemment rapporté par notre

groupe de recherche, les mannolipides contenant un espaceur hexyle sont synthétisés efficacement par réaction d'amidation *in-situ* entre le 6-azidohexyl 2,3,4,6-tétra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranoside et l'acide 3,5-bis(octyloxy)benzoïque.⁷⁵ Néanmoins, à notre connaissance, la synthèse de mannolipides par une réaction d'amidation *in situ* entre le dérivé d'un mannoside fonctionnalisé avec le triéthylène glycole contenant un groupement azoture au point focal et le dérivé d'acide benzoïque avec des chaînes carbonées en C12 et C14 ne sont pas rapportés à ce jour.

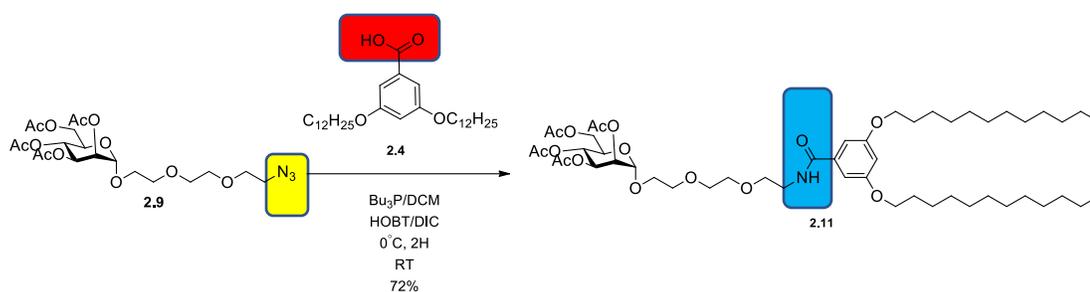


Schéma 2.1 Réaction d'amidation *in-situ* effectuée entre un azoture et un groupe carboxyle.

Ici, notre objectif est de trouver une synthèse facile, directe et économique des mannolipides. Le nouveau travail effectué au cours de cette présente recherche décrite dans la première partie du chapitre est l'aboutissement via l'amidation *in situ* entre des mannosides décrits plus haut et les dérivés d'acide benzoïque à des glycolipides en l'occurrence les molécules 2.12 et 2.13. De plus un autre objectif réussi et qui représente une nouveauté dans ce travail est l'étude de l'influence et de la longueur de la chaîne lipidique sur la taille des vésicules générées ce qui est en soi une première dans le domaine.

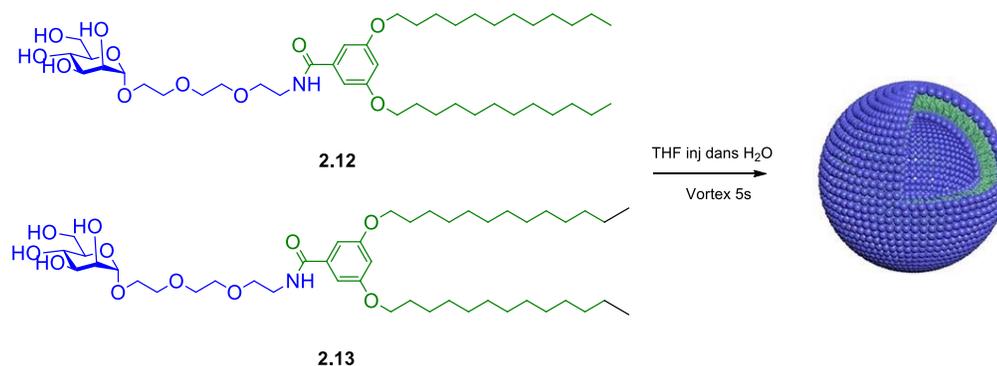


Schéma 2.2 Représentation du glycoliposome constitué de mannolipide **2.12** ou **2.14**.

2.1.2 Rétrosynthèse des mannoliposomes **2.12** et **2.13**

Les mannoliposomes **2.12** et **2.13** sont des entités amphiphiles ayant donc une partie hydrophile qui est la partie saccharidique et une partie hydrophobe issue du composé dérivé de l'acide benzoïque. Ces molécules ont l'avantage de pouvoir s'autoassembler en milieu aqueux et de former ainsi des structures bicouches. Du fait de leur nature amphiphile qui leur permet d'imiter la membrane phospholipidique des cellules, ces entités ont le pouvoir d'incorporer des médicaments de nature hydrophiles et lipophiles. Afin de développer des méthodologies évolutives pour préparer les mannolipides **2.12** et **2.13**, une synthèse rapide, simple et à haut rendement restait à développer. Vers cet objectif, nous décrivons ici la synthèse convergente des molécules souhaitées. Comme on le voit dans le Schéma 2.2, les déconnexions rétrosynthétiques clés ont été identifiées. Une déconnexion stratégique de la liaison amide a conduit à des précurseurs de tête hydrophile **2.9** et de queue lipophile **2.3**. À son tour, **2.9** pourrait survenir dans le sens direct par une substitution de type S_N2 de **2.8** et une glycosylation stéréosélective entre le donneur de mannoside - pentaacétate de mannose **2.7** et l'accepteur de mannoside – PEG₃ qui est fonctionnalisé avec le groupe d'activation mono tosylate **2.6**. L'utilisation d'un groupe d'activation tosylate comporte divers avantages, par exemple la synthèse est facile et directe. De plus le groupement tosylate est doté de propriétés avantageuses comme le fait que c'est un excellent groupe partant

et son utilisation nécessite des conditions de réaction douces pour une réaction de type S_N2 . D'autre part, l'analyse rétrosynthétique du segment hydrophobe de l'acide 3,5-bis(dodécyloxy)benzoïque **2.3** consiste en une étherification de Williamson de l'ester méthylique facilement disponible de l'acide 3,5-dihydroxy benzoïque **2.1** qui peut être synthétisé à partir de l'acide α -résorcylique commercial.

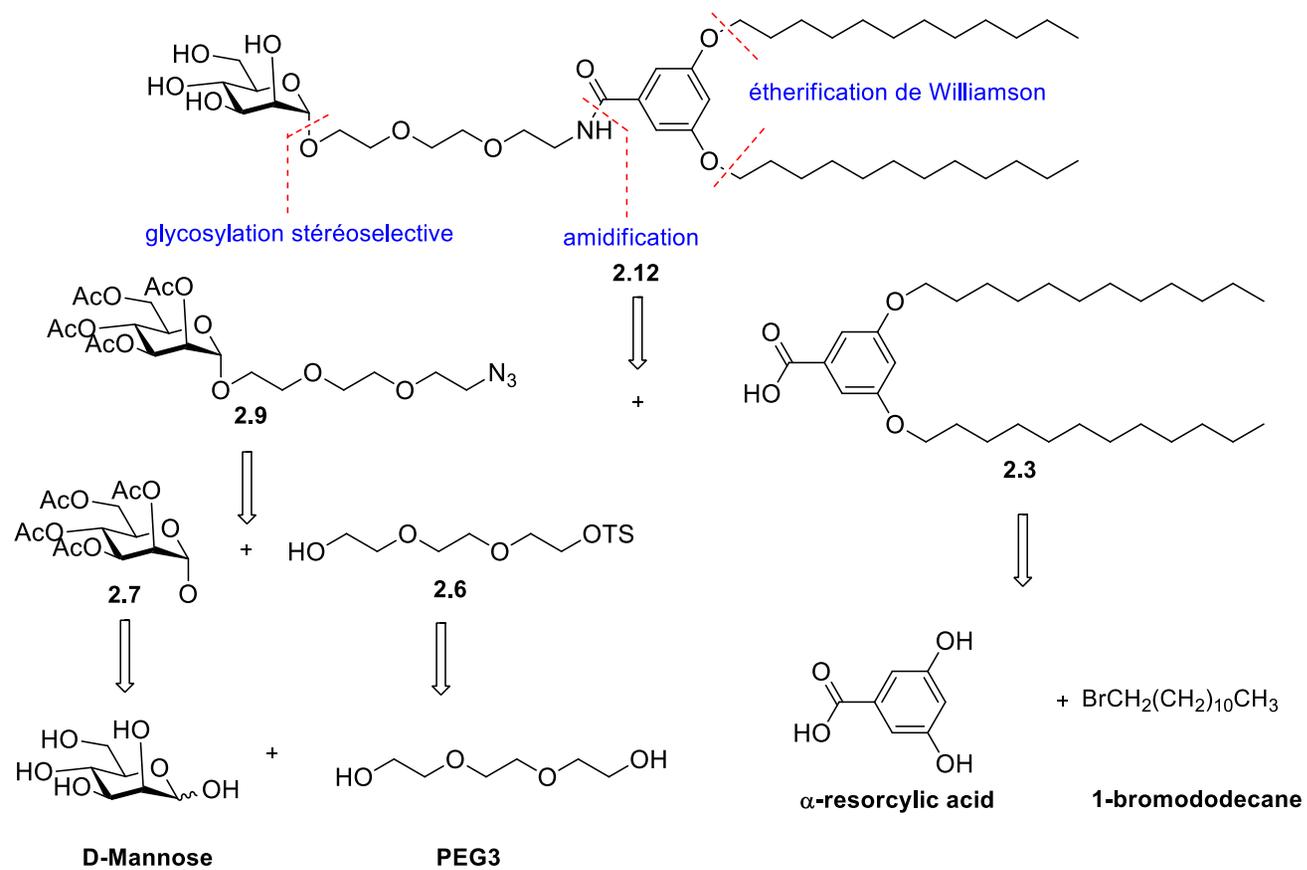


Schéma 2.3 Analyse rétrosynthétique des composés **2.12**.

2.1.3 Synthèse des mannosomes **2.12** et **2.13**

Afin de synthétiser les mannosomes **2.12** et **2.13**, nous avons décidé de diviser notre stratégie de synthèse en deux parties: la synthèse des segments hydrophiles et lipophiles séparément puis leur conjugaison. Vers cet objectif, nous avons d'abord commencé à préparer un segment hydrophobe *via* une réaction d'estérification d'acide α -résorcylique disponible commercialement. Pour la synthèse de l'ester méthylique de l'acide susmentionné, nous nous sommes tournés vers la réaction d'estérification de Fischer où la quantité catalytique d'acide est importante pour l'activation du dérivé d'acide benzoïque (Schéma 2.3)⁷⁶. L'acide sulfurique a été choisi comme catalyseur acide et la réaction a donné un rendement de 99%. La molécule souhaitée **2.1** a été isolée et entièrement caractérisée en utilisant des techniques de RMN ¹H et ¹³C.

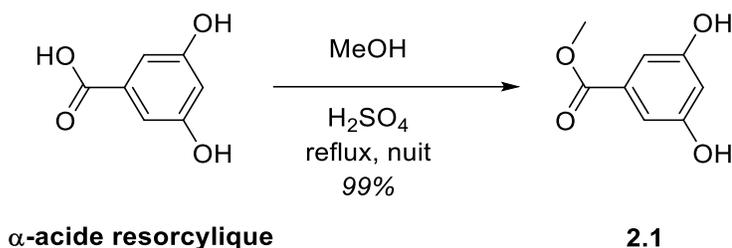


Schéma 2.4 Synthèse d'ester méthylique d'acide α -résorcylique par réaction d'estérification de Fischer.

Comme illustré sur la Figure 3.1, la présence d'un singulet qui correspond à la fonction méthyle à 3,8 ppm confirme l'obtention du produit souhaité. Afin d'attacher la chaîne carbonée lipidique sur l'acide benzoïque, nous effectuons la réaction d'éthérisation de Williamson en utilisant du 1-bromododécane et du carbonate de potassium en présence de DMF pour obtenir le composé **2.2** avec un rendement quantitatif. La quantité en excès de carbonate de potassium anhydre (6 éq.) et de DMF sec dans cette réaction était cruciale pour un rendement maximum, car la présence d'eau pendant le reflux pouvait facilement conduire à une réaction de saponification.

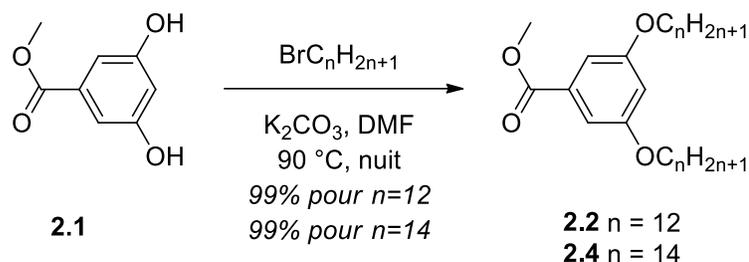


Schéma 2.5 Synthèse des composés **2.2** et **2.4** via la réaction d'éthérisation de Williamson.

Comme illustré dans les figures 3.3 et 3.7, l'analyse par RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) montre que l'ester méthylique était intact et que l'éthérisation a été réalisée avec succès. A cette fin, les deux composés (**2.2** et **2.4**) ont été soumis à une réaction de saponification pour donner les acides correspondants. Une solution à 10 % d'hydroxyde de potassium a été ajoutée à la solution d'esters dans l'éthanol pour hydrolyser complètement les esters méthyliques. Le reflux dans l'éthanol à cette étape a été recommandé pour obtenir les composés souhaités (**2.3** et **2.5**) avec des rendements de 99 %.

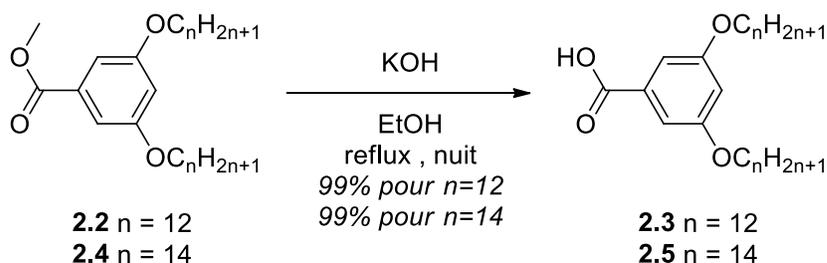


Schéma 2.6 Réaction de saponification de l'ester méthylique.

Les deux produits ont été caractérisés par des techniques RMN (^1H et ^{13}C) et les pics ont été attribués en conséquence. La disparition du singulet qui correspond au méthyle du groupe ester à 3,8 ppm montre clairement que l'hydrolyse s'est terminée avec succès (Figure 3.5 et 3.9). Pour obtenir un groupement azoture au point focal de notre bras espaceur, nous avons décidé tout d'abord d'effectuer une réaction de monotosylation sur le PEG₃ (Schéma 2.6). A la lumière du protocole⁷⁷ précédemment rapporté, la

monotosylation a été effectuée *via* le traitement du chlorure de tosyle (1 eq.) avec du triéthylène glycol en présence de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium concentré (50%) à 0 °C dans le THF. En prenant le chlorure de tosyle comme agent limitant (1eq.) et le triéthylène glycole (10 eq.) en excès on évite la formation de produits secondaires tel que le PEG₃ ditosylé lequel nous a donné un rendement de 99 % du produit désiré, ce rendement est élevé du fait que la formation du produit bitosylé a été évité par cette méthode comparativement aux méthodes classiques de tosylation.

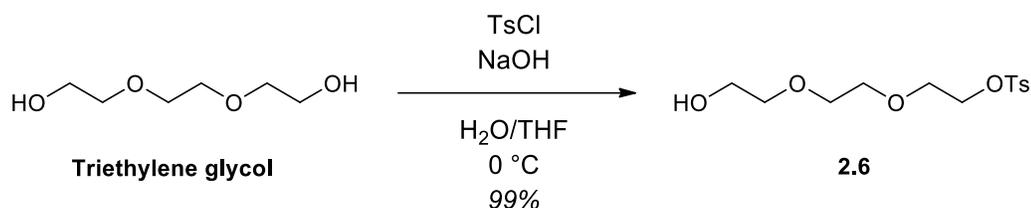


Schéma 2.7 Monotosylation du triéthylène glycole.

L'analyse RMN ¹H et ¹³C (300 et 75MHz, CDCl₃) confirme la monotosylation du PEG₃. À l'analyse des protons (Figure 3.11), le rapport (1:1:1) des hydrogènes entre Ho (2H à 7,79 ppm, Hm (2H à 7,33 ppm) et CH₂OTs (2H à 4,15 ppm) montre qu'un seul groupe hydroxyle était protégé par le groupement tosylate. Les 6 pics d'OCH₂ entre 66,1 ppm et 77,2 ppm confirment qu'il n'y a pas de symétrie, donc le PEG₃ est monotosylé.

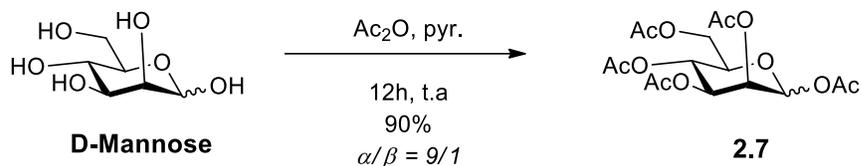


Schéma 2.8 Synthèse du produit 2.7.

La réaction suivante effectuée avec le mannose et qui aboutit au produit 2.7 est une réaction d'acétylation. L'acétylation est une réaction utilisée dans la chimie des sucres afin protéger les groupement hydroxyles. L'acétylation des sucres va impliquer l'utilisation d'anhydride acétique et d'un catalyseur tel que l'acétate de sodium, le

chlorure de zinc, l'acide sulfurique ou la pyridine.⁷⁸ Aux fins de la réaction l'anhydride acétique a été utilisé ainsi que la pyridine. La réaction est souvent effectuée sans purification du fait qu'elle est pratiquement quantitative et pour arriver à ce résultat un excès élevé d'anhydride acétique est requis. Selon l'analyse RMN ¹H du produit, la réaction de peracétylation donne les deux anomères du mannose avec un ratio de 9:1 (α : β). Comme reflété à la figure 3.13 les deux doublets qui ressortent à 5,89 ($J = 1.8$ Hz) et à 5,74 ppm ($J = 0.8$ Hz) correspondent respectivement aux anomères α et β . En utilisant la technique de RMN (¹H, ¹³C) tous les protons et carbones sont assignés et comparés avec les valeurs se trouvant dans la littérature.⁷⁶

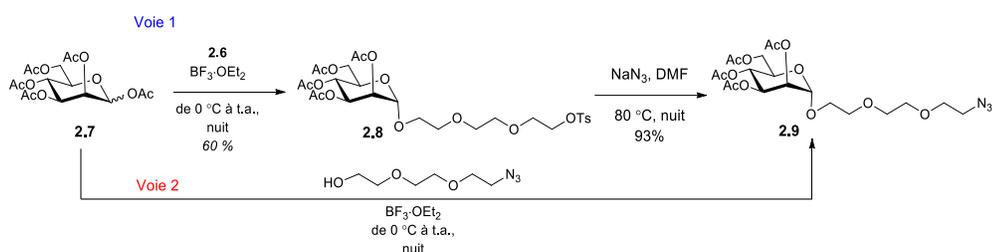


Schéma 2.9 Synthèse de la tête hydrophilique avec le groupement azido au point focal.

La réaction d'acétylation est suivie d'une réaction de glycosylation. La réaction de glycosylation en chimie de sucres implique le couplage entre un accepteur de glycosyle, soit le nucléophile en soi le promoteur qui va induire une attaque sur un donneur de glycosyle soit l'électrophile ce qui va donner lieu à un glycoside.⁷⁹⁻⁸¹ L'avantage de cette réaction est qu'elle est sélective puisque l'attaque va s'effectuer sur le carbone anomérique. Le $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ est un acide de Lewis utilisé comme catalyseur afin d'activer le donneur. La réaction de glycosylation entre le donneur **2.7** et l'accepteur **2.6** en présence de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ dans le DCM a donné le produit souhaité **2.8** sous la forme d'un seul anomère α avec un rendement de 60 %. L'analyse RMN ¹H (Figure 3.15) via le signal à 4,83 ppm (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, H-1) correspondant à H1 montre que seul l'anomère α a été obtenu. De plus l'intégration à 7,77 (Ho) et 7,32 ppm (Hm) de deux doublets dans la zone aromatique, la présence d'un singulet à 2,42 ppm (CH_3Ar) et la

réduction du nombre de pics des acétyles entre 1,96 et 2,12 ppm de même que la diminution de leur intégration de 15H à 12H est un indicateur élevé de la disparition d'un acétyle et de la formation d'un glycoside avec l'aglycone PEG₃ fonctionnalisé au point focal par un groupement tosyle. Le nombre total de pics obtenus correspond au nombre attendu. La spectroscopie RMN ¹³C (Figure 3.16) confirme les résultats obtenus par l'analyse des protons et la présence des 4 pics entre 169,7 et 170,6 ppm et 20,6 et 20,8 ppm correspondant respectivement aux C=O et CH₃ du groupement acétyle confirme la perte d'un acétyle et la formation du glycoside.⁷³ Après avoir obtenu le produit désiré **2.8**, le groupement tosyle a été substitué par le groupement azido pour obtenir le composé **2.9** afin d'effectuer un amidation *in-situ* avec la fonction carboxyle du segment hydrophobique. La réaction de substitution a été réalisée en présence d'une quantité excessive d'azoture de sodium (NaN₃, 5 éq.) dans du DMF sec à 80 °C pour donner le produit souhaité **2.9** avec un rendement de 93 %. Au cours de cette réaction, l'utilisation de DMF sec est très cruciale, car la présence d'humidité pourrait provoquer une désacétylation par hydrolyse. À la lecture du spectre RMN proton (Figure 3.17) nous constatons la disparition des signaux dans la région aromatique et celle du méthyle ce qui confirme la disparition du groupement tosyle. Le triplet à 3,56 ppm et qui intègre pour deux protons est notre indicateur du CH₂N₃ lequel nous montre que la substitution a été complétée avec succès. Les pics spécifiques au tosyle ont également disparu dans le spectre de RMN ¹³C (Figure 3.18) soit les spectres de l'aromatique et le pic du méthyle de tosyle. Le pic à 50,7 ppm correspondant au CH₂N₃ confirme clairement la substitution SN₂.

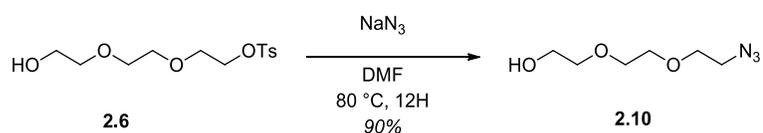


Schéma 2.10 Substitution de groupement tosyle de PEG₃ par azidation.

En parallèle, nous avons essayé de synthétiser directement le composé **2.9** à partir de **2.7** en utilisant l'accepteur glycoside **2.10** qui est préalablement synthétisé par réaction de type S_N2 à partir de **2.6** en utilisant de l'azoture de sodium dans du DMF à 80 °C (Schéma 2.8). Bien que la réaction de glycosylation ait été effectuée entre le donneur **2.7** et l'accepteur **2.10** en présence de $BF_3 \cdot OEt_2$ dans le DCM, l'isolement du produit souhaité **2.9** *via* la chromatographie sur colonne provoque des difficultés, ainsi le R_f du matériau de départ et du produit souhaité ont la même valeur. L'avantage d'utiliser **2.6** comme accepteur repose sur la différence de polarités (R_f différent) des produits souhaités et de départ. De plus, sous lumière UV sur TLC, le groupe tosylé en tant que chromophore peut être suivi, ce qui est l'un des facteurs facilitant le choix de la voie 1.

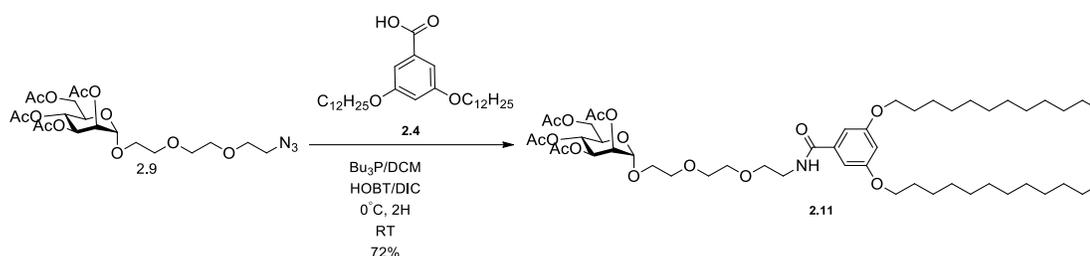


Schéma 2.11 Synthèse du composé **2.11**.

Le composé **2.11** a été obtenu par une réaction d'amidation *in-situ* entre la tête hydrophilique fonctionnalisée azoture au point focal et la queue lipophile fonctionnalisée carboxyle. Le N,N' -diisopropylcarbodiimide (DIC) a été choisi comme un agent de couplage dans cette réaction. Ce type de carbodiimide est couramment utilisé dans la synthèse peptidique ainsi que dans les réactions glycolipidiques.⁸² D'autres agents de couplage pouvaient être utilisés dans ce genre de réaction tels que le DCC, l'EDC ou encore l'EDCI cependant le DIC a été choisi pour plusieurs raisons. Tout d'abord le DIC est un réactif très soluble dans le DCM. De plus le DIC permet d'obtenir un rendement plus élevé que ses congénères. Le réactif est utilisé en tandem avec le HOBt.⁸³ Cette réaction aurait donné un rendement pauvre qui avoisine les 30% en l'absence de HOBt qui va en plus de l'augmentation du rendement permettre une

activation de l'acide en créant un ester intermédiaire lequel peut être substitué par l'amine formée *in-situ* (dans notre cas). Le fait d'utiliser une quantité plus importante d'agent de couplage de tandem va permettre d'obtenir l'assurance qu'assez de quantité de l'acide est activé. Afin d'éviter et de ralentir la migration de l'acétyle sur l'amine formée in situ à partir de l'intermédiaire iminophosphorane moins stable, la réaction a été lancée à 0 °C. La réduction de l'azoture à l'iminophosphorane a été surveillée par la CCM en utilisant comme révélateur une solution de ninhydrine spécifique de l'amine primaire qui est formée à partir d'iminophosphorane $RN=P(OBu)_3$ moins stable en présence d'eau via une hydrolyse. La disparition totale de la tributylphosphine imide n'a été constatée que 72 heures après l'ajout de l'agent de couplage lequel nous montre que la réaction est assez lente. À la lecture du spectre RMN proton (Figure 3.21) nous pouvons en déduire la formation de l'amide via l'apparition du triplet à δ 6,71 ppm en corrélation avec le CH_2NH . De plus, le ratio NH et H_{para} de 1:1 permet d'affirmer que nous ne sommes pas en présence d'un mélange physique mais d'une liaison covalente.

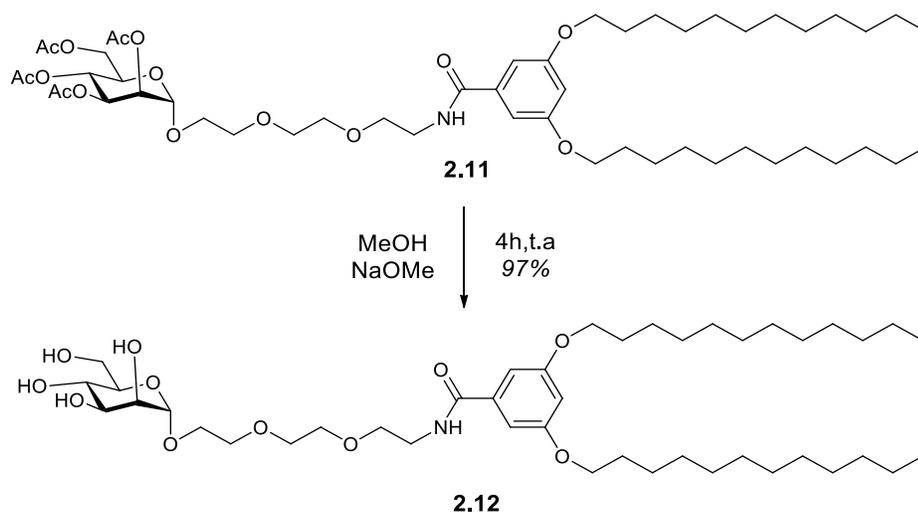


Schéma 2.12 Synthèse du produit **2.12**.

La dernière réaction effectuée afin d'obtenir le produit final **2.12** est une réaction de Zemplén qui sert à déprotéger les esters présents dans la molécule.⁸⁴ La méthode

utilisée est très populaire et elle est effectuée dans les conditions standard. Elle va donc permettre d'enlever de manière efficace des groupes protecteurs *O*-acétyles des hydrates de carbone par traitement des substrats *O*-acétylés dans du méthanol ainsi qu'une quantité catalytique de méthoxyde de sodium à température ambiante. La réaction est similaire à l'hydrolyse d'un ester⁸⁵ et le rendement obtenu est de 97 %. Plusieurs points importants sont à retracer sur cette réaction. Tout d'abord, comme l'amide est une fonction plus stable, la réaction va uniquement affecter les esters. La déprotection totale des acétyles a été suivi par CCM et au bout de 4 heures après s'être assuré que les esters sont déprotégés la réaction a été quenché en utilisant de la résine acide (Amberlite® IR120 H⁺) jusqu'à l'obtention d'un pH neutre (pH 7). Tous les sels de sodium présents dans le milieu réactionnel ont été éliminés en effectuant une filtration sur célite. Après la concentration *in-vacuo* le résidu a été dissout dans l'éthanol et filtré sur du nylon dont la porosité est du micromètre afin d'éliminer toutes les particules non solubles dans le solvant. La structure du produit a été confirmé par la RMN proton et carbone mais aussi par DEPT, COSY et HSQC comme cela est illustré dans les figures 3.22-3.26. La disparition des acétyles est confirmée par l'absence de pics dans la zone comprise entre 1,9 et 2,3 ppm. Les pics triplets de NH nous montre que l'amide est intact et qu'il n'a pas été affecté par la réaction de Zemplén. L'intégration de la partie lipidique est en concordance avec l'intégration des mannoses.

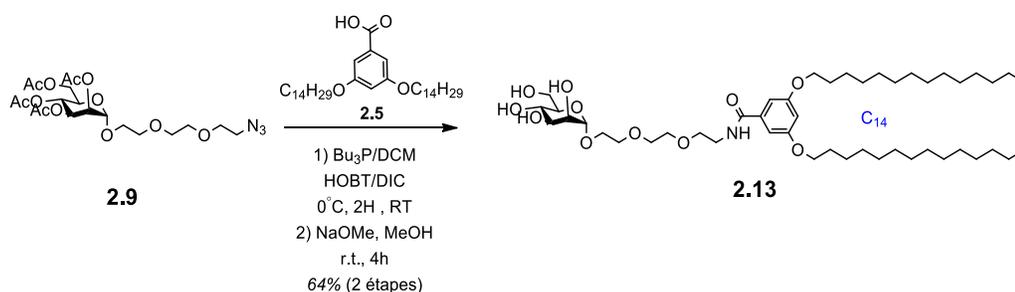


Schéma 2.13 Représentation de la synthèse du composé **2.13**.

Le manno lipide **2.13** avec la chaîne carbonée C14 a été synthétisé en utilisant la même stratégie que le précédent manno lipide **2.12**. Au lieu d'isoler l'intermédiaire où les groupes hydroxyle du mannose sont protégés par le groupe acétyle, nous avons directement converti le produit brut en produit souhaité *via* la réaction de désacétylation de Zemplén. L'avantage de la désacétylation directe du produit brut est que dans l'étape de purification par chromatographie sur colonne, l'excès du réactif DIC peut être facilement éliminé. De plus, en raison de la différence de polarité entre le produit souhaité et le matériau de départ, les deux produits ont pu être facilement isolés. La confirmation de l'amidification a été confirmée par les techniques RMN ^1H , ^{13}C , DEPT COSY, HSQC et tous les protons et carbones ont été attribués en conséquence comme illustré dans les figures 3.27-3.31.

2.1.4 Synthèse des manno liposomes formés à partir des manno lipides **2.12** et **2.13**

Une fois que tous les manno lipides ont été isolés et caractérisés nous avons décidé de générer des manno liposomes en suivant la procédure éthanol injection effectuée au sein du groupe Percec.⁸⁴ Comme solvant organique, à la place de l'éthanol, nous avons choisi le THF car le produit était très soluble dans ce solvant. Nous avons tout d'abord préparé différentes concentrations des composés **2.12** et **2.13** dans le THF en suivant le protocole précédent.⁸⁴ Une quantité de 200 microlitres de chaque concentration a été prélevée et injecté dans 800 microlitre d'eau nanopure avec un ratio 1:4 solvant organique (THF) : eau suivi par un vortex de 5 mn ce qui a permis de générer les manno liposomes. Afin de déterminer les dimensions de nos nanoparticules ainsi que la relation entre la concentration et la dimension, la DLS a été choisi comme méthode de spectroscopie.

Tableau 2.1 Données compilées des résultats de la DLS de mannoliposomes générés à partir des mannolipides **2.12** et **2.14**.

Composé	Cm (dans THF)	Cm-0.1	Cm-0.5	Cm-1.0	Cm-2.5
2.12	D (nm)	936.3	870.1	950.7	386.2
2.12	Zavg (nm)	919.9	798.5	851.0	363.5
2.12	PdI	0.069	0.181	0.140	0.127
2.14	D (nm)	487.0	428.5	342.7	538.1
2.14	Zavg (nm)	454.7	414.6	275.6	496.8
2.14	PdI	0.147	0.005	0.242	0.076

La DLS nous a permis de déterminer la taille des mannoliposomes. Le diamètre des particules est représenté par la lettre (D) alors que le Zavg représente le diamètre hydrodynamique moyen de nos particules ce qui correspond au double du rayon hydrodynamique moyen par rapport à l'intensité. Le PdI représente l'indice de polydispersité de nos particules. L'Indice de Polydispersité (PdI) permet d'évaluer la monodispersité des particules ce qui va indiquer qu'il existe une seule population et qui prouve que les nanoparticules ont une taille hétérogène dans le même échantillon ou dans une même population. Un indice de polydispersité qui tend vers 0 est donc souhaité⁸⁶ ce qui indique que les nanoparticules ont la même taille et la polydispersité serait très faible. Les indice de polydispersité dans notre cas tendent vers 0 et on obtient donc des mannoliposomes qui tendent vers la monodispersité donc vers une population hétérogène. Les résultats que nous avons obtenus peuvent être considérés comme les premiers exemples pour ce type de mannoliposomes autoassemblés (Voir tableau 2.1). En se référant aux études de DLS précédemment effectuées par notre équipe, nous avons décidé de mesurer la dimension des mannoliposomes à un ratio 1:4 solvant organique (THF): eau . Par souci de clarté nous allons montrer les premiers exemples des résultats de DLS aux concentrations massiques de mannolipides (Cm-0.1 , Cm-0.5 ,

Cm-1.0 , Cm2.5) pour deux composé **2.12** et **2.13** afin d'étudier l'influence de la queue lipidique sur la taille comme illustré sur la Figure 2.1. En reprenant les chiffres du Tableau 2.1, nous constatons que pour le mannosome **2.12**, la taille est pratiquement stable aux trois premières concentrations et diminue de manière drastique à la concentration de 2.5 mg/ mL. Les indices de polydispersité (PDI) tendent vers la monodispersité pour toutes les concentrations massique Cm pour le composé **2.12** soit respectivement 0.069, 0.181, 0.140 et 0.127 pour les concentrations massiques (Cm-0.1 , Cm-0.5 , Cm-1.0 , Cm-2.5). La tendance est différente pour le mannosome **2.13** ou les résultats sont plus stables avec une légère baisse pour la concentration massique de 1 mg/ mL (Cm-1.0). Les indices de polydispersité (PDI) du composé **2.13** sont similaires à celles de son congénère avec respectivement 0.147, 0.005 et 0.076 pour les concentrations massiques (Cm-0.1, Cm-0.5, Cm-2.5) hormis pour la concentration massique (Cm-1.0) ou l'indice de polydispersité est de 0.242 soit légèrement supérieur à 0.2.

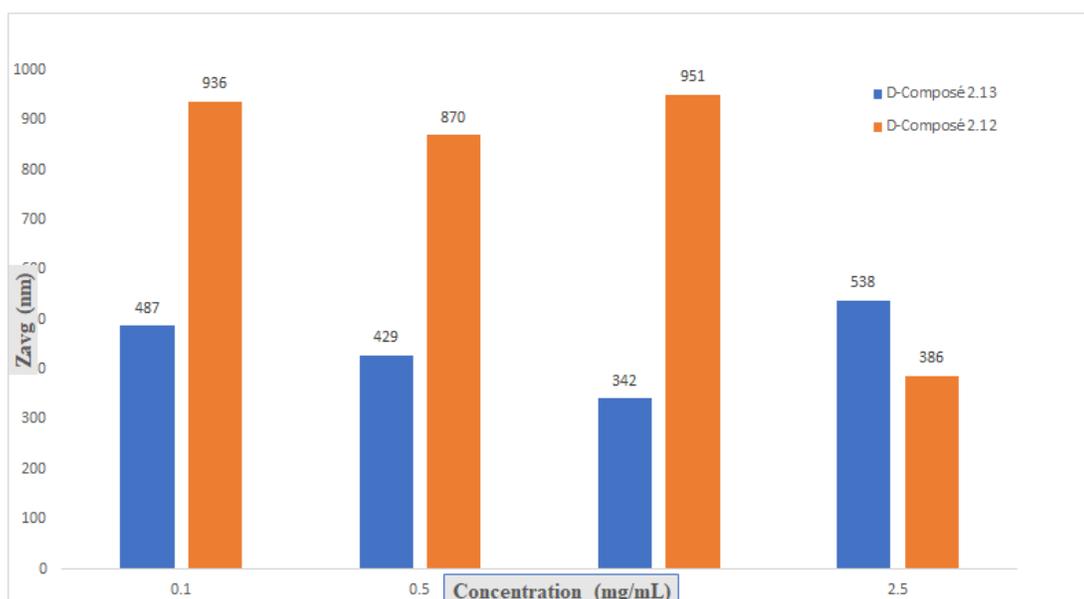


Figure 2.1 Graphique illustrant la taille des mannosomes en fonction de leur concentration.

La taille des mannosomes est un facteur important qui va influencer leur utilisation. Une taille ne peut être considérée comme bonne ou mauvaise du fait que chacune des tailles a une spécificité bien déterminée. Les mannosomes synthétisés sont de forme unilamellaire dont la taille est supérieure à 200 nm. La structure de liposome va permettre l'uniformité de distribution et cela va permettre de contenir les agents thérapeutiques dans un seul compartiment aqueux interne.⁸⁷

2.2 Synthèse de structure dendritique mannosylée

2.2.1 Objectif de la seconde partie

Il a déjà été prouvé que les dendrimères décorés de mannosides construits sur une variété d'échafaudages synthétiques présentent de meilleures propriétés de liaison *in vitro* que les mannosides monovalents envers les lectines possédant plusieurs sites de liaison au mannose.⁸⁸ A ce jour, la synthèse de mannodendrimères constitués d'unités répétitives et de mono-glycotope (mannoside) est très développée par plusieurs groupes de recherche. Cependant, la désymétrisation des glycodendrimères par exemple en ayant deux glycotopes différents ou divers groupes fonctionnels de surface est un sujet brûlant à développer. Notre objectif du projet est de développer une voie synthétique convergente pour accéder facilement à la génération intermédiaire clé G(1) fonctionnalisée par mannoside d'un noyau d'hydroquinone construit en forme de biseau **3.6** qui possède un groupe fonctionnel actif tel que l'alcyne pour une fonctionnalisation ultérieure. On peut tirer parti du fait que les alcynes subissent facilement des réactions de type cycloaddition 1,3 dipolaire 1,3 assistée par métal (par exemple CuAAC) et de type thiol-yne qui sont largement utilisées dans la chimie des sucres.⁸⁹

Dans ce but, nous nous sommes concentrés sur l'analyse rétrosynthétique afin de trouver la voie de synthèse la plus courte qui conduirait à la molécule cible **3.6** (Schéma 2.14). La première déconnexion a été choisie entre le dérivé d'hydroquinone à fonction propargyle trimérique et qui contient l'hydroxyle libre **3.4** et le dérivé trimérique de mannoside et de pentaérythritol chloré **3.5** où les deux synthons peuvent être connectés l'un à l'autre par la réaction d'éthérisation classique de Williamson. Le choix de la seconde déconnexion pour **3.4** était entre l'hydroquinone disponible dans le commerce à faible coût et le pentaérythritol trimère fonctionnalisé propargyle et chloré **3.2**. Au cours de l'analyse rétrosynthétique de la molécule **3.5**, la déconnexion a été effectuée via le triazole, ainsi la chimie de click assistée par CuAAC à haut rendement entre le

mannoside pégylé fonctionnalisé par l'azoture et le pentaérythritol propargyle trimérique pourrait conduire à l'intermédiaire souhaité.

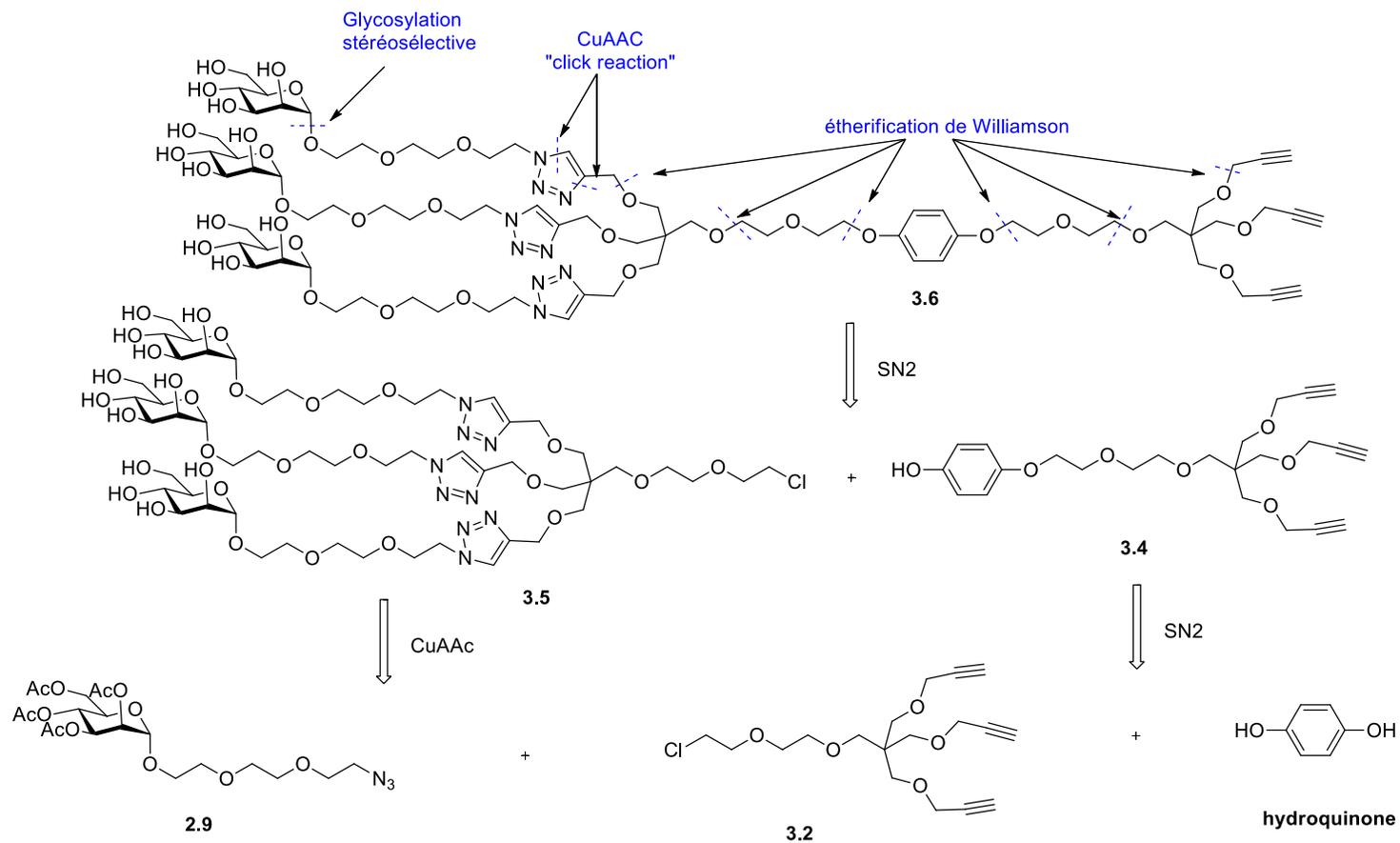


Schéma 2.14 Analyse rétrosynthétique de la molécule cible.

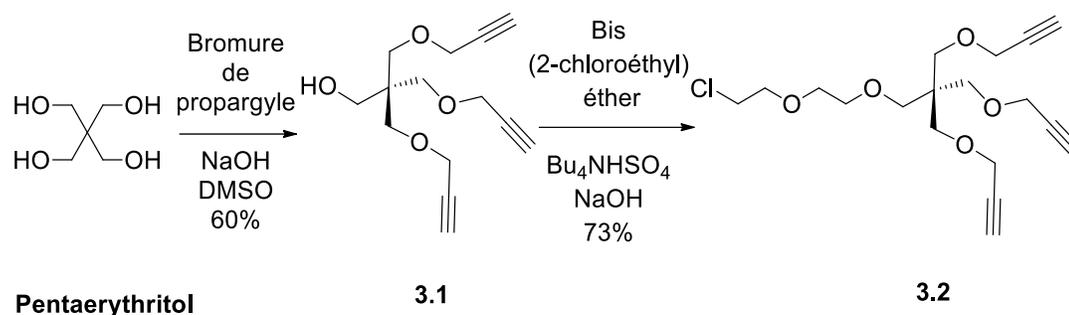


Schéma 2.15 Synthèse du composé **3.2**.

Afin d'obtenir le composé **3.3** nous avons débuté avec du pentaerythritol, un produit commercial facilement disponible dans le marché et peu coûteux. Ce réactif est très utilisé comme cœur dans la synthèse des dendrimères du fait de sa structure symétrique et des propriétés particulières dont il est doté.⁹⁰ Le pentaerythritol tri-O-propargyle éther **3.1** est ainsi obtenu par le traitement du pentaerythritol avec du bromure de propargyle (13.2 eq) en présence d'une solution à 40% d'hydroxyde de sodium à température pièce. La réaction suivie par la CCM, nous a donné le produit souhaité avec un rendement de 60%. Le produit a été isolé par chromatographie sur colonne et caractérisé par la RMN ¹H et nous avons aussi obtenu comme produit secondaire le pentaerythritol tetrapropargylé. Afin d'éviter la formation d'autres sous-produits, le bromure de propargyle a été utilisé à hauteur de (3.3équiv.) par groupement hydroxyle.

Comme illustré sur la figure 3.32 l'analyse RMN ¹H a confirmé que la tripropargylation a été effectuée. Le triplet 2,42 ppm et le doublet à 4,13 ppm ont clairement montré la présence groupement propargyle. De plus, le rapport des hydrogènes entre CH₂OH et OCH₂CCH est de 2:6:3 ce qui confirme que le pentaérythritol était tri-O-propargylé.

Le composé **3.2** est obtenu par une étherification de Williamson afin d'ajouter un bras espaceur diéthylène glycole. L'utilisation d'un bras espaceur va permettre d'éviter un rapprochement des sucres donc encombrement stérique et va induire une meilleure flexibilité de la molécule. Le PEG a été choisi comme bras espaceur du fait qu'il est très utilisé en chimie médicinale pour augmenter le temps de vie du plasma et la solubilité du produit.

L'étherification a été effectuée en traitant le composé **3.1** avec du bis(2-chloroethyl) éther en présence d'une solution de 50% NaOH et d'un agent de transfert de phase l'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium (Bu_4NHSO_4) pour donner **3.2** avec un rendement de 73%. Comme illustré sur la figure 3.33, l'analyse RMN ^1H a confirmé que tous les pics de la partie propargylée dont le triplet à 2,38 ppm demeure inchangé. Cependant l'intégration des hydrogènes confirme la substitution par une augmentation de protons (8 protons du bras espaceur).

Dans la même optique, le spectre RMN ^{13}C (Figure 2.34) montre une augmentation du nombre de carbones (4 carbones du bras espaceur).

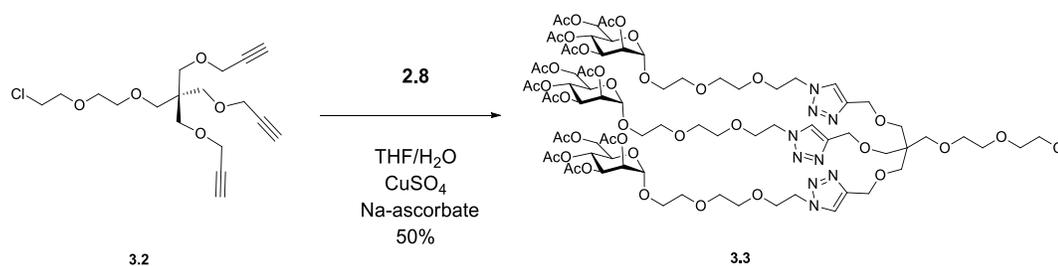


Schéma 2.16 Représentation de la synthèse du composé **2.3**.

Pour synthétiser le dendron **3.3**, une réaction de chimie click a été appliquée. Nous avons utilisé comme système de solvant THF/H₂O du fait que le THF est un solvant polaire miscible dans l'eau. Nous avons utilisé de l'eau comme co-solvant du fait de la présence de réactifs inorganiques dans la réaction. En effet nous utilisons comme

catalyseur dans la réaction le $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en présence et un agent réducteur soit l'ascorbate de sodium. La présence de cuivre dans la réaction comme catalyseur nous permet de pouvoir éliminer le chauffage et favorise la régiospécificité de la réaction. L'utilisation du catalyseur Cu(I) a pour avantage d'abaisser la barrière d'activation ce qui aura pour conséquence la réduction du temps de réaction.⁹¹⁻⁹⁴ Cependant, le cuivre Cu(I) peut facilement s'oxyder en Cu(II) au contact de l'oxygène de l'air. Afin d'éviter, que le Cu(I) ne s'oxyde en Cu(II), le $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a été utilisé car il ne nécessite pas de conditions inertes pour empêcher cette oxydation. La préparation du catalyseur Cu(I) se fait dans ce cas *in situ* par la réduction des sels de cuivre(II).^{92, 95} Le choix du $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ est donc prépondérant d'autant plus que le $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ est l'un des meilleurs catalyseurs et que son utilisation en présence d'un agent réducteur comme l'ascorbate de sodium va permettre l'obtention de la 1,4-triazole avec des rendements élevés et une pureté adéquate.⁹⁶ La réaction est suivie par CCM et purifiée par chromatographie sur colonne. Le produit est caractérisé par la RMN ^1H , ^{13}C , ^{13}C DEPT COSY, HSQC, et les protons et carbones ont été attribués en conséquence.

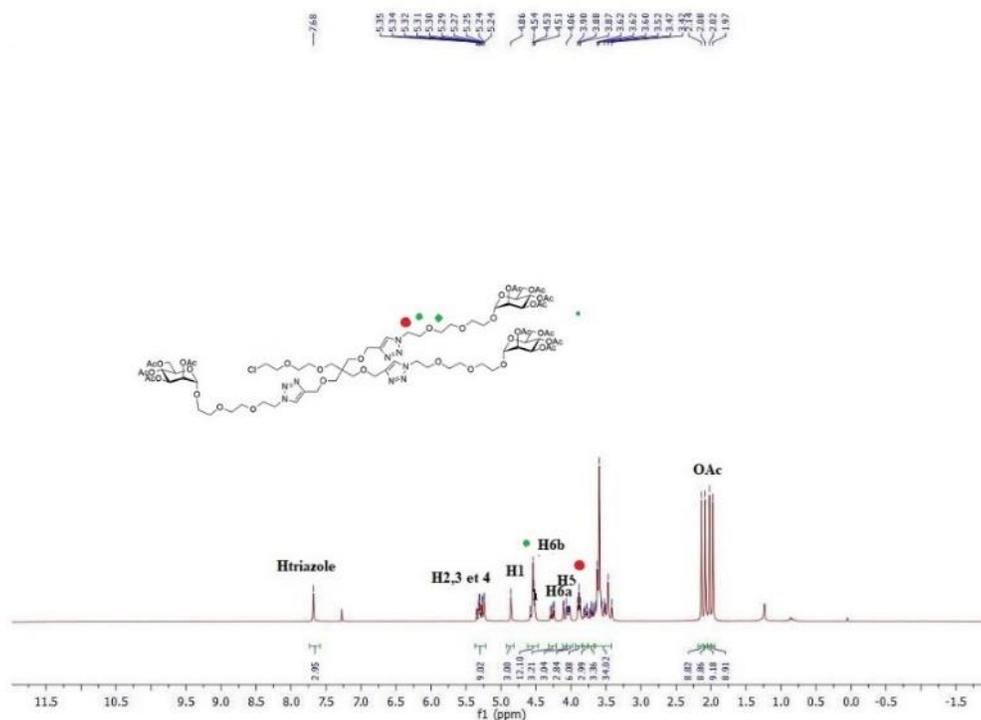


Figure 2.2 Spectre de la RMN ^1H confirmant le groupe triazole du composé **3.3**.

Comme illustré sur la Figure 2.2, l'analyse RMN ^1H confirme une partie importante des pics. Le singulet avec l'intégration de 3H qui ressort à 7,68 ppm va nous indiquer la présence du proton de la triazole qui a le même rapport d'hydrogène avec H1 de la fraction mannoside. En vertu de ^{13}C , ^{13}C DEPT, COSY, HSQC, HMBC tous les protons et carbones ont été déterminés (Figure 3.36-3.39).

La RMN ^{13}C fait ressortir les pics des acétyles dans les deux extrémités du spectre soit ceux des carbones du carbonyle entre 170,6 et 169,7 ppm et ceux des méthyles entre 20,9 et 20,7 ppm. De plus, les deux carbones du triazole seront confirmés de même que le carbone anomérique. Le ^{13}C DEPT 135 et la HSQC confirment les pics restants. Le ^{13}C DEPT 135 va permettre d'élucider la majeure partie des carbones. Dans la zone supérieure ou positive qui ne ressort que les CH et les CH_3 , nous verrons uniquement le CH de la triazole qui se retrouvent à 123,5 ppm, les cinq pics du mannose hormis le

carbone C6 (sixième carbone du mannose) qui porte deux hydrogènes et les carbones des méthyles qui se trouvent sur la fonction acétyle. Il serait bien de préciser que le ^{13}C DEPT 135 est une soustraction de spectres. Les carbones quaternaires ne se retrouvent pas dans le spectre comme celui de la fonction triazole qui aurait dû se retrouver vers 145 ppm. À la suite du DEPT, le HSQC nous a aidé trouver les carbones et les protons non-déterminés par la corrélation entre ^{13}C - ^1H ou ^{13}C DEPT- ^1H .

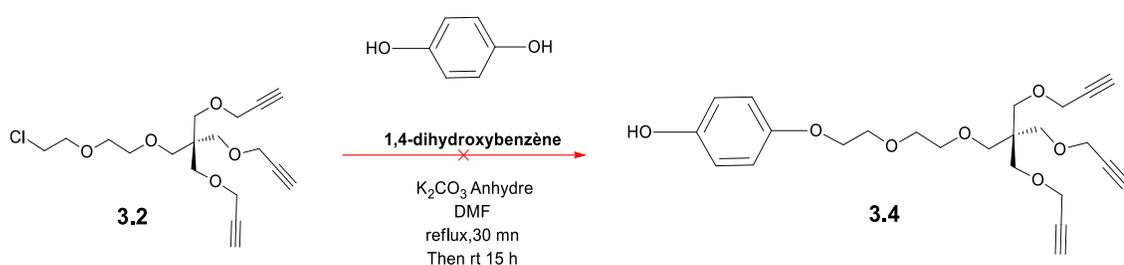


Schéma 2.17 Synthèse du composé 3.4.

La réaction suivante consistait à synthétiser le composé **3.4** pour une fonctionnalisation supplémentaire *via* une substitution nucléophile $\text{S}_{\text{N}}2$. A cet effet, le composé **3.2** a été chauffé au reflux avec de l'hydroquinone en présence d'un excès de carbonate de potassium dans le DMF. Malheureusement, le produit souhaité n'a pas pu être obtenu bien que nous ayons changé les conditions opératoires de diverses manières, par exemple en remplaçant le carbonate de potassium par l'hydrure de sodium, ou le DMF par le THF. Par souci de clarté, nous montrerons ci-dessous les réactions qui étaient initialement prévues sous forme de perspectives.

En perspective, après une réaction de substitution réussie entre **3.4** et **3.5**, l'intermédiaire obtenu **3.6** avec un groupement fonctionnel propargyle au point focal serait facilement converti en dendrimères hybrides avec deux résidus monosaccharidiques différents (fucoside, galactoside, glucoside) aux deux extrémités, ou des amphiphiles auto-assemblés avec une tête polaire (résidus de mannoside) et une

queue lipophile (chaîne carbonée saturée) ou encore des métallo-dendrimères (des métaux, par exemple Cu, Ag pourraient être chélatés par des groupes OH introduits) via soit CuAAC standard ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Vitamine C, THF/ H_2O , ta, 24h) ou via une Thiol-Yne (DMPA, MeOH/ H_2O , $h\nu = 365 \text{ nm}$, ta, 5h) réactions de type chimie click (Schéma 2.18).⁸⁶ Les dendrimères hybrides sont particulièrement intéressants car ils abritent deux groupes de têtes de sucre distincts pouvant être reconnus en même temps par deux lectines différentes⁹⁷ qui seraient employés dans le développement de puissants inhibiteurs vis-à-vis des protéines adhésives de divers micro-organismes pathogènes tels que les bactéries et les virus. Dans le cas des amphiphiles auto-assemblés, l'équilibre des segments hydrophiles et lipophiles joue un rôle crucial dans la taille des amphiphiles auto-assemblés, l'influence de la longueur de la chaîne carbonée pourrait être étudiée de manière comparative.⁹⁸ L'augmentation de la longueur de la queue lipophile peut affecter les forces répulsives entre le groupe de tête polaire et la queue lipophile et la courbure lors de la formation des vésicules. D'autre part, les métallo-dendrimères pourraient être utilisés à des fins bactéricides où le mannoside peut être reconnu par des protéines spécifiques au mannoside de bactéries et de métaux, par ex. Cu et Ag peuvent détruire la paroi cellulaire.

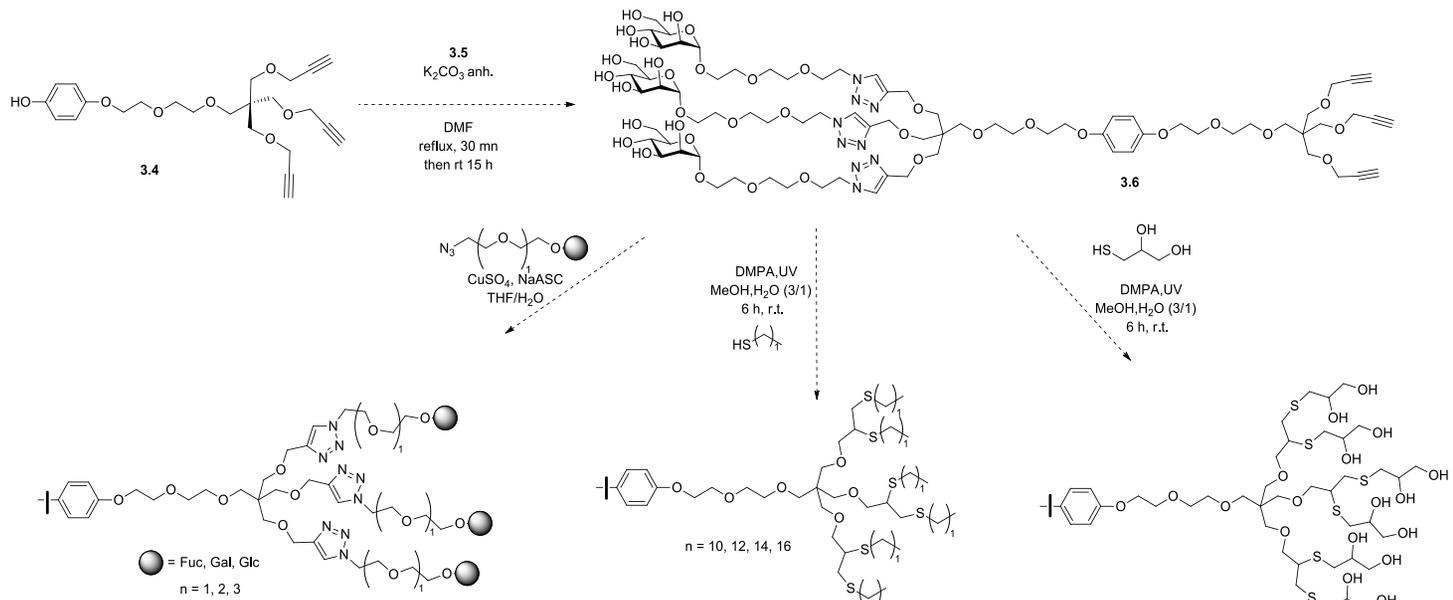


Schéma 2.18 Schéma de synthèse anticipée du composé **3.6**.

CHAPITRE III

PARTIE EXPÉRIMENTALE

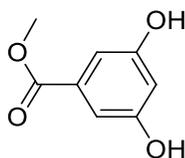
3.1 Matériels et méthodes

Au niveau de la synthèse organique, les réactions ont été effectuées dans une verrerie propre et séchée au four sous une atmosphère inerte d'azote. Les réactifs ont été utilisés au cours des réactions sans aucune modification ni purification préalable. Le suivi des réactions a été effectué par la chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant des plaques pré-enduites de gel de silice (E. Merck). Les produits sont révélés par l'intermédiaire d'une lampe UV à 254 nm et en utilisant d'autres révélateurs tels que le révélateur à base permanganate de potassium, d'acide sulfurique et d'acide cérique. Le premier révélateur utilisé est celui du permanganate de potassium (1,5 g KMnO_4 , 10 g K_2CO_3 , 1,5 mL 10 % NaOH dans 200 mL H_2O). La purification des produits a été effectuée par une chromatographie flash sur colonne de gel de silice utilisant du gel de silice ou par recristallisation. Les produits ont été caractérisés à l'aide de la spectroscopie RMN en utilisant le spectromètre Bruker (300 MHz). Les déplacements chimiques du proton et du carbone (δ) sont exprimés en ppm par rapport au déplacement chimique du CDCl_3 résiduel (en ^1H 7,26 ppm, en ^{13}C 77,2 ppm). La spectroscopie de corrélation homonucléaire cohérence quantique simple hétéronucléaire ^1H - ^1H (COSY) et ^1H - ^{13}C (HSQC) des expériences ont été utilisées pour confirmer les attributions de pics RMN. Les constantes de couplage (J) sont rapportées en Hertz (Hz), et les abréviations suivantes sont utilisées pour les multiplicités de pic:

singulet (s), doublet (d), doublet de doublets (dd), triplet (t), doublet de triplets (dt), multiplet (m). L'analyse et les affectations ont été faites à l'aide de COSY (Spectroscopie corrélée) et HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence). La distribution granulométrique (DLS) a été mesurée dans l'eau à l'aide d'un analyseur Malvern, Zetasizer Nano S90.

3.2 Procédure expérimentale

3.2.1 Procédure expérimentale des mannosomes



2.1

Synthèse du méthyl 3,5-dihydroxybenzoate 2.1. A la solution de 3,5-acide dihydroxybenzoïque (2,0 g, 13.0 mmol) dans le méthanol (25 mL) a été ajouté goutte par goutte de l'acide sulfurique concentré (0,5 mL) et le mélange résultant a été chauffé à reflux pendant une nuit. Le mélange est ensuite concentré *in-vacuo*. Le résidu obtenu est dissout dans l'éthyle acétate (50 mL) et lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (2x), séché avec du sulfate de soude anhydre Na₂SO₄, filtré et concentré sous pression réduite pour donner sans autre purification le composé **2.1** de couleur blanc-beige (2.2 g, 12.9 mmol, 99%).

R_f = 0,35 (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ (ppm) 9.64 (s, 2H, OH), 6.81 (d, 2H, *J* = 2.3 Hz, Ho), 6.4 (t, 1H, *J* = 2.2 Hz, Hp), (3.78, s, 4H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ (ppm) 166.3 (C=O), 158.6 (ArCm), 131.3 (ArCi), 107.2 (ArCo), 107.1 (ArCp), 52.1 (CH₃).

Les données spectrales en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁷⁶

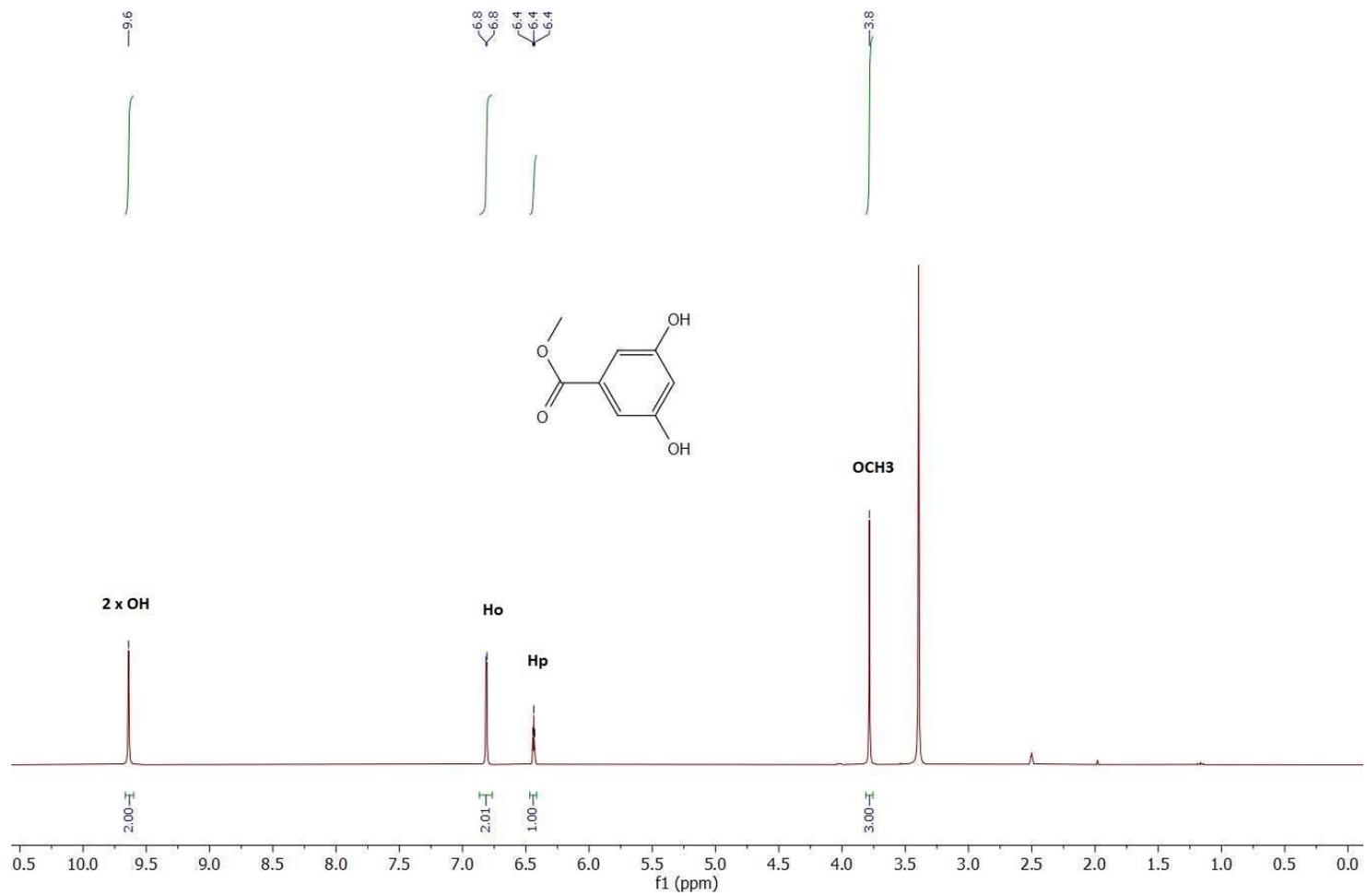


Figure 3.1 RMN ^1H (300MHz, DMSO-d_6) du composé **2.1**.

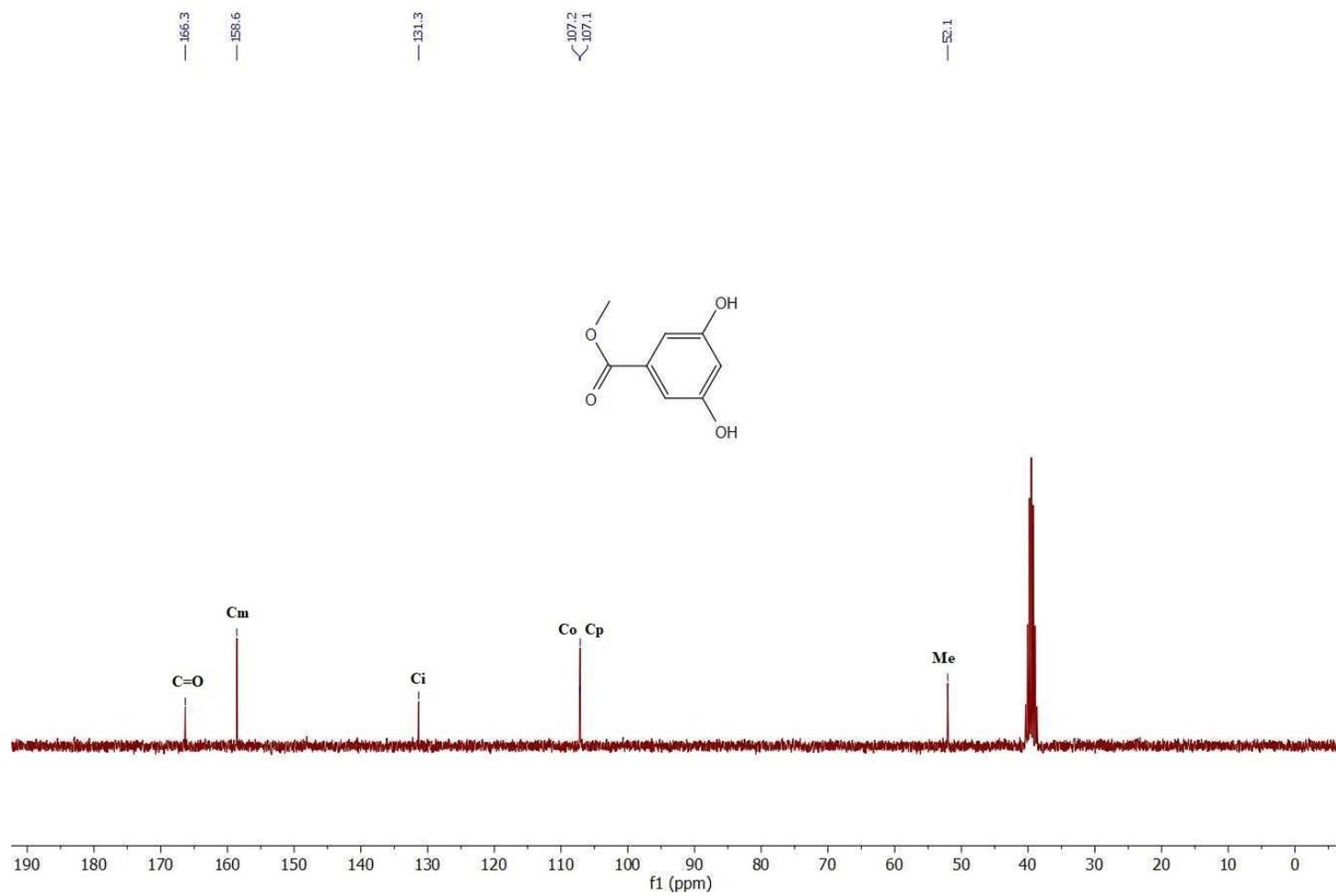
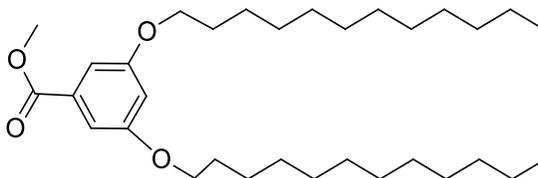


Figure 3.2 RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) du composé 2.1.

**2.2**

Synthèse du composé 3,5-bis(dodécyloxy)benzoate de méthyle 2.2. Le composé **2.1** (1,0 g, 5,95 mmol, 1eq.), 1-bromododecane (3,4 mL, 14,16 mmol 2.4 eq.), 5,05 g de carbonate de potassium, 0,12 g d'iodure de tetrabutylammonium et 75 mL de DMF ont été agités sous atmosphère d'azote à 90 °C pendant 12 h. Le mélange réactionnel a été refroidi à température ambiante, suivi par l'addition de 50 mL d'eau. La phase organique a été extraite avec EtOAc (4 x 100 mL), séchée sur Na₂SO₄ et concentrée sous vide. Après purification chromatographique, le composé **2.2** est obtenu sous la forme de poudre blanche (2,98 g, 5,90 mmol, 99 %).

$R_f = 0,5$ (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.20 (d, $J = 2,3$ Hz, 2H, Ho), 6.64 (t, $J = 2,3$ Hz, 1H, Hp), 3.98 (t, $J = 6,5$ Hz, 4H), 3.88 (s, 3H) 1.79-1,72 (m, 4H), 1.47 – 1.39 (m, 4H), 1.32 – 1.22 (s, 32H), 0.87 (t, $J = 6,7$ Hz, 6H)

RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) 167.1 (C=O), 160.3 (ArCm), 131.97 (ArCi), 107.78 (ArCo), 106,7 (ArCp), 68.5 (ArOCH₂), 52.3 (OCH₃), 32.1, 29.8, 29.8, 29.8, 29.7, 29.7, 29.5, 29.3, 26.1, 22.8, 14.3 (CH₃)

Les données spectrales en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁷⁶

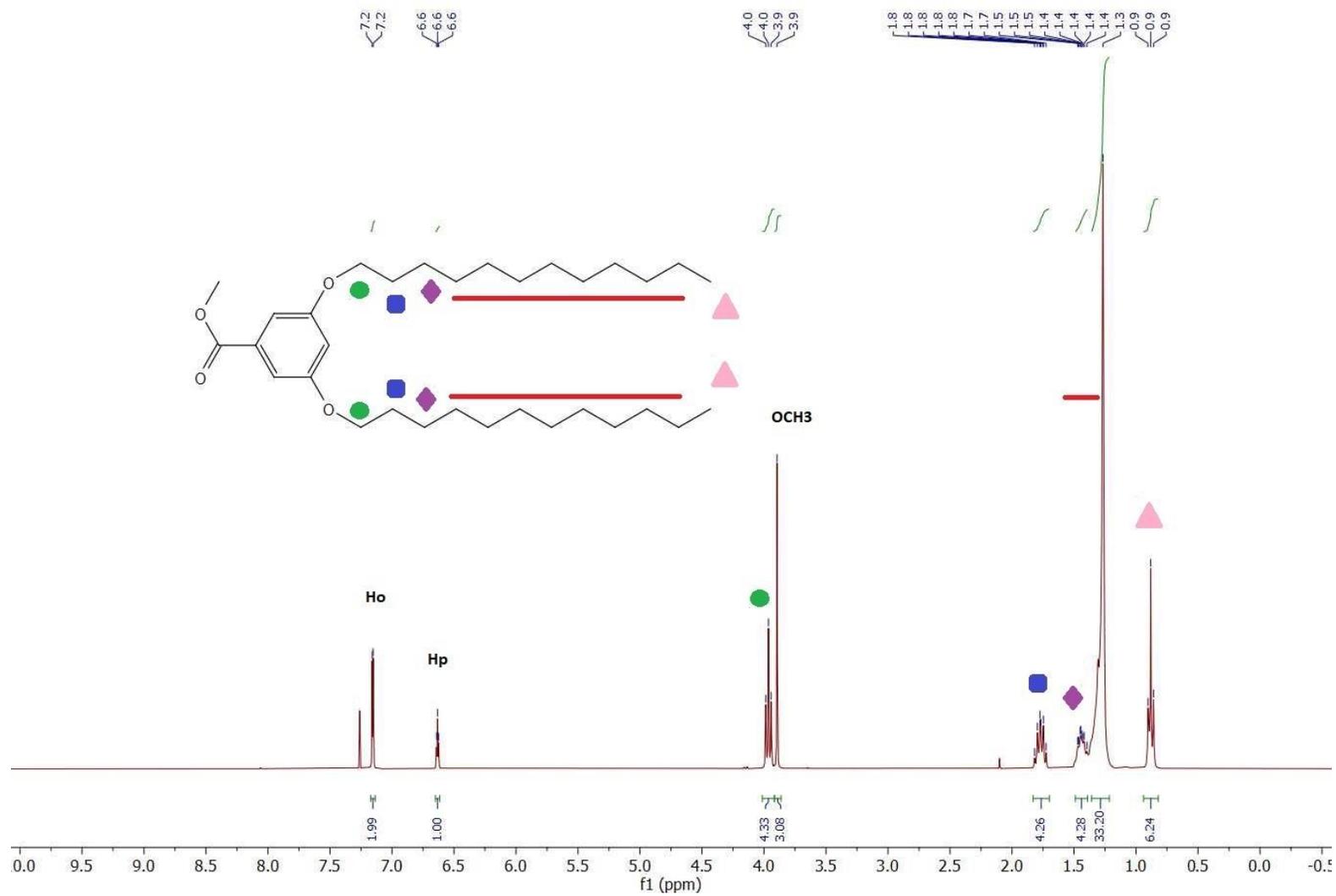


Figure 3.3 RMN ^1H du composé 2.2.

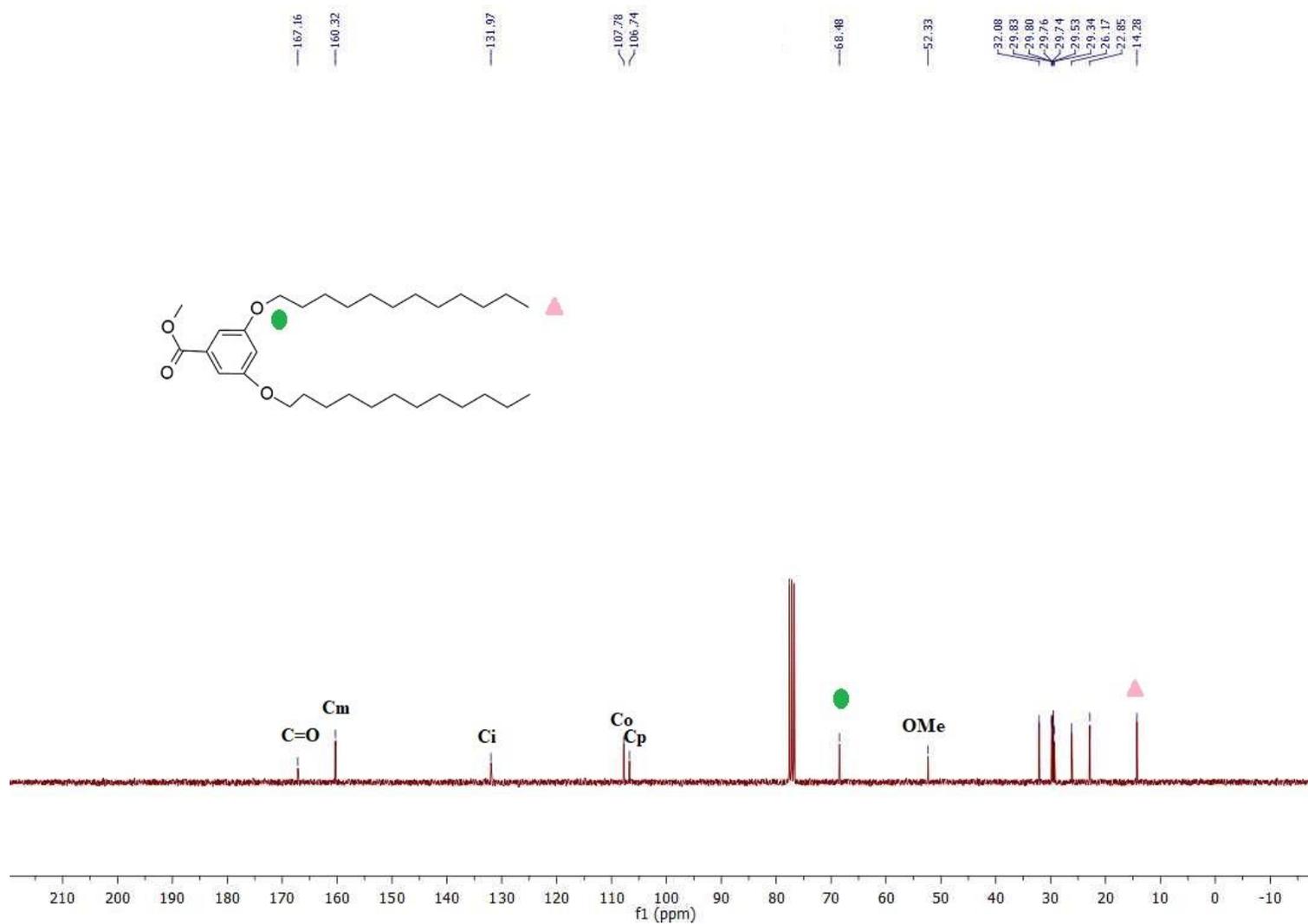
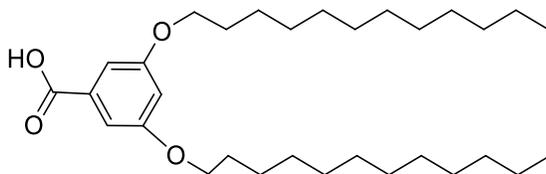


Figure 3.4 RMN ^{13}C du composé 2.2.

**2.3**

Synthèse du composé 3,5-bis(dodécyloxy)benzoïque acide 2.3. À une solution du composé **2.2** (1,00 g, 1,98 mmol) dans EtOH (15 mL) a été ajoutée une solution de KOH à 10 % (2,5 mL) et le mélange résultant a été chauffé au reflux pendant 3 h. 30. Le mélange réactionnel a été refroidi à température ambiante, dissous dans du DCM (40 ml) lavé avec du HCl 1 M (25 mL), de la saumure (40 mL) et séché sur Na₂SO₄. Le filtrat a été concentré sous vide.

Le composé **2.3** (972 mg, 99 %) est obtenu sous forme d'un solide blanc.

R_f = 0,35 (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.22 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H, Ho), 6.68 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H, Hp), 4.02 (t, *J* = 6.5 Hz, 4H), 1.83-1.73 (m, 4H), 1.47 – 1.40 (m, 4H), 1.30 (s, 32H), 0.89-0,85 (m, 6H)

RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) 172.4 (C=O), 160.4 (ArCm), 131.3 (ArCi), 108.3 (ArCo), 107.6 (ArCp), 68.5 (ArOCH₂), 32.1, 29.9, 29.8, 29.8, 29.7, 29.5, 29.3, 26.2, 22.8, 14.3 (CH₃).

Les données spectrales en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁷⁶

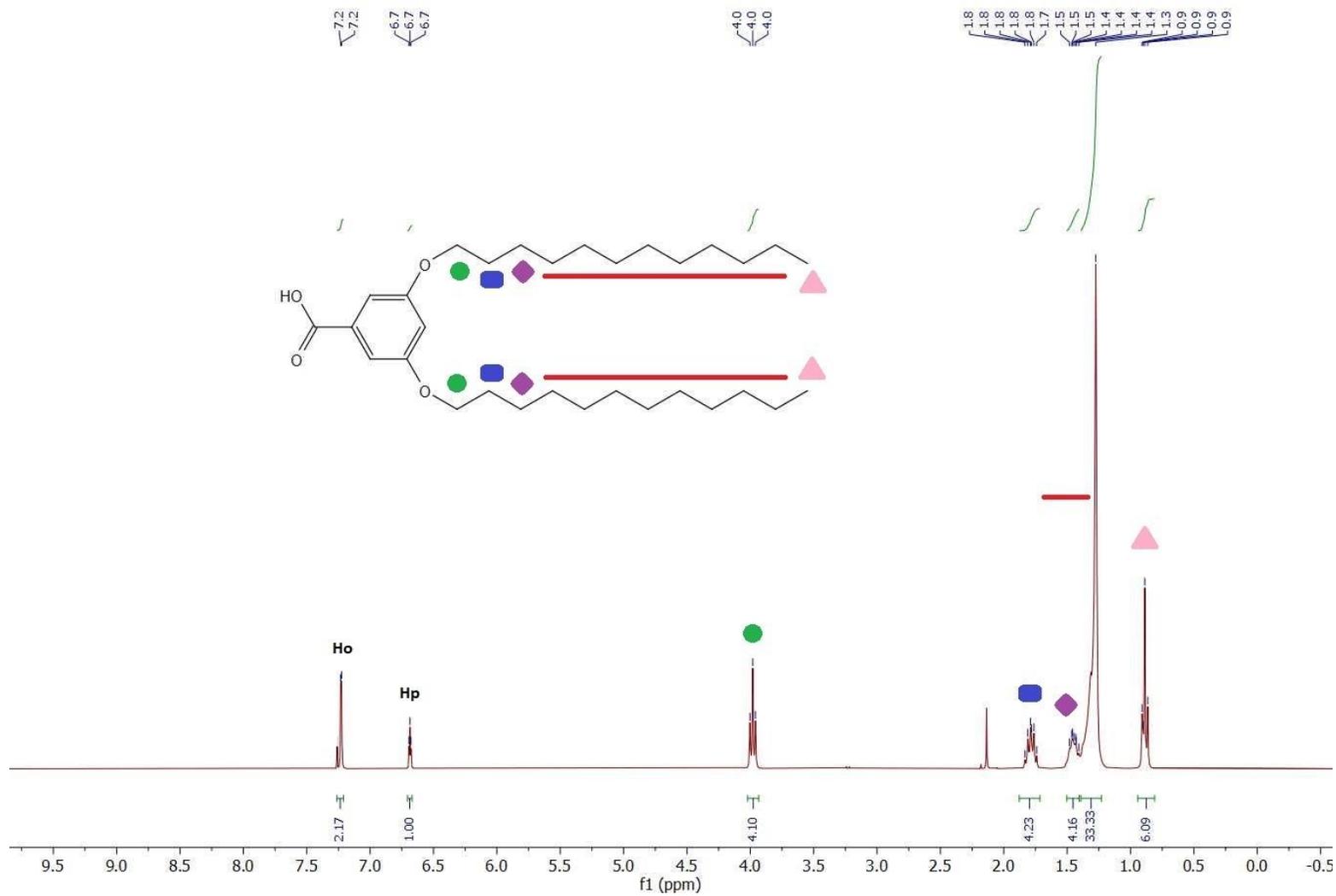


Figure 3.5 RMN ^1H Composé 2.3.

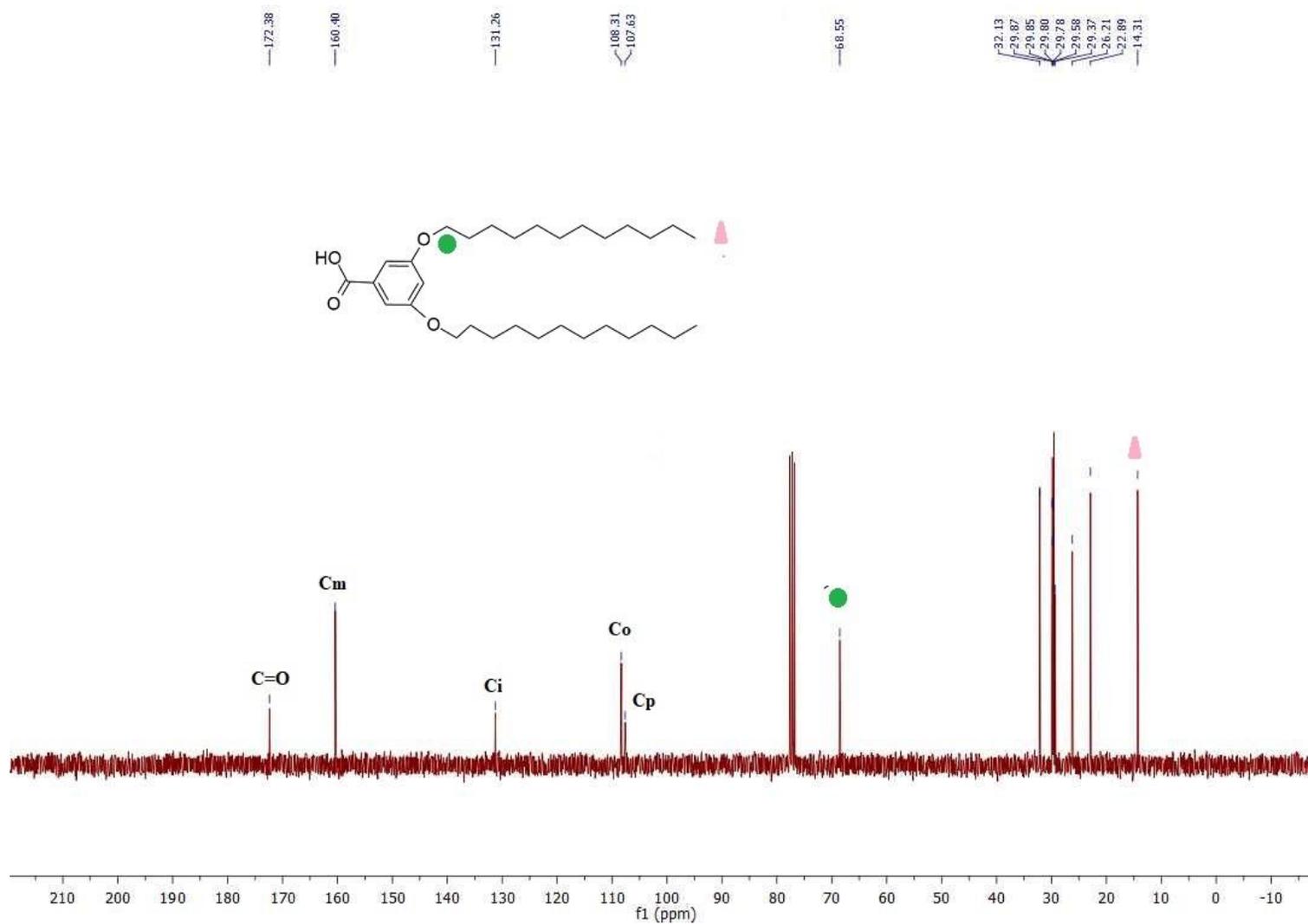
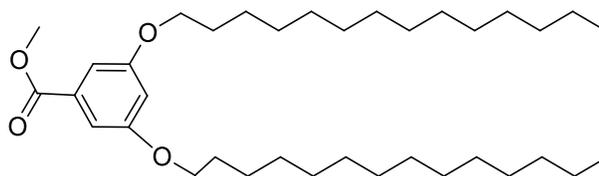


Figure 3.6 RMN ^{13}C du composé 2.3.

**2.4**

Synthèse du composé 3,5-bis(tetradécyloxy)benzoate de méthyle 2.2. Le composé **2.3** (1,00 g, 5,95 mmol, 1eq.), 1-bromotétradécane (3,78 mL, 14,16 mmol 2.4eq.), 5,05 g de carbonate de potassium, 0,12 g de tetrabutyl ammonium iodide et 75 ml de DMF ont été agités sous atmosphère d'azote à 90 °C pendant 12 h. Le mélange réactionnel a été refroidi à température ambiante, suivi par l'addition de 50 ml d'eau. La phase organique a été extraite avec EtOAc (4 x 100 ml), séchée sur Na₂SO₄, concentrée sous vide et purifiée par une chromatographie sur colonne.

Le composé **2.4** (3.30 g, 99 %) est obtenu sous la forme de poudre blanche.

R_f = 0,35 (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.16 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H_o), 6.64 (t, , *J* = 2.3 Hz, 1H, H_p), 3.97 (t, , *J* = 6.5 Hz, 4H), 3.90 (s, 3H), 1.83-1.73 (m, 4H), 1.47 – 1.31 (m, 4H), 1.27 (s, 40H), 0.89-0.85 (m, 6H)

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 167.3 (C=O), 160.0 (ArC_m), 131.5 (ArC_i), 107.6 (ArC_o), 106.6 (ArC_p), 68.34 (ArOCH₂), 52.2 (OCH₃), 32.0, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.4, 29.2, 26.0, 22.7, 14.1 (CH₃)

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁷⁶

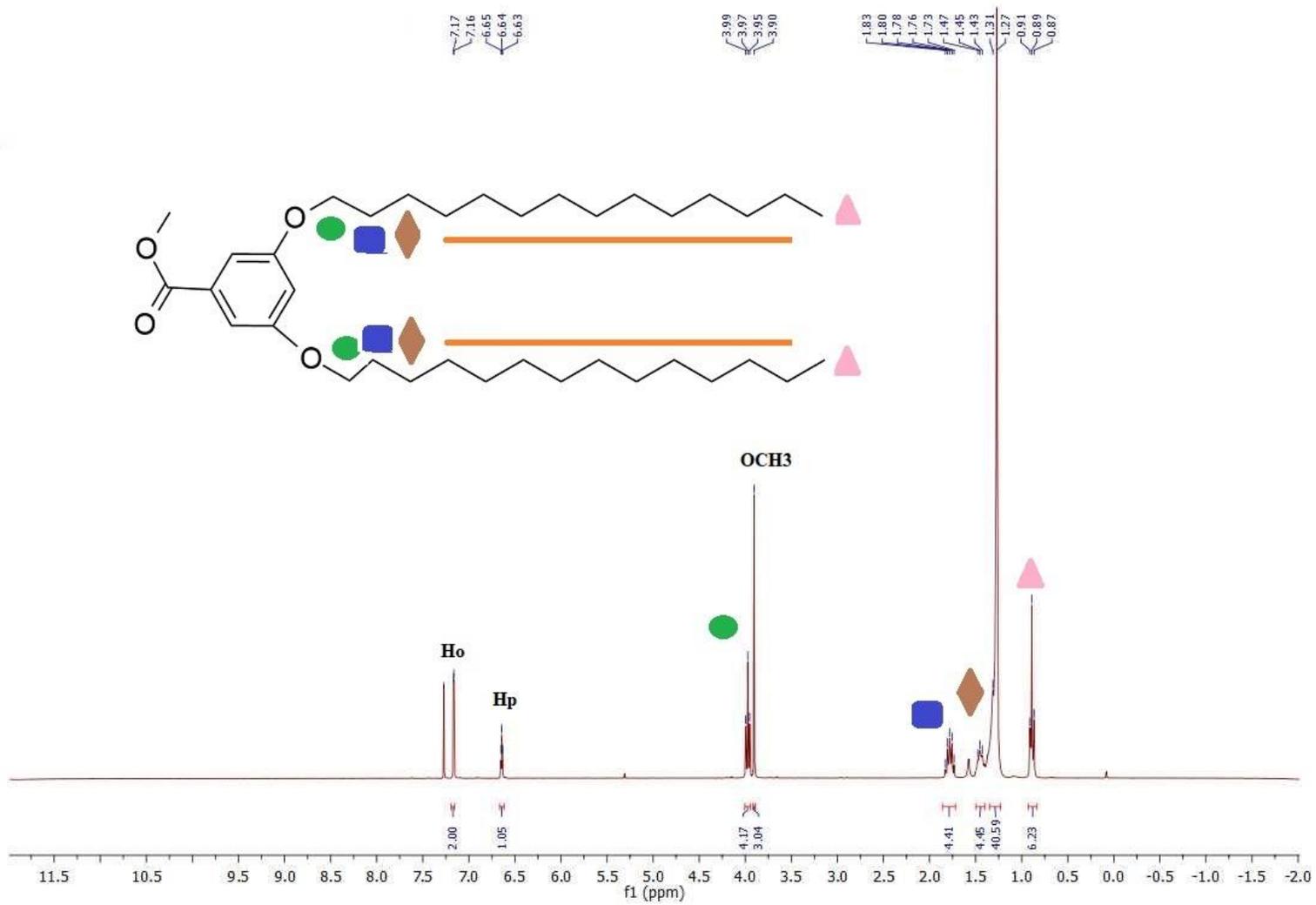


Figure 3.7 RMN ^1H Composé 2.4.

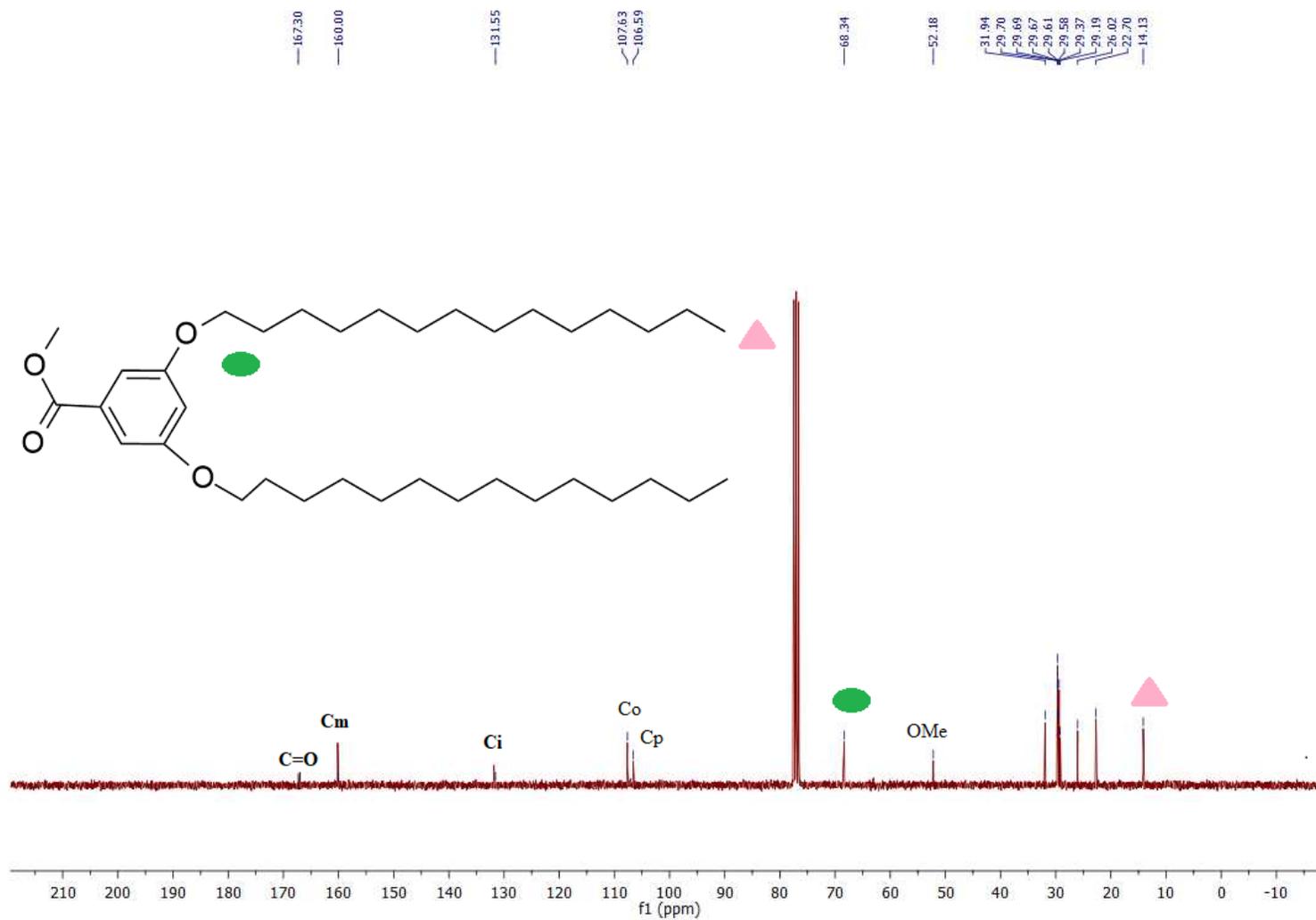
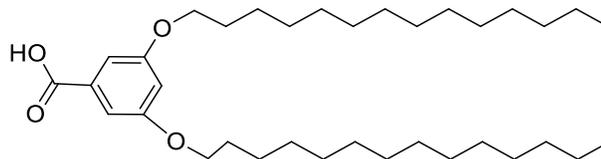


Figure 3.8 RMN ^{13}C du composé 2.4.

**2.5**

Synthèse de l'acide 3,5-bis(tétradécyloxy)benzoïque 2.5. À une solution du composé **2.5** (1,00 g, 1,78 mmol) dans EtOH (15 mL) a été ajoutée une solution de KOH à 10 % (2,5 mL) et le mélange résultant a été chauffé au reflux pendant 3 h. 30. Le mélange réactionnel a été refroidi à température ambiante, dissous dans du DCM (40 ml) lavé avec du HCl 1 M (25 mL), de la saumure (40 mL) et séché sur Na₂SO₄. Le filtrat a été concentré sous vide.

Le composé **2.5** (960 mg, 99 %) est obtenu sous la forme de poudre blanche.

$R_f = 0,35$ (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.24 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H, Ho), 6.70 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H, Hp), 3.99 (t, $J = 6.5$ Hz, 4H), 1.82-1.77 (m, 4H), 1.47 – 1.30 (m, 4H), 1.27 (m, 40H), 0.91-0,87 (m, 6H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) 171.51 (C=O), 160.2 (ArCm), 130.8 (ArCi), 108.1 (ArCo), 107.4 (ArCp), 68.3 (ArOCH₂), 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.3, 29.1, 26.0, 22.7, 14.1 (CH₃).

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁷⁶

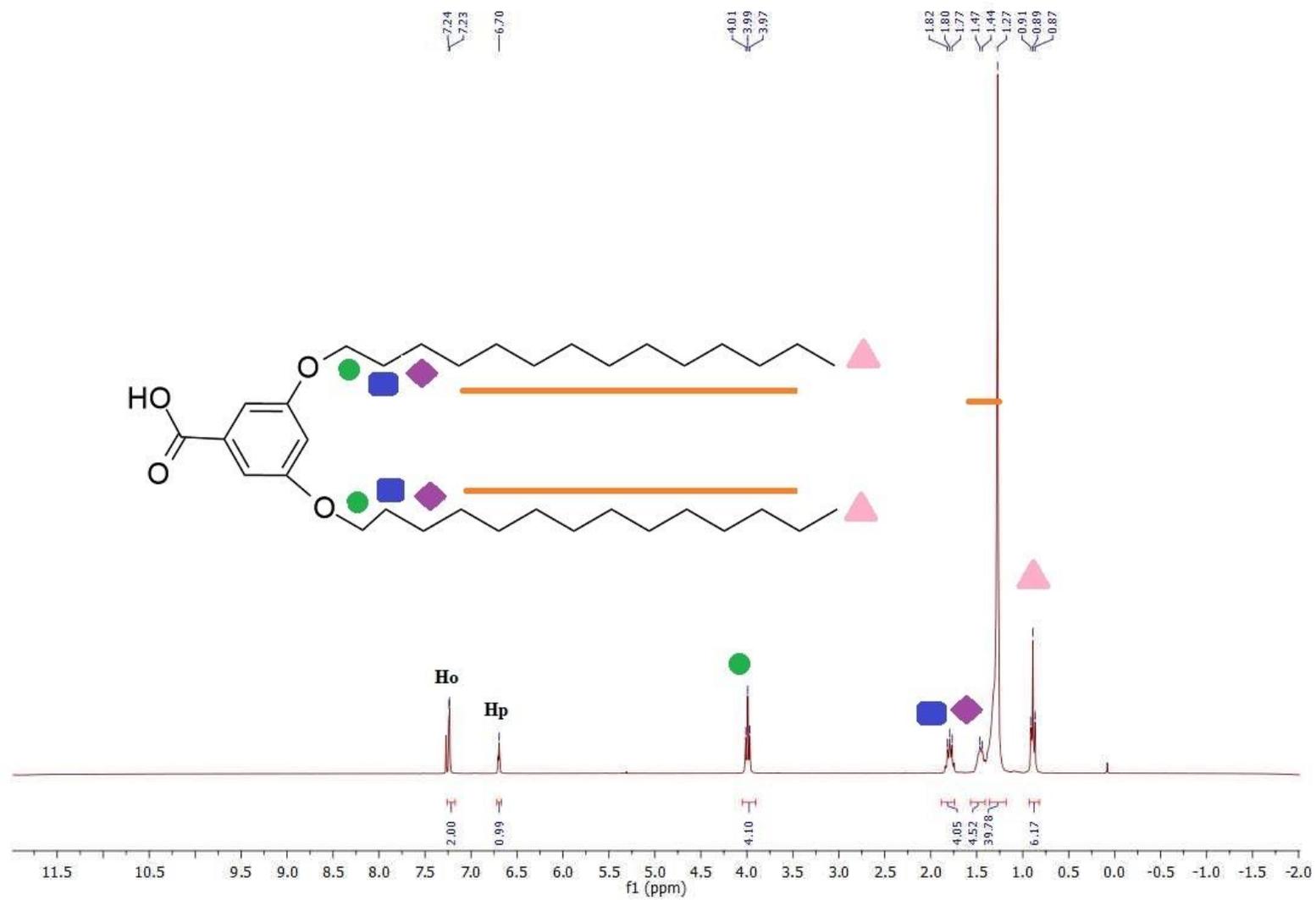


Figure 3.9 RMN ^1H Composé 2.5.

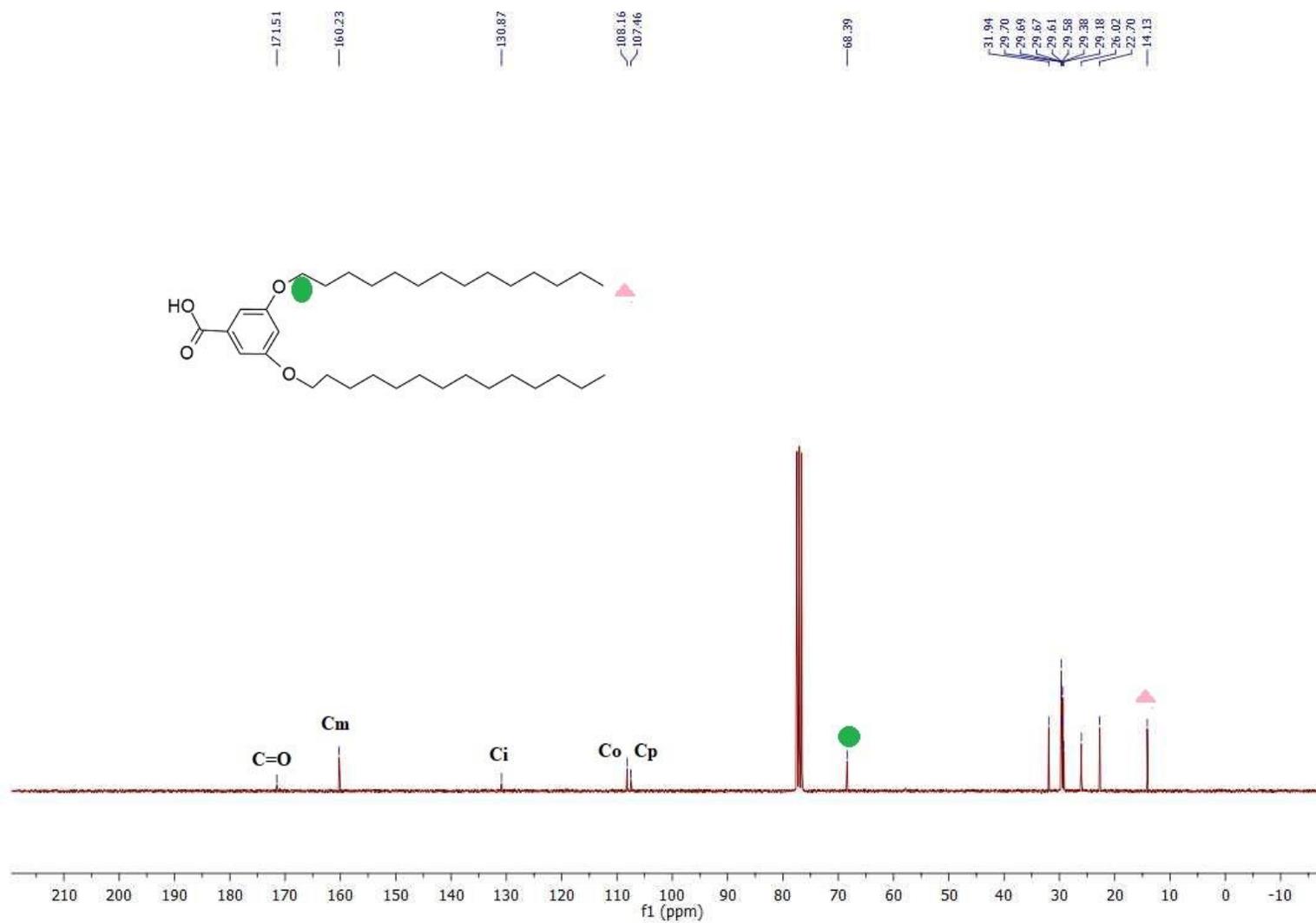
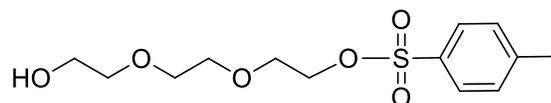


Figure 3.10 RMN ^1H Composé 2.5.

**2.6**

Synthèse du composé 2.6. Dans une solution de triéthylène glycole (16.24 g, 108.15 mmol, 10 éq.) dans du THF (45 mL), un rajout de 6 mL d'une solution aqueuse 4M de NaOH a été effectué. Le mélange réactionnel a été agité à une température de 0 °C pendant une durée d'une heure. Par la suite, une solution de chlorure de tosyloxy (2.11 g, 10.82 mmol, 1 éq.) dans du THF (25 mL) a été rajouté goutte à goutte durant 0.5 h à l'aide d'une ampoule. Le mélange réactionnel est ensuite agité à 0° C pour une période supplémentaires de 3 heures. La réaction est ensuite arrêtée et le mélange réactionnel a été versé dans de l'eau glacée (200 mL) et extrait avec du DCM (3 x 200 mL). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium Na₂SO₄ et concentrée sous vide. Le produit a été purifié en utilisant la méthode de chromatographie sur colonne.

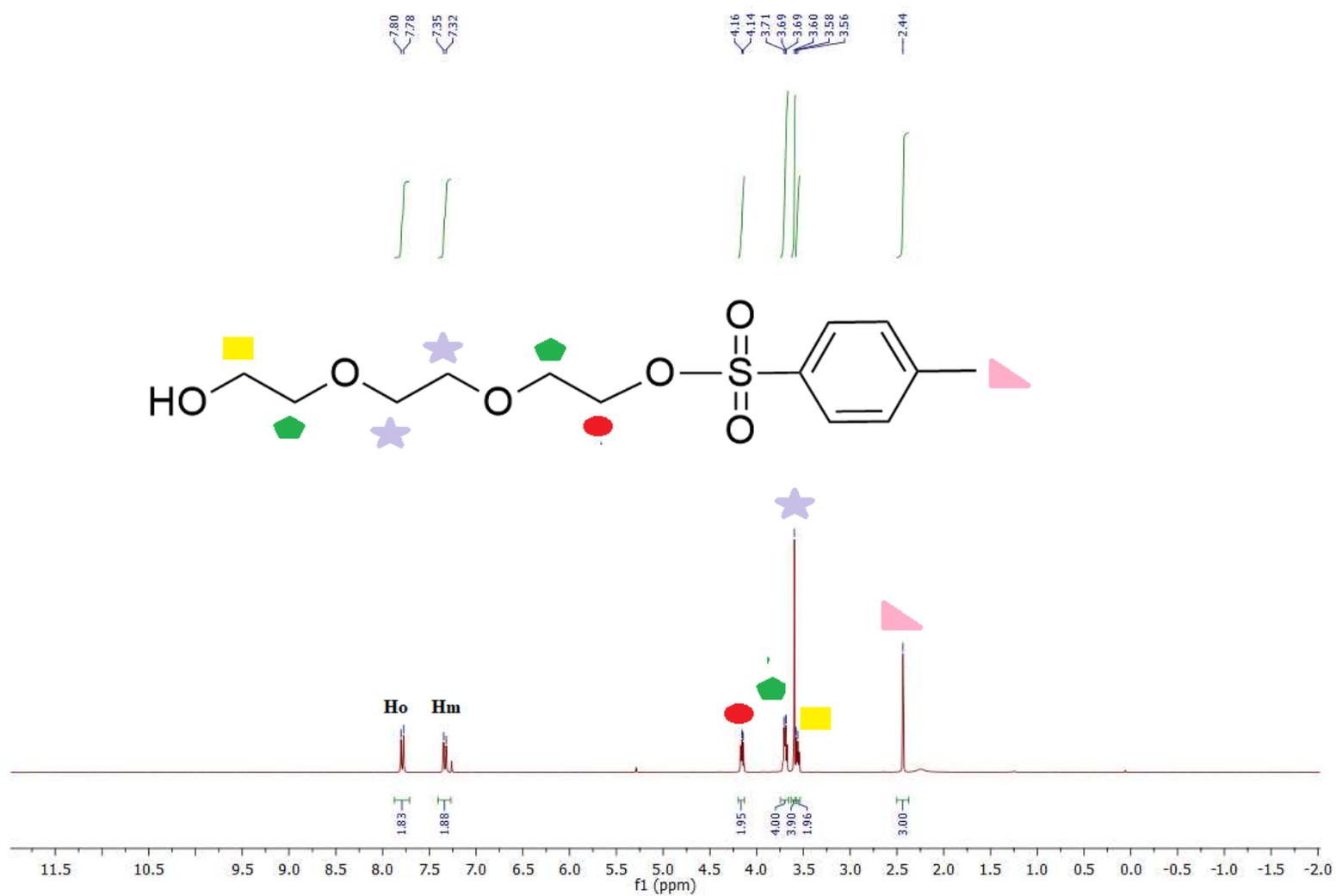
Le composé **2.6** est obtenu sous la forme d'une huile incolore (3.29 g, 10.83 mmol, 99 %)

R_f = 0,47 (Acétone/DCM, 1:4).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (7.79 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ho), 7.33 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, Hm), 4.17 (t, *J* = 4.7 Hz, 2H), 3.75–3.61 (m, 4H), 3.60 (s, 4H), 3.57 (t, *J* = 4.9 Hz, 2H), 2.44 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 149.5, 137.30, 134.4, 132.4, 77.0, 75.1, 74.6, 73.8, 73.0, 66.0, 26.1.

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁹⁹

Figure 3.11 RMN ^1H Composé 2.6.

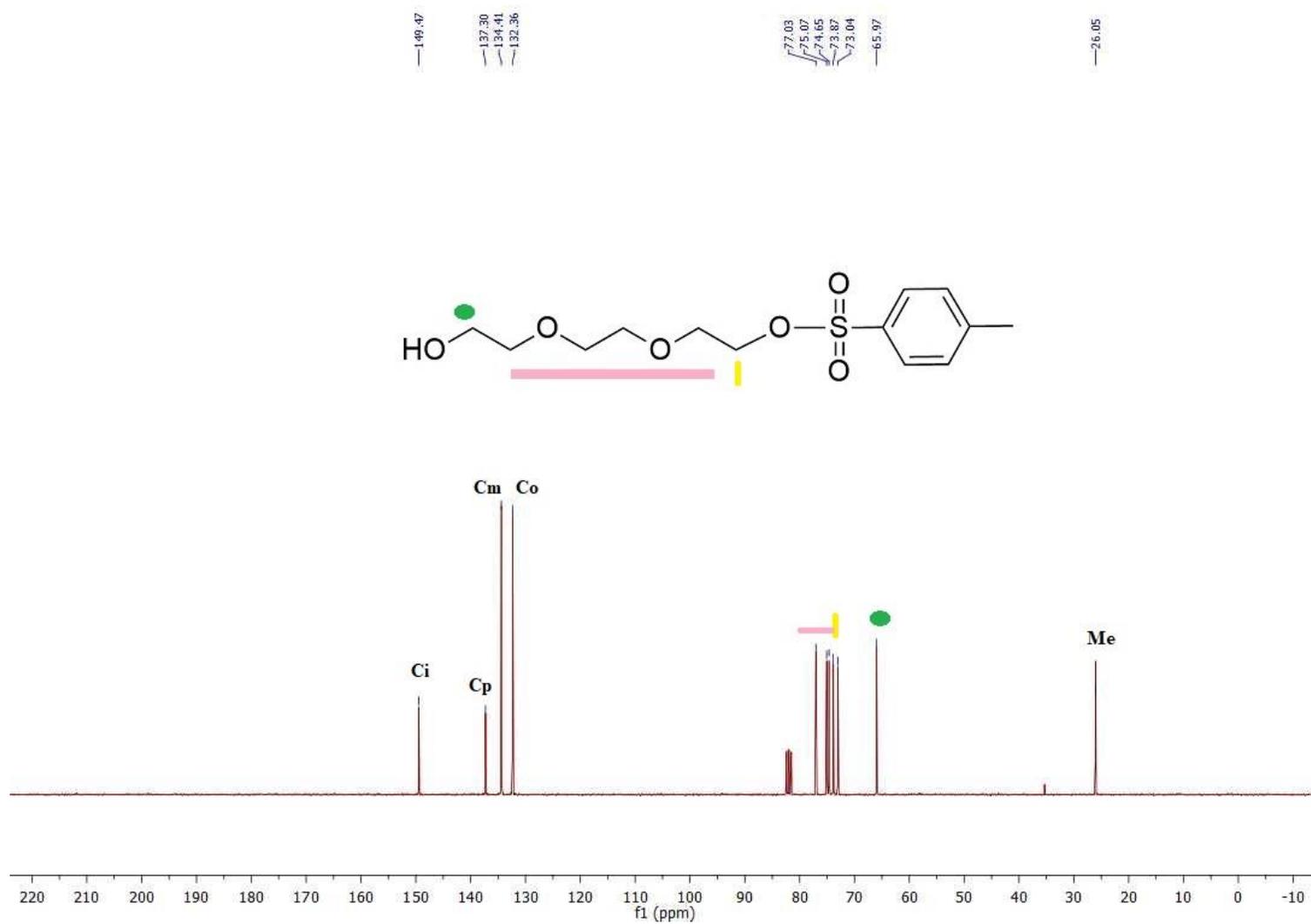
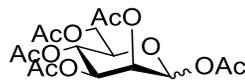


Figure 3.12 RMN ^{13}C du Composé 2.6.



2.7

Synthèse du composé 2.7 : Le D-mannose (2,00 g, 11,1 mmol, 1 équiv.) dans du THF sec (80 mL) a été introduit dans un ballon puis l'anhydride acétique (5,3 ml, 55,5 mmol, et 5 équiv.). De la pyridine (4,50 mL, 55,50 mmol et 5 éq.) a été ajoutée à 0 °C dans la solution goutte à goutte *via* le septum. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant une nuit, puis le mélange réactionnel a été dilué dans de l'eau froide et extrait avec du DCM. La phase organique a été lavée avec du HCl aqueux 1 M, une solution de bicarbonate de soude saturé (NaHCO₃), H₂O et saumure. La couche organique a été séchée sur Na₂SO₄, puis concentré sous pression réduite.

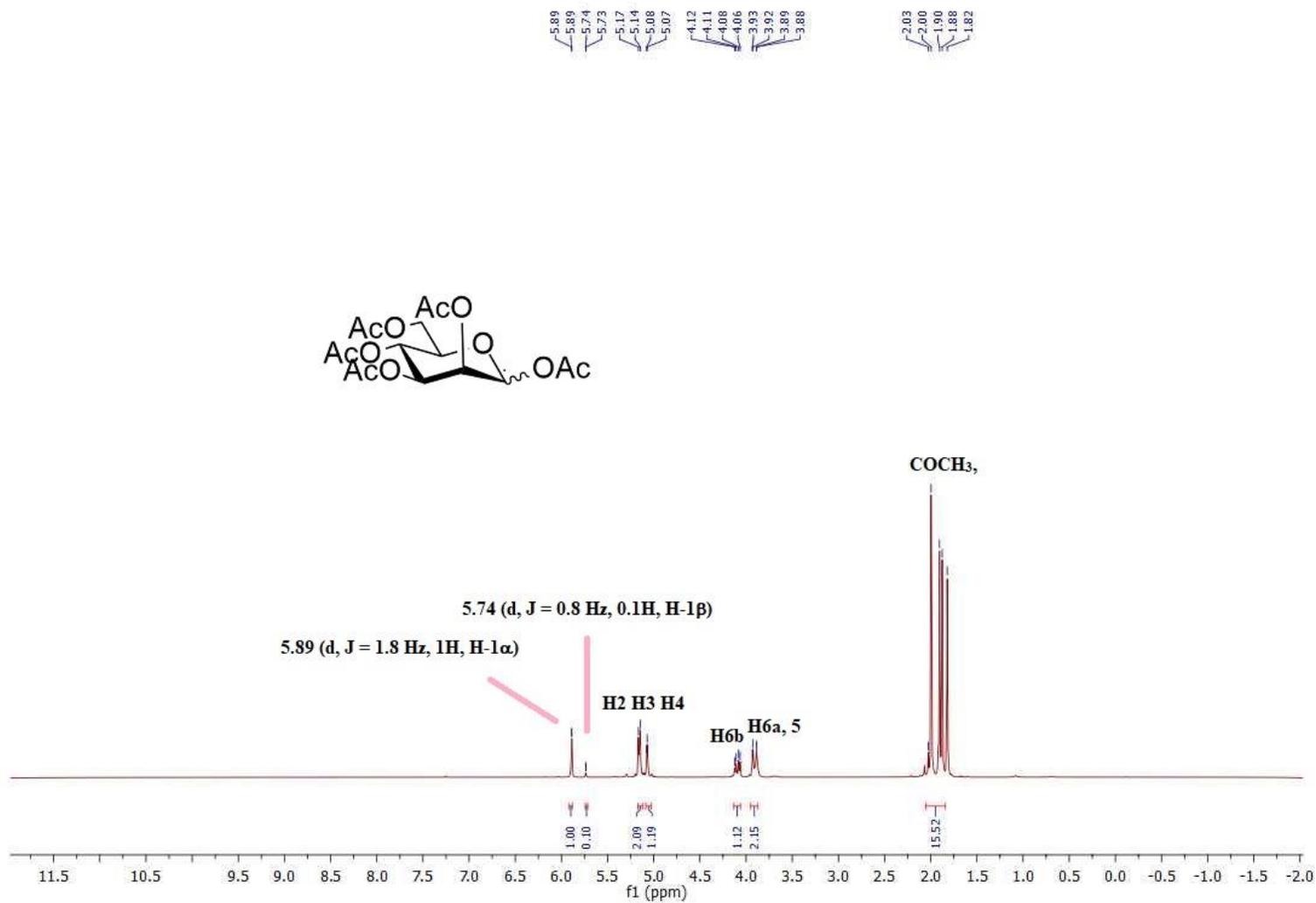
Le composé **2.7** est obtenu sous forme de sirop incolore. (3,9 g, 11,1 mmol, 90%)

Ratio des anomères : (9:1 α/β)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5.89 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H-1 α), 5.74 (d, $J = 0.8$ Hz, 0.1H, H-1 β), 5.16 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H 2,3), 5.08 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H. H4), 4.09 (dd, $J = 12.,5.0$ Hz, 1H, H 6b), .3.91 (dd, $J = 12.3, 1.9$ Hz, 2H, H 6a,5), 2.03-1.85 (5x s COCH₃, 15H)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 170.3, 169.7, 169.5, 169.3, 167.8 (5 x COCH₃), 90.4 (C 1), 70.4 (C 5), 68.6 (C 3), 66.6 (C 2), 65.3 (C 4), 61.9 (C 6), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4, 20.3 (5 x COCH₃)

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.¹⁰⁰

Figure 3.13 RMN ¹H Composé 2.7.

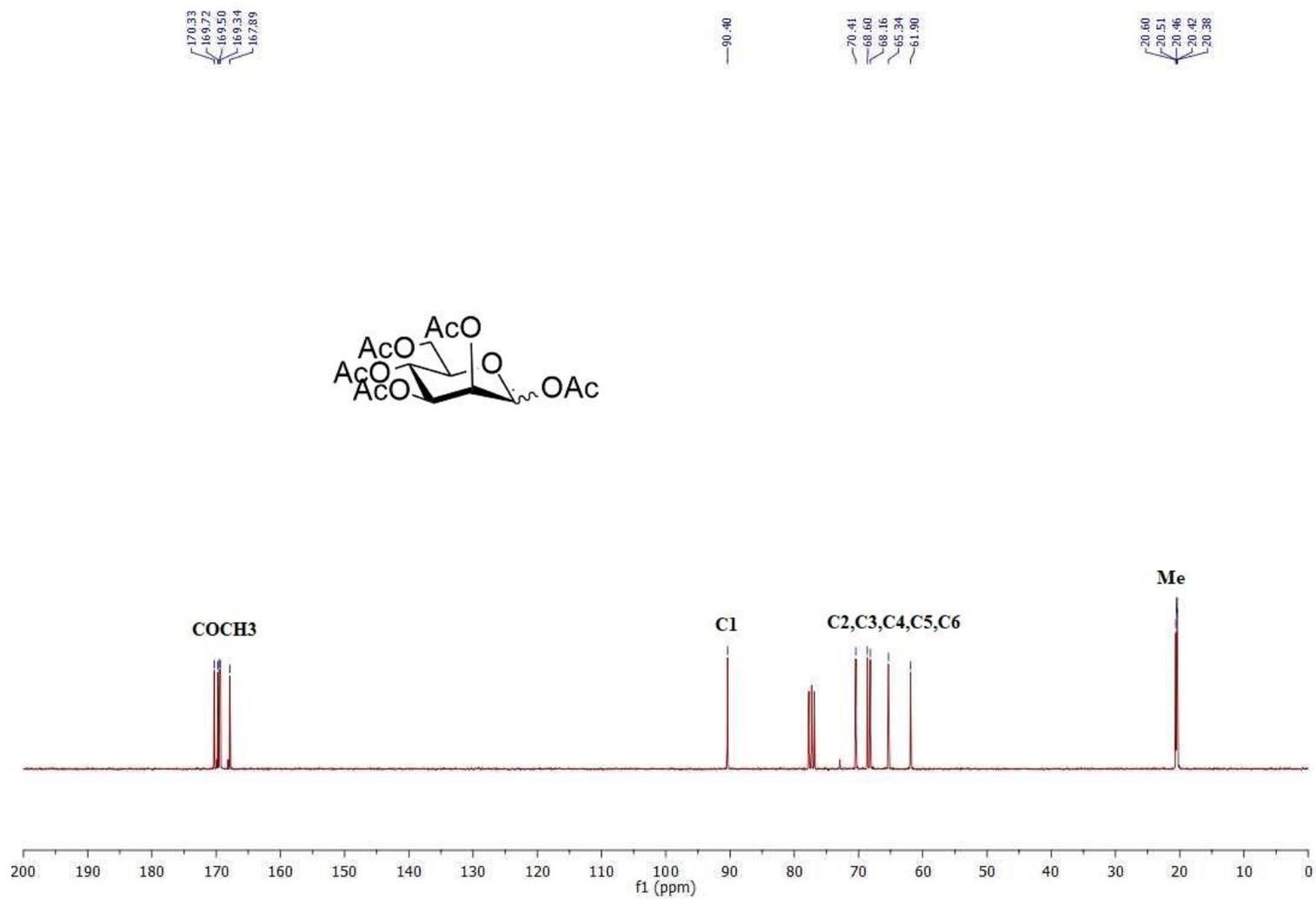
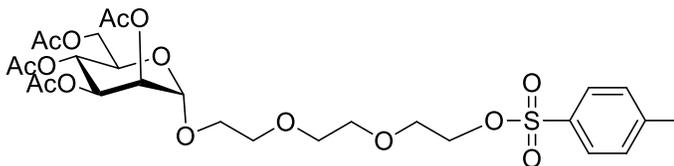


Figure 3.14 RMN ^{13}C du composé 2.7.



2.8

Synthèse du composé 2.8. Dans une solution du composé **2.7** (1 g, 2,56 mmol, 1 équiv.) dans du DCM sec (2,5 mL), a été ajouté le composé **2.6** (1,8 g, 5,98 mmol, 2,3 équiv.) à température ambiante sous atmosphère d'azote. La solution a été agitée pendant 1.5 h puis du BF_3OEt_2 (3,76 g, 10,79 mmol, 2,5 équiv.) a été ajouté à 0 °C goutte à goutte pendant 30 mn. Le mélange réactionnel est ensuite agité à la même température pendant 2 heures puis a t.p. pendant 24 heures. Le produit brut a été lavé avec NaHCO_3 sat, séché sur du sulfate de sodium Na_2SO_4 et concentré sous pression réduite et purifié par chromatographie sur colonne.

Le composé **2.8** (0,96 g, 1,51 mmol, 60%) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

$R_f = 0,35$ (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (7.77 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.34–5.22 (m, 3H), 4.84 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 4.25 (dd, $J = 12.4, 5.2$ Hz 1H), 4.17–4.08 (m, 2H), 4.09–4.05 (m, 1H), 4.05–3.98 (m, 11H), 2.12 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.96 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170.6, 169.9, 169.7, 169.8, 144.7, 133.1, 129.8, 127.9, 97.6, 70.7, 70.6, 70.0, 69.72, 69.5, 69.3, 69.0, 68.7, 68.4, 67.3, 66.1, 62.3, 21.6, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5. Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁷³

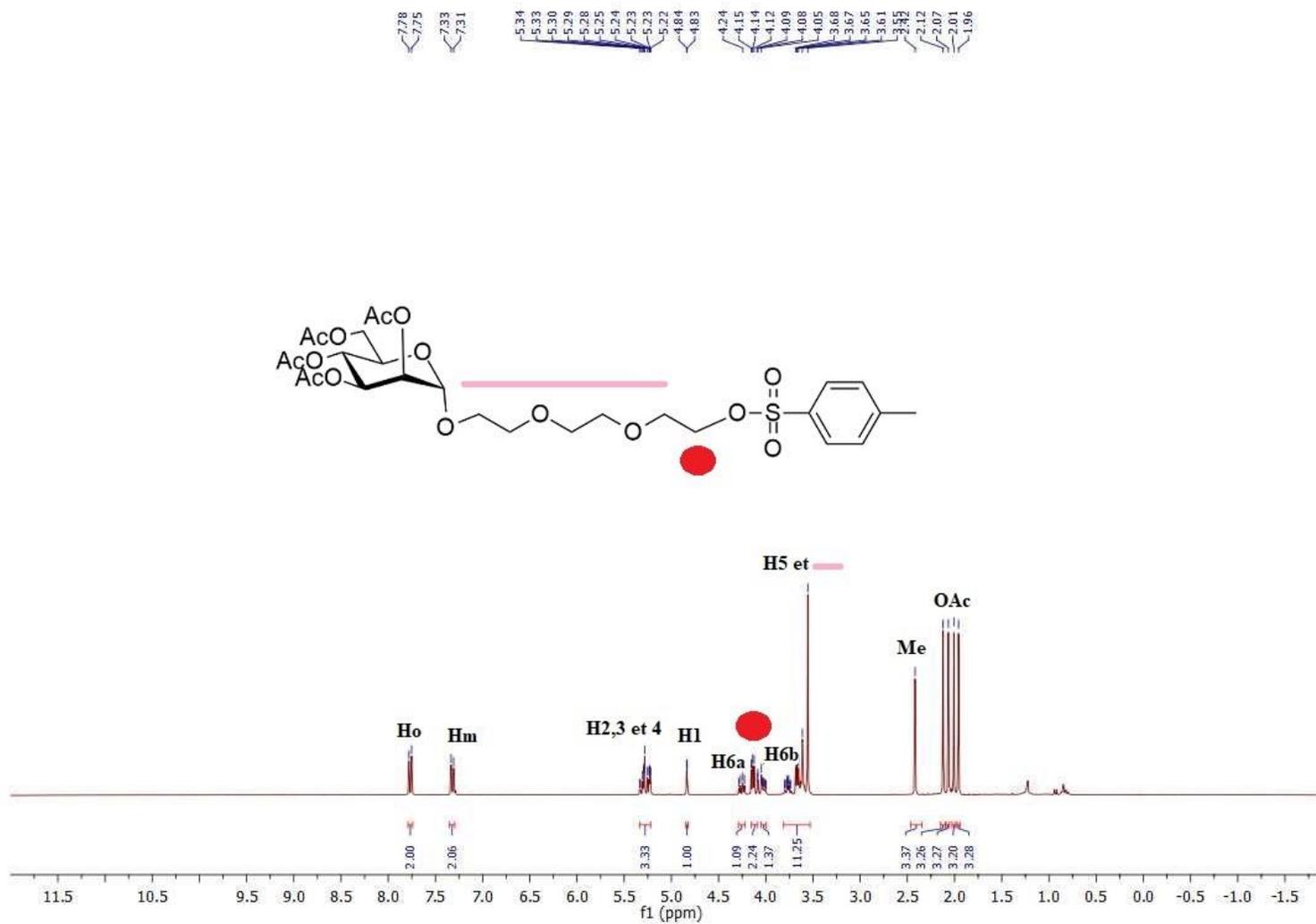


Figure 3.15 RMN ^1H Composé 2.8.

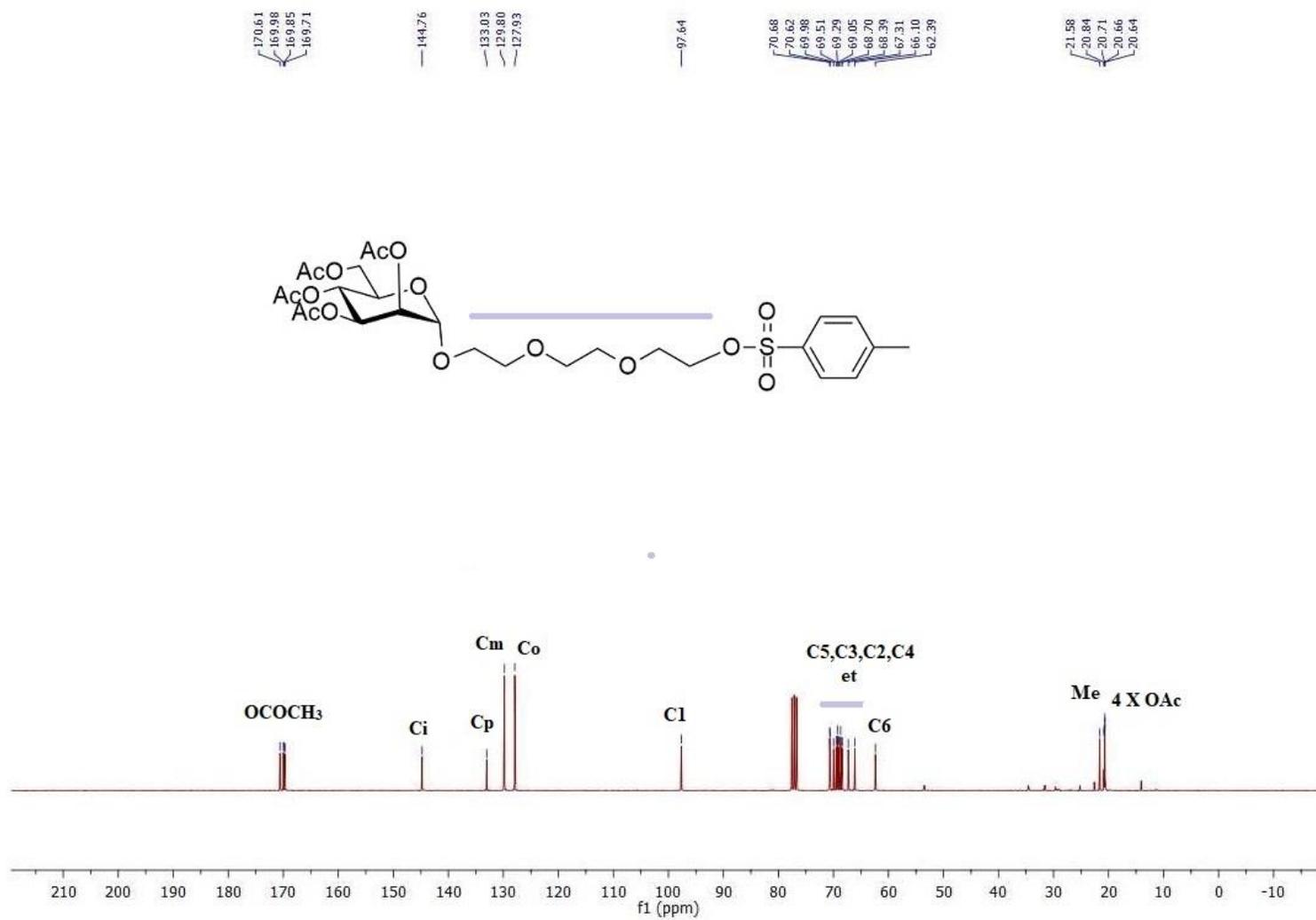
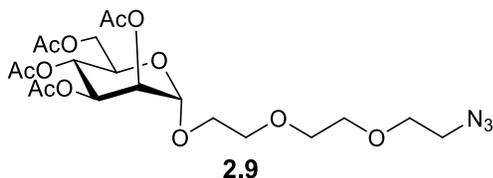


Figure 3.16 RMN ^{13}C du composé 2.8.



Synthèse du composé 2.9 A une solution du composé **2.8** (0,61 g, 0,98 mmol, 1 éq.) dans le DMF (30 mL) a été ajouté de l'azoture de sodium (0,51 g, 7,84 mmol, 8 eq.) et le mélange a été agité à 80°C pour une nuit à température ambiante. Le mélange réactionnel a été dilué dans de l'acétate d'éthyle et lavé avec de la saumure, séché avec Na₂SO₄ et concentré sous la pression réduite.

Le composé **2.9** est obtenu sous la forme d'une huile incolore (0,46 g, 0,91 mmol, 93 %)

R_f = 0,35 (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5.41-5.28 (m, 3H), 4.90 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 4.32 (dd, *J* = 12,4, 5,1 Hz, 1H), 4.19-3.89 (m, 2H), 3.91-3.75 (m, 1H), 3.76-3.60 (m, 9H), 3.56-3.36 (t, *J* = 4,9 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.06-2.03 (s, 3H), 2.00 (s, 3H)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.7, 170.1, 170.0, 169.8, 97.8, 70.9, 70.8, 70.7, 69.6, 69.1, 68.4, 67.4, 62.5., 62.4, 50.7, 50.82, 21.0, 20.9, 20.8, 20.7.

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁷³

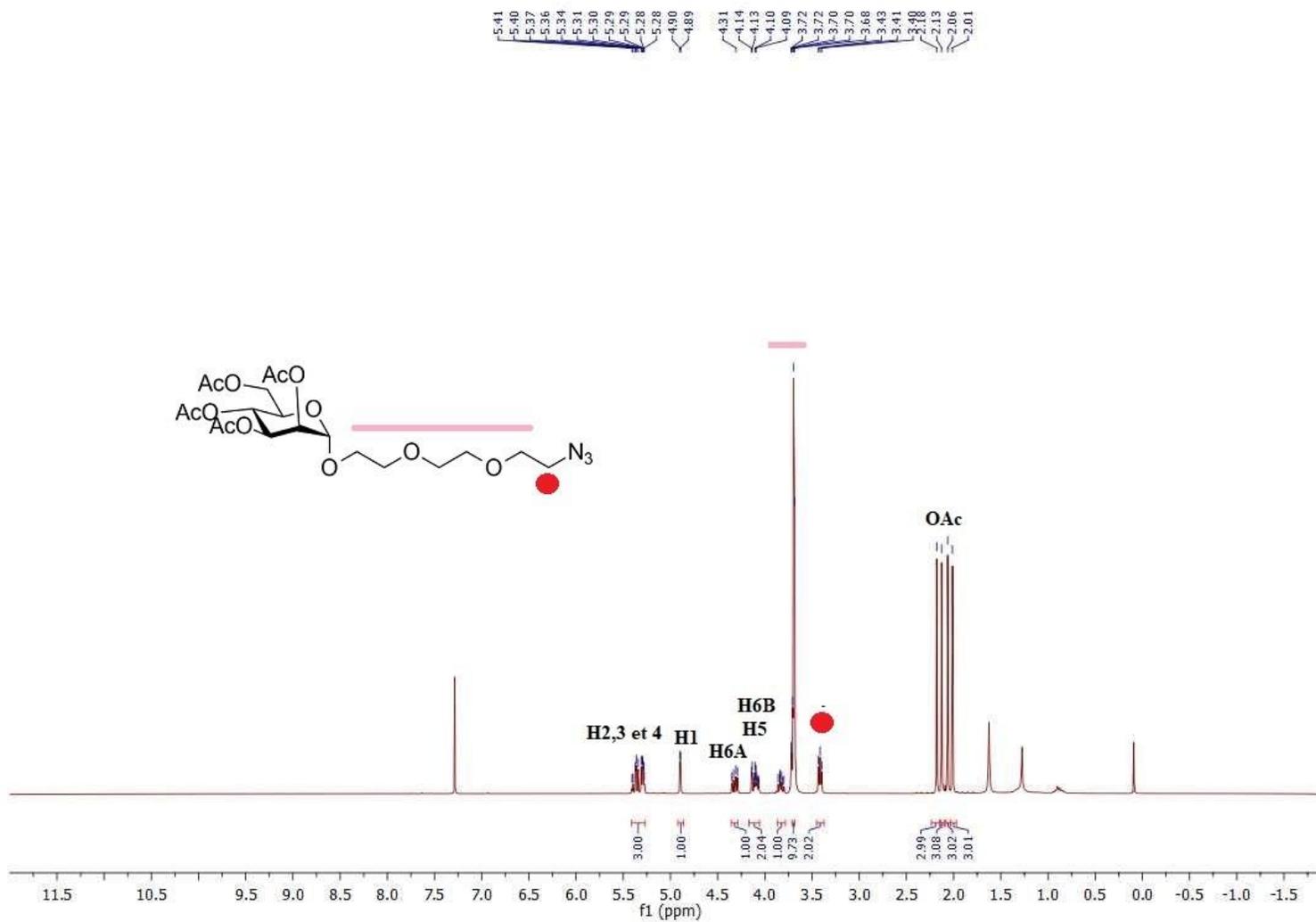


Figure 3.17 RMN ¹H Composé 2.9.

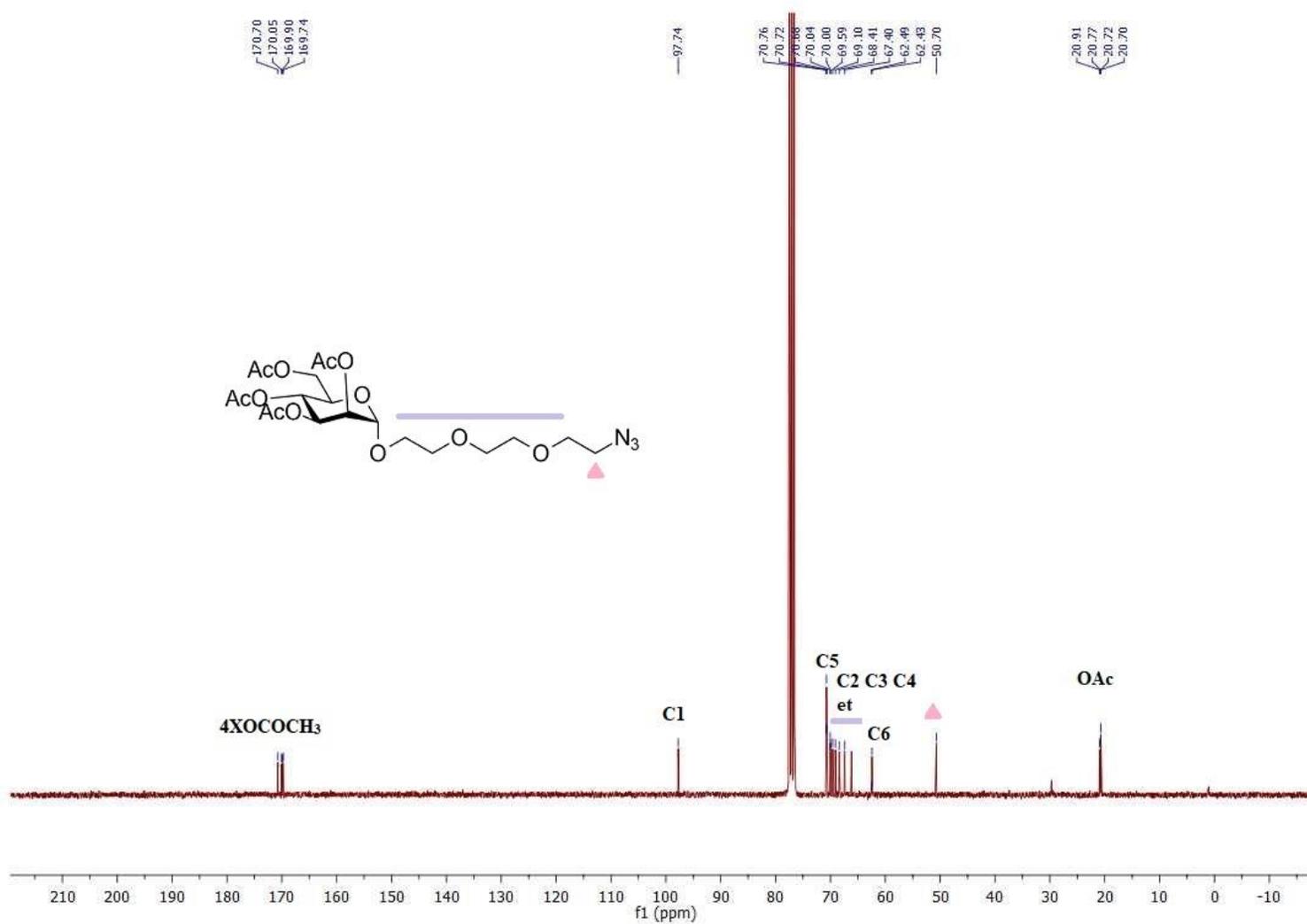
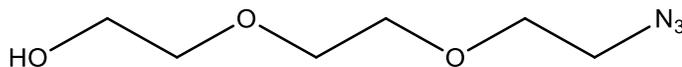


Figure 3.18 RMN ¹³C du composé 2.9.

**2.10**

Synthèse du composé 2.10. Dans une solution de triéthylène glycol (1,00 g, 3,29 mmol, 1 éq.) dans du DMF sec (10 ml) a été ajouté du NaN₃ (0,64 g, 9,87 mmol, 3 éq.) sous atmosphère d'azote et à température ambiante. Par la suite le mélange a été agité à 80 °C pendant une nuit. La réaction est ensuite arrêtée et refroidie à température pièce suivie d'un rajout de 20 mL d'eau froide. Il s'en suit une extraction de la phase organique avec du DCM (4 x 50 mL). Le produit est séché avec du Na₂SO₄ et concentré sous vide. Le composé est filtré à travers un tampon de composé de gel de silice.

Le composé **2.10** (0,52 g, 2,96 mmol, 90 %) est obtenu sous forme d'huile jaunâtre.

R_f = 0,45 (Acétone/DCM, 1:3).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 4.10 – 3.91 (m, 9H), 3.95 – 3.78 (m, 2H), 3.70 (t, *J* = 4,9 Hz, 2H)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) 72.3, 70.2, 69.9, 69.8, 61.1, 50.2

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.⁹⁹

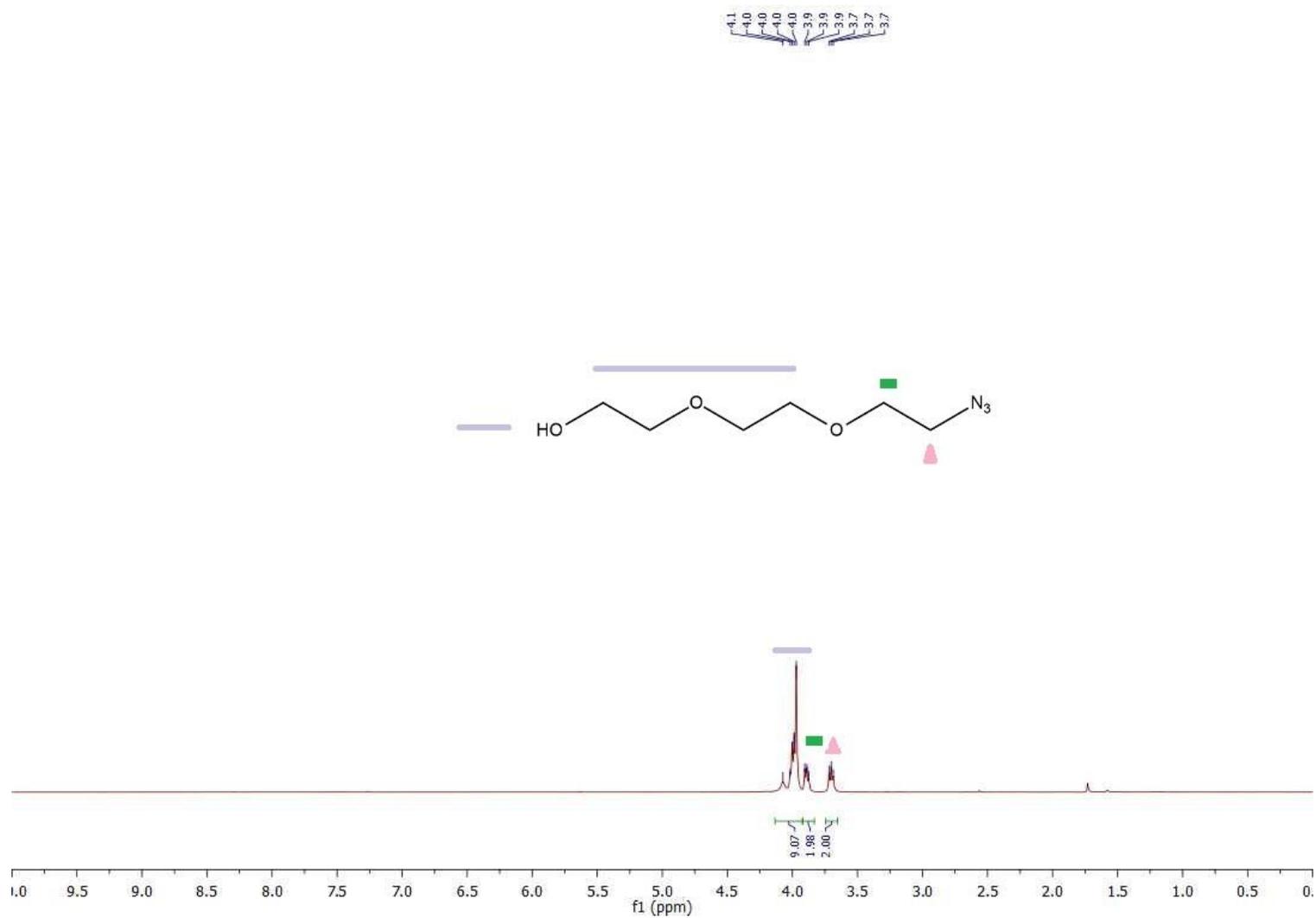


Figure 3.19 RMN ¹H Composé 2.10.

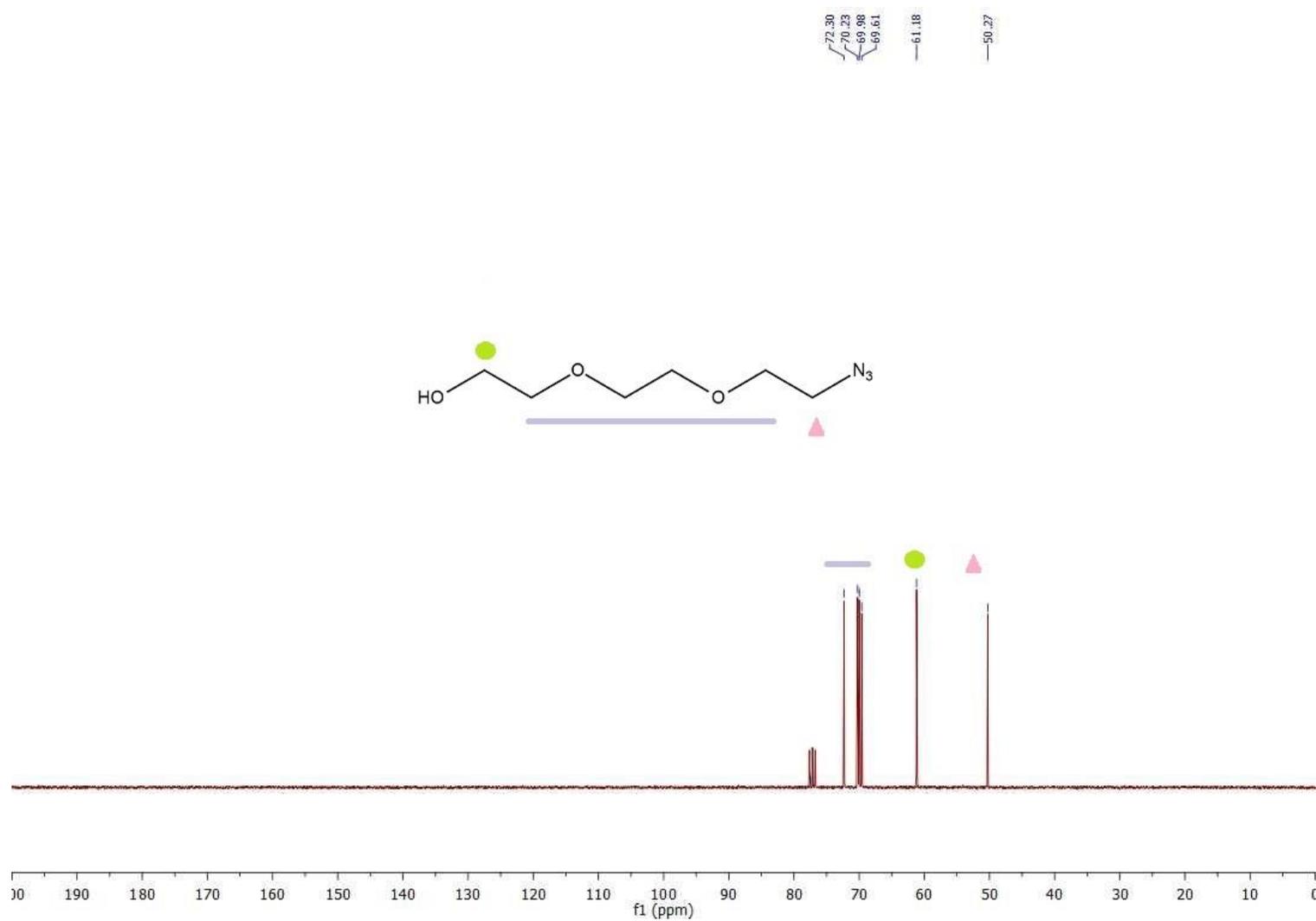
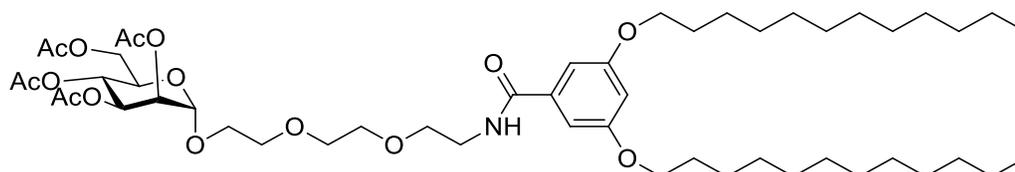


Figure 3.20 RMN ^{13}C du composé 2.10.



2.11

Synthèse du composé 2.11 Au mélange du composé **2.9** (100 mg, 0,2 mmol, 1eq) et l'acide 3,5-bis(dodécyloxy)benzoïque **2.3** (98 mg, 0,20 mmol, 1eq) dans du DCM (10 mL) a été rajouté du tributylphosphine (60 μ L, 0,324 mmol, 1,6 eq. à 0°C et le mélange a été agité à la même température pendant une durée de 2 h. L'agitation a été maintenue à température ambiante pendant une durée de 24 heures. Du HOBT (6,08 mg, 0,378 mmol, 1,9 eq.) a été ensuite rajouté au mélange suivi d'un rajout de diisopropylcarbodiimide (42 μ L, 0,328 mmol, 1,7 eq.). La réaction a été agitée à température ambiante pendant 48 heures. Le mélange réactionnel a été dilué avec de l'acétate d'éthyle EtOAc (200 mL), lavé avec du NaHCO₃ saturé, une solution de chlorure de sodium NaCl et a été séchée avec du sulfate de sodium Na₂SO₄. Le solvant a été éliminé et le matériau brut a été purifié par chromatographie sur colonne avec du gel de silice

Le composé **2.11** (137 mg, 0,14 mmol, 72%) est obtenu sous la forme d'huile incolore.

R_f = 0.35 (hexane-EtOAc 10-40 %)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6.86 (d, J = 2.2 Hz, 2H), 6.71 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 6.52 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 5.38 – 5.15 (m, 3H), 4.83 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 4.25 (dd, J = 12.4, 5.1 Hz, 1H), 4.17 – 4.02 (m, 1H), 3.93 (t, J = 6.6 Hz, 4H), 3.84 – 3.75 (m, 2H), 3.68 – 3.56 (m, 11H), 2.14 – 1.93 (4s, 12H), 1.81 – 1.63 (m, 4H), 1.38 – 1.16 (m, 34H), 0.87 (t, J = 6.7 Hz, 6H).

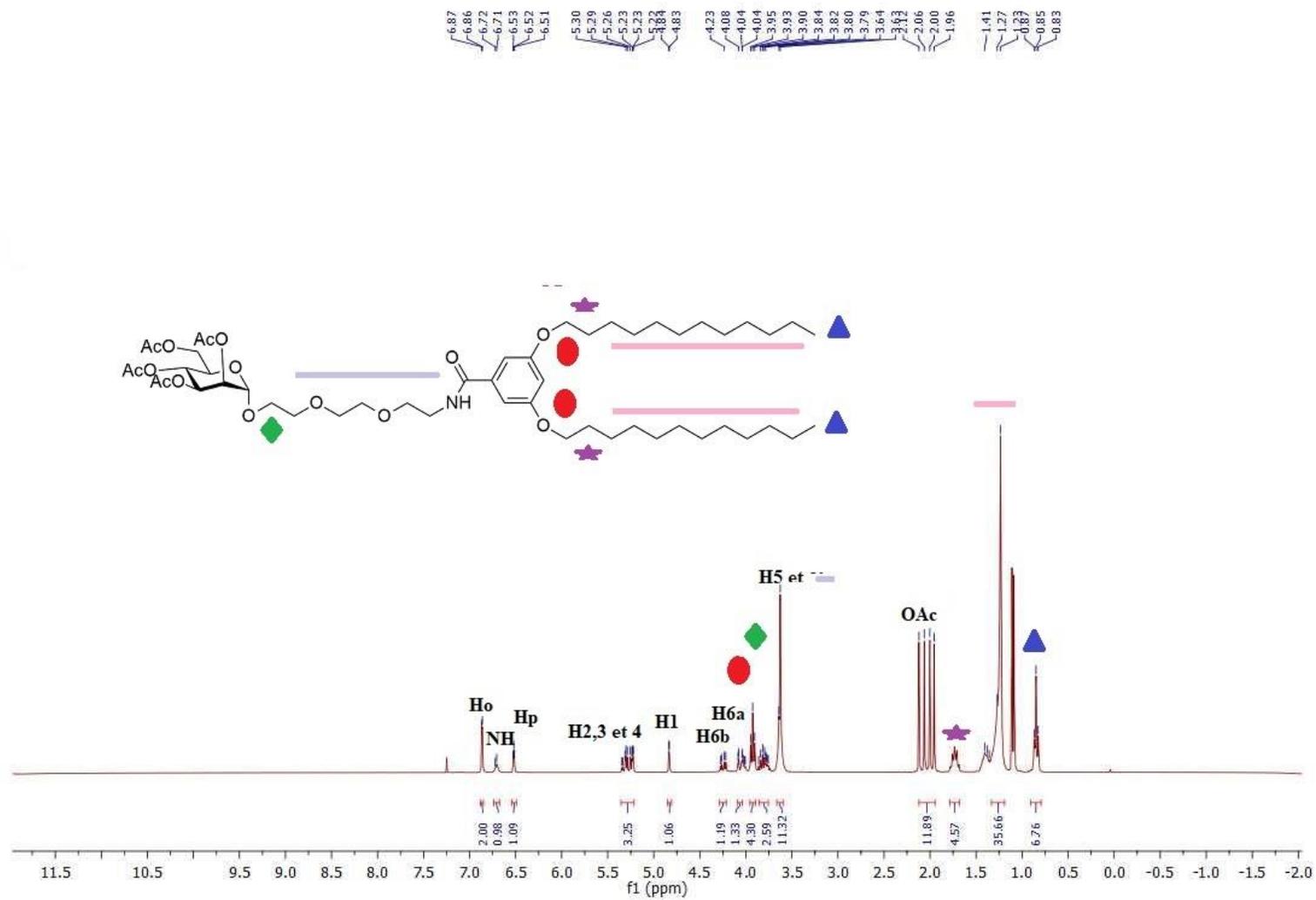
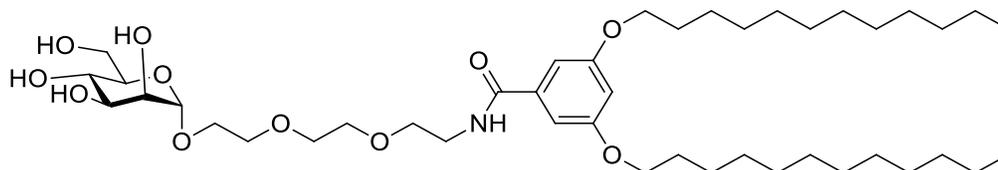


Figure 3.21 RMN ^1H Composé 2.11.

**2.12**

Synthèse du composé 2.12. À une solution du composé **2.11** (60 mg, 0,063 mmol) dans du MeOH (5 mL) a été rajouté 0,5 M de NaOMe (0.1mL). Après 4h agitation a t.p., la réaction a été quenchée avec de l'Amberlite IR-120H⁺ *via* une neutralisation à pH = 7, filtrée à travers un tampon de Celite et concentrée sous vide pour donner le produit souhaité **2.12** sans autre purification.

Le composé **2.12** (47.8 mg, 0,061 mmol, 97%) est obtenu sous la forme d'huile incolore.

$R_f = 0.3$ (Hexane-EtOAc 10-40 %).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ .7.07 (s, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.55 (s, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.85 (s, 1H), 3.94 – 3.87 (m, 8H), 3.76 – 3.62 (m, 14H), 2.94 (s, 2H), 1.74 (t, $J = 6.9$ Hz, 4H), 1.76-1.20 (m, 42H), 0.90 (t, $J = 6.3$ Hz, 6H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 167.7, 160.3, 136.3, 105.5, 104.3, 100.1, 72.3, 71.3, 70.9, 70.7, 70.2, 69.9, 68.4, 66.7, 66.4, 61.0, 40.0, 32.0, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 26.1, 22.8, 14.2.

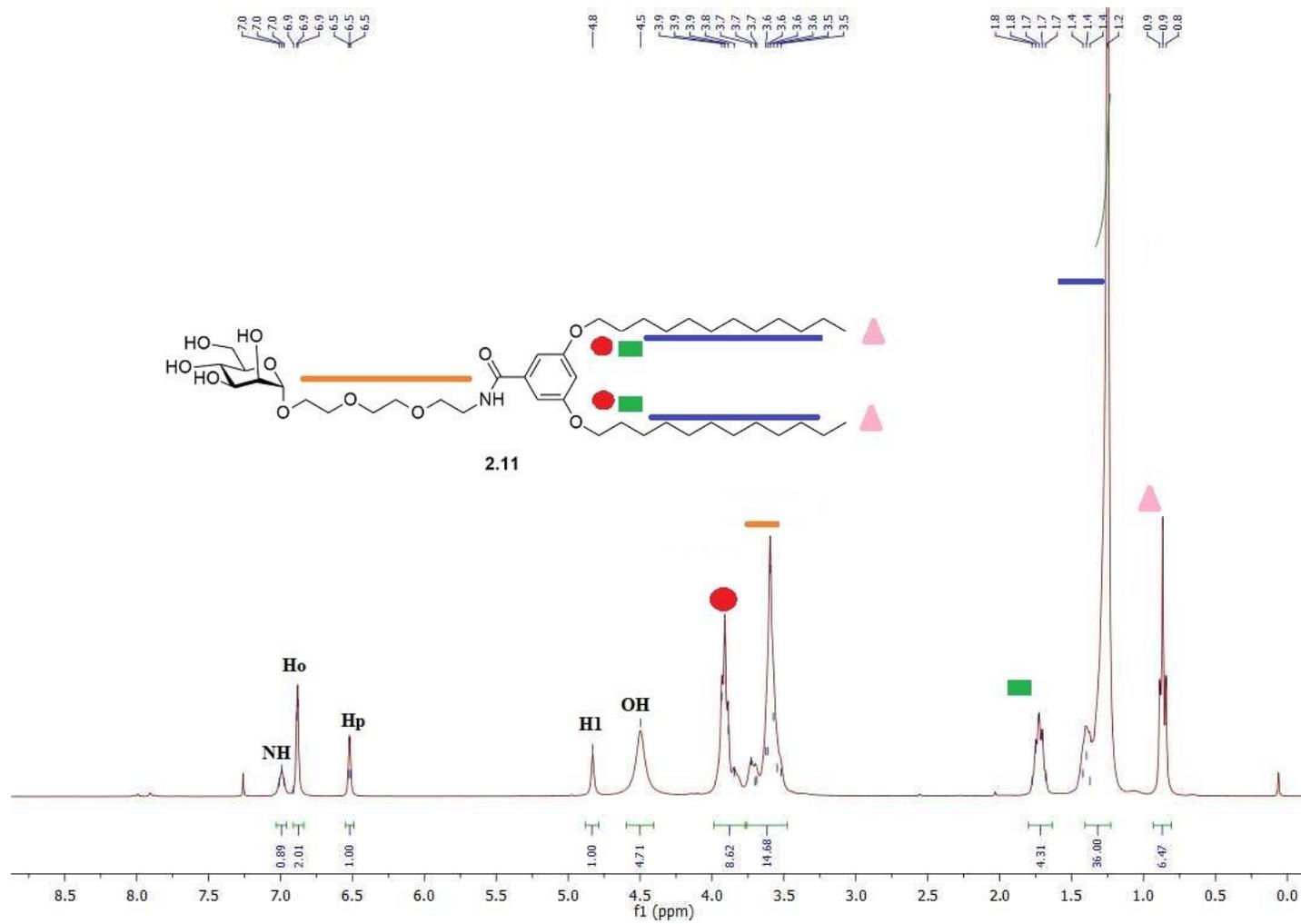


Figure 3.22 RMN ¹H Composé 2.12.

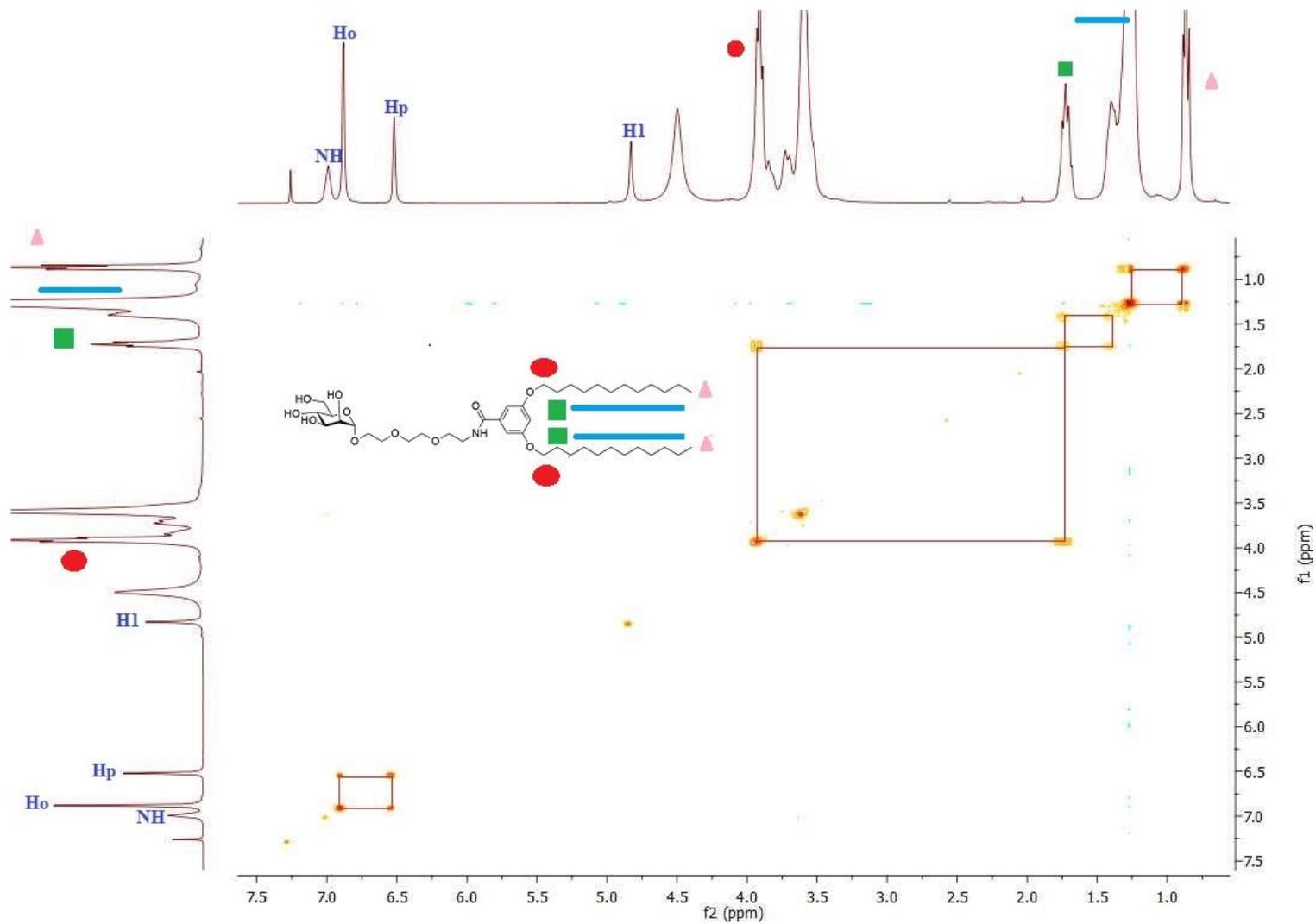


Figure 3.23 Spectre 2D-RMN-COSY ^1H - ^1H du composé 2.12.

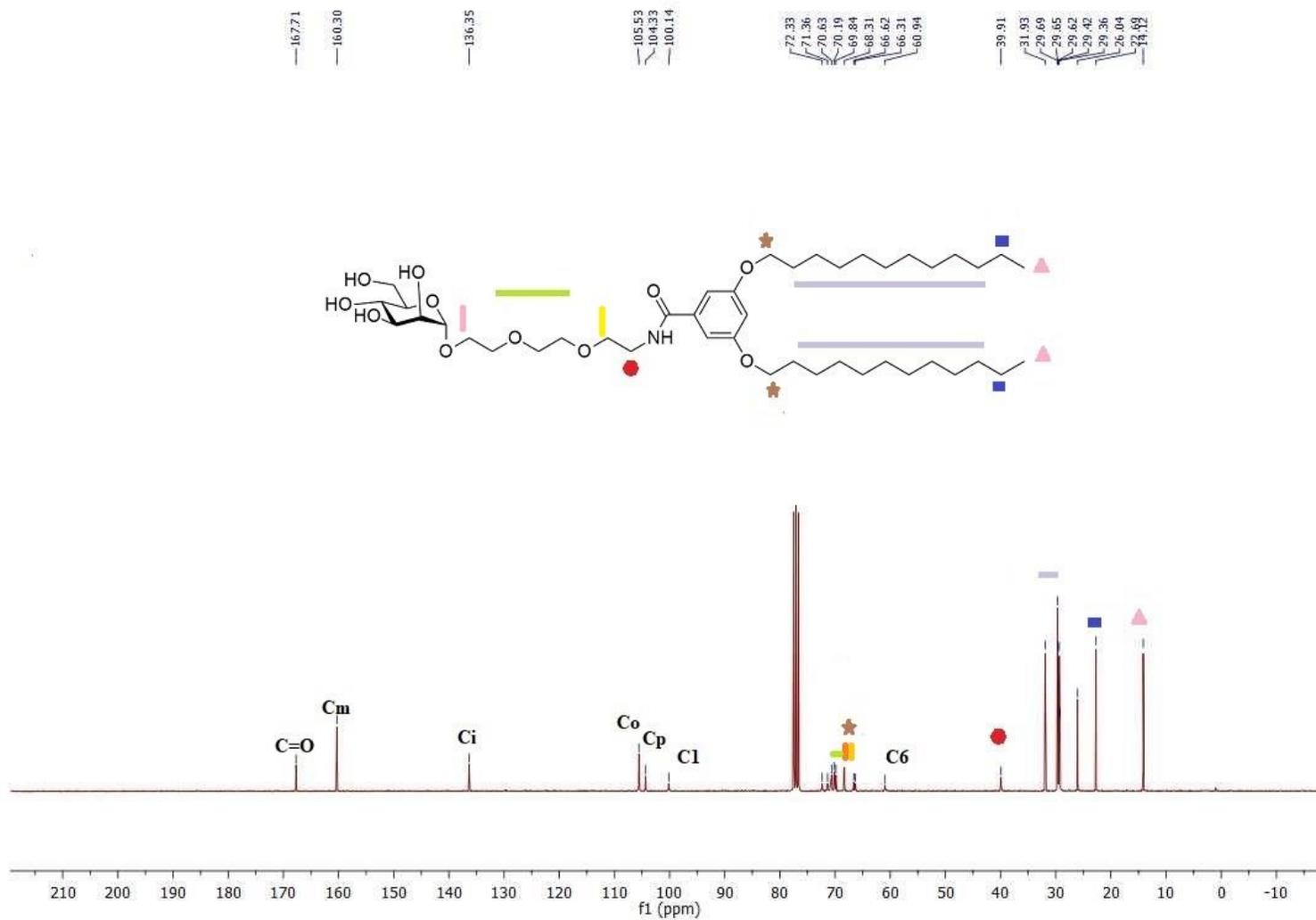


Figure 3.24 RMN ^{13}C du composé 2.12.

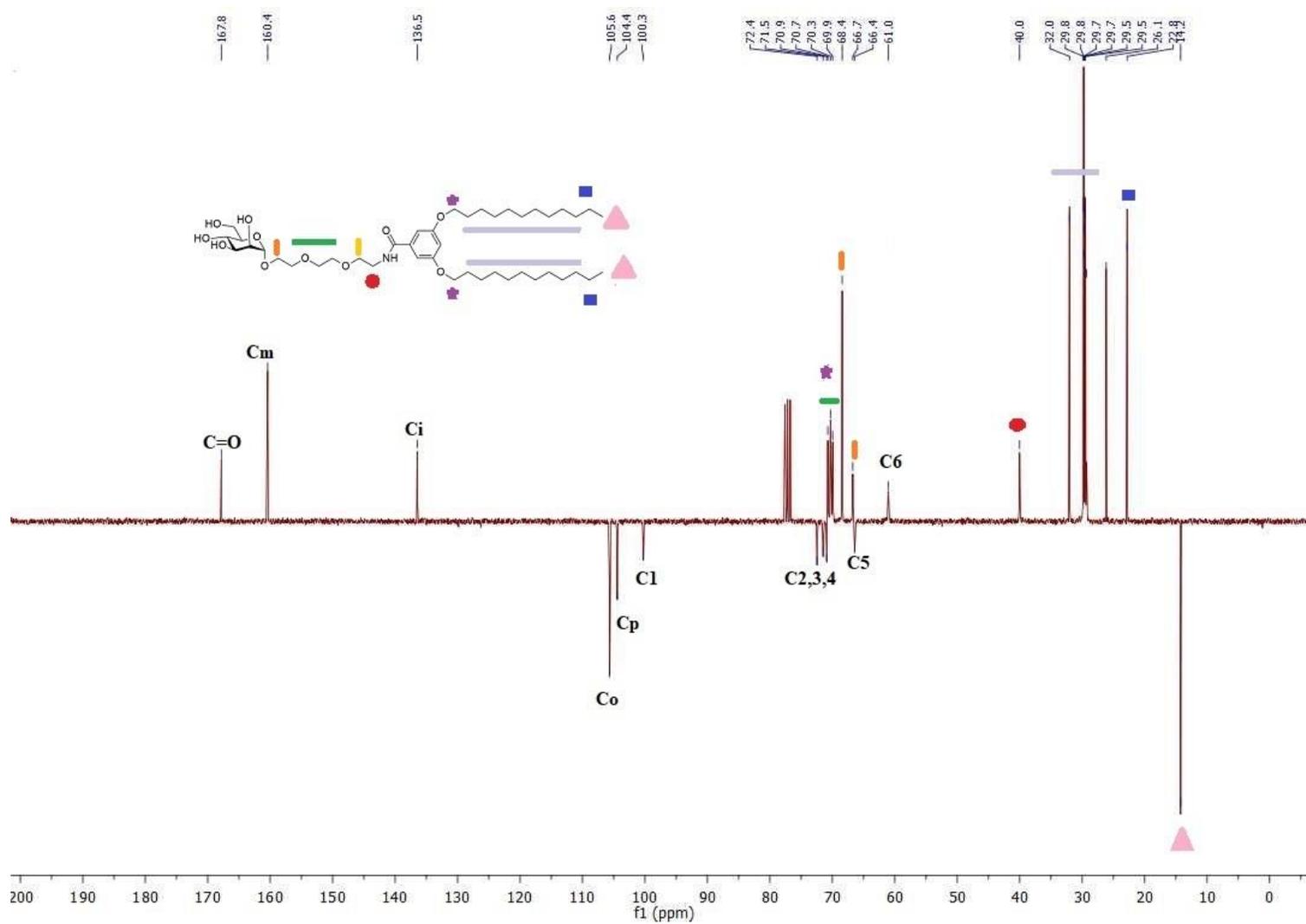


Figure 3.25 DEPT du composé 2.12.

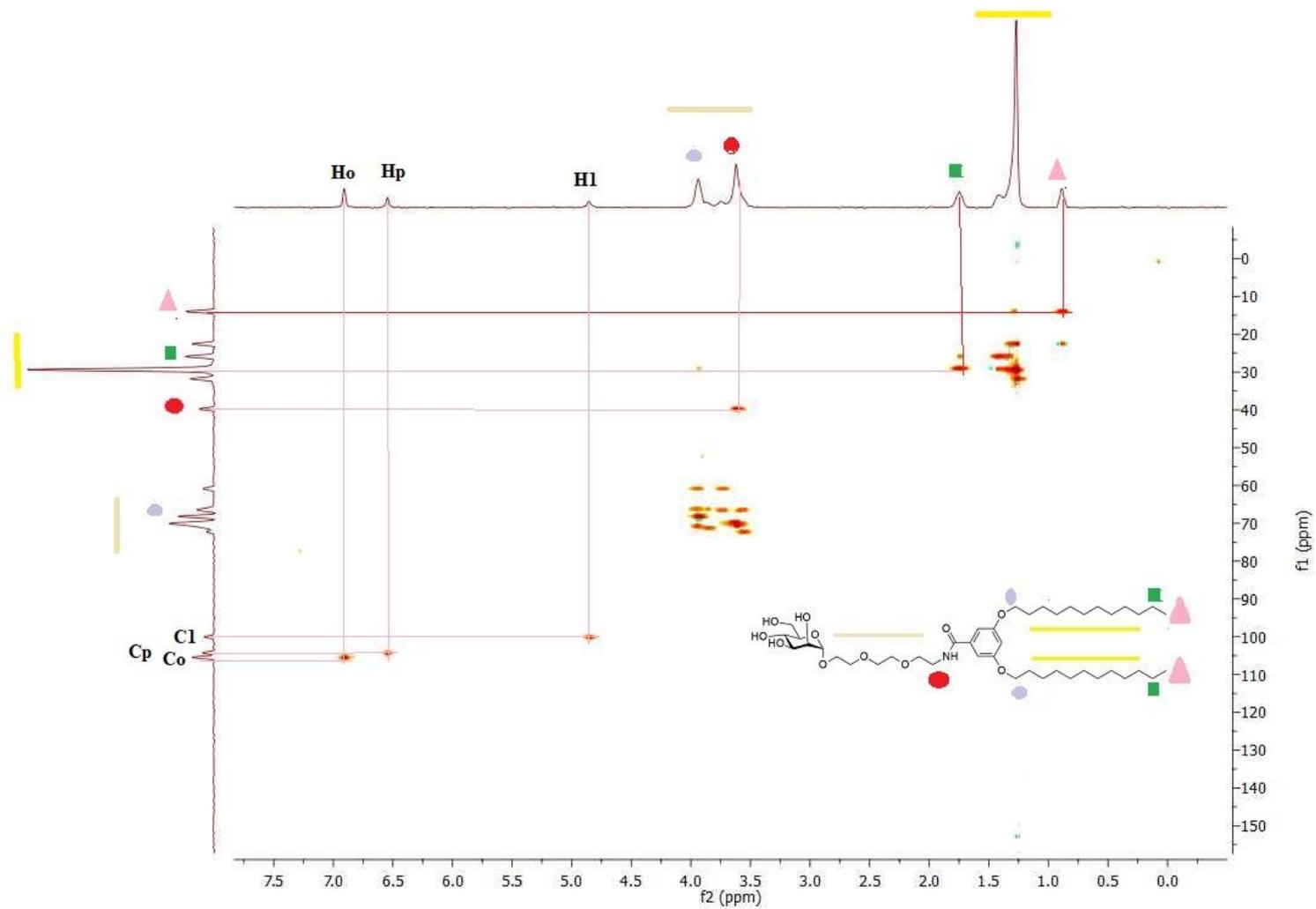
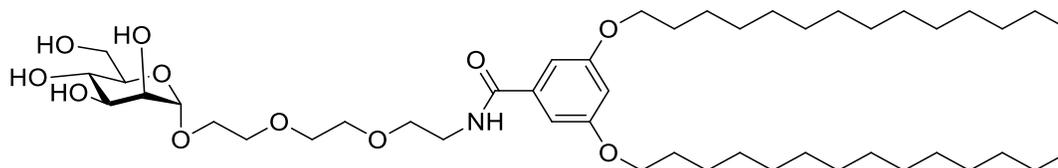


Figure 3.26 HSQC du composé 2.12.



Synthèse du composé 2.13. À un mélange de composé **2.9** (10 mg, 0,02 mmol, 1eq) et de composé **2.5** (11 mg, 0,02 mmol, 1eq) dans du DCM sec (2 ml) à 0 °C a été ajouté de la tributylphosphine (6 µL, 0,03 mmol, 1,7 éq.) et le mélange résultant a été agité à la même température pendant 2h puis à température ambiante pendant 24h. Au mélange réactionnel ont été ajoutés avec succès du HOBT (0,61 mg, 0,038 mmol, 1,9 éq.) et du diisopropylcarbodiimide (4,2 pl, 0,033 mmol, 1,6 éq.). Après 48 h d'agitation, le mélange réactionnel a été dilué dans EtOAc (20 ml) lavé avec des solutions saturées de NaHCO₃ et NaCl et séché sur Na₂SO₄. Après évaporation du solvant, à une solution du résidu dans un mélange MeOH/THF (0,5 ml) a été ajouté 0,5 M de NaOMe (1 ml) et le mélange résultant a été agité pendant 4 h à température ambiante. Après trempe du mélange réactionnel par la résine acide Amberlite IR-120H+, filtration sur un tampon de célite et concentration sous vide, le résidu a été soumis à une purification par chromatographie sur colonne *via* gel de silice.

Le composé **2.13** (10.8 mg, 0,012 mol, 64%) est obtenu sous la forme d'huile incolore.

R_f = 0.3 (DCM: MeOH – 90:10)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ .7.07 (s, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.55 (s, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.85 (s, 1H), 3.94 – 3.87 (m, 8H), 3.76 – 3.62 (m, 14H), 2.94 (s, 2H), 1.74 (t, *J* = 6.9 Hz, 4H), 1.76-1.20 (m, 42H), 0.90 (t, *J* = 6.3Hz, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 167.3, 160.41, 136.3, 105.5, 104.3, 100.2, 72.3, 71.3, 70.9, 70.6, 70.1, 69.9, 68.3, 66.6, 66.3, 60.9, 39.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 26.0, 22.7, 14.1.

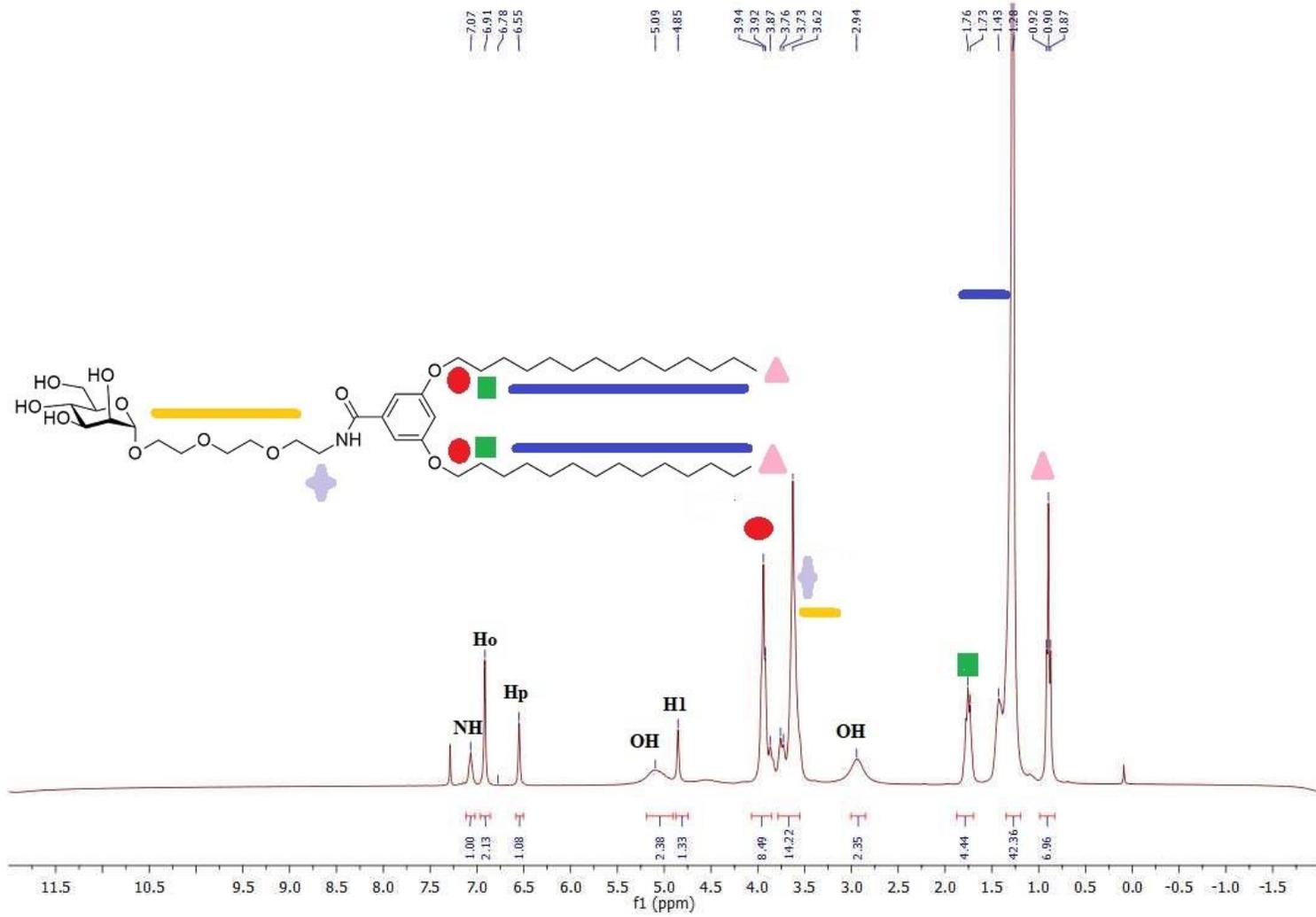


Figure 3.27 RMN ^1H du composé 2.13.

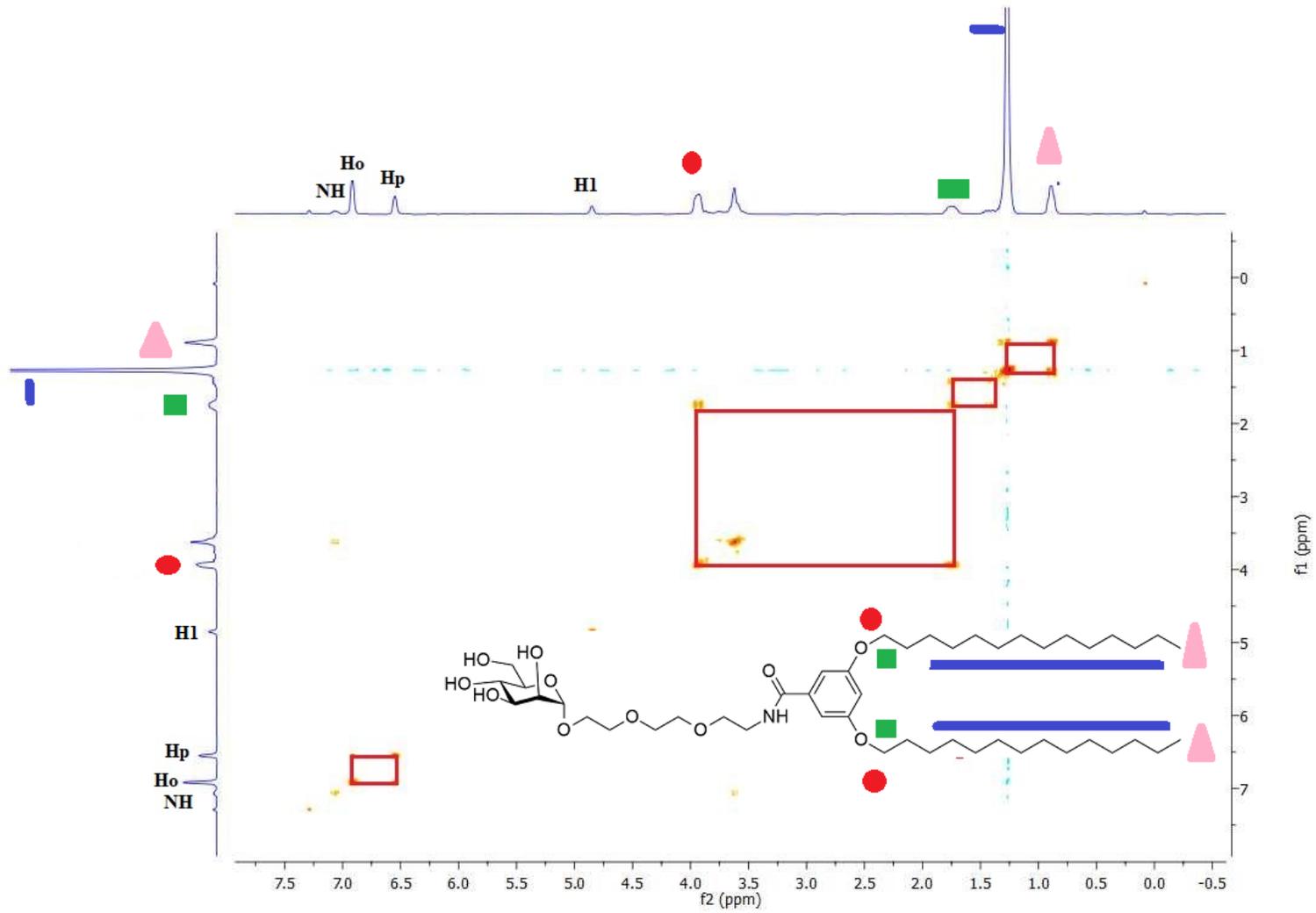


Figure 3.28 Spectre 2D-RMN-COSY ^1H - ^1H du composé 2.13.

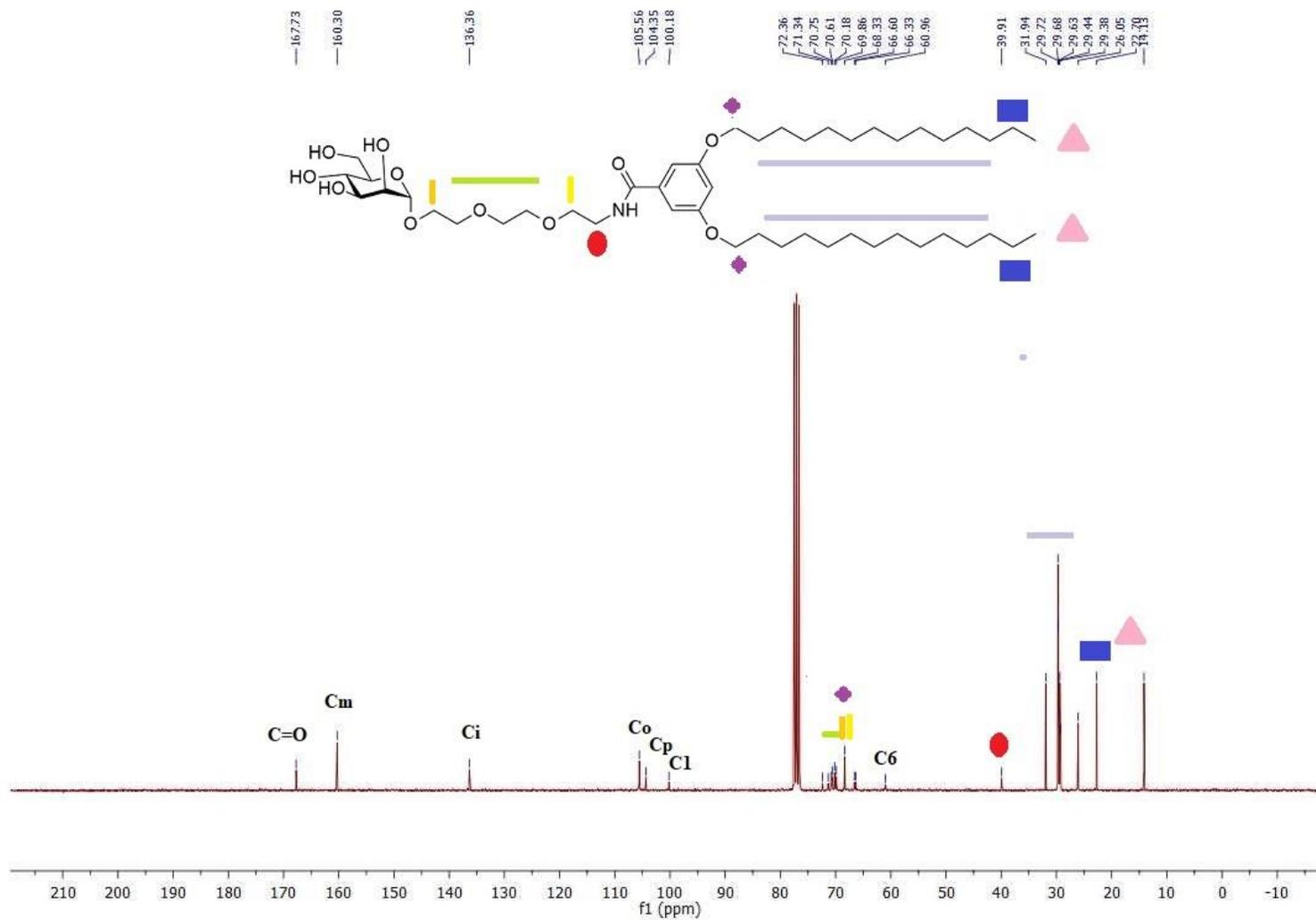


Figure 3.29 RMN ^{13}C du composé 2.13.

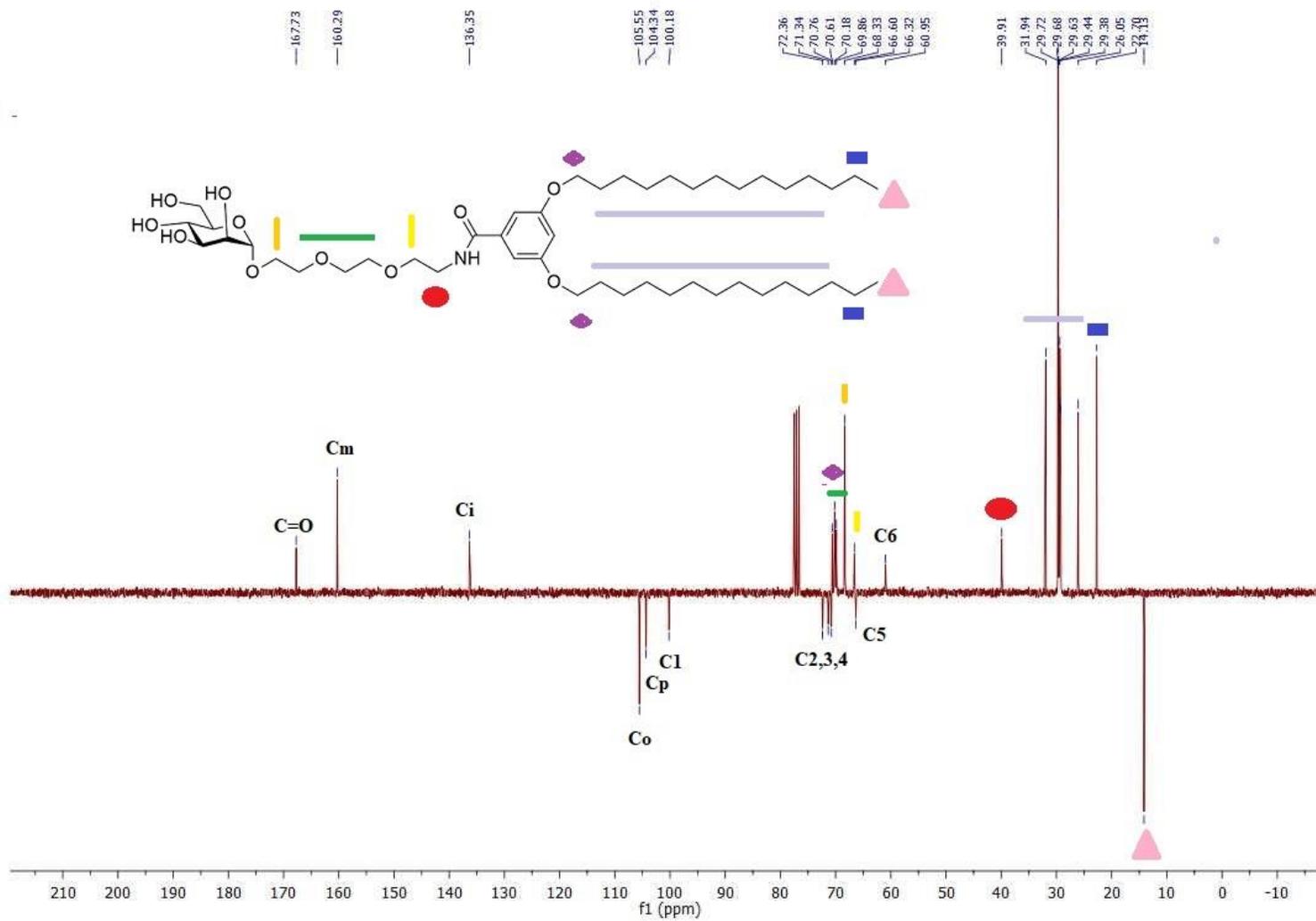


Figure 3.30 DEPT du composé 2.13.

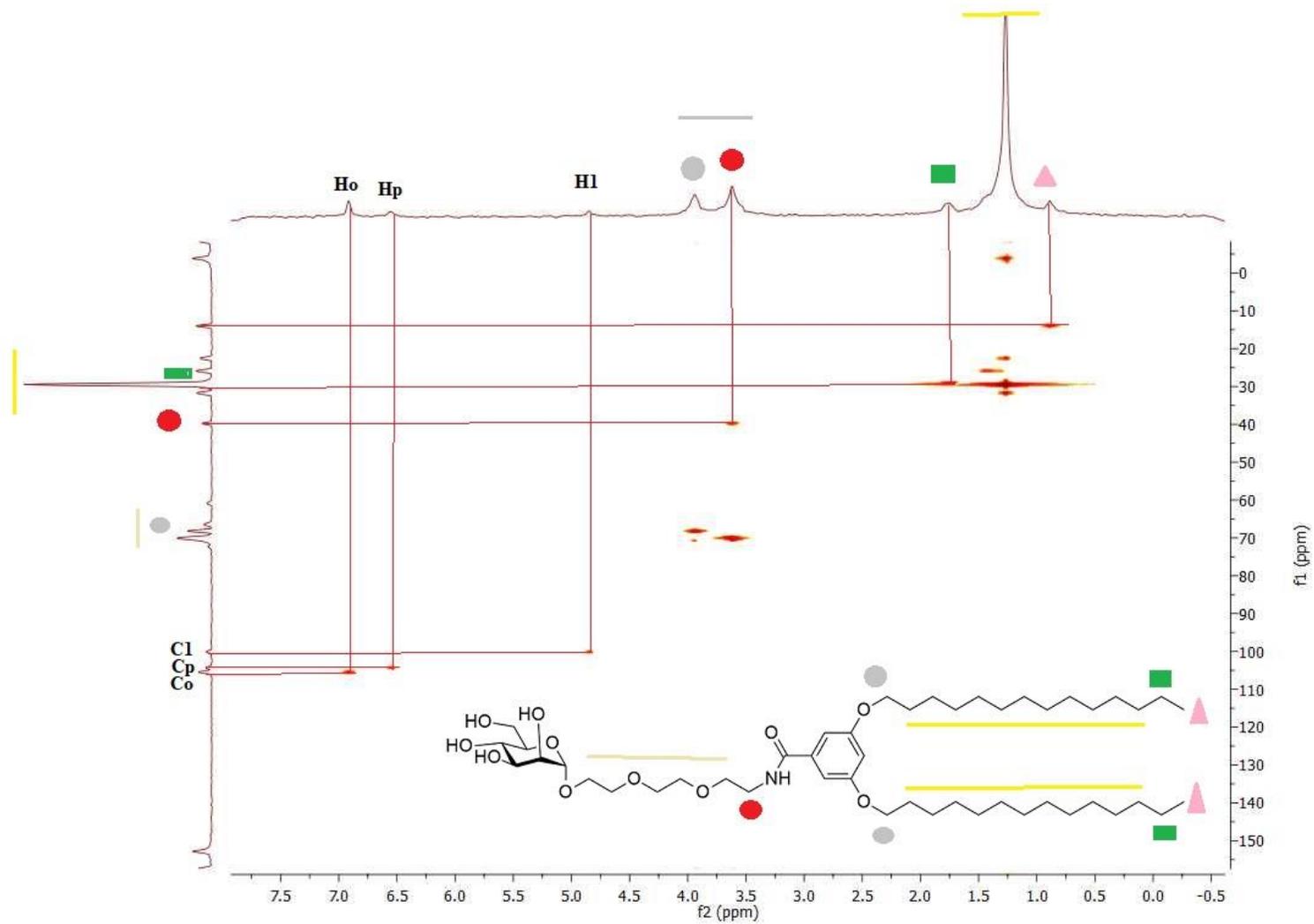
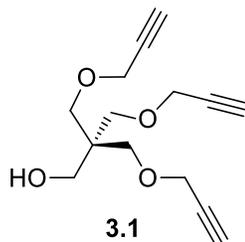


Figure 3.31 HSQC du composé 2.13.

3.2.2 Partie expérimentale du dendrimère hybride



Synthèse du composé 3.1. Une solution de Pentaérythritol (1 g, 7,34 mmol, 1 équiv.) dans du diméthylsulfoxyde (DMSO 7,5 mL, 105,59 mmol et 14,4 équiv.) a été agitée pendant cinq minutes. Par la suite une solution aqueuse de NaOH 40 % (5,00 mL, 50,00 mmol, et 6,80 équiv.) a été rajoutée dans la solution. Le mélange a été agité pendant une durée de 30 mn à TA. Du bromure de propargyle (7,5 mL, 98,98 mmol et 14,40 équiv.) a été ensuite rajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante pendant une nuit et la réaction a été diluée dans Et₂O et lavée avec de l'eau (100 mLx2), séchée avec Na₂SO₄ et concentrée sous vide. Le résidu a été ensuite purifié en utilisant la méthode de chromatographie sur colonne de gel de silice.

Le composé **3.1** (630 mg, 4,40 mmol, 60%) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

R_f = 0,25 (EtOAc/Hexane, 1:4).

RMN ¹H (CDCl₃) δ 4.13-4.12 (d, *J* = 2,4 Hz, 6H), 3.69 (s, 2H.), 3.56 (s, 6H), 2.42 (t, *J* = 2.3 Hz, 3H).

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.¹⁰⁰

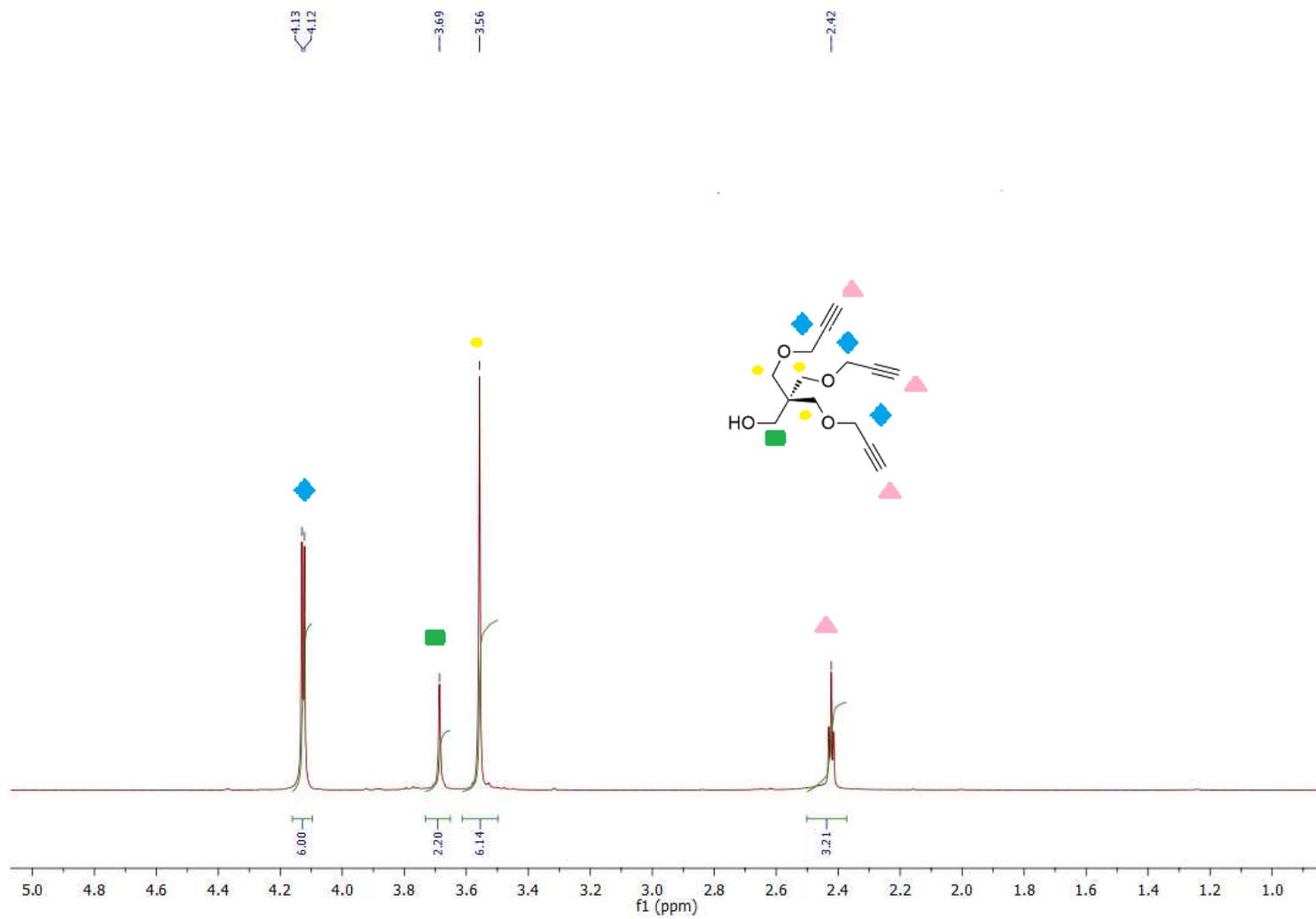
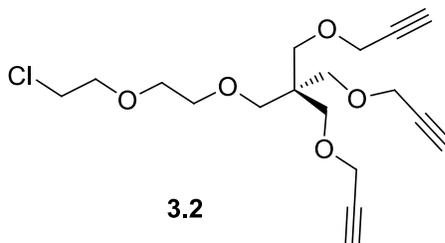


Figure 3.32 RMN ^1H du compose 3.1.



Synthèse du composé 3.2. Un mélange du composé **3.2** (1g, 3,99 mmol, 1 équiv.), du Bu_4NHSO_4 (2,5g, 7,36 mmol, 1,8 équiv.), et du Bis(2-chloroéthyl) éther (11 ml, 93,8 mmol, 23 eq.) ont été agités pendant 10 minutes. Par la suite une solution aqueuse de NaOH a 50 % (10 mL), a été rajouté au mélange réactionnel. Après 36 h d'agitation, le mélange réactionnel a été dilué dans du DCM, lavé avec une solution de saumure et de l'eau et séché sur du Na_2SO_4 . Le résidu a été purifié en utilisant la méthode de chromatographie sur colonne de gel de silice.

Le composé **3.2** (0,9 g, 2,52 mmol, 73 %) est obtenu sous forme d'une huile incolore.

$R_f = 0,25$ (EtOAc/Hexane, 9:1).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 4.10 (d, $J = 2.4$ Hz, 6H), 3.75 (dd, $J = 8.9, 3.3$ Hz, 2H), 3.68–3.54 (m, 6H), 3.50 (s, 6H), 3.44 (s, 2H), 2.39 (t, $J = 2.4$ Hz, 3H).

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) δ 80.1, 74.1, 71.4, 71.2, 70.5, 69.9, 69.2, 58.8, 45.1, 43.0.

Les données spectrales sont en concordance avec ceux tirés de la littérature.¹⁰⁰

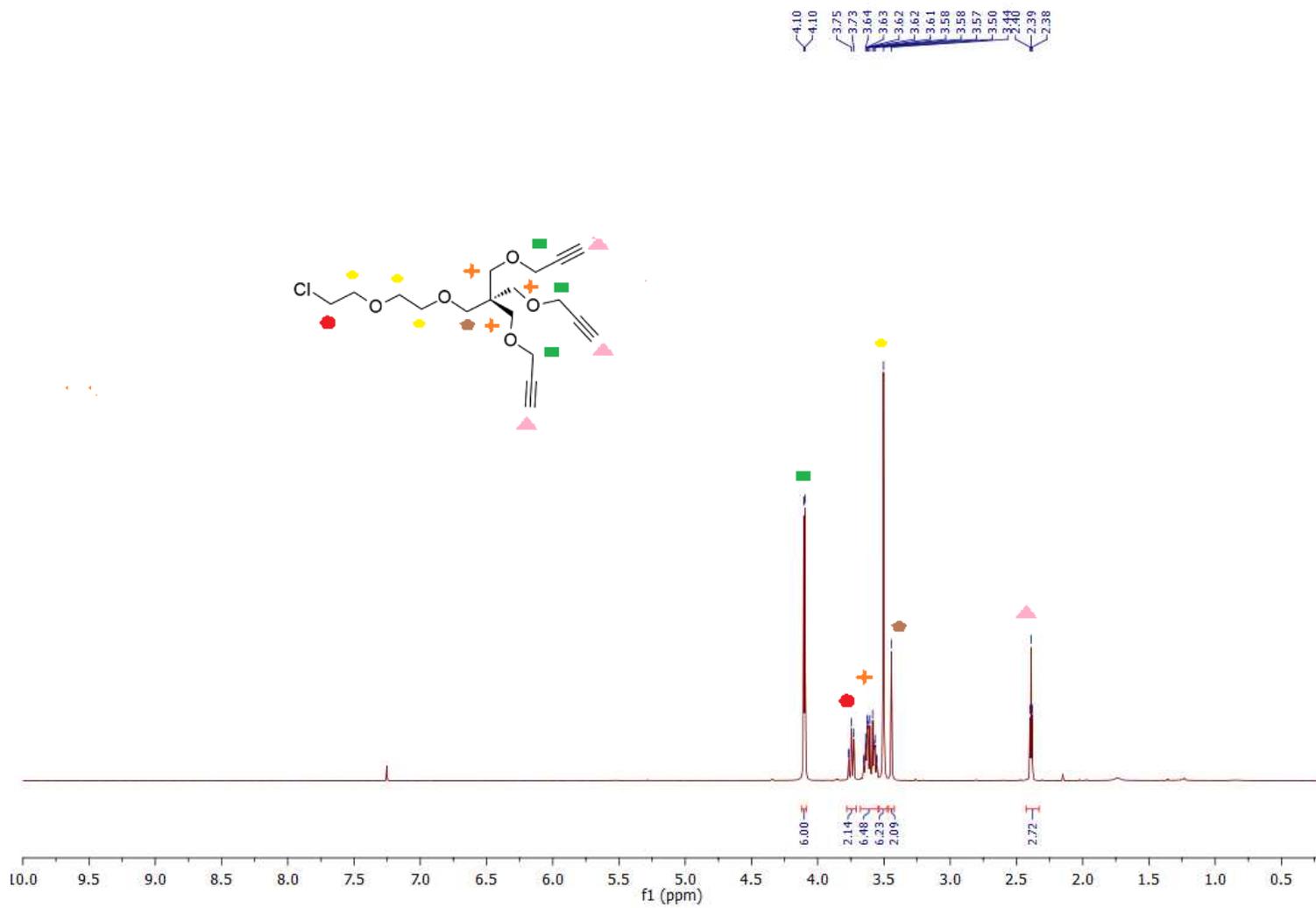


Figure 3.33 RMN ^1H du composé 3.2.

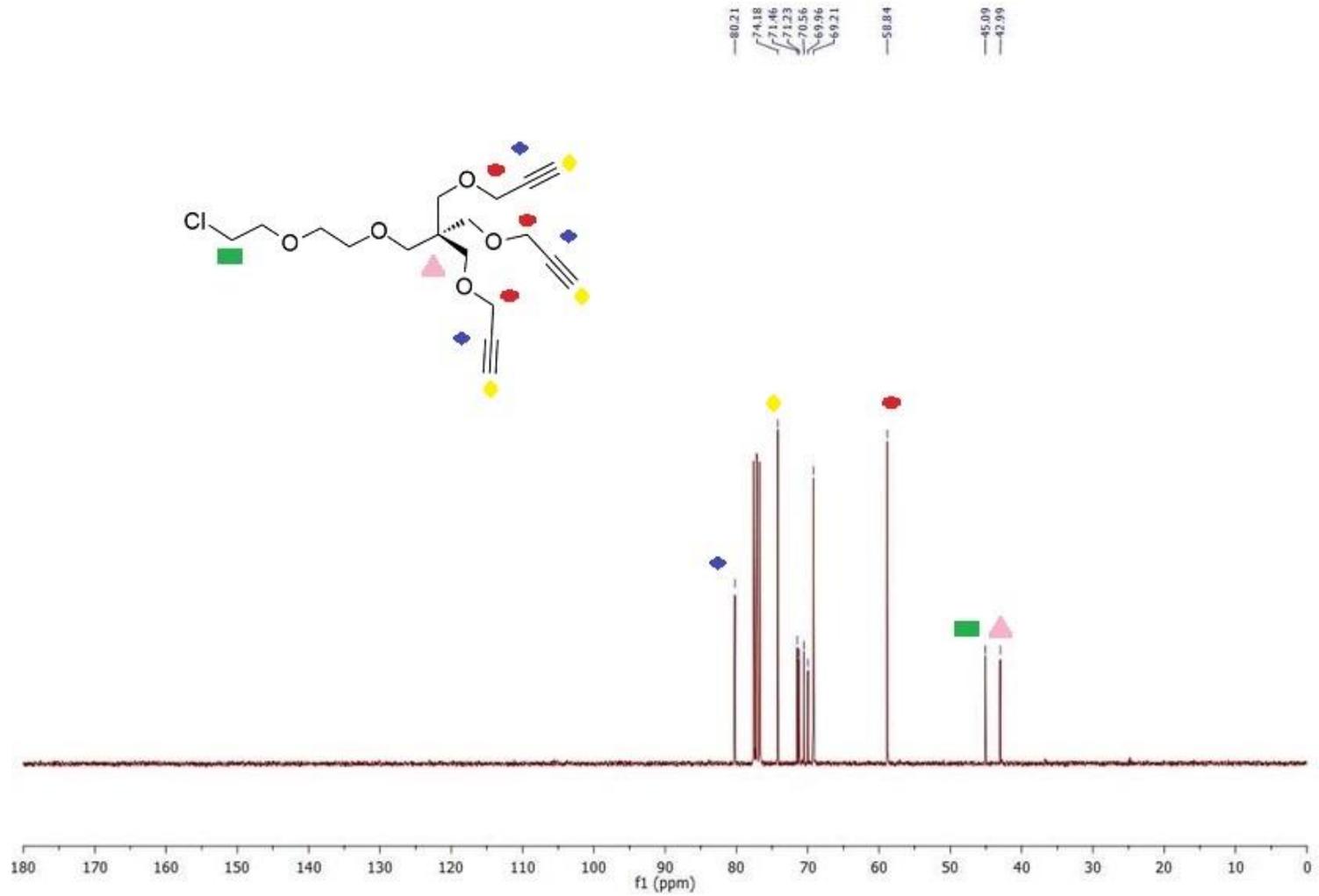
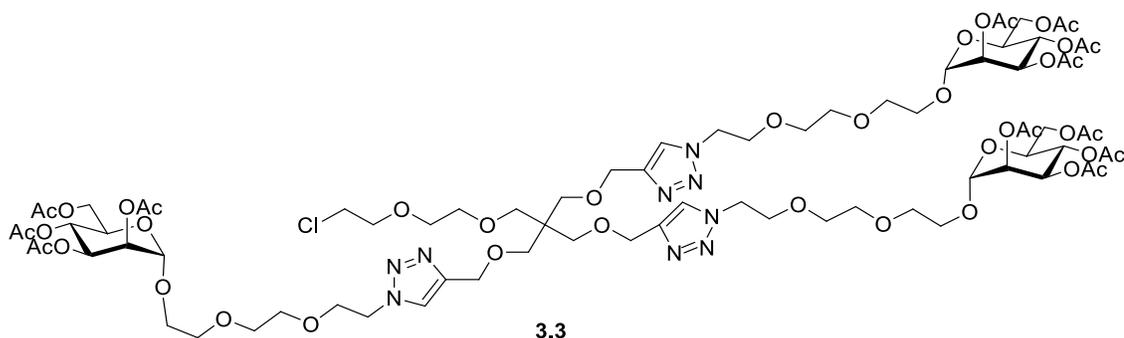


Figure 3.34 RMN ^{13}C du composé 3.2.



Synthèse du composé **3.3**. Dans une solution du composé **3.2** (125 mg, 0,35 mmol, 1,0 équiv.) dans du mélange de solvant THF/H₂O (4 mL, 3:1, v/v), il a été rajouté le composé **2.9** (640 mg, 1,16 mmol, 3,3 équiv.), du Na-ascorbate (46 mg, 0,23 mmol, 1,1 équiv.) et du CuSO₄·5H₂O (32 mg, 0,20 mmol, 0,9 équiv.). Le mélange a été agité à 50 °C pendant 2 h, puis à température ambiante pendant 5 h.

Le composé **3.3** (328 mg, 50 %) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

$R_f = 0,35$ (DCM: MeOH, 95:5)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 7.71 (s, 3H), 5.38-5.26 (m, 9H), 4.86 (d, $J = 1,3$ Hz, 3H), 4.61-4.54 (m, 12H), 4.27 (dd, $J = 12,2, 4,9$ Hz, 3H), 4.12 (dd, $J = 10,4, 4,9$ Hz, 3H), 4.04 (dd, $J = 4,9, 2,3$ Hz, 3H), 3.88 (t, $J = 5,2$ Hz, 6H), 3.84-3.80 (m, 3H) 3.75-3.67 (m, 3H), 3.66-3.42 (m, 34H), 2.16-2.00 (4 x s, 36 H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) 170.6 (C=O), 170.1 (C=O), 169.9 (C=O), 169.7 (C=O), 145.2 (C-triazole), 123.5 (C-Htriazole), 97.7 (C1), 71.2, 71.0, 70.7, 70.5, 70.4, 70.0, 69.9, 69.6, 69.3, 69.1, 68.5, 67.4, 66.1, 65.0, 62.3, 50.1, 45.4, 43.0, 29.7, 20.9, 20.7.

ESI-HRMS: m/z calcd. pour C₇₈H₁₁₈ClN₉O₄₁ (M+Na)⁺, 1871.71; trouvé 1872.72 (M+Na)⁺.

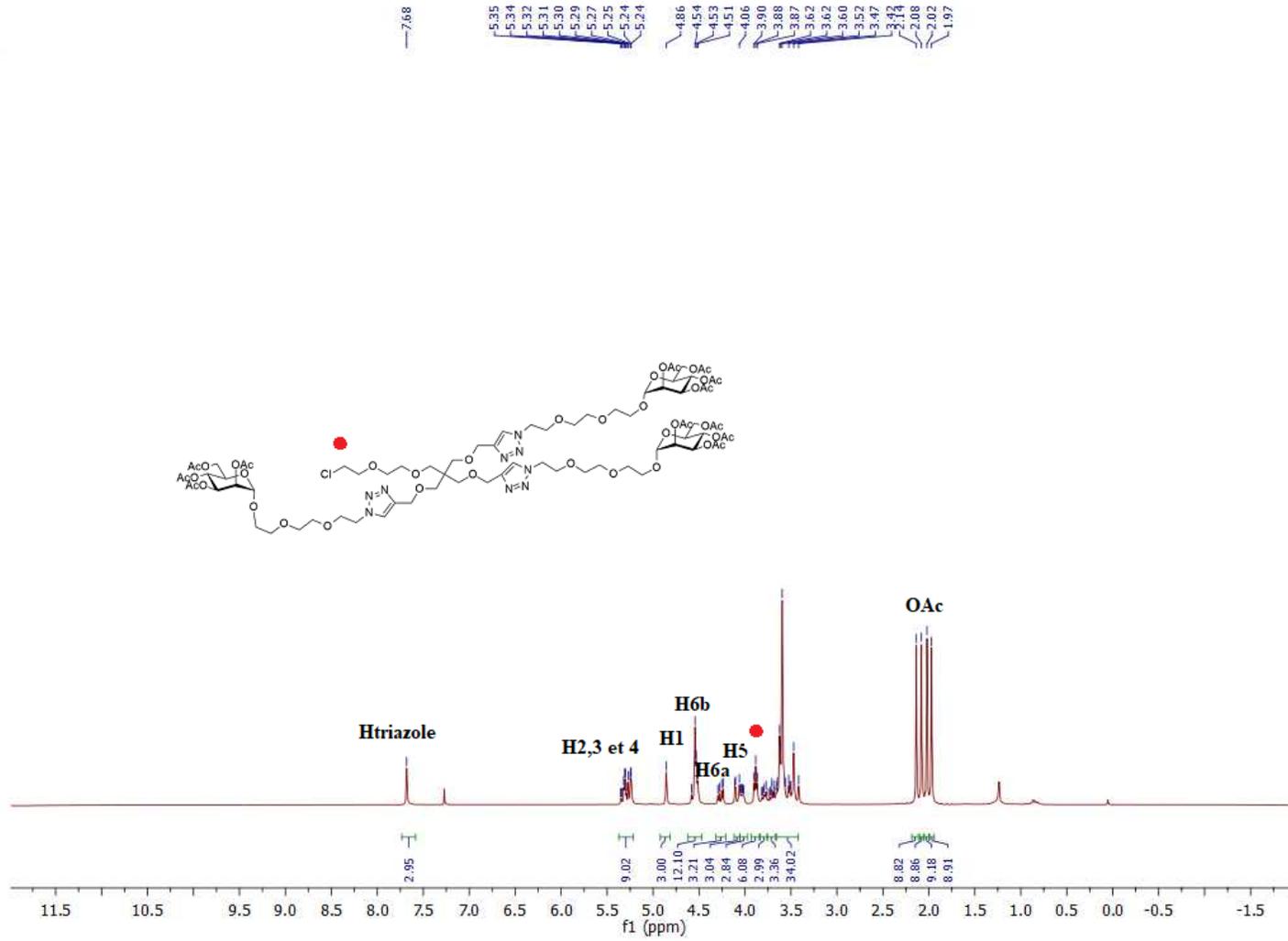


Figure 3.35 RMN¹H du composé 3.3.

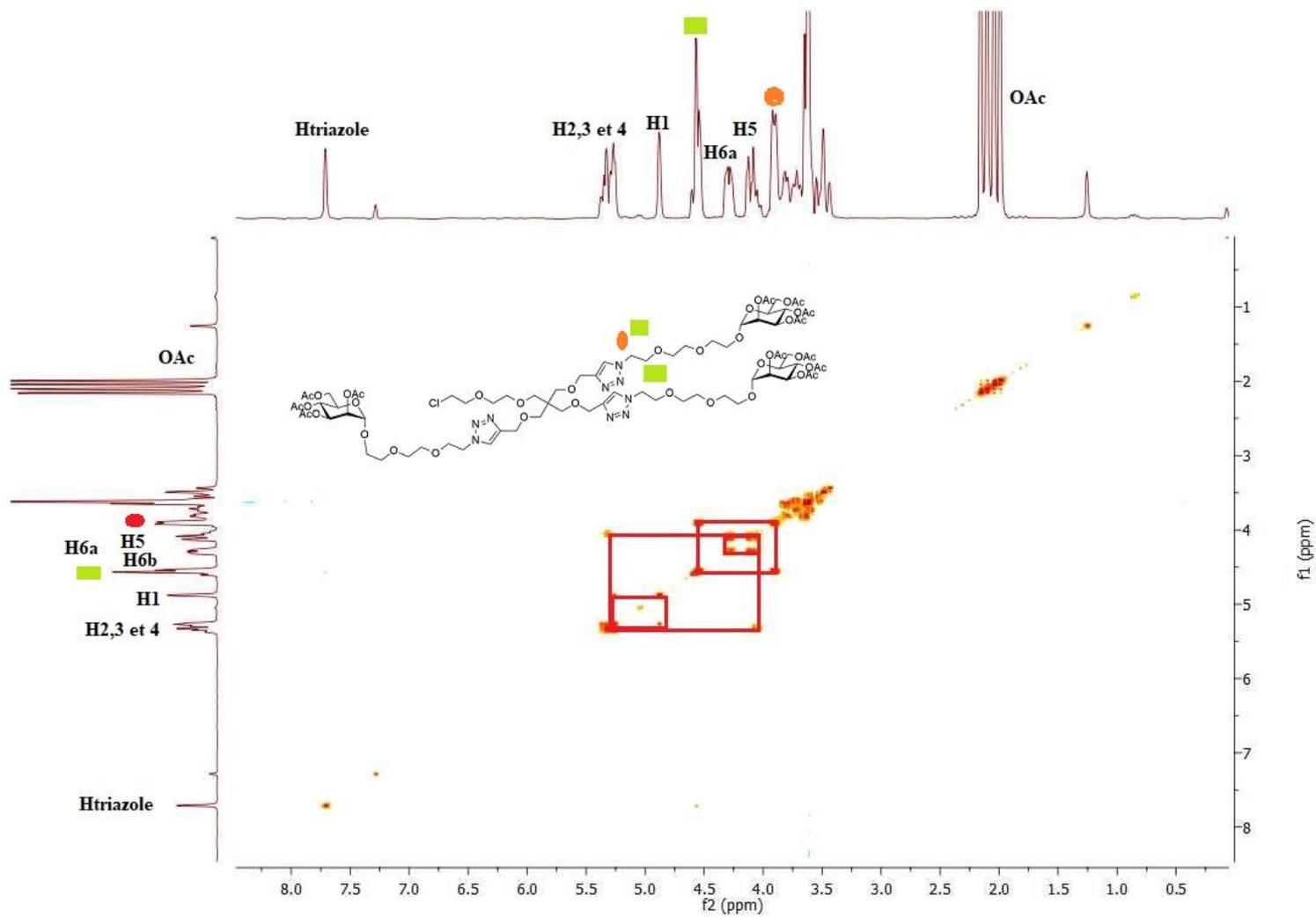


Figure 3.36 RMN COZY- 2D ^1H - ^1H du composé 3.3.

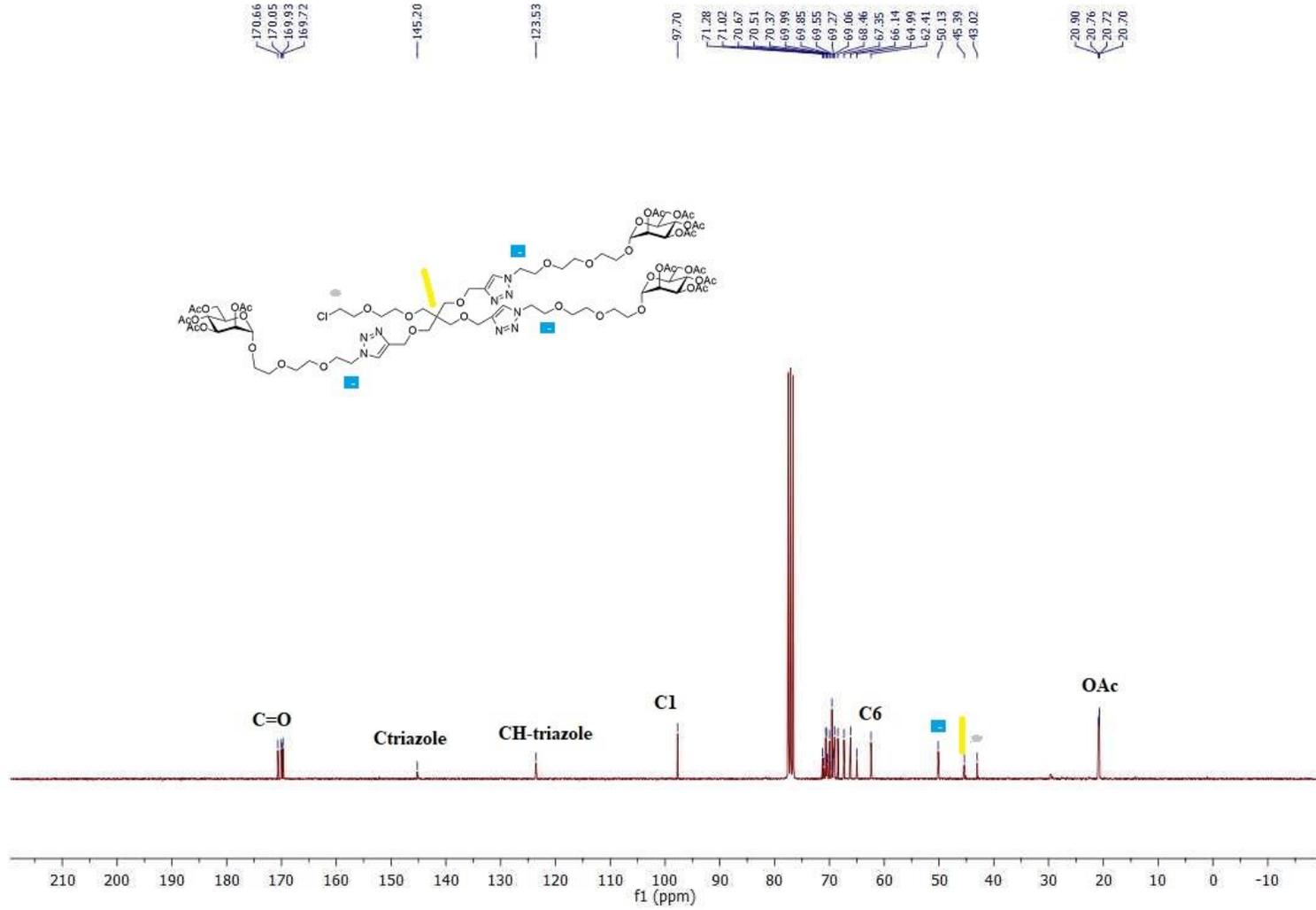


Figure 3.37 RMN ^{13}C du composé 3.3.

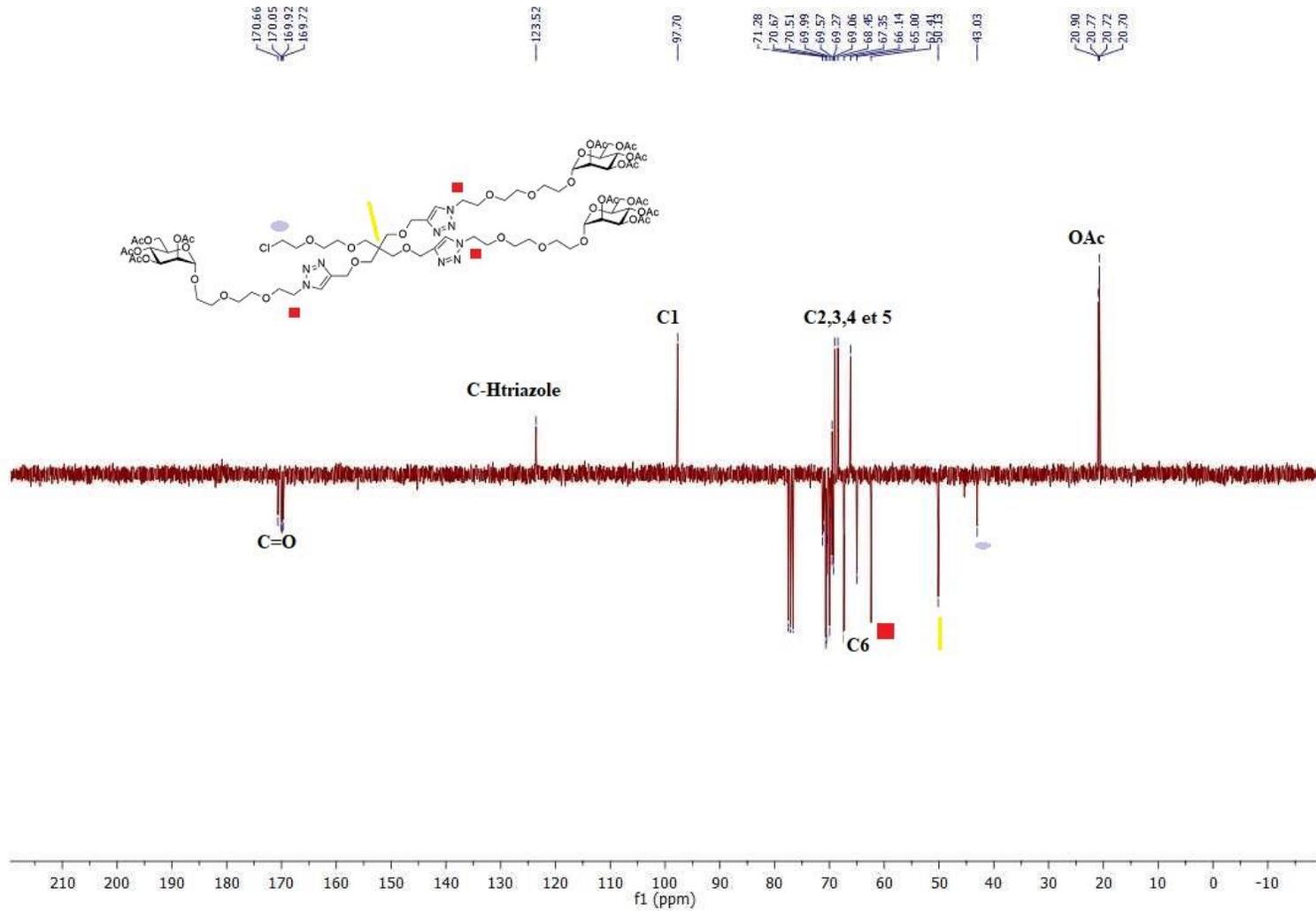


Figure 3.38 DEPT du composé 3.3.

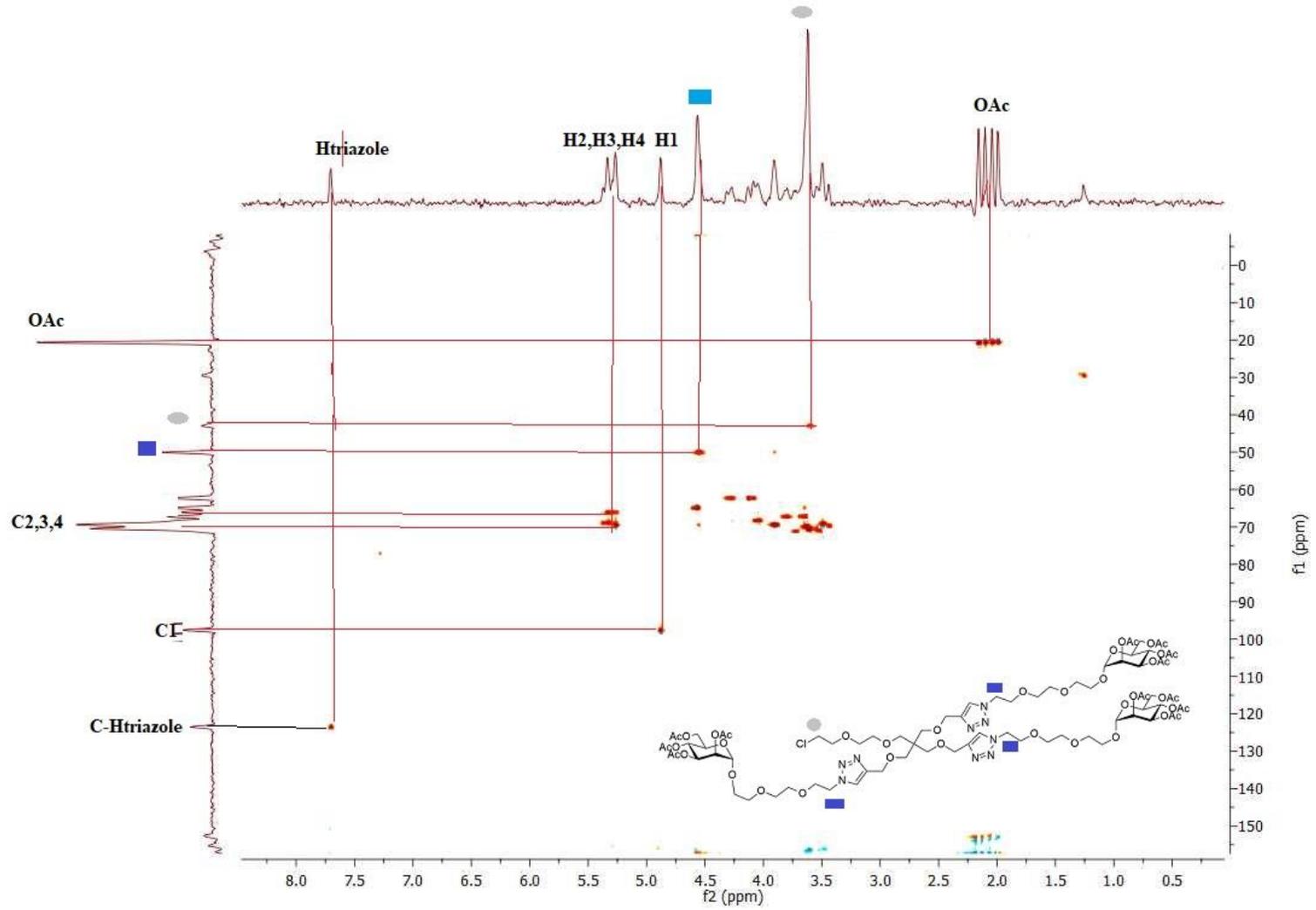


Figure 3.39 HSQC du composé 3.3.

CONCLUSION

Cette recherche, réalisée en deux étapes successives a permis d'obtenir une structure dendritique de type mannelipidique de première génération (G1) avec une grande pureté. L'utilisation de quatre concentrations massiques de mannelipides (0,1 , 0,5 , 1,0 , 2,5 mg/mL) pour deux chaînes organiques (C₁₂ et C₁₄) s'est avérée une voie judicieuse pour évaluer l'influence de la terminaison lipidique sur la taille des mannelipides.

Pour le manneliposome **2.12**, la taille des particules est pratiquement stable aux trois premières concentrations, mais diminue de manière drastique à une concentration de 2.5 mg/mL. L'étude a révélé que les indices de polydispersité sont stables pour toutes les concentrations. La tendance semble être différente pour le manneliposome **2.13** pour lequel le diamètre moyen des particules s'est avéré plus stable avec une légère baisse pour la concentration de 1 mg/mL. Cependant la tendance pour l'indice de polydispersité de ce composé est similaire à son homologue.

La tentative de synthèse du composé **3.4** pour une fonctionnalisation supplémentaire via une substitution nucléophile S_N2 n'a pas abouti aux résultats escomptés. La modification des conditions opératoires, par exemple en remplaçant le carbonate de potassium par l'hydrure de sodium, ou le DMF par le THF a été non fructueuse, malgré le nombre élevé de tentatives. Les études sont toujours en cours pour fournir des explications en ce sens. Une possible solution à envisager pourrait faire intervenir la synthèse de mannelipides hybrides fonctionnalisés. Les résultats de cette étude sont très prometteurs vu l'intérêt accordé au manneliposome résultant de la

fonctionnalisation du mannolipide **2.13** pour des applications biomédicales. La présente recherche a quand même permis de démontrer l'effet de l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée qui modifie la taille des mannoliposomes tout en préservant la stabilité de la polydispersité.

PERSPECTIVES

Les succès et échecs rencontrés lors de cette recherche ouvrent de nombreuses nouvelles perspectives. Une première perspective serait de développer l'étude effectuée par DLS en essayant de trouver le mannosome ayant la taille optimale soit qui varie entre 50 et 150 nm du fait que les nanovecteurs dont la taille fluctue dans cette fourchette ont la capacité d'atteindre les cellules tumorales.¹⁰¹⁻¹⁰³ Il serait donc intéressant d'effectuer d'autres investigations pour obtenir la taille désirée laquelle peut être obtenue soit en faisant des analyses sur une plage de concentrations plus large par exemple pour la queue lipidique entre 0,5 et 2,5 mg/mL ou encore par une modification du ratio eau : solvant organique.

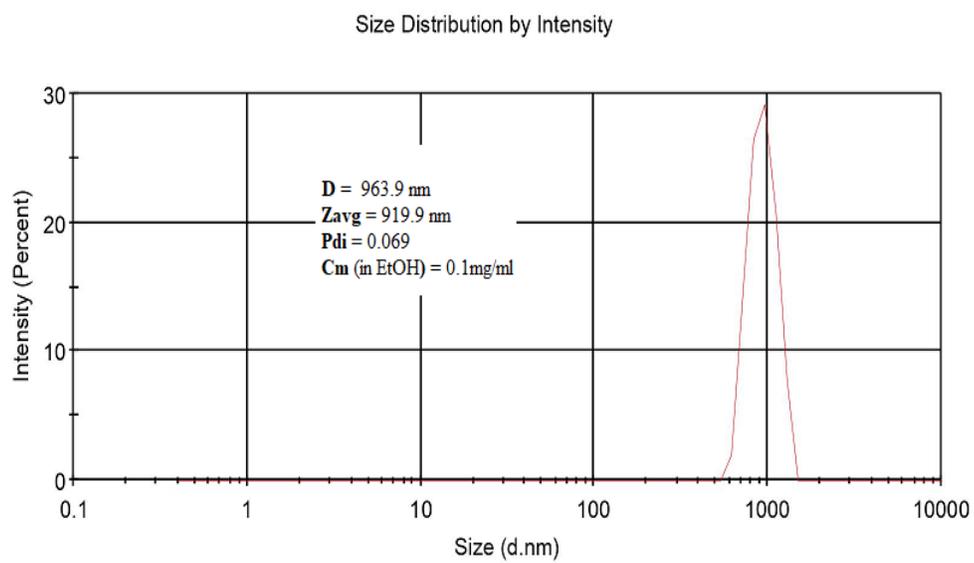
La seconde perspective du projet serait d'étudier par DLS les interactions multivalentes entre la Concanavalin A qui est une lectine spécifique du mannose très utilisée dans diverses études.¹⁰⁴ La Concanavalin A est une lectine qui a de nombreux avantages du fait qu'il existe une grande similarité entre la Concanavalin A et l'adhésine Fim H. De plus la Concanavalin A est commercialement disponible et peu coûteuse, il est de ce fait intéressant d'effectuer les tests avec ce modèle de lectine de plante. La diffusion dynamique de la lumière (DLS) devrait permettre d'élucider les interactions sucres-protéines.

Enfin comme dernière perspective il serait fort intéressant de tester le mannosome comme médicament anti-cancéreux. Les recherches récemment effectuées offrent une ouverture d'espoir concernant l'utilisation des mannosomes. Le récepteur du mannose soit une glycoprotéine transmembranaire du mannose a vu son utilisation augmenter pour cibler les NP à charge thérapeutique sur des cellules cancéreuses.^{75, 105}

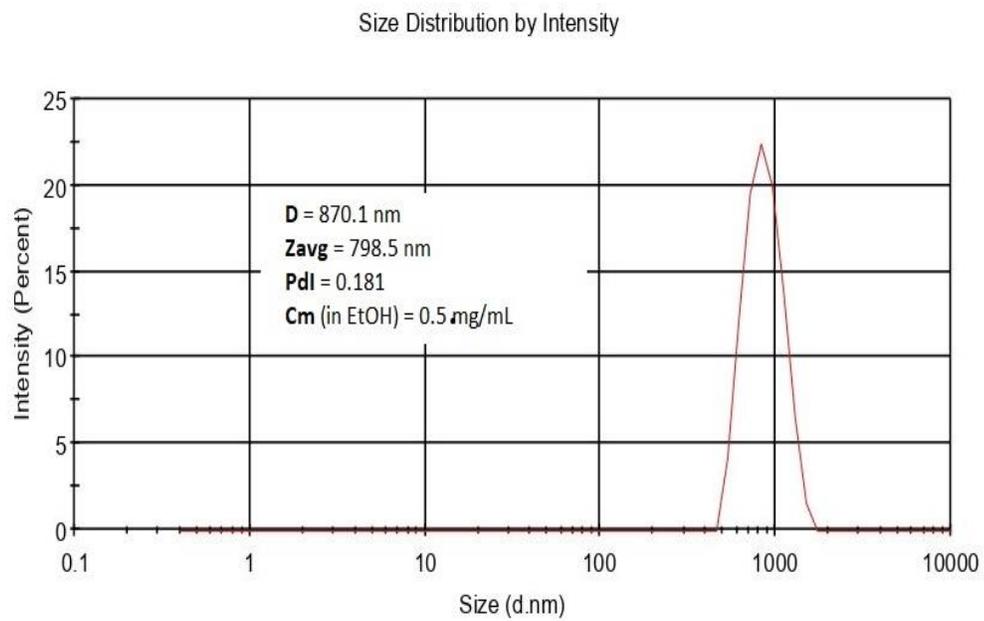
Une récente recherche a été effectuée en utilisant comme système d'administration un mannosome qui contient du muramylpeptide (MDP) et un médicament de chimiothérapie (Ara-C) utilisé à faible dose. Les résultats de cette étude sont très prometteurs du fait que le mannosome fonctionnalisé a la possibilité de moduler les réponses immunitaires et de pouvoir ainsi effectuer une inversion de l'immunosuppression.¹⁰⁶ Il serait donc très intéressant d'utiliser le mannosome **2.13** dans une étude similaire du fait que la longueur de sa chaîne carbonée est identique à celle utilisée dans l'article cité plus haut et que le PEG pourrait donner des résultats encore plus intéressants considérant la panoplie d'avantages dont il est doté.

ANNEXE A

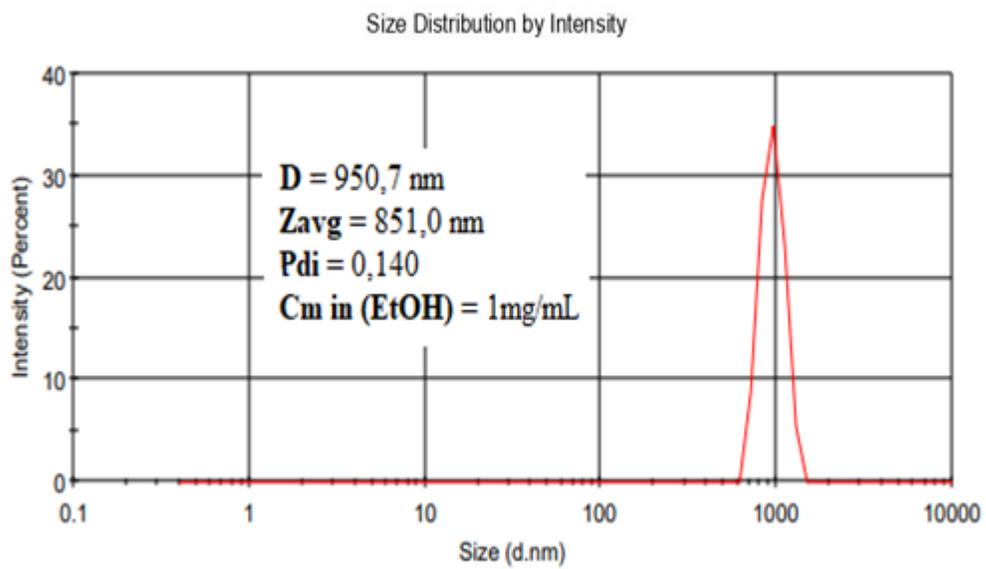
SPECTRES DLS



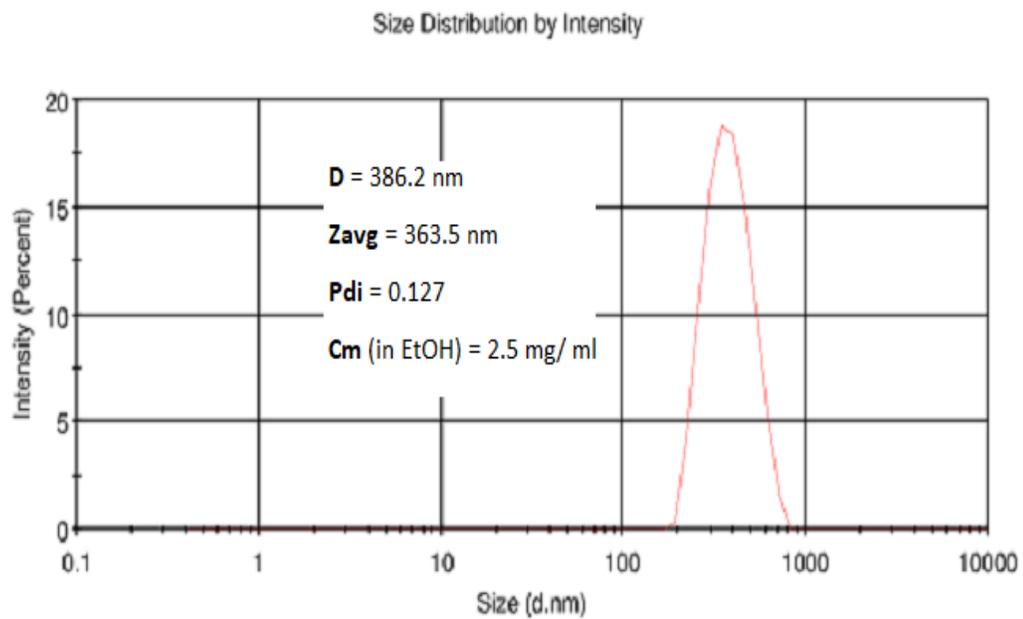
Spectre DLS du mannoliposome 2.12-0.1 mg/mL



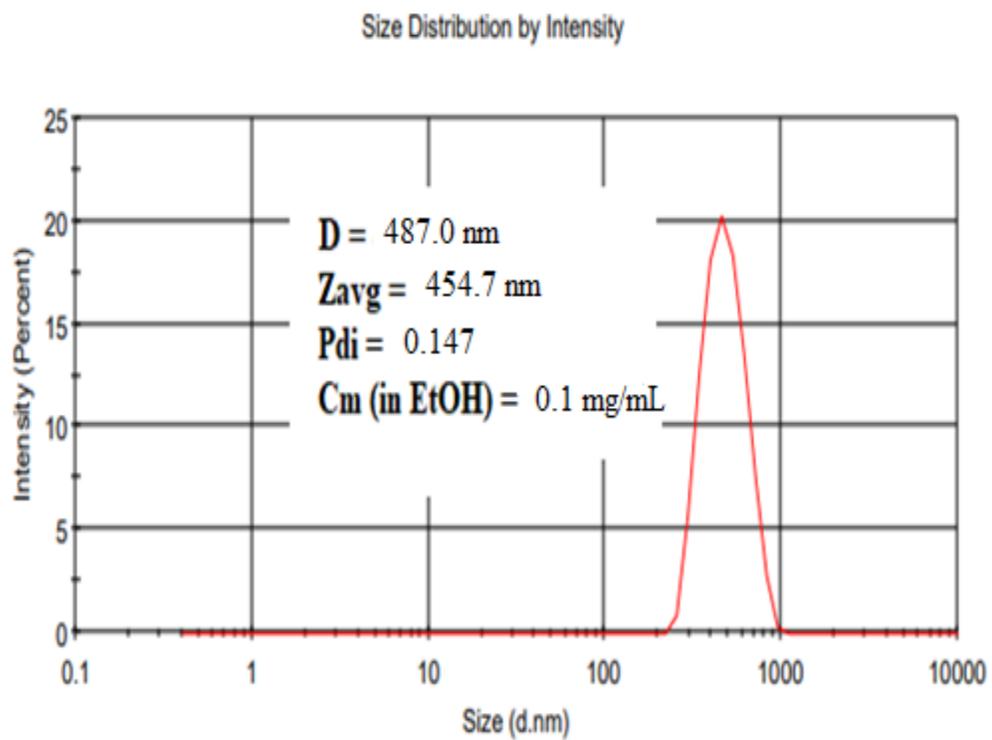
Spectre DLS du mannoliposome 2.12-0.5 mg/mL



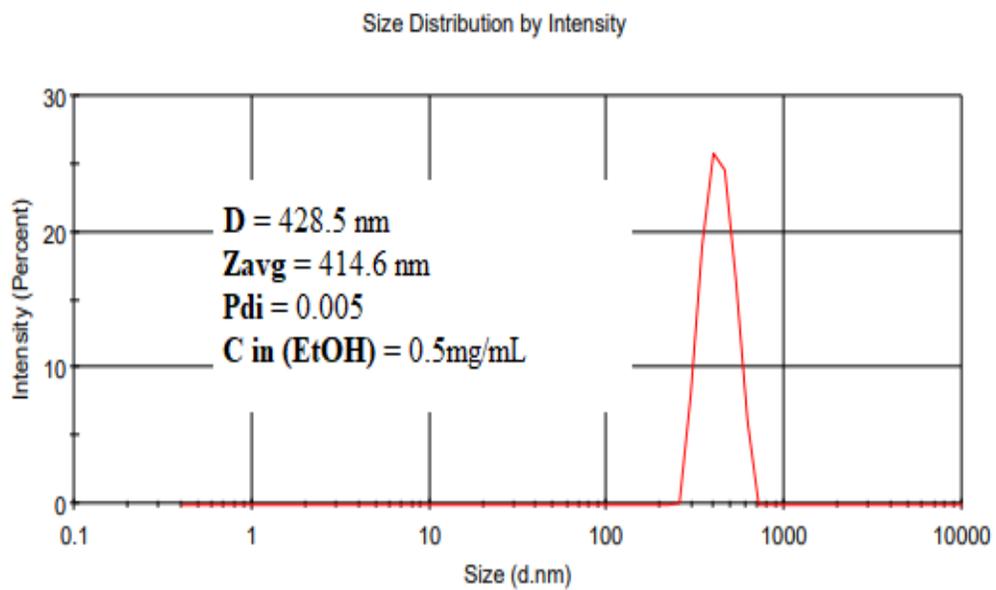
Spectre DLS du mannoliposome 2.12-1.0 mg/mL



Spectre DLS du mannoliposome 2.12-2.5 mg/mL

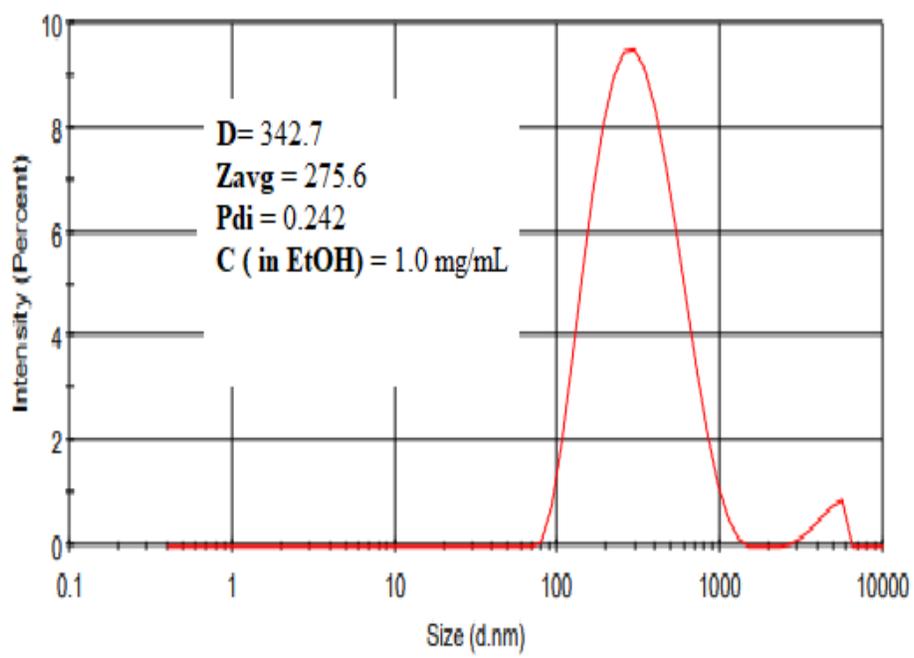


Spectre DLS du mannoliposome 2.13-0.1 mg/mL

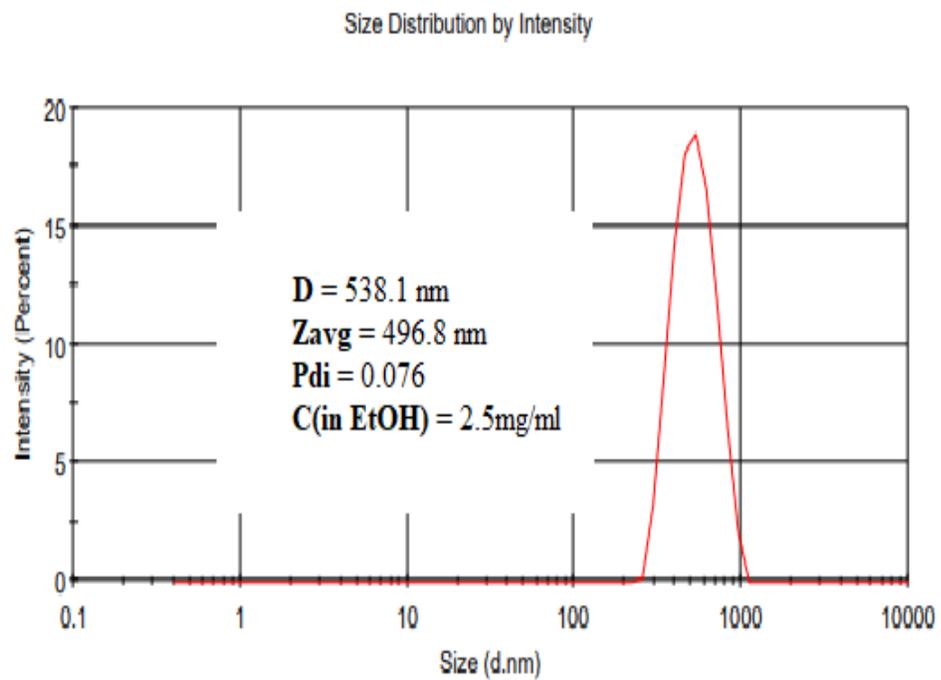


Spectre DLS du mannoliposome 2.13-0.5 mg/mL

Size Distribution by Intensity



Spectre DLS du mannoliposome 2.13-1.0 mg/mL



Spectre DLS du mannoliposome 2.13-2.5 mg/mL

BIBLIOGRAPHIE

1. Tannock, G. W., The normal microflora: an introduction. In *Medical importance of the normal microflora*, Tannock, G. W., Ed. Springer: Boston, MA, 1999; pp 1-23.
2. Varki, A.; Freeze, H. H.; Manzi, A. E., Overview of glycoconjugate analysis. *Curr Protoc Protein Sci* **2009**, Chapter 12, Unit-12.1.8.
3. Olden, K.; Bernard, B. A.; Humphries, M. J.; Yeo, T.-K.; Yeo, K.-T.; White, S. L.; Newton, S. A.; Bauer, H. C.; Parent, J. B., Function of glycoprotein glycans. *Trends Biochem. Sci.* **1985**, 10 (2), 78-82.
4. Hanna, H. Electroporation of inner and outer cell membranes with microsecond pulsed electric fields: effective new tool to control mesenchymal stem cells spontaneous Ca²⁺ oscillations. Université Paris-Saclay (ComUE), 2016.
5. Vanwetswinkel, S.; Volkov, A. N.; Sterckx, Y. G.; Garcia-Pino, A.; Buts, L.; Vranken, W. F.; Bouckaert, J.; Roy, R.; Wyns, L.; van Nuland, N. A., Study of the structural and dynamic effects in the FimH adhesin upon α -D-heptyl mannose binding. *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (4), 1416-1427.
6. Koto, S.; Hirooka, M.; Tashiro, T.; Sakashita, M.; Hatachi, M.; Kono, T.; Shimizu, M.; Yoshida, N.; Kurasawa, S.; Sakuma, N., Simple preparations of alkyl and cycloalkyl α -glycosides of maltose, cellobiose, and lactose. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339 (14), 2415-2424.
7. Winterburn, P.; Phelps, C., The significance of glycosylated proteins. *Nature* **1972**, 236 (5343), 147-151.
8. Blanco, G.; Blanco, A., *Medical biochemistry*. Academic Press: 2017.
9. Kato, K.; Ishiwa, A., The role of carbohydrates in infection strategies of enteric pathogens. *Trop. Med. Health* **2015**, 43 (1), 41-52.
10. Szymanski, C. M.; Schnaar, R. L.; Aebi, M., Bacterial and viral infections. *Essentials of Glycobiology [Internet]. 3rd edition* **2017**.
11. Mammen, M.; Choi, S. K.; Whitesides, G. M., Polyvalent interactions in biological systems: implications for design and use of multivalent ligands and inhibitors. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37 (20), 2754-2794.
12. Rispoli, G. Synthesis of multivalent glycoclusters for the selective inhibition of lectins and targeted imaging. Doctoral thesis, Università degli Studi di Parma, Roma, Italy, 2021.
13. Heida, R.; Bhide, Y.; Gasbarri, M.; Kocabiyik, Ö.; Stellacci, F.; Huckriede, A.; Hinrichs, W.; Frijlink, H., Advances in the development of entry inhibitors for sialic-acid-targeting viruses. *Drug Discov.* **2020**, 26.

14. Mulder, A.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N., Multivalency in supramolecular chemistry and nanofabrication. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2* (23), 3409-24.
15. Spevak, W.; Nagy, J. O.; Charych, D. H.; Schaefer, M. E.; Gilbert, J. H.; Bednarski, M. D., Polymerized liposomes containing C-glycosides of sialic acid: potent inhibitors of influenza virus in vitro infectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (3), 1146-1147.
16. Polizzotti, B. D.; Kiick, K. L., Effects of polymer structure on the inhibition of cholera toxin by linear polypeptide-based glycopolymers. *Biomacromolecules* **2006**, *7* (2), 483-490.
17. Maheshwari, G.; Brown, G.; Lauffenburger, D. A.; Wells, A.; Griffith, L. G., Cell adhesion and motility depend on nanoscale RGD clustering. *J. Cell Sci.* **2000**, *113* (10), 1677-1686.
18. Santore, M. M.; Zhang, J.; Srivastava, S.; Rotello, V. M., Beyond molecular recognition: using a repulsive field to tune interfacial valency and binding specificity between adhesive surfaces. *Langmuir* **2009**, *25* (1), 84-96.
19. Davis, B. G., Synthesis of glycoproteins. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (2), 579-602.
20. Zhang, Z.; Gildersleeve, J.; Yang, Y.-Y.; Xu, R.; Loo, J. A.; Uryu, S.; Wong, C.-H.; Schultz, P. G., A new strategy for the synthesis of glycoproteins. *Science* **2004**, *303* (5656), 371-373.
21. Payne, R. J.; Wong, C.-H., Advances in chemical ligation strategies for the synthesis of glycopeptides and glycoproteins. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (1), 21-43.
22. Buskas, T.; Ingale, S.; Boons, G.-J., Glycopeptides as versatile tools for glycobiology. *Glycobiology* **2006**, *16* (8), 113R-136R.
23. Seitz, O., Glycopeptide synthesis and the effects of glycosylation on protein structure and activity. *ChemBioChem* **2000**, *1* (4), 214-246.
24. Ashford, P.-A.; Bew, S. P., Recent advances in the synthesis of new glycopeptide antibiotics. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (3), 957-978.
25. Ladmiral, V.; Melia, E.; Haddleton, D. M., Synthetic glycopolymers: an overview. *Eur. Polym. J.* **2004**, *40* (3), 431-449.
26. Miura, Y., Synthesis and biological application of glycopolymers. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2007**, *45* (22), 5031-5036.
27. Ting, S. S.; Chen, G.; Stenzel, M. H., Synthesis of glycopolymers and their multivalent recognitions with lectins. *Polym. Chem.* **2010**, *1* (9), 1392-1412.
28. Jayaraman, N.; Maiti, K.; Naresh, K., Multivalent glycoliposomes and micelles to study carbohydrate-protein and carbohydrate-carbohydrate interactions. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (11), 4640-4656.
29. Lewicky, J. D.; Fraleigh, N. L.; Boraman, A.; Martel, A. L.; Nguyen, T. M.-D.; Schiller, P. W.; Shiao, T. C.; Roy, R.; Montaut, S.; Le, H.-T., Mannosylated glycoliposomes for the delivery of a peptide kappa opioid receptor antagonist to the brain. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2020**, *154*, 290-296.
30. Marradi, M.; Chiodo, F.; García, I.; Penadés, S., Glycoliposomes and metallic glyconanoparticles in glycoscience. *Synthesis and Biological Applications of Glycoconjugates* **2011**, 164-202.

31. André, S.; Liu, B.; Gabius, H.-J.; Roy, R., First demonstration of differential inhibition of lectin binding by synthetic tri- and tetravalent glycoclusters from cross-coupling of rigidified 2-propynyl lactoside. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1* (22), 3909-3916.
32. Roy, R.; Kim, J. M., Cu (II)-self-assembling bipyridyl-glycoclusters and dendrimers bearing the Tn-antigen cancer marker: syntheses and lectin binding properties. *Tetrahedron* **2003**, *59* (22), 3881-3893.
33. Dominique, R.; Roy, R., Stereoselective synthesis of glycoclusters using an olefin metathesis and Sharpless dihydroxylation sequence. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43* (3), 395-398.
34. Lundquist, J. J.; Toone, E. J., The cluster glycoside effect. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (2), 555-578.
35. Richards, D. A.; Maruani, A.; Chudasama, V., Antibody fragments as nanoparticle targeting ligands: a step in the right direction. *Chemical science* **2017**, *8* (1), 63-77.
36. Lee, Y. C.; Lee, R. T., Carbohydrate-protein interactions: basis of glycobiology. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28* (8), 321-327.
37. Pergolizzi, G.; Dedola, S.; Field, R. A., Contemporary glycoconjugation chemistry. *Chem Sci* **2016**, *42*, 1-46.
38. Biemans, R.; Micoli, F.; Romano, M. R., 8 - Glycoconjugate vaccines, production and characterization. In *Recent Trends in Carbohydrate Chemistry*, Rauter, A. P.; Christensen, B. E.; Somsák, L.; Kosma, P.; Adamo, R., Eds. Elsevier: 2020; pp 285-313.
39. Karlsson, K. A., Meaning and therapeutic potential of microbial recognition of host glycoconjugates. *Mol. Microbiol.* **1998**, *29* (1), 1-11.
40. Burtis, C. A.; Brunz, D. E., *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences: 2014.
41. Singh, S.; Ramesh, V.; Premalatha, B.; Prashad, K. V.; Ramadoss, K., Alterations in serum lipid profile patterns in oral cancer. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* **2013**, *4* (2), 374.
42. Braconnot, H. In *Mémoire sur la nature des corps gras*, Annales de chimie, 1815; pp 225-277.
43. Stine, K. J., *Carbohydrate nanotechnology*. John Wiley & Sons: 2015.
44. Karami, Z.; Saghatchi Zanjani, M. R.; Hamidi, M., Nanoemulsions in CNS drug delivery: recent developments, impacts and challenges. *Drug Discov.* **2019**, *24* (5), 1104-1115.
45. Lourith, N.; Kanlayavattanakul, M., Natural surfactants used in cosmetics: glycolipids. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2009**, *31* (4), 255-261.
46. Deb, M.; Mandal, N.; Sathiavelu, M.; Arunachalam, S., Application and Future Aspects of Microbial Biosurfactants-Review. *Res J Pharm Biol Chem Sci* **2016**, *7* (4), 2803-2812.
47. Wagner, A.; Vorauer-Uhl, K., Liposome technology for industrial purposes. *J. Drug Deliv.* **2011**, *2011*.

48. Trucillo, P.; Campardelli, R.; Reverchon, E., Supercritical CO₂ assisted liposomes formation: Optimization of the lipidic layer for an efficient hydrophilic drug loading. *J. CO₂ Util.* **2017**, *18*, 181-188.
49. Zhu, J.; Yan, F.; Guo, Z.; Marchant, R. E., Surface modification of liposomes by saccharides: Vesicle size and stability of lactosyl liposomes studied by photon correlation spectroscopy. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *289* (2), 542-550.
50. Zhu, J.; Xue, J.; Guo, Z.; Zhang, L.; Marchant, R. E., Biomimetic glycoliposomes as nanocarriers for targeting P-selectin on activated platelets. *Bioconjug Chem* **2007**, *18* (5), 1366-1369.
51. Kim, J.-S., Liposomal drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Investigation* **2016**, *46* (4), 387-392.
52. Wang, A. Z.; Langer, R.; Farokhzad, O. C., Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu. Rev. Med.* **2012**, *63*, 185-198.
53. Flory, P. J., Constitution of Three-dimensional Polymers and the Theory of Gelation. *J. Phys. Chem.* **1942**, *46* (1), 132-140.
54. Flory, P. J., Molecular Size Distribution in Three Dimensional Polymers. I. Gelation. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63* (11), 3083-3090.
55. Buhleier, E.; Wehner, W.; VÖGtle, F., "Cascade"- and "Nonskid-Chain-like" Syntheses of Molecular Cavity Topologies. *Synthesis* **1978**, *1978* (02), 155-158.
56. Michal, G.; Malgorzata, K.; Anna, J.; Irina, I. T.; Nadezhda, N. S.; Arkadiusz, G.; Igor, M. N.; Barbara, K.-M., Application of new lysine-based peptide dendrimers D3K2 and D3G2 for gene delivery: Specific cytotoxicity to cancer cells and transfection in vitro. *Bioorg. Chem.* **2020**, *95*, 103504.
57. Moreno, P.; Bouillon, C.; Quéléver, G.; Peng, L., Les dendrimères : un moyen de transport d'acides nucléiques. *L'Actualité chimique* **2014**, *381*, 13.
58. Newkome, G. R.; Yao, Z.; Baker, G. R.; Gupta, V. K., Micelles. Part 1. Cascade molecules: a new approach to micelles. A [27]-arborol. *J. Org. Chem.* **1985**, *50* (11), 2003-2004.
59. Latha, S.; Selvamani, P., Dendrimers: Multifunctional Drug Delivery Carriers. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2015**, *5*, 1960-1972(13).
60. Stenström, P.; Hjorth, E.; Zhang, Y.; André, O. C. J.; Guette-Marquet, S.; Schultzberg, M.; Malkoch, M., Synthesis and in Vitro Evaluation of Monodisperse Amino-Functional Polyester Dendrimers with Rapid Degradability and Antibacterial Properties. *Biomacromolecules* **2017**, *18* (12), 4323-4330.
61. Akhtar, S.; Chandrasekhar, B.; Attur, S.; Yousif, M. H.; Benter, I. F., On the nanotoxicity of PAMAM dendrimers: Superfect® stimulates the EGFR-ERK1/2 signal transduction pathway via an oxidative stress-dependent mechanism in HEK 293 cells. *Int. J. Pharm.* **2013**, *448* (1), 239-46.
62. Jansen, J. F.; de Brabander-van den Berg, E. M.; Meijer, E. W., Encapsulation of guest molecules into a dendritic box. *Science* **1994**, *266* (5188), 1226-9.
63. Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Roeck, J.; Ryder, J.; Smith, P., A New Class of Polymers: Starburst-Dendritic Macromolecules. *Polym. J.* **1985**, *17* (1), 117-132.

64. Islam, M. T.; Majoros, I. J.; Baker, J. R., Jr., HPLC analysis of PAMAM dendrimer based multifunctional devices. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2005**, *822* (1-2), 21-6.
65. Hawker, C. J.; Frechet, J. M. J., Preparation of polymers with controlled molecular architecture. A new convergent approach to dendritic macromolecules. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (21), 7638-7647.
66. Kolb, H. C.; Finn, M.; Sharpless, K. B., Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40* (11), 2004-2021.
67. Evans, R. A., The rise of azide-alkyne 1, 3-dipolar 'click' cycloaddition and its application to polymer science and surface modification. *Aust. J. Chem.* **2007**, *60* (6), 384-395.
68. Padwa, A.; Pearson, W. H., *Synthetic applications of 1, 3-dipolar cycloaddition chemistry toward heterocycles and natural products*. John Wiley & Sons: 2003; Vol. 59.
69. Huisgen, R.; Szeimies, G.; Möbius, L., 1.3 - Dipolare Cycloadditionen, XXXII. Kinetik der Additionen organischer Azide an CC - Mehrfachbindungen. *Chem. Ber.* **1967**, *100* (8), 2494-2507.
70. Choudhary, R. C.; Kumari, S.; Kumaraswamy, R.; Pal, A.; Raliya, R.; Biswas, P.; Saharan, V., Characterization Methods for Chitosan-Based Nanomaterials. In *Plant Nanobionics*, Springer: 2019; pp 103-116.
71. Mainard, M.; Jacob, D., Comprendre. La mesure de taille de nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière. *Photoniques* **2016**, (83), 40-44.
72. Bozzuto, G.; Molinari, A., Liposomes as nanomedical devices. *Int. J. Nanomed.* **2015**, *10*, 975-999.
73. Zhang, S.; Moussodia, R. O.; Sun, H. J.; Leowanawat, P.; Muncan, A.; Nusbaum, C. D.; Chelling, K. M.; Heiney, P. A.; Klein, M. L.; André, S.; Roy, R.; Gabius, H. J.; Percec, V., Mimicking biological membranes with programmable glycan ligands self - assembled from amphiphilic Janus glycodendrimers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *126* (41), 11079-11083.
74. Zhang, S.; Moussodia, R. O.; Murzeau, C.; Sun, H. J.; Klein, M. L.; Vertesy, S.; Andre, S.; Roy, R.; Gabius, H. J.; Percec, V., Dissecting molecular aspects of cell interactions using glycodendrimersomes with programmable glycan presentation and engineered human lectins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2015**, *54* (13), 4036-40.
75. Lewicky, J. D.; Fraleigh, N. L.; Martel, A. L.; Nguyen, T. M.-D.; Schiller, P. W.; Mousavifar, L.; Roy, R.; Le, A. D.; Funk, D.; Le, H.-T., Improving the Utility of a Dynorphin Peptide Analogue Using Mannosylated Glycoliposomes. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22* (15), 7996.
76. Percec, V.; Leowanawat, P.; Sun, H.-J.; Kulikov, O.; Nusbaum, C. D.; Tran, T. M.; Bertin, A.; Wilson, D. A.; Peterca, M.; Zhang, S.; Neha P. Kamat; Vargo, K.; Diana Moock; Eric D. Johnston, D. A. H.; Darrin J. Pochan, Y. C., Yoann M. Chabre, ; Tze C. Shiao; Milan Bergeron-Brlek, S. A.; René Roy, H.-J. G.; Heiney, a. P. A., Modular synthesis of amphiphilic Janus glycodendrimers and their self-assembly

into glycodendrimersomes and other complex architectures with bioactivity to biomedically relevant lectins. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (24), 9055-9077.

77. Möller, N.; Rühling, A.; Lamping, S.; Hellwig, T.; Fallnich, C.; Ravoo, B. J.; Glorius, F., Stabilization of High Oxidation State Upconversion Nanoparticles by N - Heterocyclic Carbenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56* (15), 4356-4360.

78. Nicholas, S. D.; Smith, F., Acetylation of Sugars. *Nature* **1948**, *161* (4088), 349-349.

79. Boons, G.-J.; Hale, K. J., *Organic synthesis with carbohydrates*. John Wiley & Sons: 2008; Vol. 1.

80. Crich, D.; Lim, L. B., Glycosylation with sulfoxides and sulfinates as donors or promoters. *Organic Reactions* **2004**, *64*, 115-251.

81. Bufali, S.; Seeberger, P. H., Glycosylation on Polymer Supports. *Organic Reactions* **2007**.

82. Mousavifar, L.; Abdullayev, S.; Roy, R., Recent Development in the Design of Neoglycoliposomes Bearing Arborescent Architectures. *Molecules* **2021**, *26* (14), 4281.

83. Fara, M. A.; Díaz-Mochón, J. J.; Bradley, M., Microwave-assisted coupling with DIC/HOBt for the synthesis of difficult peptoids and fluorescently labelled peptides—a gentle heat goes a long way. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (6), 1011-1014.

84. Percec, V.; Wilson, D. A.; Leowanawat, P.; Wilson, C. J.; Hughes, A. D.; Kaucher, M. S.; Hammer, D. A.; Levine, D. H.; Kim, A. J.; Bates, F. S., Self-assembly of Janus dendrimers into uniform dendrimersomes and other complex architectures. *Science* **2010**, *328* (5981), 1009-1014.

85. Zemplén Deacetylation. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, pp 3123-3128.

86. Goyard, D.; Shiao, T.; Fraleigh, N.; Vu, H.-Y.; Lee, H.; Diaz-Mitoma, F.; Le, H.-T.; Roy, R., Expedient synthesis of functional single-component glycoliposomes using thiol-yne chemistry. *Journal of Materials Chemistry B* **2016**, *4* (23), 4227-4233.

87. Alavi, M.; Karimi, N.; Safaei, M., Application of various types of liposomes in drug delivery systems. *Advanced pharmaceutical bulletin* **2017**, *7* (1), 3.

88. Mousavifar, L.; Roy, R., Design, Synthetic Strategies, and Therapeutic Applications of Heterofunctional Glycodendrimers. *Molecules* **2021**, *26* (9), 2428.

89. Tiwari, V. K.; Mishra, B. B.; Mishra, K. B.; Mishra, N.; Singh, A. S.; Chen, X., Cu-catalyzed click reaction in carbohydrate chemistry. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (5), 3086-3240.

90. Tang, X.; Zhang, Q.; Zhou, Q., Application of pentaerythritol and its derivatives in the synthesis of dendrimers. *Chin. J. Org. Chem.* **2004**, *24* (6), 585-590.

91. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B., A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper (I) - catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *114* (14), 2708-2711.

92. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M., Peptidotriazoles on solid phase:[1, 2, 3]-triazoles by regiospecific copper (I)-catalyzed 1, 3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (9), 3057-3064.
93. Bock, V. D.; Hiemstra, H.; Van Maarseveen, J. H., CuI - catalyzed alkyne - azide "click" cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006* (1), 51-68.
94. Hein, C. D.; Liu, X.-M.; Wang, D., Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences. *Pharm. Res.* **2008**, *25* (10), 2216-2230.
95. Schindler, S., Reactivity of copper (I) complexes towards dioxygen. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, *2000* (11), 2311-2326.
96. Bonnet, D.; Ilien, B.; Galzi, J.-L.; Riché, S.; Antheaune, C.; Hibert, M., A rapid and versatile method to label receptor ligands using "click" chemistry: Validation with the muscarinic M1 antagonist pirenzepine. *Bioconjug Chem* **2006**, *17* (6), 1618-1623.
97. Bagul, R. S.; Hosseini, M.; Shiao, T. C.; Saadeh, N. K.; Roy, R., Heterolayered hybrid dendrimers with optimized sugar head groups for enhancing carbohydrate-protein interactions. *Polym. Chem.* **2017**, *8* (35), 5354-5366.
98. Percec, V.; Leowanawat, P.; Sun, H.-J.; Kulikov, O.; Nusbaum, C. D.; Tran, T. M.; Bertin, A.; Wilson, D. A.; Peterca, M.; Zhang, S., Modular synthesis of amphiphilic Janus glycodendrimers and their self-assembly into glycodendrimersomes and other complex architectures with bioactivity to biomedically relevant lectins. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (24), 9055-9077.
99. Thanassavate, B.; Ngiswara, L.; Lirdprapamongkol, K.; Svasti, J.; Chuawong, P., A synthetic 2, 3-diarylindole induces microtubule destabilization and G2/M cell cycle arrest in lung cancer cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30* (1), 126777.
100. Sehad, C.; Shiao, T. C.; Sallam, L. M.; Azzouz, A.; Roy, R., Effect of dendrimer generation and aglyconic linkers on the binding properties of mannosylated dendrimers prepared by a combined convergent and onion peel approach. *Molecules* **2018**, *23* (8), 1890.
101. Blasi, P.; Giovagnoli, S.; Schoubben, A.; Ricci, M.; Rossi, C., Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, *59* (6), 454-477.
102. Bertrand, N.; Leroux, J.-C., The journey of a drug-carrier in the body: an anatomico-physiological perspective. *J. Control Release* **2012**, *161* (2), 152-163.
103. Danaei, M.; Dehghankhold, M.; Ataei, S.; Hasanzadeh Davarani, F.; Javanmard, R.; Dokhani, A.; Khorasani, S.; Mozafari, M., Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics* **2018**, *10* (2), 57.
104. Papp, I.; Dervedde, J.; Enders, S.; Riese, S. B.; Shiao, T. C.; Roy, R.; Haag, R., Multivalent presentation of mannose on hyperbranched polyglycerol and their interaction with concanavalin A lectin. *ChemBioChem* **2011**, *12* (7), 1075.

105. Ye, Z.; Zhang, Q.; Wang, S.; Bharate, P.; Varela - Aramburu, S.; Lu, M.; Seeberger, P. H.; Yin, J., Tumour - targeted drug delivery with mannose - functionalized nanoparticles self - assembled from amphiphilic β - cyclodextrins. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22* (43), 15216-15221.
106. Martel, A. L.; Fraleigh, N. L.; Picard, E.; Lewicky, J. D.; Pawelec, G.; Lee, H.; Ma, G. W.; Mousavifar, L.; Roy, R.; Le, H.-T., Novel immunomodulatory properties of low dose cytarabine entrapped in a mannosylated cationic liposome. *Int. J. Pharm.* **2021**, *606*, 120849.