

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

CONCEPTION DE LIGANDS SYNTHÉTIQUES MANNOSYLÉS  
MULTIVALENTS DE LA FIM H DE *E. COLI*

MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE ÈS SCIENCES EN CHIMIE

PAR  
ALEX PAPADOPOULOS

MARS 2010

# 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.01-2006). 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.»

*Le bonheur c'est le plaisir sans remords.*

- Socrate -

*La nature voulant faire vraiment de la  
chimie a finalement créé le chimiste.*

- Gaston Bachelard -

*La chimie théorique c'est quand on  
comprend tout mais que rien ne marche.*

*La pratique c'est quand tout marche mais  
on ne sait pas pourquoi.*

*Si on a réussi les deux, rien ne marche et on  
ne comprend pas pourquoi.*

## REMERCIEMENTS

*Je remercie tout d'abord sincèrement M. le Professeur René Roy pour m'avoir accueilli dans son équipe de recherche et pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail sur un sujet porteur. Je le remercie pour les nombreux conseils et idées qu'il m'a donnés au cours de nos nombreuses discussions, mais aussi pour sa disponibilité, son attention quotidienne à l'évolution des travaux et pour son souci permanent de me faire progresser et de valoriser le travail accompli. Il reste pour moi un exemple de passion et d'enthousiasme. Merci René pour tout.*

*J'aimerais aussi exprimer toute ma reconnaissance à mon ami Chichi, qui ma convaincu de faire ma maîtrise. Tous ces conseils judicieux, sa patience et sa grande disponibilité m'ont permis de progresser et me surpasser. C'est deux années n'auraient pas été pareilles sans toi. Merci pour tout Chichi.*

*Je tiens tout particulièrement à remercier le Dr. Yoann Chabre pour sa finesse et sa patience envers moi. Je te remercie pour tous les conseils judicieux et d'avoir cru en moi. Tu es vraiment un ami sincère. J'espère que je me souviendrai encore comment cannuler!!!!!! Ah! C'est beau Québec!!!!*

*Je voudrais également remercier le Dr. Denis Giguère pour son amitié sincère, toutes les histoires loufoques, les rires, les grosses et surtout le Millepertuis. La seule chose que je regrette c'est de ne pas t'avoir rencontré avant. Réserve-moi une place en Californie!!!!*

*Je serai de même éternellement reconnaissant envers le Dr. Mohamed Touaibia pour m'avoir introduit aux rudiments de la chimie des dendrimères et pour m'avoir bien guidé lors de mes débuts au laboratoire.*

*À mon binôme favori, le Dr. Christiane Contino-Pépin avec qui j'ai eu l'honneur de travailler durant huit mois. Tu es extraordinaire et ne t'inquiète pas, je serai bientôt de retour en France (Coucou Dorine et Christian !!).*

*Bien sûr, je n'oublie pas de remercier les membres du laboratoire, qui ont toujours contribué à la bonne humeur quotidienne: Jaco, pour nos engueulades matinales ou nos leçons de chant tout en regardant ton sketch de l'araignée... J'allais oublier « tu manges.....». Julien tu «chiales» pas mal mais je t'aime bien quand même. Phil, j'ai apprécié ton silence et tes cheveux mais si tu insistes je te fais un CD de Black Tabou quand tu veux. Franki, ta joie de vivre et ton rire me manqueront. Sylvain, sans tes répliques, les journées n'auraient pas été les mêmes.*

*Je voudrais aussi remercier le personnel de soutien de l'UQAM: Charlotte, pour tes multiples services mécaniques et techniques. Les gars du magasin Ben et Denis, pour les jokes matinales et merci pour votre machine à espresso. Odette, pour ta disponibilité et ta confiance envers moi. Merci à Julie, ma secrétaire préférée, pour son efficacité. Les techniciennes, Francine pour ton humour et Mari-Josée pour tes services et conseils.*

*Je veux remercier mon amoureuse Amélie pour avoir enduré pendant ces deux dernières années mes multiples nuits blanches et mes longues heures au labo. Merci pour ton support moral et tes encouragements. Merci Minouti.*

*Enfin, je tiens surtout à remercier ma mère, qui m'a toujours soutenu dans mes efforts et encouragé pendant mes études.*

## TABLE DES MATIÈRES

	xi
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	xviii
<b>LISTE DES SCHÉMAS</b> .....	xix
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS</b> .....	xxiii
<b>RÉSUMÉ</b> .....	xxxii
<b>CHAPITRE I</b>	
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
1.1 MISE EN CONTEXTE.....	1
1.2 NOTION DE MULTIVALENCE.....	2
1.2.1. <i>Définition de la multivalence</i> .....	2
1.2.2. <i>Rôle de la multivalence dans les phénomènes naturels</i> .....	3
1.3 LA MULTIVALENCE DANS LES INTERACTIONS PROTÉINES - GLUCIDES.....	5
1.3.1. <i>Importance des interactions protéines-glucides</i> .....	5
1.3.2. <i>L'effet cluster glycosidique</i> .....	7
1.4 INTRODUCTION AUX DENDRIMÈRES.....	11
1.4.1. <i>Définitions et généralités sur les dendrimères</i> .....	11
1.4.2. <i>Historique des dendrimères</i> .....	14
1.4.3. <i>Structures et fonctionnalisation</i> .....	15
1.4.4. <i>Approches synthétiques</i> .....	17
1.4.5. <i>Quelques applications des dendrimères</i> .....	23
1.4.6. <i>Les dendrimères et la médecine</i> .....	25
1.5 LES NÉOGLYCOCONJUGUÉS MULTIVALENTS POLYDISPERSÉS.....	43
1.5.1. <i>Les néoglycoprotéines et néoglycopeptides</i> .....	44
1.5.2. <i>Les néoglycolipides et glycoliposomes</i> .....	46
1.5.3. <i>Les glycopolymères</i> .....	48
1.5.4. <i>Les monocouches auto-assemblées saccharidiques</i> .....	51
1.5.5. <i>Les glyconanoparticules ou glyconoparticules</i> .....	53
1.6 LES SYSTÈMES MONODISPERSÉS: LES GLYCOCLUSTERS ET LES GLYCODENDRIMÈRES.....	55
1.6.1. <i>Les glycoclusters</i> .....	56
1.6.2. <i>Les glycodendrons et les glycodendrimères</i> .....	75

1.7 DESCRIPTION DE LA CIBLE THÉRAPEUTIQUE: LA BACTÉRIE <i>E. COLI</i> UROPATHOGÉNIQUE.....	104
1.7.1. Introduction à la bactérie <i>Escherichia coli</i> .....	104
1.7.2. Les bactéries <i>E. coli</i> uropathogènes (UPEC).....	106
1.7.3. Les parois du tractus urinaire et rôle des cellules uroépithéliales.....	108
1.7.4. Rôle des pili de type 1 comme organelles d'adhésion.....	111
1.7.5. Structure cristalline de la FimH et types d'interactions avec le D-mannose.....	112
1.7.6. Activité des inhibiteurs synthétiques de <i>E. coli</i> pathogène.....	115

## CHAPITRE II

<b>SYNTHÈSE DE GLYCOCLUSTERS MANNOSYLÉS À PARTIR DU PENTAÉRYTHRITOL.....</b>	<b>118</b>
2.1 INTRODUCTION.....	118
2.2 CONCEPTS DE LA CHIMIE DES MANNOSIDES.....	118
2.1.1. L'effet anomérique.....	119
2.1.2. L'effet anchimérique.....	119
2.3 RÉACTION DE « CHIMIE CLICK » ET DE DIAZOTRANSFERT.....	121
2.3.1. La « chimie click » ou CuAAC.....	121
2.3.2. La réaction de diazotransfert.....	123
2.4 SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS MANNOSIDES.....	125
2.4.1. Synthèse des dérivés O-mannosides possédant une extrémité propargyle ou azoture.....	126
2.4.2. Synthèse des dérivés O-aryle $\alpha$ -D-mannosides possédant une extrémité azoture.....	128
2.5 SYNTHÈSE DES CŒURS DE TYPE PENTAÉRYTHRITOL.....	129
2.5.1. Synthèse des cœurs dérivés du pentaérythritol polyazotures.....	130
2.5.2. Synthèse du cœur pentaérythritol tétrapropargylé.....	135
2.6 SYNTHÈSE DES GLYCOCLUSTERS.....	135
2.6.1. À partir des cœurs polyazotures.....	136
2.6.2. À partir du cœur tétrapropargylé 29.....	141
2.7 CONCLUSIONS DU CHAPITRE.....	142



**CHAPITRE III****SYNTHÈSE EN PHASE SOLIDE DE GLYCODENDRIMÈRES**

<b>MANNOSYLÉS DE POLY-L-LYSINE</b> .....	<b>143</b>
3.1 INTRODUCTION.....	143
3.2 PRINCIPES DE LA SYNTHÈSE PEPTIDIQUE EN PHASE SOLIDE (SPPS).	144
3.2.1. <i>Choix de la résine polymérique</i> .....	144
3.2.2. <i>Choix de l'acide aminé</i> .....	145
3.2.3. <i>Choix des agents de couplage</i> .....	146
3.2.4. <i>Choix des groupements protecteurs</i> .....	149
3.2.5. <i>Procédure générale pour la SPPS</i> .....	151
3.3 SYNTHÈSE DES MANNODENDRIMÈRES DE POLY-L-LYSINE PAR SPPS.....	152
3.3.1. <i>Description du protocole général</i> .....	152
3.3.2. <i>Contrôle des réactions en SPPS</i> .....	156
3.3.3. <i>Synthèse des mannodendrimères par SPPS</i> .....	158
3.4 CONCLUSIONS DU CHAPITRE.....	167

**CHAPITRE IV****SYNTHÈSE EN PHASE HOMOGÈNE DE GLYCODENDRIMÈRES**

<b>MANNOSYLÉS DE POLY-L-LYSINE À PARTIR DU CŒUR TRIS(2-AMINOÉTHYL)AMINE</b> .....	<b>169</b>
4.1 INTRODUCTION.....	169
4.2 SYNTHÈSE DES GLYCODENDRIMÈRES DE POLY-L-LYSINE EN PHASE HOMOGÈNE.....	169
4.2.1. <i>Synthèse des espaceurs de type azoture</i> .....	170
4.2.2. <i>Synthèse des cœurs dendritiques polyazotures</i> .....	171
4.2.3. <i>Synthèse des glycoclusters mannosylés</i> .....	173
4.2.4. <i>Synthèse des mannodendrimères à base de poly-L-lysine</i> .....	176
4.2.5. <i>Synthèse de glycoclusters à base de poly-L-lysine modifiée</i> .....	180
4.3 CONCLUSIONS DU CHAPITRE.....	183

<b>CHAPITRE V</b>	
<b>SYNTHÈSE DE MANNODENDRIMÈRES À PARTIR D'UN COEUR AROMATIQUE TRIVALENT.....</b>	<b>185</b>
5.1 INTRODUCTION.....	185
5.2 SYNTHÈSE DES CLUSTERS ET DES DENDRIMÈRES MANNOSYLÉS..	186
5.2.1. <i>Synthèse des cœurs aromatiques polyazotures.....</i>	186
5.2.2. <i>Synthèse des cœurs aromatiques polypropargylés.....</i>	189
5.2.3. <i>Synthèse des glycoclusters mannosylés.....</i>	191
5.2.4. <i>Synthèse des mannodendrimères G(1).....</i>	194
5.3 CONCLUSIONS DU CHAPITRE.....	200
<b>CHAPITRE VI</b>	
<b>ÉVALUATIONS BIOLOGIQUES DES DÉRIVÉS MULTIVALENTS SYNTHÉTISÉS.....</b>	<b>201</b>
6.1 INTRODUCTION.....	201
6.2 SYNTHÈSE DES INHIBITEURS MONOVALENTS.....	201
6.3 TESTS DE TURBIDIMÉTRIE AVEC LA LECTINE CONCANAVALINE A.	203
6.3.1. <i>Introduction à la lectine Con A.....</i>	203
6.3.2. <i>Résultats.....</i>	205
6.4 INVESTIGATIONS PAR CYTOMÉTRIE DE FLUX AVEC LES CELLULES CANCÉREUSES U87.....	214
6.4.1. <i>Introduction à la cytométrie de flux.....</i>	214
6.4.2. <i>Interprétation des résultats.....</i>	217
6.5 TESTS D'INHIBITION D'AGGLUTINATION D'ÉRYTHROCYTES PAR LA BACTÉRIE <i>E. COLI</i> K12.....	224
6.5.1. <i>Introduction.....</i>	224
6.5.2. <i>Matériel et Résultats.....</i>	227
6.6 CONCLUSIONS DU CHAPITRE.....	236
<b>CHAPITRE VII</b>	
<b>CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>237</b>

**CHAPITRE VIII**

<b>PARTIE EXPÉRIMENTALE</b> .....	<b>240</b>
8.1 GÉNÉRALITÉS.....	240
8.1.1. <i>Solvants</i> .....	240
8.1.2. <i>Chromatographies</i> .....	241
8.1.3. <i>Analyses physico-chimiques</i> .....	241
8.2 PROTOCOLES GÉNÉRAUX .....	244
8.2.1. <i>Protocole A: Procédure générale de la réaction de chimie Click 1</i> .....	244
8.2.2. <i>Protocole B: Procédure générale de la réaction de chimie Click 2</i> .....	244
8.2.3. <i>Protocole C: Procédure générale de diazotransfert</i> .....	244
8.2.4. <i>Protocole D: Procédure générale de la protection d'une amine par un groupement Fmoc</i> .....	245
8.2.5. <i>Protocole E: Procédure générale de la SPPS</i> .....	245
8.2.6. <i>Protocole F: Test de révélation au TNBS</i> .....	246
8.2.7. <i>Protocole G: Clivage du lien entre le peptide et la résine</i> .....	247
8.2.8. <i>Protocole H: Transestérification ou dé-O-acétylation par le méthanolate de sodium ou « Zemplén »</i> .....	248
8.2.9. <i>Protocole I: Réduction d'azoture par hydrogénation catalytique</i> .....	248
8.2.10. <i>Protocole J: Couplage peptidique en phase homogène</i> .....	248
8.2.11. <i>Protocole K: Amidation sur un chlorure d'acide</i> .....	248
8.3 PROTOCOLES BIOLOGIQUES GÉNÉRAUX .....	249
8.3.1. <i>Protocole standard de culture cellulaire</i> .....	249
8.3.2. <i>Protocole général de culture des souches bactériennes</i> .....	249
8.3.3. <i>Protocole général pour la préparation des érythrocytes</i> .....	250
8.3.4. <i>Protocole général pour le test d'hémagglutination</i> .....	250
8.4 MODES OPÉRATOIRES ET CARACTÉRISATIONS	251
 <b>ANNEXES (MOLÉCULES FINALES)</b>	 <b>341</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b>	Exemples d'architectures dendritiques observées dans la nature.....	<b>3</b>
<b>Figure 2.</b>	Présentation des glycoformes à la surface cellulaire. (tirée de Barondes <i>et al. J. Biol. Chem.</i> 1994, 269, 20807).....	<b>6</b>
<b>Figure 3.</b>	Représentation des différents mécanismes de l'effet cluster glycosidique (tirée de la réf. 23).....	<b>9</b>
<b>Figure 4.</b>	Schématisation de la croissance arborescente d'un dendrimère (tirée de la réf. 31).....	<b>11</b>
<b>Figure 5.</b>	Les dendrimères PAMAM, mimétiques synthétiques de protéines (tirée de la réf. 34).....	<b>13</b>
<b>Figure 6.</b>	Représentation et évolution des quatre classes majeures des structures polymériques (tirée de la réf. 34).....	<b>13</b>
<b>Figure 7.</b>	Représentation schématique d'un dendrimère et les différentes possibilités de fonctionnalisation.....	<b>16</b>
<b>Figure 8.</b>	Représentations schématiques des approches divergentes et convergentes pour la synthèse de dendrimères.....	<b>18</b>
<b>Figure 9.</b>	Dendrimères commerciaux synthétisés selon une approche divergente.....	<b>20</b>
<b>Figure 10.</b>	Diagramme schématique montrant différents conjugués dendritiques employés pour le traitement du cancer (adaptée de la réf. 69).....	<b>28</b>
<b>Figure 11.</b>	Libération contrôlée d'Indométhacine et de Doxorubicine encapsulées à partir de systèmes dendritiques (tirée ou adaptée des réfs 75 et 77).....	<b>31</b>
<b>Figure 12.</b>	(a) Représentation schématique d'une nanoparticule dendritique multicouche. (b) Structures des antitumoraux (Doxorubicine 1, Méthotrexate 2; Ibandronate 3) et des marqueurs fluorescents (Rouge de Nil 4, Indotricarbocyanine tétrasulfonate 5) utilisés lors de l'étude effectuée par Haag <i>et al.</i> (tirée de la réf.78).....	<b>32</b>
<b>Figure 13.</b>	Dendrimère polyester de Fréchet <i>et al.</i> contenant la Doxorubicine attachée selon un mode covalent (tirée de la réf. 70).....	<b>34</b>

<b>Figure 14.</b>	Représentation schématique du relâchement contrôlé par le pH d'un principe actif antitumoral (tirée de la réf. 69).....	35
<b>Figure 15.</b>	Représentation schématique d'un processus de relâchement d'actifs selon un processus de dégradation du squelette dendritique en cascade (tirée de la réf. 84).....	36
<b>Figure 16.</b>	Prodrogue hétérotrimérique proposé par Shabat <i>et al.</i> pour la libération de trois principes actifs <i>via</i> un scaffold dendritique dégradable (tirée de la réf. 70).....	38
<b>Figure 17.</b>	Représentation schématique de la libération de Paclitaxel <i>via</i> un processus de « cascade-release » (tirée de la réf. 70).....	38
<b>Figure 18.</b>	Structure du dendrimère polysulfonate entrant dans la composition de Vivagel® (tirée de la réf. 101).....	41
<b>Figure 19.</b>	Représentation de la structure d'un dendrimère possédant une activité biocide.....	42
<b>Figure 20.</b>	Représentation schématique d'un glycoliposome.....	47
<b>Figure 21.</b>	Représentations schématiques d'une réaction d'homopolymérisation (gauche), d'une réaction de copolymérisation et de terpolymérisation (droite) et d'une synthèse de glycopolymère selon une approche post-modification (bas).....	50
<b>Figure 22.</b>	Glyconanoparticule synthétisée par Penadés <i>et al.</i> pour un vaccin anti-cancer potentiel (tirée de la réf. 128).....	53
<b>Figure 23.</b>	Scaffolds communs utilisés pour la synthèse de glycoclusters et de glycodendrimères.....	57
<b>Figure 24.</b>	Clusters mannosylés synthétisés par Lindhorst <i>et al.</i> en tant que ligands de Fim H de <i>E. coli</i> .....	59
<b>Figure 25.</b>	Synthèse de systèmes trivalent et hexavalent proposés par les groupes de Hayes et Lindhorst.....	60
<b>Figure 26.</b>	Exemples choisis de la littérature d'architectures tétravalentes basées sur le pentaérythritol.....	62
<b>Figure 27.</b>	Premiers glycoclusters aromatiques synthétisés par Graf <i>et al.</i> .....	65

<b>Figure 28.</b>	Quelques exemples choisis de glycoclusters aromatiques synthétisés par : <i>i</i> ) cyclotrimérisation ( <b>I-20</b> à <b>I-22</b> <sup>167</sup> et <b>I-23</b> <sup>168</sup> ); <i>ii</i> ) couplage de type Heck ( <b>I-24</b> <sup>171</sup> ); <i>iii</i> ) couplage de type Sonogashira ( <b>I-25</b> <sup>171</sup> et <b>I-26</b> , <b>I-27</b> <sup>172</sup> ).	66
<b>Figure 29.</b>	Architectures persulfurées dodéca- et octadéca-valentes décrites par Roy <i>et al.</i> .....	68
<b>Figure 30.</b>	Quelques exemples choisis de la littérature de glycoclusters contenant un cœur glucidique.....	71
<b>Figure 31.</b>	a) Représentation de la molécule décavalente STARFISH; b) et c) Structures cristallographiques de la SLT avec STARFISH (reproduite de la réf. 25).....	72
<b>Figure 32.</b>	Exemples choisis de la littérature de glycoclusters à base de peptides, cycliques ou linéaires.....	74
<b>Figure 33.</b>	Structure et représentation schématique du dendron mannosylé à base de poly-L-lysine proposé par le groupe de Roy.....	76
<b>Figure 34.</b>	Exemple de glycodendrimère contenant 8 antigènes Lewis <sup>X</sup> sialylés synthétisé selon un procédé chimio-enzymatique.....	77
<b>Figure 35.</b>	Structures glycodendritiques poly-L-lysine proposées par les groupes de van Berkel et Grandjean.....	79
<b>Figure 36.</b>	Structures glycopeptidiques dendritiques C-fucosylées optimisées synthétisées par le groupe de Raymond et synthétisées en phase-solide combinatoire.....	80
<b>Figure 37.</b>	Vaccin anti-HIV potentiel entièrement synthétique proposé par le groupe de Chang.....	80
<b>Figure 38.</b>	Représentation des glycodendrons et glycodendrimères globulaires contenant des dérivés thiosialosides.....	88
<b>Figure 39.</b>	Représentation d'un glycodendrimère contenant un scaffold PAMAM modifié comportant des unités TRIS.....	89
<b>Figure 40.</b>	Exemples choisis de la littérature de glycodendrimères à base de Boltorn <sup>®</sup> .....	92
<b>Figure 41.</b>	Exemple de polyglycérols dendritiques galactosylés.....	93
<b>Figure 42.</b>	Représentation de glycodendrons contre la toxine choléra.....	95

<b>Figure 43.</b>	Représentation d'un glycodendron optimise contenant 8 unités GM1 ayant une IC <sub>50</sub> de 50 pM contre la toxine choléra.....	96
<b>Figure 44.</b>	Exemples choisis de la littérature de glycodendrons de type AB <sub>2</sub> .....	97
<b>Figure 45.</b>	Exemples de glycodendrimères mono- et bi-fonctionnels proposés par le groupe de Roy.....	98
<b>Figure 46.</b>	Oligo-mannosides <b>I-86</b> et <b>I-87</b> et glycodendron G(2)-Man <sub>9</sub> ( <b>I-88</b> ) comme agents antiviraux.....	99
<b>Figure 47.</b>	Représentation d'un glycodendron de 1 <sup>ère</sup> génération contenant des unités galliques proposé par le groupe de Roy.....	100
<b>Figure 48.</b>	Glycodendron PEGylé proposé par le groupe de Riguera.....	101
<b>Figure 49.</b>	Représentation de deux glycodendrimères glucosylés proposés par le groupe de Stoddart.....	102
<b>Figure 50.</b>	Exemples choisis de glycodendrimères de type carbosilane.....	103
<b>Figure 51.</b>	Exemples choisis de la littérature de glycodendrimères polyphénylène ( <b>I-98</b> ) et phosphorés ( <b>I-99</b> ).....	103
<b>Figure 52.</b>	Présentation de la bactérie <i>E. coli</i> et sa structure générale.....	105
<b>Figure 53.</b>	Cycle de récurrence des souches UPEC (tirée de la réf. 271).....	108
<b>Figure 54.</b>	Visualisation de la surface urothéliale du rein.....	110
<b>Figure 55.</b>	Représentation de la bacteria <i>Escherichia coli</i> et de son adhésine FimH à l'extrémité du pilus.....	111
<b>Figure 56.</b>	a) Photo prise au microscope haute résolution de l'attachement des pili de type I de la bactérie <i>E. coli</i> sur les cellules urothéliales <sup>279</sup> ; b) Assemblage du pilus fimbriae de type I <i>via</i> la protéine chaperonne et la protéine porteuse. <sup>273</sup> .....	112
<b>Figure 57.</b>	a) Structure cristalline du site de liaison (domaine adhésine) du FimH en présence d' $\alpha$ -D-mannose <sup>281</sup> ; b) Structure cristalline du FimH de <i>E. coli</i> K12 incorporant l'inhibiteur butyl $\alpha$ Man (PDB 1UWF). <sup>282</sup> .....	114

<b>Figure 58.</b>	Représentation schématique de l'action de structures mannosylées multivalentes agissant comme inhibiteurs potentiels de l'adhérence de <i>E. coli</i> pathogène sur les cellules hôtes.....	<b>117</b>
<b>Figure 59.</b>	Influence de l'effet anomérique sur différents types de glycosides.....	<b>119</b>
<b>Figure 60.</b>	Spectre RMN <sup>13</sup> C non découplé de type HSQC du composé <b>5</b> .....	<b>128</b>
<b>Figure 61.</b>	Spectre RMN <sup>1</sup> H du dérivé triazoture <b>17</b> dans le CDCl <sub>3</sub> .....	<b>132</b>
<b>Figure 62.</b>	Structure de la résine Rink Amide et mode de clivage pour accéder au polypeptide synthétisé sur support solide.....	<b>145</b>
<b>Figure 63.</b>	Structures des agents de couplage couramment utilisés pour la synthèse peptidique.....	<b>147</b>
<b>Figure 64.</b>	Mécanisme de clivage du groupement Fmoc par la pipéridine.....	<b>151</b>
<b>Figure 65.</b>	Image des billes lors du test au TNBS (+); image microscopique de la résine après le test TNBS (-).....	<b>156</b>
<b>Figure 66.</b>	Spectres IR caractéristiques des billes fonctionnalisées après diazotransfert (a) et chimie click (b).....	<b>157</b>
<b>Figure 67.</b>	Comparaison des spectres RMN <sup>1</sup> H des composés <b>52</b> , <b>53</b> , <b>54</b> et <b>55</b> .....	<b>161</b>
<b>Figure 68.</b>	Modélisation des mannodendrimères de poly-L-lysine de deuxième génération <b>54</b> et <b>58</b> .....	<b>166</b>
<b>Figure 69.</b>	Comparaison des spectres RMN <sup>1</sup> H dans D <sub>2</sub> O des mannodendrimères de troisième génération <b>55</b> et <b>59</b> .....	<b>167</b>
<b>Figure 70.</b>	Spectre RMN <sup>1</sup> H dans le CDCl <sub>3</sub> obtenu pour le composé diazoture <b>64</b> ....	<b>171</b>
<b>Figure 71.</b>	Comparaison des spectres RMN <sup>1</sup> H dans CDCl <sub>3</sub> du cœur dendritique <b>68</b> et du glycocluster mannosylé acétylé correspondant <b>78</b> .....	<b>175</b>
<b>Figure 72.</b>	Spectre de masse à haute résolution obtenu pour le glycodendrimère <b>86</b> ..	<b>180</b>
<b>Figure 73.</b>	Comparaison des spectres RMN <sup>1</sup> H dans CDCl <sub>3</sub> obtenus pour les glycoclusters analogues hexavalents <b>78</b> et <b>93</b> .....	<b>183</b>
<b>Figure 74.</b>	Dérivés mannosides monovalents utilisés lors des investigations biologiques.....	<b>202</b>



<b>Figure 75.</b>	Structure cristalline de la Concanavoline A en présence des ligands.....	<b>204</b>
<b>Figure 76.</b>	Analyses turbidimétriques de la quantification de la levure (YM) avec une concentration établie de Con A.....	<b>206</b>
<b>Figure 77.</b>	Analyses turbidimétriques de la série des glycoclusters basés sur les dérivés du pentaérythritol avec une concentration établie de Con A.....	<b>207</b>
<b>Figure 78.</b>	Analyses turbidimétriques de la série des glycodendrimères mannosylés synthétisés en SPPS avec une concentration établie de Con A.....	<b>209</b>
<b>Figure 79.</b>	Analyses turbidimétriques des structures mannosylées de poly-L-lysine construites en phase liquide avec une concentration établie de Con A....	<b>211</b>
<b>Figure 80.</b>	Analyses turbidimétriques des architectures multivalentes de la série aromatique avec une concentration établie de Con A.....	<b>212</b>
<b>Figure 81.</b>	Graphique récapitulatif des pourcentages de réticulation de la Con A provoquée par les conjugués mannosylés synthétisés.....	<b>213</b>
<b>Figure 82.</b>	Représentation schématique d'un cytomètre en flux.....	<b>215</b>
<b>Figure 83.</b>	Liaison de la Con A-FITC à la surface des cellules U87. Les couleurs de noir à bleu indiquent les différentes concentrations testées: 5, 10, 20, 50 et 100 µg/ml. La courbe à l'extrême gauche (noir plein) représente les cellules U87 libres.....	<b>217</b>
<b>Figure 84.</b>	Évaluation de la fluorescence pour a) l'efficacité de <b>M-8</b> ( $\alpha$ -MeMan, 50 µM) et b) l'efficacité du mannodendrimère <b>59</b> (50 µM, 16 résidus mannosides) sur le complexe Con A-FITC-U87.....	<b>218</b>
<b>Figure 85.</b>	Représentation du pourcentage de libération des cellules U87 induit par les dérivés mono- et multivalents mannosylés synthétisés. La concentration des composés a été établie à 50 µM alors que la concentration de la Con A-FITC est établie à 5 µg/mL.....	<b>219</b>
<b>Figure 86.</b>	Graphique présentant les valeurs du taux de libération des cellules cancéreuses U87 par rapport à un contrôle en fonction des concentrations en ligands pour la détermination des IC <sub>50</sub> .....	<b>221</b>
<b>Figure 87.</b>	Schématisme du phénomène d'agglutination.....	<b>226</b>
<b>Figure 88.</b>	Tests positif et négatif de l'hémagglutination avec le sang de cobaye et les deux souches de bactéries la <i>E. coli</i> K-12.....	<b>228</b>

<b>Figure 89.</b>	Test d'inhibition d'héماغglutination des monosaccharides sur des érythrocytes de cobaye en présence de bactéries <i>E. coli</i> BW25113.....	<b>229</b>
<b>Figure 90.</b>	Image travaillée avec le logiciel MOE du PDB-1KLF illustrant les surfaces hydrophiles (blanc-vert) et hydrophobes (rouge) en présence de l'heptyl $\alpha$ -D-mannopyranoside ( <b>M-3</b> ).....	<b>230</b>
<b>Figure 91.</b>	Test d'inhibition d'héماغglutination des mannodendrimères <b>52, 53, 54, 55, 57, 58 et 59</b> sur des érythrocytes de cobaye en présence de bactéries <i>E. coli</i> BW25113.....	<b>233</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I.</b>	Liste des inhibiteurs synthétiques mannosylés de <i>E. coli</i> pathogène contenant un aglycone aromatique.....	<b>115</b>
<b>Tableau II.</b>	Protocole synthétique appliqué pour la synthèse des structures multivalentes mannosylées par SPPS.....	<b>153</b>
<b>Tableau III.</b>	Rendements globaux et par réaction de la synthèse des dendrimères mannosylés de poly-L-lysine <b>52-55</b> en SPPS.....	<b>162</b>
<b>Tableau IV.</b>	Rendements globaux et par réaction de la synthèse des dendrimères mannosylés de poly-L-lysine allongés <b>57-59</b> en SPPS.....	<b>166</b>
<b>Tableau V.</b>	Valeurs d'IC <sub>50</sub> des meilleures structures multivalentes obtenues par cytométrie de flux de la libération des cellules U87 par l'inhibition du complexe Con A-FITC-U87.....	<b>222</b>
<b>Tableau VI.</b>	Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées autour des dérivés du pentaérythritol obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par <i>E. coli</i> BW25113.....	<b>231</b>
<b>Tableau VII.</b>	Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées en SPPS obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par <i>E. coli</i> BW25113.....	<b>232</b>
<b>Tableau VIII</b>	Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées en phase homogène obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par <i>E. coli</i> BW25113.....	<b>233</b>
<b>Tableau IX</b>	Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées autour des dérivés de l'acide trimésique obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par <i>E. coli</i> BW25113.....	<b>234</b>

## LISTE DES SCHÉMAS

Schéma 1.	Structures tétravalentes et hexavalentes obtenues par le groupe de Roy <i>via</i> des réactions de type Sonogashira.....	64
Schéma 2.	Glycoastériques moléculaires synthétisés par le groupe de Gingras..	69
Schéma 3.	Exemples de glycodendrimères contenant des fonctions thiourées....	84
Schéma 4.	Exemples de glycodendrimères PAMAM contenant des fonctions amides.....	85
Schéma 5.	Synthèse de macromolécules dendronisées hybrides constituées de chitosan et d'acide sialique.....	86
Schéma 6.	Synthèse du dendron thiosialoside selon une réaction de type S <sub>N</sub> 2....	87
Schéma 7.	Synthèse de glycodendrimères PPI contenant 32 unités glucidiques périphériques.....	90
Schéma 8.	Effet anchimérique en série D-mannoside lors de la glycosylation....	120
Schéma 9.	Schéma général de la chimie click ou CuAAC.....	121
Schéma 10.	Mécanisme proposé pour la réaction de CuAAC par les équipes de Sharpless (A) et de van Maarseveen (B).....	122
Schéma 11.	Schéma général de la réaction de diazotransfert avec le mécanisme réactionnel catalysé par le cuivre.....	124
Schéma 12.	Synthèse de 2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle 5.....	126
Schéma 13.	Synthèse de 2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 2-azidoéthyle 7.....	127
Schéma 14.	Synthèse du 4-(2-azidoéthyl)phényl 2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside 12.....	128
Schéma 15.	Synthèse des dérivés polyazotures du pentaérythritol 14, 17, et 19...	131
Schéma 16.	Synthèse du dérivé PEGylé allongé tétraazoture 23.....	133
Schéma 17.	Synthèses des coeurs multivalents hexaazotures 25 et 26.....	134

Schéma 18.	Synthèse du coeur tétravalent 27 présentant une région centrale aromatique.....	134
Schéma 19.	Synthèse du derive tétra-propargylé du pentaérythritol 29.....	135
Schéma 20.	Synthèse des glycoclusters di- (35), tri- (31) et tétra-valents (33).....	136
Schéma 21.	Synthèse des glycoclusters hexavalents 37, 39 et 40.....	138
Schéma 22.	Synthèse des glycoclusters tétravalents étendus 43 et 45.....	140
Schéma 23.	Synthèse des glycoclusters tétravalents 47 et 49 à partir du pentaérythritol propargylé 29.....	141
Schéma 24.	Mécanisme de couplage de type peptidique impliquant l'utilisation du derive BOP.....	149
Schéma 25.	Schéma de la procédure générale de la SPPS.....	152
Schéma 26.	Synthèse des derives Fmoc de la $\beta$ -alanine 50 et de la L-lysine 51...	154
Schéma 27.	Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycocluster G(0) 52.....	158
Schéma 28.	Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère de poly-L-lysine G(1) 53.....	159
Schéma 29.	Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère de poly-L-lysine G(2) 54.....	159
Schéma 30.	Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère de poly-L-lysine G(3) 55.....	160
Schéma 31.	Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère allongé de poly-L-lysine G(1) 57.....	163
Schéma 32.	Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère allongé de poly-L-lysine G(2) 58.....	164
Schéma 33.	Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère allongé de poly-L-lysine G(3) 59.....	165
Schéma 34.	Synthèse de l'acide 3-azidopropionique 61 et de l'acide 6-azidohexanoïque 56.....	170
Schéma 35.	Synthèse du dérivé azoture de la L-lysine 64.....	170

<b>Schéma 36.</b> Synthèse des cœurs dendritiques polyazotures <b>66, 67, 68</b> et <b>71</b> à partir de <b>65</b> .....	<b>173</b>
<b>Schéma 37.</b> Synthèse des glycoclusters mannosylés <b>73, 75, 77</b> et <b>79</b> .....	<b>174</b>
<b>Schéma 38.</b> Synthèse des cœurs dendritiques polyazotures de première ( <b>81</b> ) et deuxième ( <b>83</b> ) génération.....	<b>177</b>
<b>Schéma 39.</b> Synthèse du mannodendrimère de poly-L-lysine de première génération <b>85</b> contenant 12 épitopes.....	<b>178</b>
<b>Schéma 40.</b> Synthèse du mannodendrimère de poly-L-lysine de deuxième génération <b>86</b> contenant 24 épitopes.....	<b>179</b>
<b>Schéma 41.</b> Synthèse du cœur “symétrique” hexavalent <b>92</b> .....	<b>181</b>
<b>Schéma 42.</b> Synthèse du glycocluster mannosylé hexavalent <b>94</b> .....	<b>182</b>
<b>Schéma 43.</b> Synthèse des bras espaceurs linéaires ( <b>96</b> ) et branchés ( <b>99</b> ) contenant une ou plusieurs fonctions azotures terminales.....	<b>187</b>
<b>Schéma 44.</b> Synthèse du coeur tri- ( <b>101</b> ) et nona-azoture ( <b>102</b> ) à partir du chlorure de l’acide trimésique ( <b>100</b> ).....	<b>188</b>
<b>Schéma 45.</b> Synthèse du coeur tri- ( <b>104</b> ) et hexa-propargylé ( <b>106</b> ) à partir du chlorure de l’acide trimésique ( <b>100</b> ).....	<b>190</b>
<b>Schéma 46.</b> Synthèse du coeur nonapropargylé <b>109</b> à partir du chlorure de l’acide trimésique <b>100</b> .....	<b>191</b>
<b>Schéma 47.</b> Synthèse des glycoclusters déprotégés tri- ( <b>111</b> ) et nona-valent ( <b>113</b> ) à partir du dérivé mannoside <b>5</b> .....	<b>192</b>
<b>Schéma 48.</b> Synthèse des glycoclusters déprotégés tri- ( <b>115</b> ), hexa-valent ( <b>117</b> ) et nona-valent ( <b>119</b> ) à partir du dérivé mannoside <b>7</b> .....	<b>193</b>
<b>Schéma 49.</b> Synthèse des dérivés bromoacétamides, précurseurs de dendrons mannosylés <b>121</b> et <b>122</b> .....	<b>195</b>
<b>Schéma 50.</b> Synthèse des dendrons trimannosylés bromés <b>123</b> et <b>124</b> , et azotures <b>125</b> et <b>126</b> .....	<b>196</b>

<b>Schéma 51.</b> Synthèse du mannodendrimère déprotégé de première génération <b>128</b> (a) et spectre de masse à haute résolution obtenu en TOF en mode positif.....	<b>197</b>
<b>Schéma 52.</b> Synthèse du mannodendrimère déprotégé de première génération <b>130</b> (a) et spectre de masse à haute résolution obtenu en TOF en mode positif.....	<b>198</b>

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

### A

Å	Angstrom
$\alpha$	Alpha
Ac	Acétyle
Ac. asc.	Acide ascorbique
Ac <sub>2</sub> O	Anhydride acétique
ACN	Acétonitrile
AcOEt	Acétate d'éthyle
APT	Attached Proton Test (anglais)
Arom.	Aromatique
Asp	Aspartate
Asn	Asparagine
ATRP	Polymérisation radicalaire par un transfert d'atome

### B

$\beta$	Béta
BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O	Étherate de trifluorure de bore
Bn	Benzyle
BnBr	Bromure de benzyle
Boc	<i>t</i> -Butoxycarbonyle
BOP	Benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -Butanol
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyle



C

<i>c</i>	Concentration
C	Carbone
C <sub>q</sub>	Carbone quaternaire
CAN	Ceric Ammonium Nitrate (Révélateur)
Cbz	Carbamate de benzyle
CCM	Chromatographie sur couche mince
CD	Cyclodextrine
CHCl <sub>3</sub>	Chloroforme
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlorométhane
CH <sub>3</sub> CN	Acétonitrile
cm	Centimètre
COSY	CORrelated SpectroscopY
CRD	Domaine de reconnaissance des carbohydrates
CuAAC	Cu-catalyzed azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition (anglais)
CuI	Iodure de cuivre
CuSO <sub>4</sub>	Sulfate de cuivre
Cys	Cystéine

D

D	Deutérium
DCC	Dicylohexylcarbodiimide
DC-SIGN	Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin (anglais)
DCU	Dicyclohexylurée
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
décomp.	Décomposition
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (anglais)
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimide

DIPEA	<i>N,N'</i> -diisopropyléthylamine
DMAP	4- <i>N,N</i> -Diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMI	Diméthylimidazolidinone
DMSO	Diméthylsulfoxyde
D.O.	Densité optique
D <sub>2</sub> O	Eau deutérée (ou lourde)

**E**

$\varepsilon$	epsilon
<i>E. coli.</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDCI	1-éthyle-3-(3-(diméthylaminopropyle)carbodiimide (ou EDC)
EEDQ	2-éthoxy-1-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (anglais)
ELLA	Enzyme Linked Lectin Assay (anglais)
EPR (effect)	Enhanced Permeability and Retention (anglais)
éq.	Équivalent
EtOAc	Acétate d'éthyle
Et <sub>2</sub> O	Ether diéthylique
Et <sub>3</sub> N	Triéthylamine

**F**

FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting (anglais)
FDA	Food and Drug Administration (anglais)
FITC	Fluorescein Isothiocyanate (anglais)
FK	Fibrose kystique
Fuc	L-fucose
Fmoc	Fluorényle-Méthoxy-Carbonyle (anglais)

G

G	Génération (dendrimère)
Gal	D-galactose
GalNAc	<i>N</i> -Acétyl-D-galactosamine
Glc	D-glucose
GlcNAc	<i>N</i> -Acétyl-D-glucosamine
Gln	Glutamine
Glu	Glutamate

H

h	Heure
H	Hydrogène
H <sub>2</sub>	Dihydrogène
HATU	2-(1H-7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyl uronium hexafluorophosphate
HBr	Bromure d'hydrogène
HBTU	2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthylaminium hexafluorophosphate
HCl	Acide chlorhydrique
HETCOR	Heteronuclear Chemical Shift Correlation
HF	Fluorure d'hydrogène
His	Histidine
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
HOBt	1-Hydroxybenzotriazole
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (anglais)
HSQC	Heteronuclear Simple Quantum Correlation (anglais)
HSV	Virus Herpes Simplex (anglais)
Hz	Hertz

I

I <sub>2</sub>	Iodine
IC <sub>50</sub>	Concentration en inhibiteur provoquant 50% d'inhibition
IES	Ionization par Electrospray
Im	Imidazole
IR	Infrarouge
IRM	Imagerie par Resonance Magnétique
ITC	Isothermal Titration Calorimetry (anglais)
ITU	Infection du Tractus Urinaire

K

K <sub>a</sub>	Constante d'affinité
Kcal/mol	Kilocalorie par mole
KJ/mol	KiloJoule par mole
K <sub>d</sub>	Constante de dissociation
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonate de potassium

L

LiOH	Hydroxyde de lithium
Litt.	Littérature
Le <sup>a</sup>	Lewis a
Le <sup>x</sup>	Lewis x
Leu	Leucine
Lys	Lysine

M

M	Molarité ; concentration (mol/L)
Man	D-mannose
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight (anglais)
Me	Méthyle
MeI	Iodométhane
MeOH	Méthanol
MeONa	Méthanolate de sodium
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz
MIC	Concentration minimale d'inhibition
min.	Minute
mL	Millilitre
mmol	Millimole
MOE	Modélisation Orbitale Électronique
<i>m/z</i>	Rapport masse/charge

N

NaCl	Chlorure de sodium
NaH	Hydruure de sodium
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonate de sodium
NaBH <sub>3</sub> CN	Cyanoborohydrure de sodium
NaHCO <sub>3</sub>	Hydrogénocarbonate de sodium
NaN <sub>3</sub>	Azoture de sodium
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfate de sodium
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NH <sub>4</sub> Cl	Chlorure d'ammonium

nm	Nanomètre
nM	Nanomolaire
NOE	Effet Overhauser nucléaire

## O

OLEDs	Diodes électroluminescentes organiques
-------	--

## P

PAMAM	Dendrimère poly(amidoamine)
PBS	Tampon phosphate salin
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Pd <sup>0</sup>	Palladium zero
Pd/C	Palladium sur charbon
PEG	Poly(éthylène)glycol
p. f.	Point de fusion
Pfp	Pentafluorophényle
Ph	Phényle
Phe	Phénylalanine
PPI	Dendrimère poly(propylèneimine)
ppm	partie par million
Pro	Proline
PV	Photovoltaïque
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosponium
	Hexafluorophosphate
Pyr	Pyridine

R

RAFT	Polymérisation par transfert de chaînes réversible par addition-fragmentation
rend.	Rendement
Rf	Rapport frontal
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
ROMP	Polymérisation par Ouverture de Cycle par Métathèse

S

SAMS	Self Assembled Monolayers on gold (anglais)
Ser	Sérine
SM (ESI)	Spectrométrie de masse (électrospray)
SMHR	Spectrométrie de masse haute résolution
S <sub>N</sub>	Sustitution nucléophile
SOCl <sub>2</sub>	Chlorure de thionyle
SPPS	Synthèse Peptidique en Phase Solide (anglais: Solid Phase Peptide Synthesis)
SPR	Resonance des plasmons de surface

T

Tamis mol.	Tamis moléculaire
TBAHS	Hydrogénosulfure de tétrabutylammonium
TBTU	2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthylamminium tétrafluoroborate
TF	Antigène disaccharidique de Thomsen-Friedenreich
TFA	Acide trifluoroacétique
Tf <sub>2</sub> O	Trifluorométhanesulfonique anhydre

THF	Tétrahydrofurane
Thr	Thréonine
TMSOTf	Triméthylsilyltrifluorométhane sulfonate
TfN <sub>3</sub>	Azoture de triflate
TNBS	Acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique
TNTU	<i>O</i> -(Bycyclo[2.2.1]hept-5-ène-2,3-dicarboximido)- <i>N,N,N',N'</i> -tétraméthyluronium tétrafluoroborate
t.p.	Température pièce
TRIS	Tris(hydroxyméthyl)aminométhane
Trp	Tryptophane
Trt	trityle
TSTU	<i>N,N,N',N'</i> -Tétraméthyl- <i>O</i> -( <i>N</i> -succinimidyl)uronium tétrafluoroborate
Tyr	Tyrosine

U

μL	Microlitre
μM	Micromolaire
UPEC	Bactéries <i>E. coli</i> uropathogéniques
UV	Ultraviolet

V

VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
-----	-------------------------------------

Y

YM	Yeast Mannan (levure)
----	-----------------------



## RÉSUMÉ

Les infections urinaires (UTI) sont la forme la plus courante des infections extra-intestinales causées dans 90 % des cas par la bactérie *Escherichia coli*. Plus de 100 000 personnes sont hospitalisées chaque année aux États-Unis en raison de complications rénales avec des risques de septicémies. La gestion des infections urinaires (UTIs) repose depuis longtemps sur le principe de la thérapie par les antibiotiques. Généralement ces derniers détruisent les bactéries en s'attaquant à leur structure cellulaire et en interférant profondément le cycle cellulaire normal. De ce fait, ces infections bactériennes deviennent une grande problématique au niveau mondial. La surconsommation et la mauvaise utilisation d'antibiotiques ont involontairement produit de nouvelles souches de bactéries résistantes qui ont développé des stratégies de défenses vis-à-vis de ces médicaments et qui peuvent donner naissance à des infections non traitables pouvant mener à la mort. Une nouvelle thérapie serait de mise pour l'éradication de ce phénomène en contre-carrant cette résistance par l'inhibition du premier contact entre la bactérie et les cellules et représenterait une alternative séduisante. L'adhésion bactérienne médiée par les interactions multivalentes protéines-glucides constitue le premier événement de l'infection à la surface urothéliale. La bactérie *E. coli* comportant des lectines Fim H comme protéines de surface sur leurs pili ne déroge pas à cette règle en se liant spécifiquement aux  $\alpha$ -D-mannosydes des récepteurs d'uropilines pour adhérer aux cellules urothéliales. Considérant l'importance de ce phénomène, notre travail s'est porté sur la synthèse de macromolécules glycosylées servant de mimétiques multivalents. Ces inhibiteurs synthétiques potentiels de l'adhésion bactérienne ont pu être obtenus de façon monodisperse, avec une valence contrôlée, sous la forme de «glycoclusters» ou «glycodendrimères». En effet, les dendrimères sont des macromolécules très bien définies avec une uniformité et une symétrie pouvant offrir une grande surface fonctionnelle multivalente. Concernant l'approche synthétique, la voie divergente a été empruntée, partant du cœur pour aboutir à des terminaisons fonctionnelles à la surface. Cette croissance dendritique a pu être développée et contrôlée avec l'utilisation d'éléments branchés de type aliphatique ou aromatique en utilisant des réactions efficaces de substitution nucléophile, de couplage peptidique, et de diazotransfert. La fonctionnalisation des dendrimères exhibant des épitopes a été effectuée avec la chimie «click» (ou CuAAC) sur trois dérivés mannosylés différents contenant les fonctions chimiques complémentaires requises. Ainsi, ces structures multivalentes mannosylées ont été synthétisées avec de hauts rendements, avec une variété architecturale contrôlée dont l'influence a été appréciée lors des investigations biologiques. Dans ce contexte, leur potentiel en tant que ligands synthétiques a été évalué par des tests préliminaires de turbidimétrie avec la lectine végétale Con A et des investigations plus avancées impliquant des tests d'inhibition sur des cellules cancéreuses U87 et des bactéries *E. coli*.

**Mots clés:** *E. coli* uropathogénique, UTI, anti-adhésines, inhibition de l'adhésion bactérienne, Fim H, mannosides, multivalence, glycoclusters, glycodendrimères, couplage peptidique, diazotransfert, chimie click, tests d'inhibition d'hémagglutination, FACS.

# CHAPITRE I

## INTRODUCTION

### 1.1 MISE EN CONTEXTE

L'objectif principal de ce présent mémoire réside dans la présentation de la synthèse et de l'étude de structures multivalentes mannosylées comme inhibiteurs potentiels de la Fim H de la bactérie *E. coli* uropathogénique. La lectine Fim H, que l'on retrouve à l'extrémité des fimbriae (pili) de cette dernière, reconnaît spécifiquement des glycanes de type mannoside sur la surface urothéliale, ce qui lui permet de s'y lier pour engendrer des processus d'infection. À l'instar de la majorité des phénomènes d'interaction fondamentaux glucides-protéines, l'augmentation du nombre d'interactions par l'intermédiaire de la présentation multivalente d'épitopes permet un effet synergique et coopératif bénéfique engendré par un phénomène naturel appelé « effet dendritique ou cluster ». Il en résulte alors une meilleure adhésion entre le ligand et le récepteur. Ainsi, dans le but de proposer des structures multivalentes contenant des glucides périphériques et mimant les ligands naturels, les différentes architectures glycosylées synthétisées et décrites lors de ce travail pourront permettre d'établir des relations entre l'agencement des paramètres structuraux (valence, rigidité, fonctionnalisation, densité...) et leur capacité à agir comme inhibiteurs potentiels de l'adhésion bactérienne. Le but ultime est d'étudier et de comprendre les phénomènes de reconnaissance moléculaire par l'intermédiaire de ces interactions pour proposer des structures synthétiques optimisées pour une application anti-virale et anti-bactérienne.

Ce travail sera divisé en plusieurs volets. Le premier chapitre introductif sera dans un premier temps l'objet d'une description détaillée des notions fondamentales de la multivalence et de son rôle dans les phénomènes naturels. Nous exposerons par la suite la synthèse et l'utilisation de divers systèmes multivalents naturels et synthétiques en mettant l'emphase sur les architectures sucrées monodisperses de type glyoclusters et

glycodendrimères. Leur usage en tant qu'inhibiteurs potentiels sera exposé et étayé au moyen d'exemples pertinents sélectionnés de la littérature. La seconde partie de ce chapitre portera sur la description sommaire de notre cible, la bactérie *E. coli* uropathogénique, en soulignant les enjeux thérapeutiques et le contexte biologique. Les chapitres suivants seront consacrés de façon détaillée à l'élaboration de nos structures mannosylées multivalentes. Ainsi, il sera question, dans le chapitre 2, de la synthèse de glycoclusters à partir du cœur commercial pentaérythritol. Auparavant, certains concepts fondamentaux relatifs à la chimie des sucres et aux modes de conjugaison entre les plateformes multivalentes et les dérivés glucidiques synthétisés seront évoqués. Dans ce contexte, les notions d'effet anomérique et d'assistance anchimérique, accompagnées des principes des réactions de diazotransfert et de « chimie click » seront abordées. La synthèse d'architectures multivalentes peptidiques basées sur la répétition de motifs branchés de type poly-L-lysine impliquant une stratégie de synthèse en phase solide fera l'objet du troisième chapitre. L'obtention de structures analogues en phase liquide homogène a de même été envisagée à partir du cœur tris(2-aminoéthyl)amine et sera décrite dans le quatrième chapitre. Dans le dernier chapitre de synthèse, on rapportera l'élaboration de petits glycoclusters construits à partir d'un cœur trivalent aromatique en plus d'aborder la construction de structures dendritiques multi-génération avec l'emploi de motifs branchés de type AB<sub>3</sub>. Enfin, la dernière partie de ce travail sera consacrée aux investigations biologiques effectuées par nos soins ou avec l'aide de collaborateurs afin d'évaluer l'affinité de nos structures avec différentes cibles biologiques (Con A, *E. coli* pathogénique) et de dégager des tendances concernant l'influence des paramètres structuraux introduits en vue de l'obtention de structures efficaces optimisées.

## 1.2 NOTION DE MULTIVALENCE

### 1.2.1. Définition de la multivalence

Généralement, la valence d'une simple molécule, d'une protéine, d'un oligosaccharide, d'un acide nucléique, d'un virus, d'une bactérie ou encore d'une cellule, peut se définir comme le nombre d'unités structurales distinctes présentes pouvant former des

interactions de type ligand-récepteur avec une autre entité.<sup>1</sup> Ainsi, le terme « interactions poly- ou multivalentes » peut se définir comme un phénomène d'associations spécifiques simultanées de plusieurs ligands (dits encore épitopes) présents sur une molécule ou une surface biologique qui se lie selon un processus coopératif à de multiples récepteurs présents sur une entité complémentaire.

L'implication de ces interactions multivalentes à différents niveaux, et notamment dans de nombreux phénomènes biologiques sera mise en évidence dans ce chapitre.

### 1.2.2. Rôle de la multivalence dans les phénomènes naturels

La multivalence dans la nature est souvent exprimée sous une forme fractale ou dans des architectures dendritiques et représente certainement l'une des topologies les plus répandues observées dans le règne animal ou végétal.<sup>2</sup> En effet, de nombreux exemples de ces motifs dendritiques sont répertoriés à différents niveaux dimensionnels, de l'échelle du mètre au micron. Des exemples typiques peuvent être observés dans les systèmes abiotiques (cristaux de neige, érosions fractales, ou encore dendrites de manganèse), et dans le monde biologique (branches et racines des arbres, fougères, topologies circulatoires de l'anatomie humaine telles que les poumons ou les reins, le système respiratoire, les neurones ou encore le système d'adhésion du Gecko) (Fig. 1).

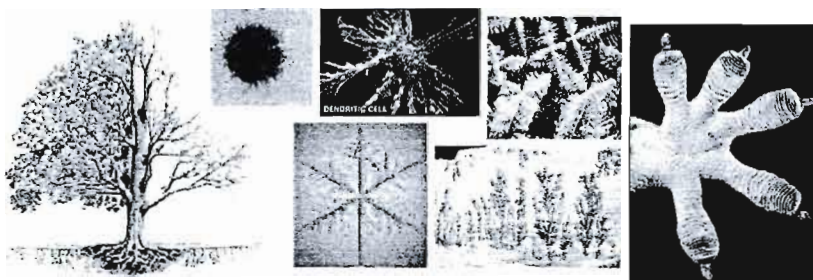


Figure 1. Exemples d'architectures dendritiques observées dans la nature.

<sup>1</sup> 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. Engl.* 1998, 37, 2754-2794.

<sup>2</sup> Thompson, D. *On Growth and Form*, Cambridge University Press, London, 1987.

Les raisons d'un tel mimétisme à toutes ces dimensions demeurent inexplicables, mais il a été spéculé que ces architectures ont évolué de façon à augmenter les surfaces, à maximiser les interfaces et à optimiser les échanges et les interactions, se traduisant notamment par des processus efficaces d'extraction/distribution d'énergie, de nutriments, d'informations ou d'adhésion.

Par exemple, les arbres utilisent cette forme fractale dendritique spécifique par l'intermédiaire de leur branchage pour augmenter l'exposition de leurs feuilles à la lumière du soleil pour maximiser le processus de photosynthèse, ou de leurs racines pour une collecte efficace d'eau à travers le sol. Un autre exemple concerne les structures hyperbranchées de glycogène et d'amylopectine, nécessaires au stockage de l'énergie, dont les extrémités sont présumées faciliter les processus enzymatiques impliquant le glucose pour les événements nécessitant de l'énergie. Les protéoglycanes constituent de même de parfaits exemples de nanostructures dendritiques impliquées dans les systèmes biologiques. De plus, le réseau complexe du système respiratoire s'étend selon cette topologie par l'intermédiaire des bronchioles et des alvéoles pour donner accès à un maximum de surface et ainsi optimiser l'efficacité du transfert de l'oxygène dans le flux sanguin. Les artères et le système nerveux central s'appuient d'ailleurs sur le même schéma avec une croissance des cellules en structures dendritiques pour un échange optimal d'informations et de matières avec les tissus environnants.<sup>3</sup> Un autre exemple frappant fourni par la Nature concerne l'exposition d'un large réseau complexe de glycoconjugués dendritiques à la surface de cellules humaines. Ces structures saccharidiques jouent un rôle crucial dans différents événements cellulaires tels que l'adhésion, la reconnaissance, la régulation de fonctions physiologiques et les infections pathogènes. Par exemple plusieurs hypothèses impliquant leur rôle lors des processus d'infection par le VIH-1 ont été formulées. Il a été spéculé que les *N*-glycanes polysaccharides, c'est-à-dire composés de monosaccharides reliés par des liaisons glycosidiques, de type  $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ , exposés sur l'enveloppe extérieure de la glycoprotéine gp120, aidaient le virus à échapper aux anticorps neutralisants du fait de leur non-reconnaissance par le système immunitaire.<sup>4</sup> Enfin, un dernier exemple soulignant l'implication de ces patrons dendritiques permettant au Gecko d'escalader rapidement des

<sup>3</sup> Ganong, W. F. *Review of Medical Physiology*, 15<sup>th</sup> edn, Prentice-Hall, New York, 1991.

<sup>4</sup> Sirois, S.; Touaibia, M.; Chou, K.-C.; Roy, R. Glycosylation of HIV-1 gp120 V3 loop: Towards the Rational Design of a Synthetic Carbohydrate Vaccine. *Curr. Med. Chem.* 2007, 30, 3232-3242.

surfaces verticales lisses a récemment été détaillé.<sup>5</sup> Des examens microscopiques ont permis de montrer la complexité d'une patte de Gecko, constituée de cinq cent mille poils kératineux (*setae*), chacun composé d'un impressionnant réseau dendritique de millions de « mini poils » (*spatulae*). Les études ont mis en évidence le formidable pouvoir d'adhésion de chaque *seta*, opérant chacune par l'intermédiaire de forces d'attraction chimique de type Van der Waals, interagissant avec les molécules de la surface.

### 1.3 LA MULTIVALENCE DANS LES INTERACTIONS PROTÉINES-GLUCIDES

#### *1.3.1. Importance des interactions protéines-glucides*

Les saccharides sont exprimés à la surface de la majorité des cellules des mammifères et sont liés à des protéines (« glycoprotéines »), à des lipides (« glycolipides ») ou encore à certains constituants cellulaires (« protéoglycanes ») qui sont enchevêtrés dans la membrane cellulaire et agencés dans des configurations multi-antennaires (Fig. 2). En d'autres termes, ces oligosaccharides résultants représentent des transducteurs de signaux entre les milieux extra- et intra-cellulaires.<sup>6,7,8</sup>

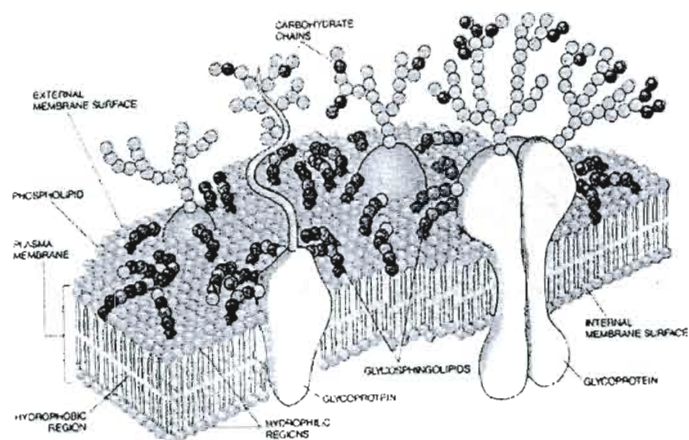
---

<sup>5</sup> Autumn, K.; Liang, Y. A.; Hsieh, S. T.; Zesch, W.; Chan, W. P.; Kenny, T. W.; Fearing, R.; Full, R. J. Adhesive force of a single gecko foot-hair. *Nature* **2000**, *405*, 681-685.

<sup>6</sup> Varki, A. Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology* **1997**, *3*, 2, 97-130.

<sup>7</sup> Bertozzi, C. R.; Kiessling, L. Chemical Bioglycology. *Science* **2001**, *291*, 2357-2364.

<sup>8</sup> Varki, A.; Cummings, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Hart, G.; Marth, J. Eds *Essentials of Glycobiology* **1999**, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.



**Figure 2.** Présentation des glycoformes à la surface cellulaire (tirée de Barondes *et al. J. Biol. Chem.* 1994, 269, 20807).

De par cette omniprésence, les structures glycoconjuguées exhibent un large panel de fonctions biologiques telles que *i)* la présentation de cibles pour les micro-organismes, les toxines, les anticorps; *ii)* le contrôle du temps de vie des protéines; *iii)* la modulation des fonctions des protéines; *iv)* l'approvisionnement de ligands pour des processus spécifiques. Ainsi, les interactions protéines-saccharides gouvernent plusieurs phénomènes biologiques importants, à la fois normaux et pathologiques.<sup>9,10,11</sup> Ces processus incluent la synthèse et la dégradation enzymatique des oligo- et poly-saccharides, la distribution des glycoconjugués à l'intérieur de la cellule, le transport des sucres dans les cellules vivantes et celui de leurs dérivés dans les organelles cellulaires, la migration des leucocytes aux sites d'inflammation, les interactions anticorps-antigène et anticorps-antigène-macrophage, la croissance cellulaire, la différenciation, l'orientation des cônes neuronaux au cours du développement. Ces interactions jouent également un rôle principal dans un grand nombre de phénomènes d'adhésion cellulaire tels que l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales, la réaction acrosomique lors de la fertilisation et l'adhésion des pathogènes (les bactéries, virus, mycoplasmes et parasites) aux cellules humaines lors de la première étape de l'infection.

<sup>9</sup> Gabius, H. J.; Siebert, H. C.; André, S.; Jiménez-Barbero, J.; Rüdiger, H. Chemical biology of the sugar code. *ChemBioChem*. 2004, 5, 6, 740-764.

<sup>10</sup> Dwek, R. A. Glycobiology: Toward understanding the function of sugars. *Chem. Rev.* 1996, 96, 683-720.

<sup>11</sup> Sharon, N.; Lis, H. Lectins as cell recognition molecules. *Science* 1989, 216, 227-234.

Malgré leur importance biologique, l'étude des interactions protéines-saccharides a longtemps été entravée par la complexité structurale et fonctionnelle des sucres. Tandis que les deux autres classes de bio-polymères, constituées des acides nucléiques et des protéines, possèdent des structures linéaires et répétitives, les sucres ont plusieurs fonctions d'attache qui mènent à des structures hyperbranchées complexes et très riches en stéréochimie. De plus, leur hétérogénéité est exacerbée par des modifications post-synthétiques, où les groupes hydroxyles peuvent être sulfatés, phosphorylés, acylés, ou même oxydés pour fournir certaines activités biologiques distinctes, comme par exemple, les sucres sulfatés qui agissent comme des médiateurs efficaces des inflammations<sup>12</sup> et les sucres phosphorylés qui jouent des rôles importants dans la transduction du signal et le métabolisme cellulaire.<sup>13</sup> La sélectivité exigée pour la reconnaissance cellulaire est assurée par adaptation stéréospécifique entre deux molécules complémentaires. L'une est porteuse de l'information biologique (saccharide) et l'autre est capable de décoder cette information (protéines liantes aux sucres appartenant à la classe des lectines). Ce concept, ayant pour origine l'hypothèse « Clef-Serrure » (*Lock & Key*) de Fischer pour expliquer la spécificité des interactions entre les enzymes et leurs substrats en solution, est maintenant étendu à toutes les interactions intra et intercellulaires.

### 1.3.2. L'effet cluster glycosidique

Les processus de reconnaissance entre les saccharides et leur récepteur se déroulent dans un espace spécifique constitué de séquences d'acides aminés appelé CRD (Carbohydrate Recognition Domain). Bien souvent, les associations se créent avec les ligands par l'intermédiaire de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes, auxquelles s'ajoutent des interactions ioniques et des liaisons d'associations avec des ions métalliques. Parfois, une ou plusieurs molécules d'eau, jouant un rôle prépondérant dans l'équilibre énergétique de

---

<sup>12</sup> Rosen S. D.; Bertozzi C. R. Leukocyte adhesion: Two selectins converge on sulphate. *Curr Biol.* 1996, 6, 261-264.

<sup>13</sup> Vaulont, S.; Kahn, A. Transcription control of metabolic regulation genes by carbohydrates. *FASEB J.* 1994, 8, 28-35.



l'association d'un ligand avec son récepteur, participent à ces phénomènes.<sup>14,15,16</sup> De plus, une association au sous-site assisté par l'aglycone peut de même contribuer à la reconnaissance.<sup>17</sup>

Malgré l'importance de ces phénomènes de reconnaissance et les mécanismes mis en jeu, il a été démontré que, sur une base monosaccharide, ces interactions n'étaient caractérisées que par de faibles constantes d'association de l'ordre du mM au  $\mu$ M, avec des spécificités et des sélectivités limitées.<sup>18,19</sup> Ces caractéristiques vont ainsi à l'encontre des activités biologiques normalement observées qui préconisent des affinités élevées et sélectives. Selon un phénomène naturel, le choix d'interactions polyvalentes constituées de multiples associations de faible affinité sera plutôt prioritaire sur une association monovalente de très forte affinité. On peut citer par exemple: *i)* la capacité à contrôler l'intensité des réponses biologiques avec un seul type d'interaction, selon le nombre d'interactions; *ii)* la capacité à induire des réponses différentes à partir du même sucre grâce à la complémentarité tridimensionnelle entre le ligand polyvalent et le récepteur; *iii)* la capacité à augmenter la spécificité d'une liaison par des interactions soit impliquant le même sucre, soit impliquant des sucres différents; *iv)* la capacité à créer une complémentarité tridimensionnelle entre deux surfaces biologiques permettant ainsi de moduler la communication entre deux cellules par l'intermédiaire de plusieurs points d'attache; *v)* la capacité à induire des interactions fortes mais réversibles entre deux entités, dont la mobilité est cruciale à la fonction biologique.

Ainsi, ces interactions sont transformées et naturellement renforcées de façon exponentielle pour fournir de puissantes forces d'attraction lorsque plusieurs copies du ligand sont présentées à des récepteurs complémentaires agglomérés de façon similaire. Ce

---

<sup>14</sup> Cambillau, C.; Montreuil, J.; Schachter, H.; Vliegthart, J. F. G. (eds) *Glycoproteins* 1995, Elsevier, Amsterdam.

<sup>15</sup> Weis, W. I.; Drickamer, K. Structural basis of lectin-carbohydrate recognition. *Ann. Rev. Biochem.* 1996, 65, 441-473.

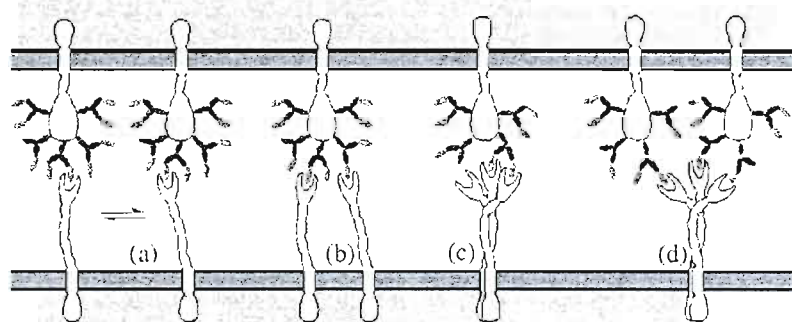
<sup>16</sup> Lis, H.; Sharon, N. Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem. Rev.* 1998, 98, 637-674

<sup>17</sup> Sharon, N. Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease. *FEBS Letters* 1987, 217, 145-157.

<sup>18</sup> Dam, T. K.; Roy, R.; Pagé, D.; Brewer, C. F. Thermodynamic Binding Parameters of Individual Epitopes of Multivalent Carbohydrates to Concanavalin A As Determined by "Reverse" Isothermal Titration Microcalorimetry. *Biochemistry* 2002, 41, 1359-1363.

<sup>19</sup> Mann, D. A.; Kanai, M.; Maly, D. J.; Kiessling, L. L. Probing Low Affinity and Multivalent Interactions with Surface Plasmon Resonance: Ligands for Concanavalin A. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 10575-10582.

phénomène résultant d'un effet synergique et coopératif est défini comme l'« effet cluster glycoside » (Fig. 3) et a été observé pour la première fois avec les récepteurs d'asialoglycoprotéines présents dans les hépatocytes qui se lient aux oligosaccharides ayant des résidus  $\beta$ -Gal et  $\beta$ -GalNAc terminaux.<sup>20,21,22,23</sup> Cet effet met en exergue la possibilité que plusieurs interactions simultanées aient des propriétés collectives qualitativement différentes de celles montrées par leurs constituants monovalents. En d'autres termes, la résultante des associations multivalentes observée est largement supérieure à la somme des interactions monovalentes.



**Figure 3.** Représentation des différents mécanismes de l'effet cluster glycosidique (tirée de la réf. 23).

Par conséquent, les ligands polyvalents naturels et synthétiques peuvent agir à la fois comme des inhibiteurs ou des effecteurs efficaces des processus biologiques.<sup>24</sup> Puisqu'ils présentent plusieurs épitopes de reconnaissance des récepteurs, ils peuvent se lier théoriquement aux récepteurs avec une avidité et une spécificité plus élevées que les analogues monovalents correspondants. Cependant, la diversité des modes d'association selon lesquels un ligand multivalent peut interagir avec son récepteur augmentent encore la

<sup>20</sup> Lee, Y. C.; Lee, R. T. Carbohydrate-Protein Interactions: Basis of Glycobiology. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 8, 321-327.

<sup>21</sup> Lundquist, J. L.; Toone, E. J. The Cluster Glycoside Effect. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555-578.

<sup>22</sup> Kiessling, L. L.; Gestwicki, J. E.; Strong, L. E. Synthetic Multivalent Ligands as Probes of Signal Transduction. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, *45*, 15, 2348-2368.

<sup>23</sup> Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. Design and Synthesis of Glycodendrimers, *Rev. Molec. Biotechnol.* **2002**, *90*, 231-255.

<sup>24</sup> Kiessling, L. L.; Gestwicki, J. E.; Strong, L. E. Synthetic multivalent ligands in the exploration of cell-surface interactions. *Curr Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 6, 696-703.

complexité des phénomènes et rend leur compréhension difficile.<sup>25,26</sup> Selon Kiessling *et al.*, le mode d'association d'un ligand polyvalent serait influencé par son architecture, dont la valence, l'agencement des éléments structuraux, la taille et la nature des espaceurs, la densité en épitopes ou encore l'arrangement des sites accepteurs, mais aussi par la valence et la géométrie de son récepteur.<sup>27</sup> La réassociation statistique,<sup>24</sup> l'association au sous-site<sup>28</sup> et l'assemblage des récepteurs<sup>24</sup> sont généralement observés avec des récepteurs monovalents. Quant aux récepteurs multivalents, la chélation<sup>25</sup>, la réticulation des récepteurs et la stabilisation stérique<sup>29</sup> prennent place. Globalement, au niveau moléculaire, on attribue ce phénomène d'accroissement des affinités à deux mécanismes distincts: *i*) un effet statistique intermoléculaire, appelé agrégation, selon lequel le composé multivalent induit une haute concentration localisée en ligands sur les sites de reconnaissance (Fig. 3 a); *ii*) un effet intramoléculaire selon lequel le ligand multivalent réticule en se liant aux sites de reconnaissance des récepteurs adjacents (Fig. 3 b) ou ceux d'un même récepteur multivalent (Fig. 3 c et Fig.d)).

Le fait que ce type d'interactions ne peut être considéré individuellement, associé à la complexité des mécanismes mis en jeu, représente un défi supplémentaire pour l'étude et la compréhension de ce domaine fondamental. Ainsi la compréhension des différents modes d'associations évoqués plus haut et l'élucidation de leur mécanisme ont contribué à la conception de systèmes multivalents de type néoglycoconjugués dont certains possèdent de fortes avidités liantes aux protéines en se basant sur des systèmes polyvalents naturels. En outre, leur interprétation au niveau moléculaire avec les considérations énergétiques (paramètres thermodynamiques) qui les gouvernent pourrait permettre l'optimisation des

<sup>25</sup> Kitov, P. I.; Sadowska, J. M.; Mulvey, G.; Armstrong, G. D.; Ling, H.; Pannu, N. S.; Read, R. J.; Bundle, D. R. Shiga-like toxins are neutralized by tailored multivalent carbohydrate ligands. *Nature* **2000**, *403*, 669-672.

<sup>26</sup> Fan, E.; Zhang, Z.; Minke, W. E.; Hou, Z.; Verlinde, C. L. M. J.; Hol, W. G. J. High-affinity pentavalent ligands of *Escherichia Coli* heat-labile enterotoxin by modular structure-based design. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2663-2264.

<sup>27</sup> Kiessling, L. L.; Strong, L. E.; Gestwicki, J. E. Principles for multivalent ligand design. *Annu. Rep. Med. Chem.* **2000**, *35*, 321-330.

<sup>28</sup> Howorka, S.; Nam, J.; Bayley, H.; Kahne D. Stochastic Detection of Monovalent and Bivalent Protein-Ligand Interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 842-846.

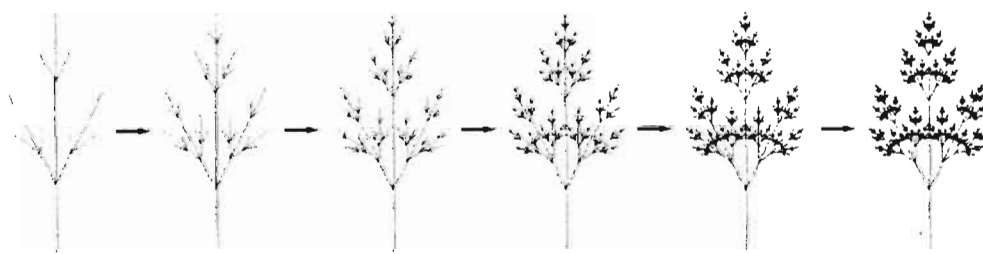
<sup>29</sup> Mammen, M.; Dahmann, G.; Whitesides, G. M. Effective inhibitors of hemagglutination by Influenza Virus synthesized from polymers having active ester groups. Insight into mechanisms of inhibition. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4179-4190.

architectures multivalentes synthétiques.<sup>30</sup> Ultimentement, ces derniers peuvent aider à décrypter la façon dont la Nature a outrepassé la limitation des faibles constantes d'affinité et de spécificité individuelles au moyen de la multivalence. Dans ce contexte, de nombreux ligands multimériques ont été synthétisés et étudiés avec plusieurs protéines, dans le but de mieux comprendre l'influence et la contribution des paramètres nécessaires à une forte affinité ou à une réponse biologique particulière. La plupart des ligands polyvalents montrent une amélioration plus ou moins importante dans leurs activités biologiques comparée aux ligands monovalents correspondants sur la base de valence corrigée, c'est-à-dire, la concentration en saccharides dans la solution. À la suite d'une brève présentation portant sur le concept général des dendrimères, une description détaillée de la synthèse et des applications de néoglycoconjugués multivalents fera l'objet des sections suivantes.

## 1.4 INTRODUCTION AUX DENDRIMÈRES

### 1.4.1. Définitions et généralités sur les dendrimères

Un dendrimère représente une macromolécule synthétique polyfonctionnelle, monodisperse et hautement branchée qui est constituée d'unités répétitives se liant chimiquement selon un processus arborescent autour d'un cœur central plurifonctionnel (Fig. 4).<sup>31,32</sup>



**Figure 4.** Schématisation de la croissance arborescente d'un dendrimère (tirée de la réf. 31).

<sup>30</sup> Houseman, B. T.; Mrksich, M. *In Host-Guest Chemistry* 2002; 218, 1-44.

<sup>31</sup> Newkome, G. R.; Moorefield, C. N.; Vögtle, F. *Dendrimers and Dendrons: Concepts, Synthesis, Applications*, Ed. Wiley-VCH, Weinheim Germany, 2001.

<sup>32</sup> Fréchet, J. M. J.; Tomalia, D. *Dendrimers and Other Dendritic Polymers*, Ed. John Wiley & Sons, New York, 2001.

Les dendrimères, à la différence des polymères linéaires, sont des macromolécules hautement branchées monomoléculaires, de taille et de forme tridimensionnelle modulables. Bien que leur masse moléculaire, leur fonctionnalisation ainsi que leur extension dans l'espace puissent être extraordinairement grandes, celles-ci demeurent contrôlables lors de processus de synthèse itératif. Bien que des différences en termes de compaction et de rigidité subsistent, les dendrimères sont souvent comparés à des « protéines artificielles » avec leur structure globulaire ou semi-globulaire comportant une haute densité de fonctionnalités périphériques dans un espace restreint (Fig. 5).<sup>33,34</sup> Néanmoins, bien qu'il existe de nombreuses similarités entre les dendrimères et les protéines globulaires, il n'en demeure pas moins des différences fondamentales. Les protéines globulaires ont des structures tertiaires et quaternaires résultant du repliement complexe de structures linéaires séquencées. Elles sont extrêmement fragiles, photosensibles et susceptibles d'être dénaturées selon les conditions de température et de pH. De plus, l'intérieur de ces structures est très dense du fait de ce phénomène de repliement et les surfaces présentent différentes fonctions dont l'enchaînement est imprévisible. Au contraire, les dendrimères sont connus pour être robustes, moins flexibles à cause des liaisons covalentes, possédant des cavités pouvant accueillir des molécules de solvant ou d'autres entités chimiques et dont la surface est tapissée de fonctions de façon homogène. De plus, on peut considérer qu'un dendrimère est moins compact qu'une protéine mais peut contenir un plus grand nombre de fonctions à la surface, à masse molaire comparable.

---

<sup>33</sup> Tomalia, D. A.; Huang, B.; Swanson, D. R.; Brothers, H. M.; Klimash, J. W. Structure control within poly(amidoamine) dendrimers: size, shape and region-chemical mimicry of globular proteins. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 3799-3813.

<sup>34</sup> Esfand, R.; Tomalia, D. A. Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications. *Drug Discovery Today* **2001**, *6*, 8, 427-436.

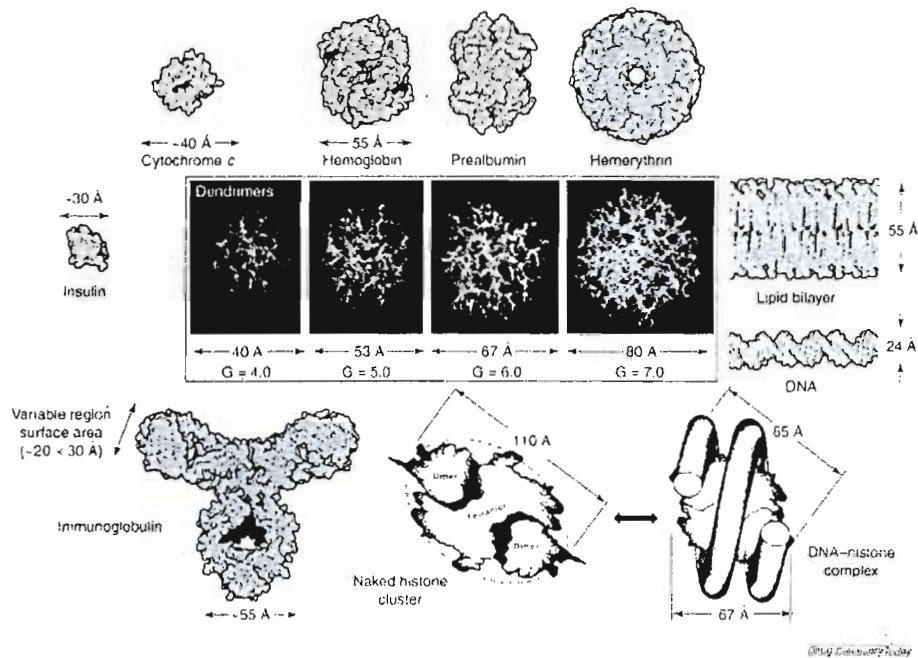


Figure 5. Les dendrimères PAMAM, mimétiques synthétiques de protéines (tirée de la réf. 34).

La chimie des dendrimères constitue une discipline relativement récente et demeure en constante évolution à en croire l'augmentation exponentielle des publications dont elle fait l'objet. En raison de l'émergence d'une multitude de structures dendritiques contenant des fonctions organiques, inorganiques ou organométalliques, le champ d'applications de ces systèmes est très vaste: la science des matériaux, la catalyse et le domaine du pharmaceutique. A ce titre, les dendrimères sont actuellement acceptés comme la quatrième classe majeure des architectures polymériques (Fig. 6).

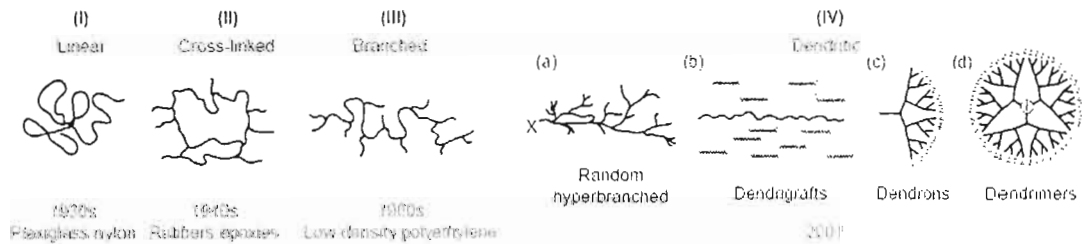


Figure 6. Représentation et évolution des quatre classes majeures des structures polymériques (tirée de la réf. 34).

#### 1.4.2. Historique des dendrimères

D'un point de vue historique, les progrès à l'égard de la construction délibérée de macromolécules ayant une architecture branchée peuvent être classés selon trois périodes:

- (i) Fin des années 1860-début des années 1940: Les structures branchées étaient considérées comme étant responsables du caractère insoluble des composés formés lors des réactions de polymérisation. Le contrôle synthétique, les séparations mécaniques et les caractérisations physiques demeuraient primaires. De ce fait, l'isolation et, *a fortiori*, l'élucidation structurale de ces composés étaient difficilement envisageables.

- (ii) Début des années 1940-fin des années 1970: Cette période correspond à l'apparition des premières méthodes statistiques et mathématiques d'analyse des propriétés et des interactions des polymères. La synthèse, par des méthodes classiques "one-pot" ou par polymérisation de ces structures branchées en utilisant des monomères poly-fonctionnalisés, a été envisagée. P. J. Flory<sup>35</sup>, dont l'influence majeure sur la chimie des polymères linéaires et non-linéaires lui a valu le prix Nobel de Chimie en 1974, qui a alors affirmé que ces méthodes étaient impraticables car le contrôle des masses moléculaires et donc, du nombre de branchements, était inexistant. Les résultats issus de ces essais plaidaient en sa faveur.

- (iii) Fin des années 1970-début des années 1980: Cette période est propice à l'évolution fondamentale de la chimie des dendrimères, notamment avec l'utilisation d'une méthode de synthèse itérative dite "en cascade" développée par Vögtle et ses collaborateurs en 1978: "*Pour la construction de grandes cavités ou pseudocavités moléculaires qui sont capables d'accueillir des ions ou des molécules selon des interactions "host-guest", une méthode synthétique permettant une répétition fréquente d'étapes identiques serait avantageuse*".<sup>36</sup> Ainsi, le concept du contrôle de la construction macromoléculaire fut mieux défini et développé. Par ailleurs, les progrès liés aux nouvelles techniques de purification et de caractérisation physico-chimiques ont contribué à cet essor.

---

<sup>35</sup> Flory, P. J. Molecular size distribution in three dimensional polymers. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *123*, 2718-2723.

<sup>36</sup> Buhleier, E.; Wehner, W.; Vögtle, F. "Cascade"- and "Nonskid-Chain-like" syntheses of molecular cavity topologies. *Synthesis* **1978**, 155-158.

Cependant, ce n'est que durant l'année 1985 que deux études indépendantes réalisées par Newkome<sup>37</sup> et Tomalia<sup>38</sup> ont décrit les premières véritables synthèses de dendrimères, nommés respectivement « arborols » et « PAMAM », selon un processus itératif divergent. D'ailleurs, dans leur article original, Tomalia *et al.* ont introduit pour la première fois le terme « dendrimère » qui provient de l'association de *dendron* (arbre ou branche en grec) et *meros* (partie en grec).

#### 1.4.3. Structures et fonctionnalisation

Structuralement, les dendrimères présentent le plus souvent une forme globulaire ou pseudo-globulaire et sont constitués de trois parties inter-dépendantes que sont le cœur, la périphérie et l'espace interne.<sup>39</sup> Ce dernier, compris entre le cœur et la périphérie, est constitué le plus souvent d'unités répétitives dont le nombre croît à mesure que la génération augmente (Fig. 7).

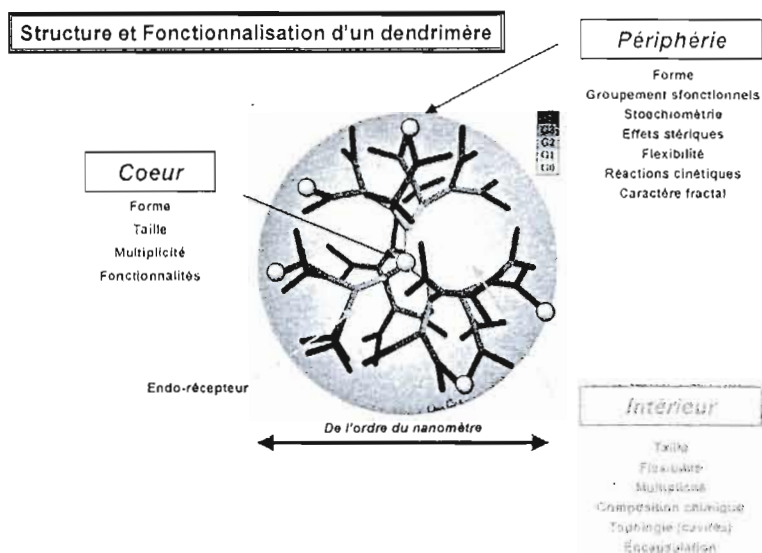
---

<sup>37</sup> Newkome, G. R.; Yao, Z. Q.; Baker, G. R.; Gupta, V. K. Cascade molecules: A new approach to micelles. A [27]-Arborol. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2003-2004.

<sup>38</sup> 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.

<sup>39</sup> Tomalia, D. A. Starburst dendrimers: molecular level control of size, shape, surface chemistry, topology and flexibility from atoms to macroscopic matter. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 138-175.





**Figure 7.** Représentation schématique d'un dendrimère et les différentes possibilités de fonctionnalisation.

De cette unique architecture découle un certain nombre de relations structure-propriétés telles que par exemple: faible polydispersité, nombre et nature des fonctions internes et/ou périphériques variables (propriétés allostériques et/ou coopératives), cavités internes de taille modulable, structure dynamique sensible à de nombreux stimuli externes (pH, température, solvants).

Compte tenu de cette structure, la fonctionnalisation des dendrimères peut s'effectuer à différents niveaux, à différents stades de la synthèse (donc selon les générations) et selon différents processus résumés ci-dessous:<sup>40</sup>

- *i)* Encapsulation d'une entité active de façon non covalente dans les cavités internes.
- *ii)* Fonctionnalisation de façon covalente des branches terminales du dendrimère par une ou plusieurs fonctions.
- *iii)* Fonctionnalisation interne de façon covalente par une ou plusieurs fonctions.
- *iv)* Toute autre combinaison des différentes possibilités décrites ci-dessus.

<sup>40</sup> Inoue, K. Functional dendrimers, hyperbranched and star polymers. *Prog. Polym. Sci.* 2000, 25, 453-571.

Ainsi, cette créativité a permis le développement de structures aux propriétés spécifiques désirées qui ont contribué à leur intégration et leur utilisation dans toutes les disciplines scientifiques contemporaines (physique, chimie et biologie notamment). Cependant, il est à signaler que certains dendrimères ne contenant pas de fonctions actives peuvent tout de même présenter des propriétés physico-chimiques intéressantes et tout à fait uniques (une viscosité réduite par exemple).<sup>41</sup>

Le parfait contrôle des paramètres tri-dimensionnels décrits plus haut et l'introduction des fonctionnalités (selon des processus covalents sur le cœur, les branches ou à la périphérie, ou par encapsulation physique dans les micro-environnements créés par les cavités) requiert des stratégies de synthèse efficaces, versatiles et reproductibles.

#### *1.4.4. Approches synthétiques*

Une des innovations les plus importantes dans le domaine de la chimie des dendrimères concerne le développement de nouvelles stratégies de synthèse.<sup>42</sup> Dans ce contexte, une variété d'approches synthétiques a été développée durant les deux dernières décennies et a contribué à l'amélioration du contrôle de leur géométrie, de leur caractère hydrophile/hydrophobe, de la nature des fonctions terminales, de leur volume libre ainsi que de leur purification et leur caractérisation. La description de ces différentes stratégies sera l'objet de la section suivante et nous énumérerons les avantages et les inconvénients qui y sont associés.

##### *a) L'approche divergente*

Historiquement, l'approche divergente dite « en cascade » a permis l'élaboration des premières structures dendritiques rapportées à ce jour de type PAMAM<sup>®</sup>, « arborols » et PPI.

---

<sup>41</sup> Hawker, C. J.; Malmstrom, E. E.; Frank, C. W.; Kampf, J. P. Exact linear analogs of dendritic polyether macromolecules: Design, synthesis, and unique properties. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9903-9904.

<sup>42</sup> Carlmark, A.; Hawker, C.; Hult, A.; Malkoch, M. New methodologies in the construction of dendritic materials. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 352-362.

Elle consiste en une croissance dendritique de la partie centrale vers la périphérie, impliquant une série d'étapes d'activation et d'addition pour conduire à un dendrimère de génération  $G(n)$ . Elle permet une croissance exponentielle du nombre des fonctions actives terminales selon une chimie adaptée. Une étape d'activation des fonctions périphériques, consistant en une conversion en unités fonctionnelles ou en une déprotection sélective, est généralement nécessaire avant de procéder à une étape de couplage. Celle-ci implique les fonctions périphériques activées générées obtenues à chaque génération et le groupement complémentaire des unités répétitives multi-fonctionnalisées. Ce processus itératif est répété jusqu'au degré de branchement désiré, c'est-à-dire lorsque le nombre de fonctions terminales voulu est atteint (Fig. 8). Il est cependant à signaler que durant cette croissance, le nombre d'unités monomériques augmente exponentiellement avec la génération, tandis que le volume disponible pour le dendrimère ne croît que proportionnellement au cube de son rayon. Résultat de cette limitation physique, les molécules dendritiques développent une conformation plus globulaire à mesure que la génération augmente. A une certaine génération, une limite stérique à la croissance régulière, appelée empilement dense de de Gennes, est atteinte.<sup>43</sup>

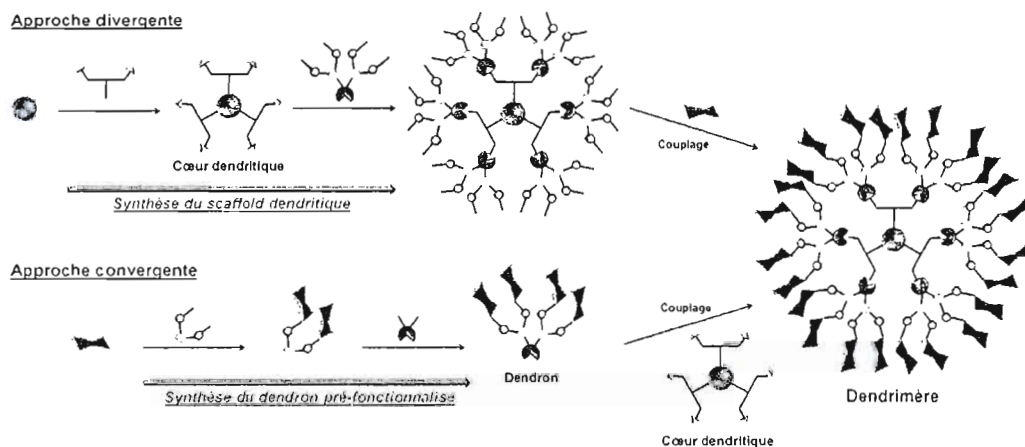


Figure 8. Représentations schématiques des approches divergentes et convergentes pour la synthèse de dendrimères.

<sup>43</sup> de Gennes, P. G.; Herve, H. Statistics of "starburst" polymers. *J. Phys. Lett.* 1983, 44, 351-360.

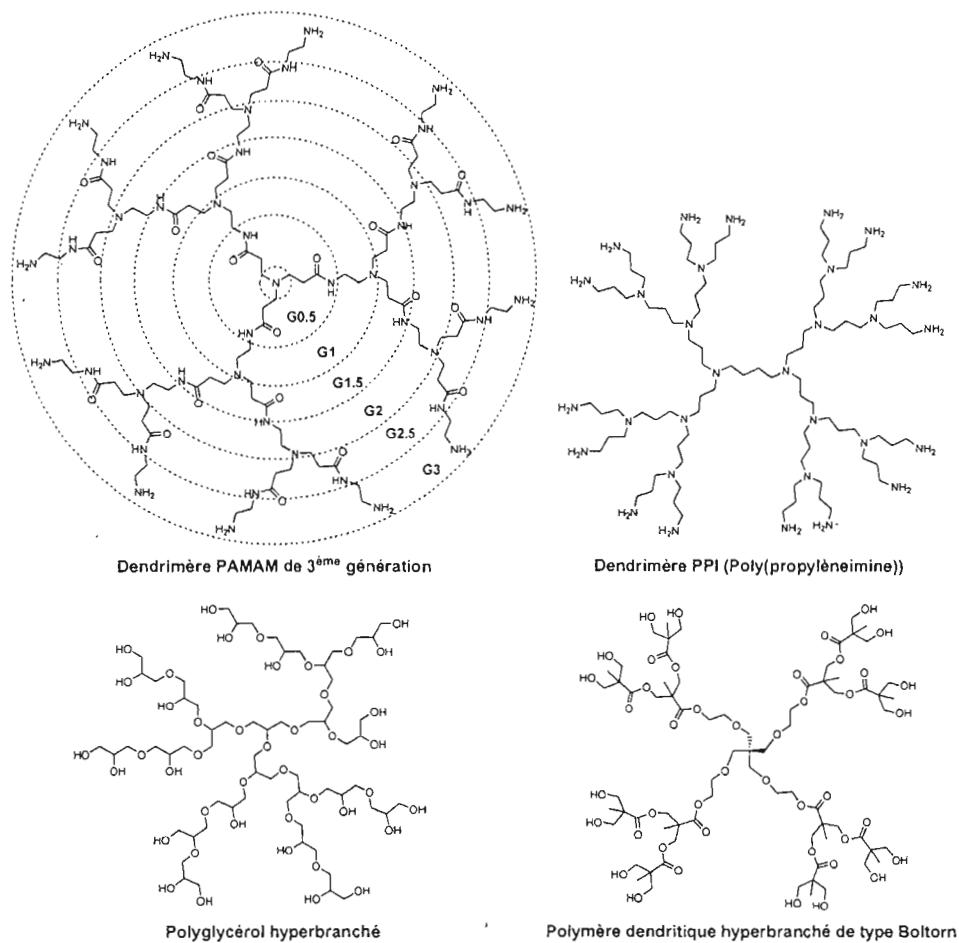
Cette approche demeure idéale pour la synthèse de dendrimères de hautes générations puisque la grande différence de masse moléculaire entre le dendrimère et les monomères en excès permet une purification relativement aisée. Elle est d'ailleurs à l'origine de l'élaboration de nombreux scaffolds dendritiques commerciaux tels que les dendrimères poly(amidoamines) (PAMAM, Starburst<sup>®</sup>, Dendritic Nanotechnologies), les dendrimères poly(propylèneimine) (PPI, Astramol<sup>®</sup>, DSM Fine Chemicals)<sup>44</sup>, les polyglycérols hyperbranchés<sup>45</sup>, les polymères dendritiques hyperbranchés Boltorn<sup>®</sup> (Fig. 9).<sup>46</sup> La plupart d'entre eux sont d'ailleurs communément utilisés en tant que cœurs dendritiques hyperbranchés reconnus comme étant non-toxiques et non-immunogènes.

---

<sup>44</sup> de Brabander-van den Berg, E. M. M.; Meijer, E. W. Poly(propylene imine) dendrimers: Large-scale synthesis by heterogeneously catalyzed hydrogenations. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1308-1311.

<sup>45</sup> Frey, H.; Haag, R. Dendritic Polyglycerol: A New Versatile Biocompatible Material. *Rev. Mol. Biotech.* **2002**, *90*, 257-267.

<sup>46</sup> Magnusson, H.; Malmström, E.; Hult, A. Structure buildup in hyperbranched polymers from 2,2-bis(hydroxymethyl)propionic acid. *Macromolecules* **2000**, *33*, 3099-3104.



**Figure 9.** Dendrimères commerciaux synthésés selon une approche divergente.

Toutefois, afin de prévenir une polymérisation hyperbranchée incontrôlable, les fonctions terminales de chaque monomère doivent être inertes vis-à-vis du groupement réagissant. De plus, cette stratégie présente certains inconvénients liés notamment à : *i*) l'utilisation d'un large excès de réactif (ou monomère) à chaque étape pour assurer la complétude des réactions de couplage; *ii*) la nécessité d'avoir des réactions lors des étapes de couplage et d'activation optimisées et quantitatives. En effet, les macromolécules défectueuses résultant de réactions secondaires ou incomplètes sont difficilement séparables des dendrimères « parfaits » car un simple défaut de surface change peu les propriétés chimiques globales des structures synthésées.

b) *L'approche convergente*

La seconde approche, dite « convergente » a été développée par Hawker et Fréchet au début des années 90<sup>47</sup> et s'appuie sur la nature symétrique de ce type d'architectures dendritiques. Contrairement à l'approche décrite précédemment, elle nécessite au préalable la synthèse du secteur périphérique sous la forme de bras hyperbranchés appelés « dendrons ». Leur synthèse peut se résumer en envisageant l'attachement covalent d'unités terminales contenant chacune une fonction réactive sur un monomère polyfonctionnel présentant des fonctions orthogonales complémentaires ainsi qu'un site fonctionnel qualifié de « focal ». La transformation de ce site unique, suivie du couplage du dendron activé généré, soit sur un second monomère polyfonctionnel, soit sur un cœur dendritique permettra d'obtenir un dendron de génération supérieure ou un dendrimère, respectivement (Fig. 8). Les avantages de cette approche résident dans le fait qu'un nombre réduit de réactions est engagé à chaque étape, contrairement à l'approche divergente. De plus les purifications des dendrimères désirés deviennent moins problématiques puisque les structures défectueuses (contenant un défaut survenu en l'absence d'une réaction de couplage d'un dendron) pouvant être générées sont structurellement différenciables et possèdent donc des propriétés physico-chimiques différentes. En d'autres termes, bien que les deux stratégies puissent conduire à des systèmes monodisperses ou quasi-monodisperses, seule l'approche convergente permet réellement la purification des dendrimères sous leur forme unimoléculaire. En revanche, selon la génération des dendrons synthétisés, les fonctionnalités présentes sur le cœur dendritique peuvent être masquées au cours de la synthèse lors de l'obtention de structures intermédiaires et cet encombrement stérique peut conduire à des réactions plus lentes et moins efficaces.

Cette approche constitue la méthode privilégiée pour la construction d'architectures de nature et de diversité moléculaire et structurale parfaitement contrôlées. De ce fait, elle semble être la plus appropriée pour la synthèse de dendrimères mixtes ou dissymétriques présentant différentes fonctions périphériques et/ou internes.

---

<sup>47</sup> Hawker, C. J.; Fréchet, J. M. J. Preparation of polymers with controlled molecular architecture. A new convergent approach to dendritic macromolecules. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 7638-7647.

c) *Les approches accélérées*

Les purifications souvent fastidieuses des composés et les inconvénients synthétiques issus des méthodes itératives décrites ci-dessus ont suscité le développement d'approches dites « accélérées », résultant en quelque sorte d'une combinaison des deux stratégies. Ces procédures maintiennent généralement la versatilité des composés obtenus et leur confèrent une monodispersité et une versatilité fonctionnelle semblables à celles offertes par la méthode convergente traditionnelle. En revanche, elles réduisent le nombre d'étapes synthétiques requis pour élaborer des dendrimères de hautes générations.

Ces stratégies incluent le développement d'éléments dendritiques structuraux plus volumineux qui vont être engagés dans des réactions de couplages dits « multi-générations ». Cette stratégie accélérée, intensivement décrite par Fréchet *et al.* a permis l'élaboration de dendrimères de hautes masses moléculaires à partir de cœurs dendritiques hautement fonctionnalisés (dits « hyper-cœurs »)<sup>48</sup> ou de dendrons hauts générations (dits « hyper-monomères »)<sup>49</sup> ou à partir de monomères poly-fonctionnalisés dont les groupements fonctionnels sont protégés de façon orthogonale (« stratégie de croissance exponentielle double »).<sup>50</sup>

Plus récemment, une méthodologie de croissance dendritique s'appuyant sur l'utilisation de systèmes monomériques orthogonaux a été décrite. Le choix judicieux des groupements fonctionnels qui sont couplés ensemble sans étape de protection/déprotection a permis la synthèse rapide et facile de dendrimères homogènes et hétérogènes.<sup>51</sup>

---

<sup>48</sup> Wooley, K. L.; Hawker, C. J.; Fréchet, J. M. J. Hyperbranched macromolecules via a novel double-stage convergent growth approach. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4252-4261.

<sup>49</sup> Wooley, K. L.; Hawker, C. J.; Fréchet, J. M. J. A "branched-monomer approach" for the rapid synthesis of dendrimers. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 82-85.

<sup>50</sup> Ihre, H.; Hult, A.; Fréchet, J. M. J.; Gitsov, I. Double-stage convergent approach for the synthesis of functionalized dendritic aliphatic polyesters based on 2,2-bis(hydroxymethyl)propionic acid. *Macromolecules* **1998**, *31*, 4061-4068.

<sup>51</sup> Antoni, P.; Nyström, D.; Hawker, C. J.; Hult, A.; Malkoch, M. I. A chemoselective approach for the accelerated synthesis of well-defined dendritic architectures. *Chem. Commun.* **2007**, 2249-2251.

#### 1.4.5. Quelques applications des dendrimères

La structure unique des dendrimères, le contrôle de leur architecture, leur topologie et des fonctionnalités présentes, associés à leurs propriétés intrinsèques uniques sont à l'origine de leur utilisation dans de multiples domaines d'applications se situant à l'interface de la chimie, de la physique et de la biologie. Parmi ces différentes applications, l'introduction de structures dendritiques dans les domaines de la chimie et de la science des matériaux notamment a généré de nombreux exemples mettant en lumière les avantages que la communauté scientifique prévoyait.

##### a) Les dendrimères et la catalyse

L'utilisation des dendrimères en catalyse est rapidement apparue comme l'une des plus prometteuses, compte tenu du fait que ces structures peuvent combiner simultanément les avantages de la catalyse homogène et de la catalyse hétérogène (turn-over élevé, régénération et protection du catalyseur, augmentation de la stéréo- et/ou régio-sélectivité). Par ailleurs, du fait de leur structure qui peut permettre l'association d'une portion organique à une partie inorganique, ils sont souvent dénommés « métallodendrimères » par analogie avec les enzymes.<sup>52,53</sup> Ainsi, leur potentiel a été exploité dans les secteurs de la catalyse homogène,<sup>54</sup> hétérogène<sup>55</sup> et asymétrique.<sup>56</sup>

---

<sup>52</sup> Newkome, G. R.; He, E.; Moorefield, C. N. Suprasuperstructures with novel properties: Metallo-dendrimers. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1689-1746.

<sup>53</sup> Kofoed, J.; Reymond, J.-L. Dendrimers as artificial enzymes. *Curr. Op. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 656-664.

<sup>54</sup> Chow, H. F.; Mak, C. C. Dendritic bis(oxazoline)copper(II) catalysts. Synthesis, reactivity, and substrate selectivity. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5116-5127.

<sup>55</sup> Bourque, S. C.; Alper, H. Hydroformylation reactions using recyclable rhodium-complexed dendrimers on silica. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 956-957.

<sup>56</sup> Rheiner, P. B.; Sellner, H.; Seebach, D. Dendritic styryl TADDOLs as novel polymer crosslinkers: first application in an enantioselective Et<sub>2</sub>Zn addition mediated by a polymer-incorporated titanate. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 2027-2032.



b) Les dendrimères et les matériaux organiques

Du fait de l'intérêt grandissant porté depuis les deux dernières décennies aux matériaux organiques en raison des nombreuses propriétés spécifiques et des applications technologiques de pointe qui leur sont associées (stabilité, efficacité), les dendrimères peuvent apporter des solutions et des avantages aux structures conventionnelles.

Ainsi, des dendrimères fonctionnalisés cristaux liquides ont été popularisés dans les années 90 par Percec *et al.*<sup>57</sup> notamment avec la mise en relation des phases induites selon la nature chimique des groupements mésogènes utilisés, du cœur dendritique et de la génération.

Certains dendrimères aux architectures adaptées ont de même trouvé leur place dans le domaine des cellules photovoltaïques, des transistors et des diodes électroluminescentes organiques. La raréfaction des énergies fossiles, ainsi que les problèmes climatiques liés à l'effet de serre et la production de déchets radioactifs ont suscité, ces dernières années, un engouement pour la recherche de nouvelles énergies renouvelables et notamment l'énergie photovoltaïque (PV). L'idée d'utiliser les dendrimères pour ce type d'application est née d'un constat basé sur celui du monde du vivant. En effet, l'étude de la réaction de photosynthèse chez la bactérie *Rhodospseudomonas viridis* a permis de mettre en évidence un transfert d'électrons à travers un enchaînement de chromophores porphyriniques, ainsi qu'une longue durée de vie des charges générées.<sup>58</sup> Or, la similitude d'une part de ce processus avec celui observé dans les cellules photovoltaïques, et d'autre part celle des dendrimères avec ces molécules biologiques impliquées, ont contribué récemment à utiliser ces derniers en tant qu'antennes collectrices artificielles, à base de porphyrines, de C<sub>60</sub> ou d'associations de groupements fonctionnels de type donneurs-accepteurs permettant la génération de deux transferts d'électrons de type Förster efficaces notamment.<sup>59</sup> Concernant leur utilisation en tant que diodes électroluminescentes organiques (OLEDs), l'architecture dendritique, la

---

<sup>57</sup> Percec, V.; Chu, P. W.; Ungar, G.; Zhou, J. P. Rational design of the first nonspherical dendrimer which displays calamitic nematic and smectic thermotropic liquid crystalline phases. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 11441-11454.

<sup>58</sup> McDermott, G.; Prince, S. M.; Freer, A. A.; Hawthornthwaite-Lawless, A. M.; Papiz, M. Z. R.; Cogdell, J.; Isaacs, N. W. Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria. *Nature* **1995**, *374*, 517-521.

<sup>59</sup> McGrath, D. V., D'Ambruoso, G. D. Energy harvesting in synthetic dendritic materials. In *Energy Harvesting materials*. Ed. D. L. Andrews, World Scientific Publishing, **2005**.

monodispersité des molécules et le contrôle des groupements fonctionnels contribuent à l'amélioration des rendements de photoluminescence, à la stabilité et la durabilité des systèmes, facilitent l'interfaçage avec les électrodes et l'injection des trous et des électrons (phénomène d'inter-digitation).<sup>60,61,62</sup>

#### 1.4.6 Les dendrimères et la médecine

Indubitablement, le monde de la biologie et particulièrement celui de la médecine constitue le secteur dans lequel l'utilisation de systèmes dendritiques a mobilisé les efforts les plus considérables. Notamment en raison de leur mimétisme relatif aux protéines comme nous l'avons évoqué plus haut,<sup>63</sup> mais aussi de leurs propriétés intrinsèques et de la possibilité de diversifier les architectures de façon quasi-illimitée, les dendrimères ont été utilisés en tant que vecteurs d'agents thérapeutiques ainsi qu'en tant qu'agents antimicrobiens (antibactériens, antiviraux).

Toutefois, ce type d'application nécessite de répondre à un certain nombre de critères spécifiques et de satisfaire un cahier des charges précis. Ces dendrimères doivent en effet idéalement: *i*) être non-immunogènes; *ii*) être capables de traverser les barrières biologiques (intestins, membranes cellulaires,...); *iii*) avoir une durée de vie suffisante pour avoir l'effet désiré; *iv*) être capables de cibler des structures de façon spécifique; *v*) être non toxiques. D'ailleurs, cette notion primordiale de toxicité a fait l'objet d'une étude systématique en 2000 par Meijer *et al.* qui ont comparé l'hématotoxicité et la cytotoxicité *in vitro* de cinq différentes classes de dendrimères, cationiques ou anioniques, de type PAMAM, PPI (type DAB et DAE), carbosilanes et polyéthers.<sup>64</sup> Globalement, ces études ont révélé que les

---

<sup>60</sup> Koene, S. C.; Freeman, A. W.; Killeen, K. A.; Fréchet, J. M. J.; Thompson, M. E. Emissive hole transporting dendrimers for use in organic light emitting devices (OLEDs). *Polym. Mater. Sci. Eng.* **1999**, *80*, 238-239.

<sup>61</sup> Hecht, S.; Fréchet, J. M. J. Dendritic encapsulation of function: Applying Nature's site isolation principle from biomimetics to materials science. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 74-91

<sup>62</sup> Io, S.-C.; Burn, P. L. Development of Dendrimers: Macromolecules for use in Organic Light-Emitting Diodes and solar cells. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4, 1097-1116.

<sup>63</sup> Jang, W.-D.; Selim, K. M. K.; Lee, C.-H.; Kang, I.-K. Bioinspired application of dendrimers: From bio-mimicry to biomedical applications. *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 1-23.

<sup>64</sup> Malik, N.; Wiwattanapatapee, R.; Klopsch, R.; Lorenz, K.; Frey, H.; Weener, J. W.; Meijer, E. W.; Paulus, W.; Duncan, R. Dendrimers: relationship between structure and biocompatibility *in vitro*, and

dendrimères cationiques (contenant des fonctions amines périphériques) sont, d'une façon générale, cytotoxiques dépendamment ou non de la génération des dendrimères étudiés, et conduisent à une hémolyse provenant d'une déstabilisation de la membrane cellulaire (1 mg/mL). Toutefois, la toxicité observée reste plus faible que celle obtenue avec leurs homologues linéaires. Cette différence a été mise au compte d'une surface d'adhésion plus faible pour les dendrimères dû à leur structure globulaire.<sup>65</sup> En revanche, la dérivation de ces structures cationiques visant à introduire des fonctions chimiques inertes de type PEG ou acide gras, ainsi que l'utilisation de dendrimères anioniques (avec des fonctions acides carboxyliques en surface) ont permis de diminuer les activités hémolytiques et cytotoxiques jusqu'à des concentrations de 2 mg/ml.

Les résultats de toxicité issus de cette étude paraissent primordiaux pour l'utilisation de certains types de dendrimères pour des traitements thérapeutiques. En effet, bien que les structures des dendrimères étudiées soient peu nombreuses, elles permettent d'avoir une idée générale des toxicités induites par les dendrimères en tant que tels, et ainsi de sélectionner des structures de base pour l'application biologique souhaitée. Ainsi, de façon générale, la fonctionnalisation de telles architectures est observée.

a) *Les dendrimères en tant que vecteurs d'actifs*

La science des polymères, au sens large du terme, représente depuis une trentaine d'années une source d'importants développements de nouveaux dispositifs dans le domaine de la libération de principes actifs selon des processus covalents ou non-covalents.<sup>66,67</sup> Ces macromolécules présentent en effet des avantages non négligeables par rapport à des systèmes plus conventionnels tels que les liposomes ou les anticorps, car elles peuvent offrir une meilleure sélectivité envers les tissus endommagés ou tumoraux et une meilleure stabilité

---

preliminary studies on the biodistribution of 125I-labelled polyamidoamine dendrimers in vivo. *J. Controlled Rel.* **2000**, *65*, 133-148.

<sup>65</sup> Fischer, D.; Li, Y.; Ahlemeyer, B.; Krieglstein, J.; Kissel, T. In vitro cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis. *Biomaterials* **2003**, *24*, 1121-1131.

<sup>66</sup> Ringsdorf, H. Structure and properties of pharmacologically active polymers. *J. Polym. Sci. Polym. Symp.* **1975**, *51*, 135-153.

<sup>67</sup> Haag, R.; Kratz, F. Polymer therapeutics: Concepts and applications. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, *45*, 1198-1215.

des agents thérapeutiques. Parallèlement à ces études, des essais précliniques montrent que la nature physico-chimique des biopolymères a une réelle influence sur leur profil pharmacocinétique et sur leur biodistribution (accumulation dans des tissus tumoraux notamment). A cet effet, plusieurs paramètres semblent être responsables de ces propriétés comme leur charge, leur conformation, leur caractère immunogène, hydrophobe/hydrophile et leur masse moléculaire. Ce dernier facteur (associé à un grand volume hydrodynamique) semble d'ailleurs crucial pour l'augmentation de leur persistance sanguine (ces polymères conjugués sont moins sujets aux processus d'ultrafiltration par les reins) et leur accumulation dans les cellules malignes. Ce phénomène d'accumulation, connu sous le nom d'effet "EPR" ("Enhanced Permeability and Retention")<sup>68</sup> est susceptible d'être provoqué par une différence des caractéristiques biochimiques et physiologiques de ces tissus par rapport à celles de tissus sains. Par exemple, la vascularisation spécifique des cellules tumorales est à l'origine de l'augmentation de leur perméabilité aux macromolécules (de masse moléculaire supérieure à 20 kDa) dont la persistance en leur sein est favorisée par un système de drainage lymphatique limité. Cependant, bien souvent, la large gamme d'index de polydispersité de certains polymères aux propriétés intéressantes pour le concept de relâchement d'actifs (hydrosolubles, biocompatibles, faiblement toxiques, non-immunogènes...), constitue un frein à leur utilisation en raison d'un profil pharmacocinétique peu reproductible. Par ailleurs, la faible capacité de tels systèmes à contenir une grande quantité d'actifs (au maximum 25% en termes de masse molaire) constitue un inconvénient supplémentaire. Les dendrimères, qui conjuguent les caractéristiques avantageuses des polymères à des propriétés de multivalence, d'adhésivité et de reconnaissance, constituent donc des outils intéressants pour le relâchement contrôlé d'actifs, et notamment d'anti-cancéreux pour une application en oncologie (Fig. 10).<sup>69</sup>

---

<sup>68</sup> Duncan, R. Polymer conjugates for tumour targeting and intracytoplasmic delivery. The EPR effect as a common gateway? *Pharm. Sci. Technol. Today* 1999, 2, 441-449.

<sup>69</sup> Tekade, R. K.; Kumar, P. V.; Jain, N. K. Dendrimers in oncology: An expanding horizon. *Chem. Rev.* 2009, 109, 1, 49-87.

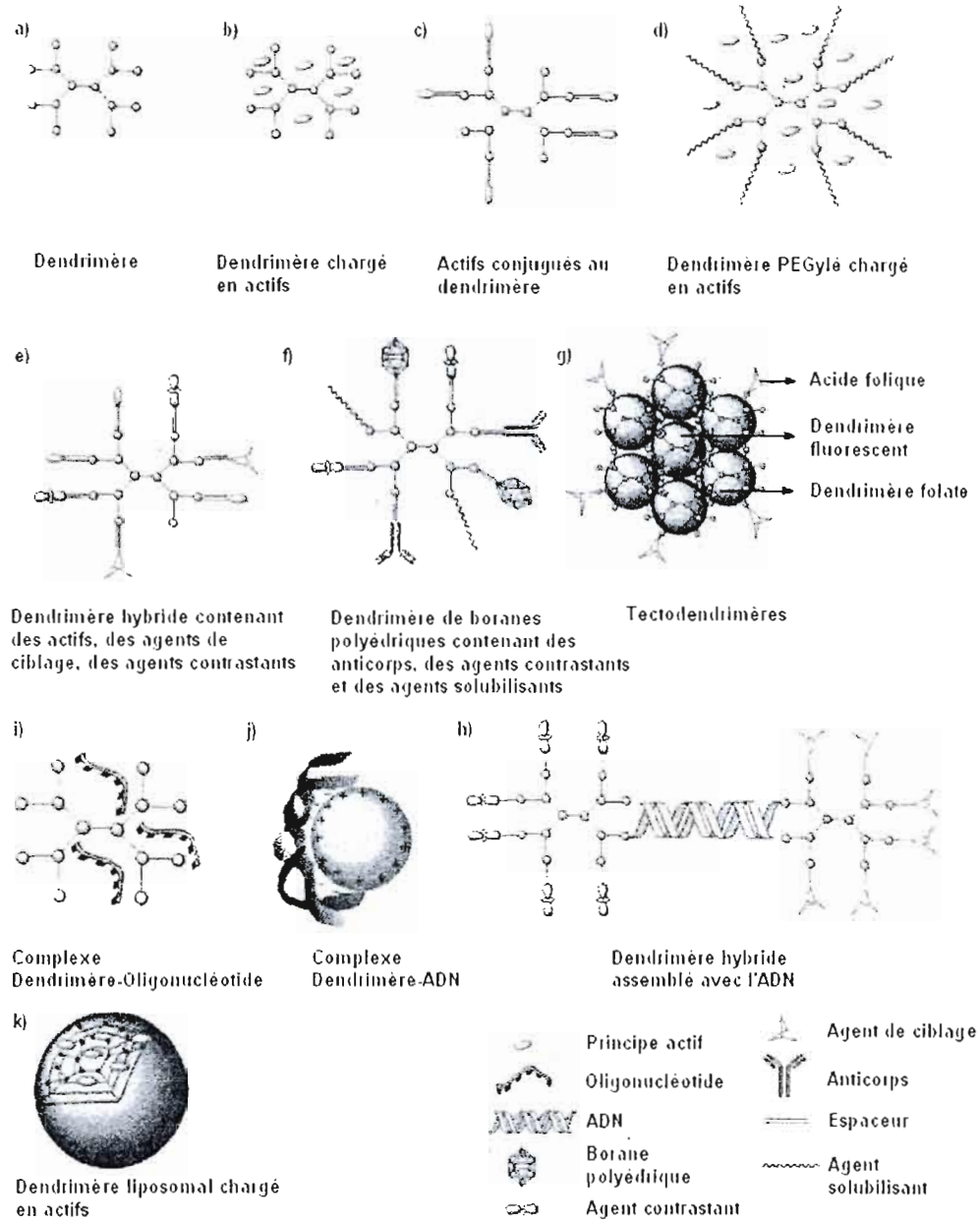


Figure 10. Diagramme schématique montrant différents conjugués dendritiques employés pour le traitement du cancer (adapté de la réf. 69).

En raison d'un certain nombre de critères limitatifs inhérents à l'utilisation des premiers systèmes mentionnés plus haut (stabilité des liposomes limitée, sélectivité difficile,

polydispersité élevée des polymères, faible reproductibilité...), une alternative proposant des systèmes dendritiques a été proposée. L'efficacité de tels systèmes nécessite de respecter un cahier des charges précis puisqu'il faut que: *i*) les systèmes soient biocompatibles, non toxiques, hydrosolubles, capables de traverser les barrières biologiques; *ii*) la libération du principe actif se fasse de façon contrôlée au cours du temps et puisse être aisément modulée; *iii*) la concentration en actif soit optimale pour avoir l'effet escompté; *iv*) la biodistribution soit contrôlée, pour minimiser les effets secondaires; *v*) le transport de l'actif soit efficace. Enfin, pour que ces systèmes puissent être viables, il est nécessaire de disposer d'un processus de relâchement du médicament efficace qui, selon la structure, peut s'effectuer par voie chimique, enzymatique, photochimique, électrochimique, par différence de pression ou par simple diffusion.<sup>70</sup> Les perspectives offertes par ces derniers, du fait de leurs propriétés intrinsèques mentionnées (multivalence, multiples groupements fonctionnels, monodispersité) dans l'introduction et en début de chapitre, s'annoncent prometteuses. Compte tenu de la structure particulière des dendrimères, on peut envisager principalement deux stratégies pour le transport des principes actifs.

La première est étroitement liée à la structure supramoléculaire des dendrimères et utilise un mode de transport de type non covalent. Historiquement, cette stratégie d'encapsulation a été développée par Meijer *et al.* dans le milieu des années 90 établissant le concept de « boîte dendritique ».<sup>71</sup> Cette boîte, conçue à partir d'un dendrimère de type PPI, était formée d'une écorce rigide et d'une structure centrale flexible constituée de plusieurs cavités vides qui peuvent accueillir toutes sortes de molécules de tailles variables retenues après un traitement pour rigidifier l'espace périphérique. En théorie, cette stratégie permettrait *i*) la préservation des structures chimiques et des propriétés pharmacologiques; *ii*) le transport efficace de médicaments peu hydrosolubles et en quantité suffisante jusque dans les tissus/organes cibles sans modifier leur structure. Bien qu'attrayant, ce modèle n'a pas permis l'émergence de systèmes de « boîte dendritique » pour la libération de principe actifs, essentiellement à cause des conditions expérimentales requises pour perméabiliser le

---

<sup>70</sup> Gingras, M.; Raimundo, J.-M.; Chabre, Y. M. Cleavable dendrimers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1010-1017.

<sup>71</sup> Jansen, J. F. G. A.; de Brabander-van den Berg, E. M.; Meijer, E. W. Encapsulation of guest molecules into a dendritic box. *Science* **1994**, *266*, 1226-1229.

dendrimère. En revanche, d'autres systèmes préconisant l'encapsulation et le maintien d'entités actives suivant des interactions supramoléculaires de nature et de force différentes ont été développés. On peut mentionner l'encapsulation favorisée par des liaisons hydrogènes ou par interactions électrostatiques,<sup>72,73</sup> par des interactions hydrophobes, de type  $\pi$ - $\pi$ , dipôle-dipôle dans des systèmes dendritiques micellaires unimoléculaires.<sup>74,75</sup> D'ailleurs, ces derniers systèmes ont permis la libération lente et contrôlée d'anti-inflammatoires<sup>76</sup> ou d'anticancéreux<sup>77</sup> de type Indométhacine et Doxorubicine, respectivement (Fig. 11 a) et 11 b)).

---

<sup>72</sup> Twyman, L. J.; Beezer, A. E.; Esfand, R.; Hardy, M. J.; Mitchell, J. C. The synthesis of water soluble dendrimers, and their application as possible drug delivery systems. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1743-1746.

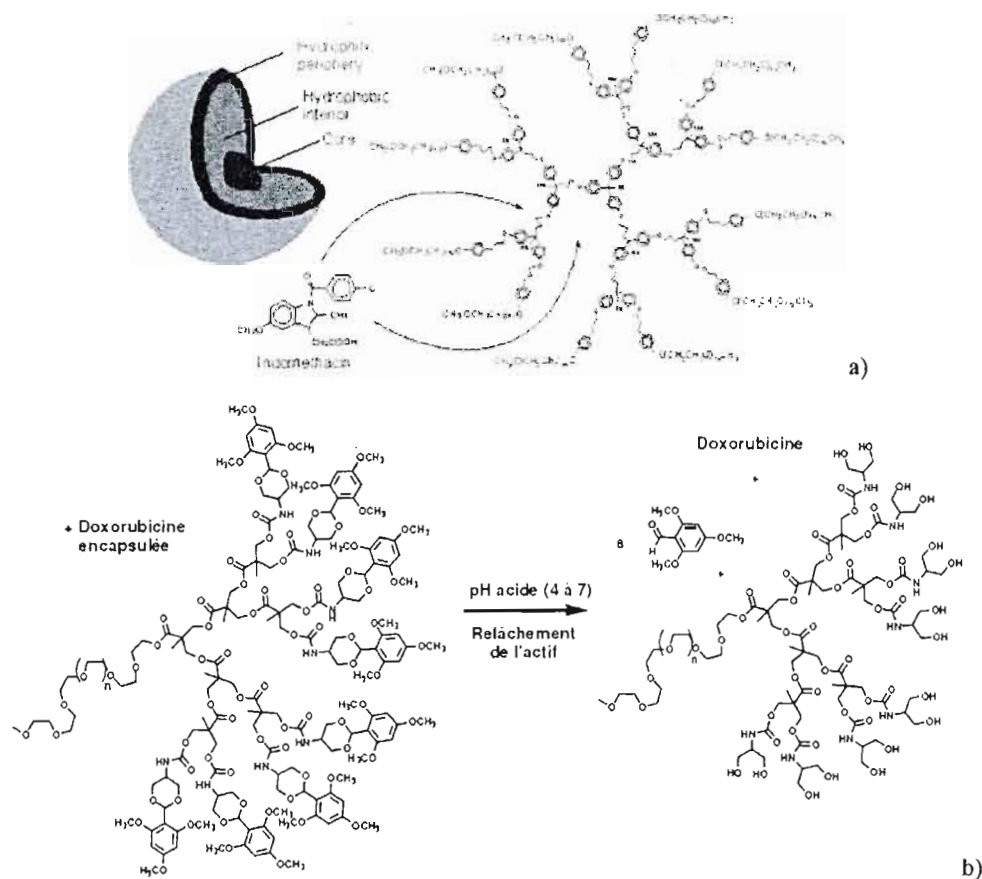
<sup>73</sup> Baars, M. W. P. L.; Karlsson, A. J.; Sorokin, V.; de Waal, B. F. W.; Meijer, E. W. Supramolecular modification of the periphery of dendrimers resulting in rigidity and functionality. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 4262-4265.

<sup>74</sup> Moorefield, C.N.; Newkome, G.R. Unimolecular micelles: supramolecular use of dendritic constructs to create versatile molecular containers. *C.R. Chimie* **2003**, *6*, 715-724.

<sup>75</sup> Fréchet, J. M. J. Dendrimers and supramolecular chemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 8, 4782-4787.

<sup>76</sup> Liu, M.; Kono, K.; Fréchet, J. M. J. Water-soluble dendritic unimolecular micelles: their potential as drug delivery agents. *J. Controlled Rel.* **2000**, *65*, 121-131.

<sup>77</sup> Gillies, E. R.; Fréchet, J. M. J. pH-Responsive copolymer assemblies for controlled release of Doxorubicin. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 361-368.

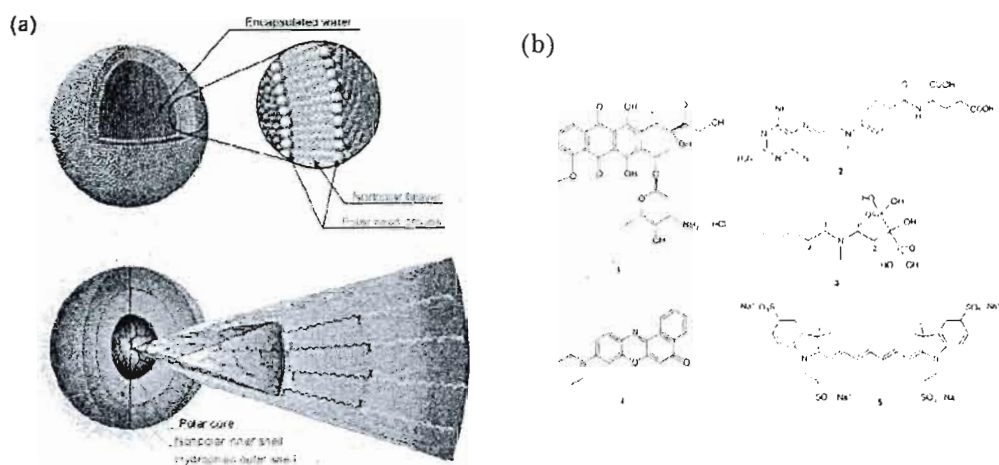


**Figure 11.** Libération contrôlée d'Indométhacine et de Doxorubicine encapsulées à partir de systèmes dendritiques (Tirée ou adaptée des réfs 75 et 77).

Une étude plus récente menée par Haag *et al.* a porté sur la conception de nanoparticules dendritiques multi-couches composées de poly(éthylèneimine) hyperbranchée au centre, fonctionnalisées avec des chaînes alkyles diacides, elles-même connectées à des chaînes hydrophiles de type poly(éthylèneglycol) (Fig. 12).<sup>78</sup> L'encapsulation et le transport efficace d'actifs antitumoraux tels que la Doxorubicine, la Méthotrexate, l'Ibandronate ainsi que de marqueurs colorés fluorescents (Indotricarbocyanine tétrasulfonate et Rouge de Nil) ont été observés *in vitro* et *in vivo*.

<sup>78</sup> Quadir, M. A.; Radowski, M. R.; Kratz, F.; Licha, K'; Hauff, P.; Haag, R. Dendritic multishell architectures for drug and dye transport. *J. Controlled Rel.* **2008**, *132*, 289-294.





**Figure 12.** (a) Représentation schématique d'une nanoparticule dendritique multi-couche. (b) Structures des antitumoraux (Doxorubicine **1**, Méthotrexate **2**, Ibandronate **3**) et des marqueurs fluorescents (Rouge de Nil **4**, Indotricarbocyanine tétrasulfonate **5**) utilisés lors de l'étude effectuée par Haag *et al.* (tirée de la réf. 78).

La plupart des travaux portant sur le concept d'attachement non covalent sont réalisés sur des composés modèles dont les structures reflètent plus ou moins celles des actifs. Bien que certains résultats soient encourageants, il semblerait que ce concept soit rendu complexe par plusieurs facteurs: les interactions hôte/invités doivent être spécifiques et peuvent donc dépendre de différents paramètres (solvants, pH, température...) et le nombre d'entités encapsulées est limité. Certains de ces facteurs limitants peuvent être contournés avec l'utilisation d'un mode d'attachement de principes actifs de type covalent, qui représente un concept récent et générateur d'espoirs.

L'attachement covalent constitue le second mode d'incorporation d'actifs sur une structure dendritique. Il permet notamment d'éviter un relâchement prématuré de l'actif dans l'organisme, d'améliorer la biodistribution et surtout d'augmenter et de contrôler précisément le nombre d'actifs présents sur la structure. Cette stratégie, initialement très utilisée avec les polymères dans le cadre d'une utilisation topique est peu à peu transposée aux dendrimères. L'étape de libération de l'actif peut se produire selon deux processus distincts: *i*) soit une dégradation totale ou partielle du support polymérique ou dendritique; *ii*) soit un clivage spécifique; *iii*) soit une combinaison des deux phénomènes. Toutefois, quelque soit le

processus de relâchement envisagé, il est nécessaire de conserver les propriétés pharmacologiques des actifs intacts après leur libération.<sup>79</sup>

La libération par clivage spécifique nécessite l'utilisation de principes actifs compatibles avec le mode de synthèse du conjugué ainsi que la biocompatibilité, la non-toxicité et l'hydrosolubilité du scaffold dendritique utilisé. De plus, la fonction active engagée dans la création de la liaison covalente doit préexister sur l'actif libre et être retrouvée après le clivage afin de conserver ses propriétés pharmacologiques. Par ailleurs, le squelette dendritique doit être inerte vis-à-vis du mode de clivage pour éviter la libération de fragments potentiellement toxiques. L'efficacité du clivage ainsi que la sélectivité sont le plus souvent structure- et fonction-dépendantes<sup>80</sup>, et les processus de clivage les plus fréquemment rencontrés sont basés sur des processus chimiques et/ou enzymatiques, des stimuli externes (pH, température).<sup>70</sup>

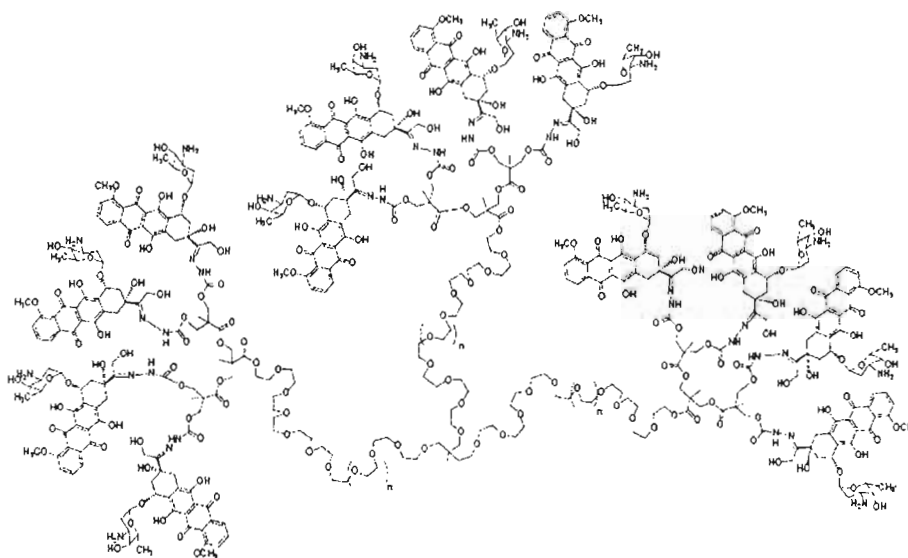
Dans ce contexte, une des études les plus approfondies *in vitro* et *in vivo* a été proposée par Fréchet *et al.* qui ont conjugué la Doxorubicine, un anti-néoplasique, sur un dendrimère modèle de type polyester, biocompatible et hydrosoluble, via une fonction hydrazone sensible au pH (Fig. 13).<sup>81</sup> D'une part, la cytotoxicité de la Doxorubicine greffée sur le dendrimère s'en trouve fortement diminuée par rapport à la forme libre et d'autre part, le dendrimère s'est avéré stable dans les conditions physiologiques mais peut libérer sélectivement l'actif pour des valeurs de pH proches de celles rencontrées dans les lysosomes (pH 4-6).

---

<sup>79</sup> Brannon-Peppas, L. Polymers in controlled drug delivery. *Med. Plast. Biomater.* **1997**, *4*, 34-44.

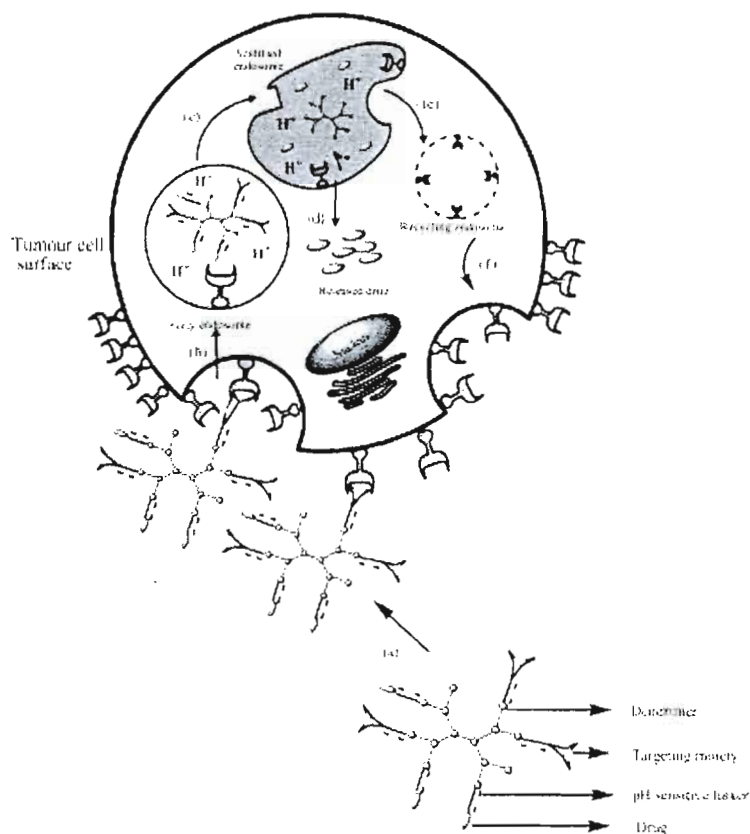
<sup>80</sup> Najlah, M.; Freeman, S.; Attwood, D.; D'Emanuele, A. Synthesis, characterization and stability of dendrimer prodrugs. *Int. J. Pharm.* **2006**, *308*, 175-182.

<sup>81</sup> Omayra, L.; Ihre, H.; Padilla De Jesus, O. L.; Fréchet, J. M. J.; Szocka, F. C. Polyester dendritic systems for drug delivery applications: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 453-461.



**Figure 13.** Dendrimère polyester de Fréchet *et al.* contenant la Doxorubicine attachée selon un mode covalent (tirée de la réf. 70).

Avec cette étude, Fréchet *et al.* ont démontré la faisabilité du concept et la pertinence de l'utilisation d'une structure dendritique de type polyester pour produire un système chargé en actifs anti-cancéreux de façon covalente et capable de les relâcher dans des sites cancéreux à pH acide (Fig. 14).

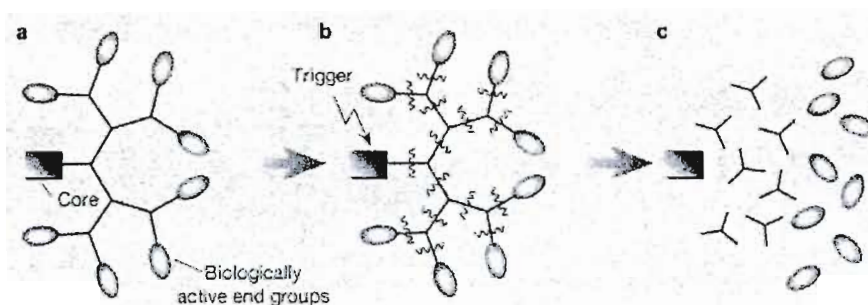


**Figure 14.** Représentation schématique du relâchement contrôlé par le pH d'un principe actif antitumoral (tirée de la réf. 69).

La seconde stratégie de libération des actifs liés de façon covalente aux dendrimères est basée sur des processus de dégradation du squelette dendritique pour conduire à la libération du médicament. L'utilisation de ce type de procédé de relâchement implique l'utilisation d'un système de dégradation efficace et non destructif vis-à-vis du principe actif. Ainsi, les fragments libérés doivent être inertes et non-toxiques. Les stimuli initiant le processus de dégradation en cascade peuvent être de différentes natures: photochimiques, chimiques, enzymatiques, thermiques, ou encore électriques.<sup>70,82</sup>

<sup>82</sup> Lee, C. C.; MacKay, J. A.; Fréchet, J. M. J.; Szoka, F. C. Designing dendrimers for biological applications. *Nature Biotech.* 2005, 23, 12, 1517-1526.

Depuis 1996 et le premier dendrimère entièrement dégradé par voie enzymatique proposé par Seebach *et al.*,<sup>83</sup> des efforts permettant l'introduction de systèmes adaptés à ce processus de dégradation ont été enregistrés. Pourtant, ce n'est qu'en 2003 que trois groupes de recherche, travaillant de façon indépendante, ont mis au point un concept général de dégradation élégant et sophistiqué conduisant, *via* un processus en cascade, à la libération simultanée de tous les actifs (Fig. 15).<sup>84,85</sup>



**Figure 15.** Représentation schématique d'un processus de relâchement d'actifs selon un processus de dégradation du squelette dendritique en cascade (tirée de la réf. 84).

McGrath *et al.* ont d'abord testé cette approche sur des oligomères puis sur des structures dendritiques pour la libération des groupements de type *p*-nitrophénol en utilisant comme initiateur du processus un groupement photolabile.<sup>86,87</sup> La validité du concept a ainsi pu être démontrée par la quantification par spectroscopie UV/Vis des ions *p*-nitrophénolates relâchés.

Ce concept a alors été étendu à la libération de principes actifs par les groupes de Shabat<sup>88</sup> et de de Groot,<sup>89</sup> développant respectivement des systèmes de type « self-immolative

<sup>83</sup> Seebach, D.; Herrmann, G. F.; Lengweiler, U. D.; Bachmann, B. M.; Amrein, W. Synthesis and enzymatic degradation of dendrimers from (R)-hydroxybutanoic acid and trimesic acid. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2795-2796.

<sup>84</sup> Meijer, E. W.; van Genderen M. H. P. Dendrimers set to self-destruct. *Nature* **2003**, *426*, 128-129.

<sup>85</sup> McGrath, D. V. Dendrimer disassembly as a new paradigm for the application of dendritic structures. *Molec. Pharm.* **2005**, *2*, 4, 253-263.

<sup>86</sup> Li, S.; Szalai, M. L.; Kevitch, R. M.; McGrath, D. V. Dendrimer disassembly by benzyl ether depolymerization. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10516-10517.

<sup>87</sup> Szalai, M. L.; Kevitch, R. M.; McGrath, D. V. Geometric disassembly of dendrimers: dendritic amplification. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15688-15689.

<sup>88</sup> Amir, R. J.; Pessah, N.; Shamis, M.; Shabat, D. Self-immolative dendrimers. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2003**, *42*, 4494-4499.

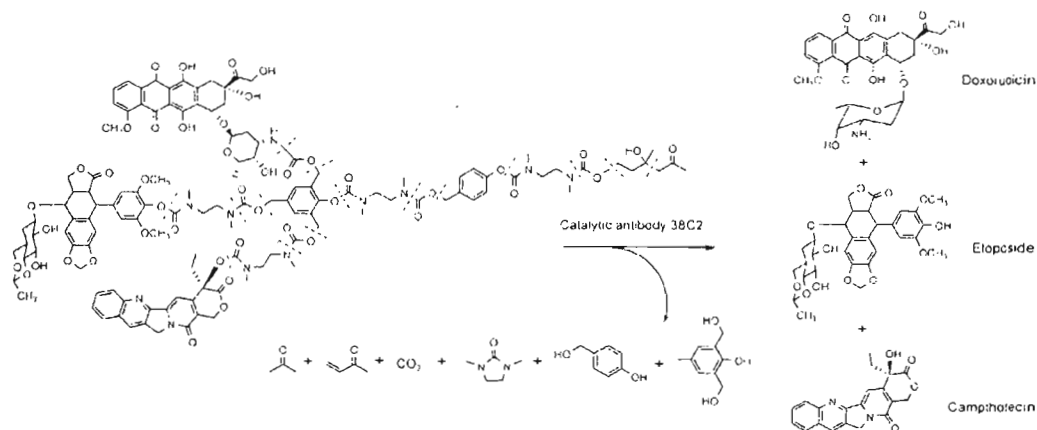
dendrimers » et « cascade-release dendrimers ». Ainsi, des principes actifs ont pu être libérés par Shabat *et al.* selon une dégradation amorcée par un clivage enzymatique réalisé par l'anticorps catalytique C32 selon une double réaction de rétro aldol-rétro Michael suivie par un processus en cascade. De manière à utiliser ce procédé *in vivo*, des études comparatives de cytotoxicité ont été réalisées *in vitro* avec des prodrugs "monomériques", "homodimériques" et "hétérodimériques" sur des cellules souches humaines (Molt-3-Leukemia) après activation enzymatique. Les études indiquent qu'après activation enzymatique avec l'anticorps C32, les prodrugs monomériques et homodimériques conduisent à des toxicités du même ordre de grandeur que les actifs libres, voire inférieures (par exemple  $IC_{50}=0.13$  mM pour la Camptothécine libre et  $IC_{50}=0.38$  mM pour la prodrug homodimérique). Par ailleurs, dans le cas des prodrugs hétérodimériques les résultats sont aussi encourageants. L'activation enzymatique conduit à des toxicités quasiment équivalentes ( $IC_{50}=95$  mM) à celles observées lorsqu'on conjugue les deux prodrugs homodimériques ( $IC_{50}=112$  mM).<sup>90</sup> De même, le concept de la trithérapie a été rapporté par ce même groupe dans une étude élégante impliquant le relâchement de trois actifs (Doxorubicine, Camptothécine et Etoposide) initialement conjugués sur un système dendritique dégradable adapté (Fig. 16).<sup>91</sup>

---

<sup>89</sup> de Groot, F. M. H.; Albrecht, C.; Koekkoek, R.; Beusker, P. H.; Scheeren, H. W. "Cascade-release dendrimers" liberate all end groups upon a single triggering event in the dendritic core. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2003**, *42*, 4490-4494.

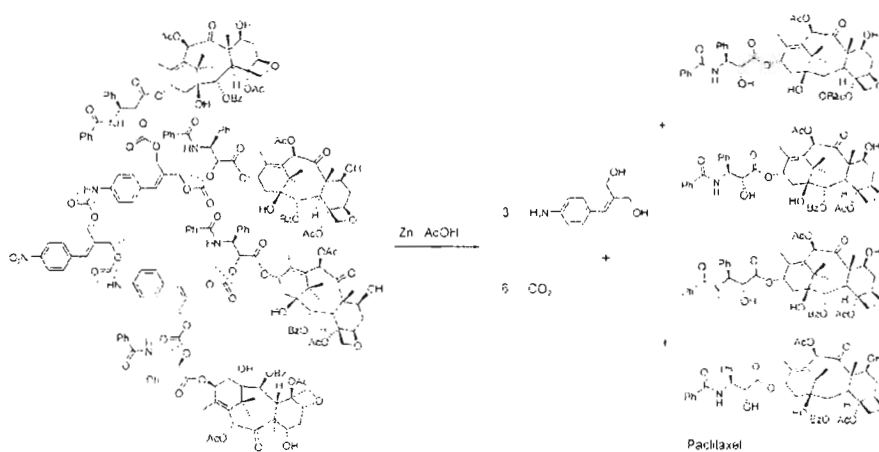
<sup>90</sup> Amir, R. J.; Shabat, D. Self-immolative dendrimer biodegradability by multi-enzymatic triggering. *Chem. Commun.* **2004**, 1614-1615.

<sup>91</sup> Haba, K.; Popkov, M.; Shamis, M.; Lerner, R. A.; Barbas III, C. F.; Shabat, D. Single-Triggered trimeric prodrugs. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 716-720.



**Figure 16.** Prodrogue hétérotrimérique proposé par Shabat *et al.* pour la libération de trois principes actifs *via* un scaffold dendritique dégradable (tirée de la réf. 70).

Selon un principe similaire, de Groot *et al.* ont procédé au relâchement de principes actifs de type Taxol et ses dérivés après dégradation initié par un processus chimique basé sur la réduction d'une fonction nitro en amine (Fig. 17)



**Figure 17.** Représentation schématique de la libération de Paclitaxel *via* un processus de « cascade-release » (tirée de la réf. 70).

L'utilisation de ces systèmes dendritiques dégradables en tant qu'agents anti-tumoraux est prometteuse et devrait être optimisée. La conception de systèmes efficaces,

stables et sélectifs contenant une fonction initiant la dégradation ayant une affinité particulière avec les enzymes des cellules ciblées par exemple, permettrait un relâchement des actifs à proximité des sites d'action.

Comme nous l'avons illustré, le principe de libération contrôlée de principes actifs par l'intermédiaire de systèmes de prodrugs dendritiques constitue un des challenges thérapeutiques qui suscitent le plus d'effort de recherche. L'utilisation de procédés covalents ou de type supramoléculaires génère des avantages certains mais aussi des inconvénients qu'il est nécessaire de résoudre. Dans ce contexte, certaines études comparatives concernant ces deux modes d'attachement ont fait l'objet de revues.<sup>92,93</sup>

En outre, la recherche sur les dendrimères en tant que vecteurs d'actifs porte aussi sur la mise au point de vecteurs synthétiques aux applications diverses et variées: la thérapie génique de type non-virale<sup>94</sup>, la thérapie par capture de neutron par le Bore<sup>95</sup>, les diagnostics médicaux (IRM).<sup>95</sup> L'objet de ce manuscrit n'étant pas de décrire en détail ces différentes utilisations des dendrimères, les lecteurs sont invités à se référer à d'excellentes revues portant sur ces domaines spécifiques.<sup>95,96,97</sup>

#### b) Les dendrimères en tant qu'antimicrobiens

L'intérêt de développer ce type d'architectures dendritiques réside dans le fait qu'un mimétisme avec les structures macromoléculaires naturelles peut être développé de façon synthétique, selon les fonctionnalités introduites. Ainsi, des dendrimères, pouvant être

<sup>92</sup> Patri, A. K.; Kukowska-Latallo, J. F.; Baker Jr, J. R. Targeted drug delivery with dendrimers: Comparison of the release kinetics of covalently conjugated drug and non-covalent drug inclusion complex. *Adv. Drug Del. Rev.* **2005**, *57*, 2203-2214.

<sup>93</sup> Cheng, Y.; Xu, T. The effect of dendrimers on the pharmacodynamic and pharmacokinetic behaviors of non-covalently or covalently attached drugs. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 2291-2297.

<sup>94</sup> Wang, Y.; Kong, W.; Song, Y.; Duan, Y.; Wang, L.; Steinhoff, G.; Kong, D.; Yu, Y. Polyamidoamine dendrimers with a modified pentaerythritol core having high efficiency and low cytotoxicity as gene carriers. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 617-622.

<sup>95</sup> Stiriba, S.-E.; Frey, H.; Haag, R. Dendritic polymers in biomedical applications: From potential to clinical use in diagnostics and therapy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 1329-1334.

<sup>96</sup> Boas, U.; Heegaard, P. M. H. Dendrimers in drug research. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 43-63.

<sup>97</sup> Aulenta, F.; Hayes, W.; Rannard, S. Dendrimers: a new class of nanoscopic containers and delivery devices. *Eur. Polym. J.* **2003**, *39*, 1741-1771.



impliqués lors d'un traitement spécifique en tant qu'antiviraux ou antimicrobiens ont vu le jour.

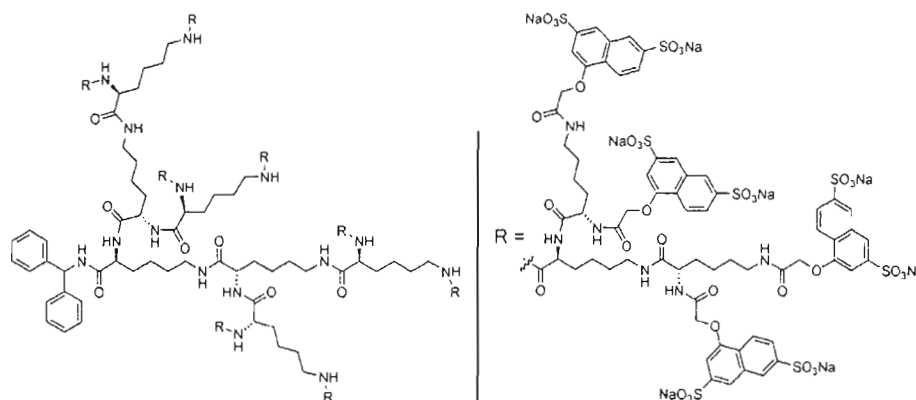
Ainsi, une application antivirale a été développée avec l'utilisation de dendrimères anioniques (contenant des fonctions périphériques de type sulfonates, carboxylates, résidus de saccharides de type acide sialique) agissant comme des mimétiques artificiels des surfaces cellulaires. Leur mode d'action consisterait donc en une compétition entre les sites anioniques du dendrimère et ceux de la membrane cellulaire pour les récepteurs du virus et conduirait à une diminution de l'infection.<sup>96</sup> L'utilisation de cette approche a déjà remporté quelques succès. Par exemple, il a été montré que des dendrimères de type PPI, polylysine et PAMAM modifiés avec des groupements naphyles et comportant des résidus sulfonates en surface, présentent *in vitro* une activité antivirale contre le Virus Herpes Simplex (HSV) de type 1 et 2.<sup>98</sup> Par ailleurs, des résultats encourageants ont été obtenus *in vivo* chez la souris lors de l'infection avec HSV-2 avec les structures à base de polylysine. Des études complémentaires montrent que le dendrimère agit à la fois comme un inhibiteur lors de l'entrée du virus mais aussi au cours des derniers stades de réplication du virus. Ces deux facteurs synergiques sont importants car ils permettent de minimiser les risques de toxicité lors d'injections répétées de ces dendrimères au cours d'un traitement. De plus, des études sur des dendrimères de PAMAM fonctionnalisés à la surface par des groupements sulfonates ont montré une activité antivirale contre le virus VIH.<sup>99</sup> Comme dans le cas précédent, le dendrimère agirait en tant qu'inhibiteur lors de l'entrée du virus mais aussi au niveau de la réplication du virus en formant des complexes avec la transcriptase inverse ou des intégrases. Suite à ces avancées importantes sur le développement et les applications des dendrimères, diverses compagnies pharmaceutiques ont vu le jour. A ce titre, l'une des industries de pointe dans ce domaine, Starpharma Holdings Ltd. se consacre essentiellement au développement et à l'utilisation des dendrimères contre des maladies graves. Le produit-phare de Starpharma®, VivaGel®, a été agréé par la FDA en 2006 (Fast Track status pour la prévention des infections

---

<sup>98</sup> Bourne, N.; Stanberry, L. R.; Kern, E. R.; Holan, G.; Matthews, B.; Bernstein, D. I. Dendrimers, a new class of candidate topical microbicides with activity against Herpes Simplex virus infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, *44*, 2471-2474.

<sup>99</sup> Witvrouw, M.; Fikkert, V.; Pluymers, W.; Matthews, B.; Mardel, K.; Schols, D.; Raff, J.; Debyser, Z.; de Clercq, E.; Holan, G.; Pamecouque, C. Polyanionic (i.e., polysulfonate) dendrimers can inhibit the replication of human immunodeficiency virus by interfering with both virus adsorption and later steps (reverse transcriptase/integrase) in the virus replicative cycle. *Mol. Pharm.* **2000**, *58*, 1100-1108.

par le VIH), pour poursuivre les études par des essais cliniques humains.<sup>100,101</sup> VivaGel® est un gel basé sur une formulation nano-pharmaceutique agissant comme microbicide topique vaginal féminin utilisé dans la prévention des maladies sexuellement transmissibles (herpès génital, chlamydia et VIH) (Fig. 18).



**Figure 18.** Structure du dendrimère polysulfonate entrant dans la composition de VivaGel® (tirée de la réf. 101).

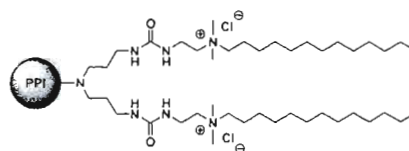
Les différents tests en phase clinique I effectués sur 36 femmes saines se sont avérés significatifs, montrant que le gel est efficace et bien toléré au niveau vaginal. Contrairement à d'autres traitements, l'action du dendrimère est facilitée/augmentée puisque qu'il n'est pas absorbé dans la circulation systémique quelle que soit la concentration. Compte tenu de ces résultats, VivaGel® a été reconnu, en 2004, comme l'une des plus grandes avancées dans le domaine des nanotechnologies par le Forbes/Wolfe Nanotech. Report. Le programme clinique s'étend actuellement et son succès éventuel représenterait une des premières démonstrations de la puissance de ce type d'architectures pour des applications pharmaceutiques.

<sup>100</sup> Site [www.starpharma.com/vivagel.asp](http://www.starpharma.com/vivagel.asp) visité le 01 Novembre 2009.

<sup>101</sup> McCarthy, T. D.; Karellas, P.; Henderson, S. A.; Giannis, M.; O'Keefe, D. F.; Heery, G.; Paull, J. R. A.; Matthews, B. R.; Holan, G. Dendrimers as drugs: discovery and preclinical and clinical development of dendrimerbased microbicides for HIV and STI prevention. *Molec. Pharm.* **2005**, *2*, 4, 312-318.

Les phénomènes de multirésistance aux antibiotiques, liés à leur usage non approprié ou non médical, constituent un problème de santé publique dans le monde et stimulent l'utilisation de stratégies thérapeutiques alternatives telles que l'intervention à un stade précoce en inhibant l'adhésion bactérienne. Dans ce contexte, deux catégories de dendrimères ont été utilisés afin d'exploiter leurs propriétés bactéricides.

La première, à la différence des dendrimères antiviraux évoqués plus haut, présente à la surface des groupements cationiques, généralement de type amines ou ammoniums quaternaires. Leur mode d'action est basé sur l'adhésion du dendrimère chargé sur la bactérie, entraînant une désorganisation de la membrane bactérienne et, *in fine*, la lyse de la bactérie. Une des architectures dendritiques les plus utilisées pour ce type d'application demeure les PPI fonctionnalisés par des fonctions ammoniums quaternaires (Fig. 19).<sup>102</sup> Leur utilisation s'est d'ailleurs avérée très efficace, comparée aux polymères hyperbranchés correspondants, contre des bactéries de type Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>. Les études ont indiqué une relation entre les propriétés biocides et la taille du dendrimère, la longueur des chaînes hydrocarbonées et la nature du contre-ion.



**Figure 19.** Représentation de la structure d'un dendrimère possédant une activité biocide.

La seconde catégorie concerne la famille des glycodendrons et des glycodendrimères, c'est-à-dire des dendrons et des dendrimères présentant à leur périphérie des unités saccharidiques. Leur mimétisme de la surface cellulaire en fait ainsi des agents antimicrobiens et inhibiteurs d'adhésion virale prometteurs. L'historique de ces macromolécules glycoconjuguées, accompagné des différentes architectures recensées ainsi que leurs applications les plus notables feront l'objet d'une section suivante.

<sup>102</sup> Chen, S. C.; Cooper, S. L. Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes. *Biomaterials* **2002**, *23*, 3359-3368.

## 1.5 LES NÉOGLYCOCONJUGUÉS MULTIVALENTS POLYDISPERSÉS

Comme nous l'avons mentionné auparavant, la compréhension des phénomènes de reconnaissance protéines-saccharides se heurte à un certain nombre de problèmes liés à la complexité des mécanismes, et à celle naturelle des hydrates de carbone impliqués. Cette dernière est d'ailleurs attribuable à une biosynthèse incomplète ou à l'attachement d'autres fonctionnalités à des positions spécifiques le long des séquences d'oligosaccharides. De nombreux événements biologiques fondamentaux résultent et dépendent de cette micro-hétérogénéité associée à une organisation agrégée extrêmement précise. Dans le but d'étudier, de caractériser, de comprendre et de manipuler ces interactions, d'importantes avancées concernant l'isolation, la purification, l'analyse structurale et la maîtrise des processus de dégradation partielle ou complète de molécules oligosaccharidiques naturelles ont été observées. Malgré cela, la synthèse chimique et/ou chimio-enzymatique constituent les méthodes de choix pour l'élaboration de ligands saccharidiques multivalents, aux architectures moléculaires diverses mais contrôlées et à échelle synthétique convenable. Les analogues synthétiques résultants, uniformes du point de vue structural et présentant plusieurs unités saccharidiques périphériques peuvent de ce fait être caractérisés précisément et engagés dans des études biologiques en tant qu'effecteurs ou inhibiteurs.<sup>103</sup> Cette uniformité et cette disponibilité représentent de véritables atouts pour une étude relation structure-activité. De plus, l'identification des épitopes essentiels réellement impliqués dans les processus de reconnaissance menant à l'activité biologique d'intérêt facilite la synthèse de ces néoglycoconjugués. Les progrès enregistrés vers la fin du siècle dernier concernant l'efficacité des synthèses et des techniques de purifications de composés saccharidiques ont permis l'émergence de macromolécules multivalentes possédant des structures diverses qui ont été intensément étudiées pour déterminer leur influence sur ces processus d'adhésion. Ces investigations demeurent nécessaires pour *i)* moduler les différents paramètres structuraux pour une optimisation de l'activité; *ii)* développer des ligands effecteurs ou inhibiteurs de haute affinité pour des récepteurs spécifiques, aux propriétés biologiques adaptées.

---

<sup>103</sup> Doores, K. J.; Gamblin, D. P.; Davis, B. G. Exploring and exploiting the therapeutic potential of glycoconjugates. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 656-665.

La présente section fera succinctement état de la préparation d'architectures multivalentes glyco-mimétiques polydisperses des structures présentes à la surface des cellules des mammifères (néoglycoprotéines ou néoglycopeptides, néoglycolipides ou glycoliposomes), ainsi que celle des glycopolymères ou de glycoparticules.

### *1.5.1. Les néoglycoprotéines et néoglycopeptides*

Historiquement, les néoglycoprotéines représentent la première classe de néoglycoconjugués synthétiques puisque leur synthèse a été décrite en 1929 lors d'un travail pionnier sur l'élaboration d'un vaccin polysaccharidique capsulaire contre l'infection à pneumocoque.<sup>104</sup> De façon triviale, les glycoprotéines peuvent être décrites comme issues de la conjugaison entre un poly/oligosaccharide et une séquence d'acides aminés (ou des protéines globulaires). L'ubiquité de ces structures dans la nature leur confère une grande variété de fonctions biologiques en tant que marqueurs cellulaires notamment pour la détermination de la virulence microbienne, des phénomènes d'inflammation ou encore de réponse immunitaire. En fait, la Nature exploite avantageusement la structure tertiaire des protéines pour en faire une base multivalente permettant une présentation multiple des glycanes périphériques selon des processus de glycosylation et la génération d'une extraordinaire diversité structurale. Il a été montré que la présence de ces derniers permettait la modulation des propriétés physico-chimiques des protéines, telles que la solubilité, la viscosité, la charge, la flexibilité, la conformation. De plus, ils leur confèrent une stabilité et une résistance aux phénomènes de dégradation protéolytique agissant comme un bouclier stérique face aux protéases.<sup>105</sup>

De nos jours, plusieurs méthodes synthétiques permettant de générer ces néoglycoprotéines sont décrites mais l'hétérogénéité des unités saccharidiques rencontrée dans les glycoprotéines naturelles représente un réel frein pour réaliser fidèlement des mimiques de ces derniers. De plus, un certain seuil de glycanes demeure nécessaire pour

---

<sup>104</sup> Goebel, W. F.; Avery, O. T. Chemo-immunological studies on conjugated carbohydrate-proteins. I. The synthesis of *p*-aminophenol  $\beta$ -glucoside, *p*-aminophenol  $\beta$ -galactoside, and their coupling with serum globulin. *J. Exp. Med.* **1929**, *50*, 521-31.

<sup>105</sup> Seitz, O. Glycopeptides and Glycoproteins: Synthetic Chemistry and Biology. In *Carbohydrate-based Drug Discovery*. Ed. C.-H. Wong, Wiley-VCH, **2003**, 169-214.

l'expression des activités biologiques visées et l'introduction fastidieuse d'unités saccharidiques parfois non naturelles est obligatoire. Les progrès rencontrés en glycobiologie permettent cependant un accès quasi-illimité, avec la chimie de conjugaison appropriée, à des liaisons non naturelles impliquant des *O*-, *N*-, *C*- et *S*-saccharides ainsi que des espaceurs appropriés. Bien que les glycoprotéines apparaissent naturellement sous la même forme (glycoformes) avec un squelette peptidique commun, la nature et le site de glycosylation diffèrent cependant. Les stratégies chimiques et chimio-enzymatiques permettent d'obtenir une large gamme de néoglycoprotéines originales *via* une chimie de conjugaison classique dite « *de novo* » impliquant l'utilisation d'acides aminés fonctionnalisés et de saccharides modifiés en conséquence.<sup>106,107,108,109,110</sup> Ces techniques synthétiques et de dégradation ont ainsi généré au fil des ans différentes sous-familles de glycoconjugués protéiques qui ont été utilisés notamment à des fins thérapeutiques.

Les vaccins polysaccharidiques représentent un exemple important de néoglycoconjugués. Le fait d'avoir prouvé très tôt que les polysaccharides ne possédaient que de médiocres propriétés immunogéniques a stimulé de nombreuses recherches portant sur leur conjugaison à un vecteur immunogénique de nature protéique.<sup>111</sup> Leur potentiel immunoprophylactique est reconnu depuis le développement par le Pr. Roy et des collaborateurs cubains, et la commercialisation du vaccin synthétique contre *Haemophilus influenzae* de type b.<sup>112</sup>

<sup>106</sup> Gamblin, D. P.; Scanlan, E. M.; Davis, B. G. Glycoprotein synthesis: An update. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 131-163.

<sup>107</sup> Roy, R. The Chemistry of Neoglycoconjugates in *Carbohydrate Chemistry*. Ed. G.-J. Boons, Blackie Academic, London, **1998**, 243-321.

<sup>108</sup> Herzner, H.; Reipen, T.; Schultz, M.; Kunz, H. Synthesis of glycopeptides containing carbohydrate and peptide recognition motifs. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4495-4537.

<sup>109</sup> Davis, B. G. Synthesis of Glycoproteins. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 579-601.

<sup>110</sup> Specker, D.; Wittmann, V. Synthesis and Application of Glycopeptide and Glycoprotein Mimetics. *Top. Curr. Chem.* **2007**, *267*, 65-107.

<sup>111</sup> Roy, R. New Trends in Carbohydrate-based Vaccines. *Drug Discovery Today: Technol.* **2004**, *1*, 3, 327-336.

<sup>112</sup> Verez-Bencomo, V.; Fernández-Santana, V.; Hardy, E.; Toledo, M. E.; Rodríguez, M. C.; Heynngnez, L.; Rodríguez, A.; Baly, A.; Herrera, L.; Izquierdo, M.; Villar, A.; Valdés, Y.; Cosme, K.; Deler, M. L.; Montane, M.; Garcia, E.; Ramos, A.; Aguilar, A.; Medina, E.; Toraño, G.; Sosa, I.; Hernandez, I.; Martínez, R.; Muzachio, A.; Carmenates, A.; Costa, L.; Cardoso, F.; Campa, C.; Díaz, M.; Roy, R. A Synthetic Conjugate Polysaccharide Vaccine Against *Haemophilus influenzae* Type b. *Science* **2004**, *305*, 522-525.

### *1.5.2. Les néoglycolipides et glycoliposomes*

Les glycolipides se trouvent à la surface de toutes les cellules et plusieurs milliers de structures glycolipidiques ont été caractérisées et répertoriées à ce jour sur la surface des cellules des mammifères. Selon leur portion hydrophobe, les glycolipides des mammifères peuvent être divisés en deux catégories: les glycosphingolipides (ou gangliosides en présence d'acide sialique) et les glyco-glycérolipides. Ainsi, on définit le terme « néoglycolipides » comme des glyco-mimétiques synthétiques de ces architectures naturelles. De ce fait, l'élaboration synthétique de ces derniers à partir de motifs lipidiques permet l'accès à une variété de bio-senseurs à base de saccharides.

Les stratégies synthétiques sont principalement axées autour de la dégradation enzymatique de glycosphingolipides naturels par des glycanases céramidiques, permettant notamment des réactions de « trans-lipidation ». La synthèse chimique intégrale demeure beaucoup plus fastidieuse. On peut mentionner toutefois que les premiers essais concernaient l'ancrage d'unités saccharidiques à la surface de liposomes selon des processus d'adsorption, mais des problèmes de stabilité et de reproductibilité persistaient. En revanche, l'élaboration aisée de glucosylamides ayant des propriétés immunomodulatoires et dépourvues d'activité mitogénique procure à ces mimétiques néoglycolipidiques un fort potentiel commercial.

L'attachement de saccharides à des motifs hydrophobes de type lipidique ouvre la voie à des applications portant sur des méthodes d'immobilisation. Plusieurs avantages de premier ordre peuvent être énumérés pour leur utilisation en tant que bio-senseurs. Dans un premier temps, la pré-sélection des résidus lipidiques uniques plutôt qu'un complexe mélange hétérogène de chaînes acylées rencontrées dans les glycolipides naturels, constitue un avantage de choix. Ensuite, la réactivité sélective des différents saccharides dans un milieu hétérogène facilite leur séparation. En outre, la surface couverte par les hydrates de carbone immobilisés facilite l'interprétation des résultats obtenus pour déterminer précisément leur rôle biologique en tant qu'antigènes, ligands, ou autres éléments de reconnaissance. En résumé, les néoglycolipides constituent un outil intéressant pour une évaluation précise des spécificités des protéines de reconnaissance des oligosaccharides, permettant de déterminer

les fonctions antigéniques et d'apprécier les propriétés en tant que ligands d'une petite quantité d'oligosaccharides.<sup>106</sup>

L'étude de l'effet « cluster » évoqué plus haut a pu être effectuée grâce à ce type d'architectures qui sont connues pour former des liposomes, alors appelées glycoliposomes.<sup>113</sup> Ces architectures auto-assemblées, formées par suspension du glycolipide correspondant dans un milieu aqueux, peuvent offrir une versatilité et une diversité structurales en termes de composition chimique et de fluidité moléculaire, et exhibent des domaines saccharidiques intéressants sur la surface (Fig. 20).

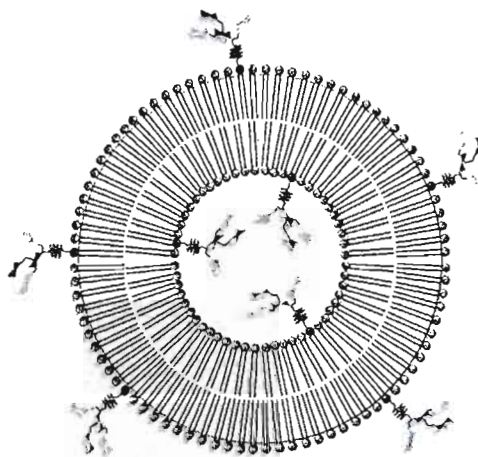


Figure 20. Représentation schématique d'un glycoliposome.

Leurs applications biologiques s'articulent essentiellement autour de leurs propriétés de glycoclusters du fait que les glycolipides intégrés dans les bicouche des vésicules peuvent montrer une mobilité latérale rapide. Ainsi, certains polysaccharides conjugués à des liposomes ont été reconnus comme des systèmes relativement stables face aux événements biochimiques et physico-chimiques rencontrés dans les bio-fluides après administration par voie orale par exemple. Quant à leur utilisation en tant que vecteurs d'actifs, ils sont reconnus pour: i) réduire la perméabilité de molécules hydrosolubles encapsulées en présence de

---

<sup>113</sup> Mrksich, M. A surface chemistry approach to studying cell adhesion. *Chem. Soc. Rev.* 2000, 29, 267-273.



plasma sanguin; *ii*) augmenter leur stabilité contre l'activité enzymatique; *iii*) augmenter leur stabilisation mécanique et biochimique contre les bio-stimuli tels que le pH, la pression osmotique, les forces ioniques ou la température. De plus, ces structures ont été utilisées en tant qu'anti-microbiens, en tant qu'inhibiteurs potentiels d'haemagglutination d'érythrocytes humains par les virus *Influenza*, en tant qu'adjuvants de vaccins comme immunomodulateurs par activation par des macrophages.<sup>114</sup> Malheureusement, la majorité des études à ce jour ne fournissent que des données *in vitro*.

### 1.5.3. Les glycopolymères

Les glycopolymères se définissent comme des macromolécules synthétiques présentant un grand nombre d'épitopes saccharidiques et constituent des outils intensivement utilisés dans les études des interactions multivalentes protéines-saccharides. Leur principal avantage réside dans la diversité des architectures envisageables puisque leur synthèse est calquée directement sur les méthodes de synthèse classiquement rencontrées dans la chimie des polymères. Ainsi, ils peuvent être obtenus en théorie sous la forme de macromolécules polydisperses, avec des masses moléculaires très élevées et donc un nombre de glycanes exposés extrêmement important. De plus, les progrès réalisés dans la synthèse polymériques permettent un contrôle acceptable de la densité et de l'emplacement des fonctionnalités. En outre, l'aspect financier est aussi intéressant puisque l'emploi de co-monomères d'acrylamides ou de méthacrylamides par exemple permet la production de co-polymères à faibles coûts.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les progrès enregistrés dans le domaine des polymères ces cinquante dernières années, notamment au niveau des techniques de synthèse, de purification et de caractérisation, ont largement contribué à l'essor de macromolécules polymériques fonctionnalisées. De plus, un contrôle plus précis de la taille, de la topologie, de la valence et des fonctionnalités introduites est observé. Les glycopolymères ne dérogent pas à la règle et différentes méthodes de synthèse traditionnelles

---

<sup>114</sup> Sihorkar, V.; Vias, S. P. Potential of polysaccharide anchored liposomes in drug delivery, targeting and immunization. *J. Pharm. Sci.* **2001**, *4*, 2, 138-158.

propres aux polymères ont été adaptées de façon bénéfique à leur élaboration, selon les applications visées. Dans un premier temps, par analogie à la construction des néoglycoconjugués évoqués plus hauts, des réactions de glycosylations chimio-enzymatiques ont été entreprises sur des glycopolymères préformés pour fournir des glycopolymères de type multi-antennaires par exemple. Depuis, les stratégies consistent en des méthodes d'homopolymérisation,<sup>115</sup> d'hétéropolymérisation,<sup>116,117,118</sup> de post-modification,<sup>119,120</sup> impliquant l'utilisation de dérivés saccharidiques contenant des fonctions chimiques adaptées, stables ou labiles selon les cas, afin d'être polymérisés ou greffés.<sup>106</sup>

---

<sup>115</sup> Kobayashi, K.; Kobayashi, A.; Tobe, S.; Akaike, T. Carbohydrate-containing polystyrenes. In *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications*. Ed. Lee Y. C., Lee R. T., Academic Press, San Diego, 1994, 261-284.

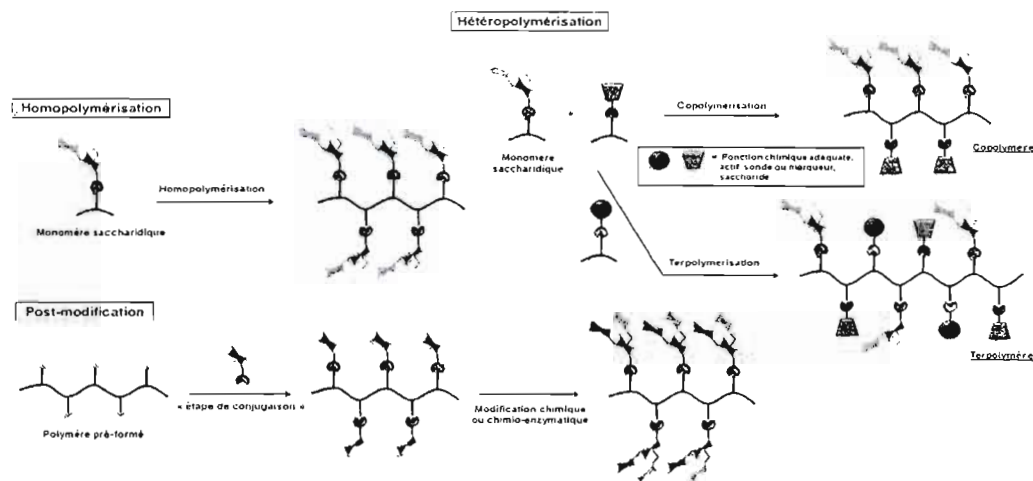
<sup>116</sup> Roy, R. Design and Synthesis of glycoconjugates. In *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*. Ed. S. H. Khan and R. A. O'Neil, Harwood Academic, Amsterdam, 1996, 378-402.

<sup>117</sup> Ouchi, T.; Ohya, Y. Drug delivery systems using carbohydrate recognition. In *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications*. Ed. Y. C. Lee and R. T. Lee, Academic Press, San Diego, 1994, 465-498.

<sup>118</sup> Fleming, C.; Maldjian, A.; Da Costa, D.; Rullay, A. K.; Haddleton, D. M.; St. John, J.; Penny, P.; Noble, R. C.; Cameron, N. R.; Davis, B. G. A carbohydrate-antioxydant hybrid polymer reduces oxidative damage in spermatozoa and enhances fertility. *Nat. Chem. Biol.* **2005**, *1*, 5, 270-274.

<sup>119</sup> Bovin, N. V.; Gabius, H.-J. Polymer immobilized Carbohydrate Ligands Versatile Chemical Tools for Biochemistry and Medical Science. *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 413-421.

<sup>120</sup> Spain, S. G.; Gibson, M. I.; Cameron, N. R. Recent Advances in the Synthesis of Well-Defined Glycopolymers. *J. Polym. Sci., Part A. Polym. Chem.* **2007**, *45*, 2059-2072.



**Figure 21.** Représentations schématiques d'une réaction d'homopolymérisation (gauche), d'une réaction de copolymérisation et de terpolymérisation (droite) et d'une synthèse de glycopolymère selon une approche post-modification (bas).

Durant les dernières années, une attention particulière a été accordée au développement de techniques de polymérisation plus efficaces, permettant notamment l'utilisation directe de dérivés saccharidiques sous leur forme non-protégée. Ainsi, un des premiers exemples a été fourni vers le milieu des années 90 par Kiessling *et al.* avec la description de la synthèse de glycopolymères mannosylés de hautes masses moléculaires par ROMP (Polymérisation par Ouverture de Cycle par Métathèse), catalysée par le ruthénium.<sup>121</sup> Une forte avidité vis-à-vis de la Concanavaleine A a notamment été observée pour ces derniers. Afin d'éviter l'utilisation de catalyseurs de type métallique, des stratégies s'appuyant sur des processus de polymérisation radicalaire contrôlée ont vu le jour dernièrement.<sup>120</sup> Nous pouvons donner à titre d'exemples les techniques de polymérisation induite par des radicaux libres stables (SFRP) ayant fourni des dérivés multivalents polymériques intéressants avec une tolérance assez grande aux types de réactions et de groupements fonctionnels utilisés. Une seconde technique reposant sur un mécanisme de polymérisation radicalaire par un transfert d'atome (ATRP) a été décrite avec des glycomonomères protégés. Une dernière technique, la plus utile et pratique a fait l'objet

<sup>121</sup> Mortell, K. H.; Gingras, M.; Kiessling, L. L. Synthesis of Cell Agglutination Inhibitors by Aqueous Ring-Opening Metathesis Polymerization. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 12053-12054.

d'innombrables études et publications depuis sa première description en 1998. Elle consiste en une polymérisation par transfert de chaînes réversible par addition-fragmentation (RAFT) et a permis l'obtention, dans des conditions réactionnelles douces, de glycopolymères de masses moléculaires contrôlées et avec de faibles indices de polydispersité à partir d'un nombre quasi-illimité de monomères fonctionnalisés, d'initiateurs et d'agents de transfert de chaînes (de type xanthates ou trithiocarbonates notamment) variés.<sup>122</sup>

Le développement des techniques de polymérisation décrites ci-dessus a permis l'obtention d'un large panel de glycopolymères aux applications diverses et variées, largement décrites dans d'excellentes revues prévues à cet effet.<sup>120</sup> Outre les applications mentionnées auparavant, les glycopolymères se sont avérés généralement non toxiques, peu ou non-immunogéniques et ayant des stabilités accrues vis-à-vis de stimuli externes tels que les variations de pH ou de température. Ainsi, leurs applications biologiques s'étendent de la glycomique à la médecine (vecteurs d'actifs, immuno-diagnostiques ou agents anti-inflammatoires), en passant par la biotechnologie (hydrogels, matériaux dégradables, marqueurs) et la science de séparation.<sup>119</sup>

#### *1.5.4. Les monocouches auto-assemblées saccharidiques*

Les monocouches auto-assemblées sont des systèmes qui présentent une ou deux couches moléculaires amphiphiles dans un champ bidimensionnel. Plusieurs classes de monocouches ont trouvé des applications dans des études biologiques, y compris des liposomes, des bicouches hybrides sur verre, des bicouches hybrides sur or et des monocouches auto-assemblées d'alcanes thiols sur or. Chacun de ces modèles porte des épitopes saccharidiques avec un contrôle de la densité du nombre des ligands (mais pas nécessairement l'espace entre eux). Une caractéristique importante de ces modèles est que l'immobilisation du ligand sur une surface empêche des associations intermoléculaires (pas de réticulation), ce qui simplifie l'analyse du mécanisme des interactions polyvalentes. Outre la

---

<sup>122</sup> Chiefari, J.; Chong, Y. K.; Ercole, F.; Krstina, J.; Jeffery, J.; Le, T. P. T.; Mayadunne, R. T. A.; Meijs, G. F.; Moad, C. L.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559-5562.

formation de liposomes évoquée précédemment, les bicouches hybrides sur verre ou sur or représentent une classe des monocouches auto-assemblées par une association des vésicules de phospholipide (ou sphingolipide) avec une monocouche d'alkyle siloxanes<sup>123</sup> ou une monocouche auto-assemblée hydrophobe sur or,<sup>124</sup> respectivement. Ces bicouches hybrides sont de bons systèmes pour l'étude des interactions cellule-cellule et cellule-pathogène car les ligands présentés sur la bicouche sont libres de diffuser latéralement, tout comme dans les membranes cellulaires. L'utilité des bicouches supportées réside dans les études mécanistiques des interactions protéine-saccharide. Ces méthodes d'immobilisation ont fourni des résultats biologiques intéressants concernant notamment la détection sensible et rapide de la toxine de Choléra et de l'entérotoxine d'*E. coli* ainsi que le développement d'inhibiteurs d'adhésion efficaces de la Concanavaleine A sur les monocouches. Les monocouches auto-assemblées des alcanes thiols sur or (*Self Assembled Monolayers on gold* ; SAMs) sont une classe de modèles qui sont particulièrement adaptés pour les études des interactions polyvalentes aux interfaces.<sup>113</sup> Ces monocouches se forment par l'adsorption des alcanes thiols sur une surface propre d'or. Les propriétés de ces monocouches dépendent des groupes fonctionnels terminaux des alcanes thiols, ce qui donne une flexibilité de fonctionnalisation. Ces systèmes offrent des avantages par rapport aux autres systèmes pour les études des interactions protéine-saccharide. Parmi ces avantages, nous pouvons citer le contrôle au niveau de la structure, la densité et l'environnement des ligands. Ces propriétés sont particulièrement importantes pour ce type d'interaction qui est souvent sensible aux changements de la présentation du ligand. En plus, les ligands sont immobilisés et présentés dans un environnement inerte à l'adsorption non spécifique des protéines. Cette caractéristique élimine les changements de structure du substrat au cours du temps qui est également important pour les études qui utilisent des cellules de mammifères.

---

<sup>123</sup> Kunitake, T. Synthetic bilayer membranes: Molecular design, self-organization, and application. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1992**, *31*, 6, 709-726.

<sup>124</sup> Mann, D. A.; Kanai, M.; Maly, D. J.; Kiessling, L. L. Probing low affinity and multivalent interactions with surface plasmon resonance: Ligands for Concanavalin A. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3, 10575-10582.

### 1.5.5. Les glyconanoparticules ou glyconoparticules

Afin d'obtenir des informations supplémentaires sur le rôle des saccharides dans les interactions cellules-cellules, des nanoparticules contenant des glycanes périphériques ont été utilisées afin d'identifier les paramètres physiques fondamentaux impliqués dans les processus d'adhésion cellulaire.<sup>125,126</sup> Ces nanostructures construites autour d'un cœur métallique (Au, Fe, etc), considérées comme des nanoclusters métalliques biofonctionnels, constituent en fait d'excellents mimétiques de l'organisation des récepteurs cellulaires (« glycocalix ») (Fig. 22).<sup>127</sup>

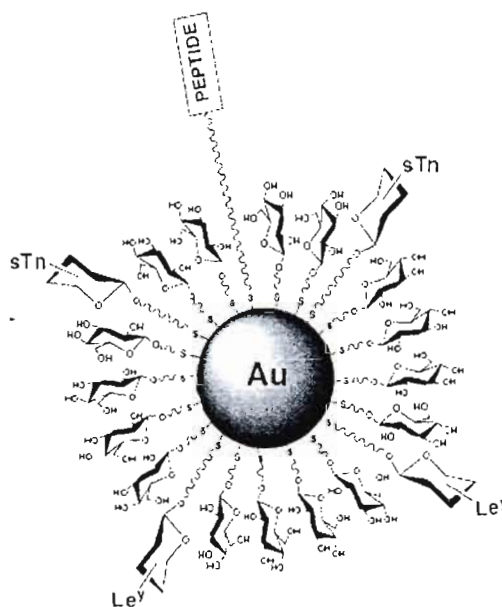


Figure 22. Glyconanoparticule synthétisée par Penadés *et al.* pour un vaccin anti-cancer potentiel (tirée de la réf. 128).

<sup>125</sup> De la Fuente, J. M.; Eaton, P.; Barrientos, A. G.; Menendez, M.; Penadés, S. Thermodynamic evidence for  $\text{Ca}^{2+}$ -mediated self-aggregation of Lewis X gold glyconanoparticles. A model for cell adhesion via carbohydrate-carbohydrate interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17, 6192-6197.

<sup>126</sup> Penadés, S.; de la Fuente, J. M.; Barrientos, A. G.; Clavel, C.; Martínez-Avila, O.; Alcantara, D. Multifunctional glyconanoparticles: Applications in biology and biomedicine. In *Nanomaterials for Applications in Medicine and Biology*. Ed. Springer Netherlands **2008**, 93-101.

<sup>127</sup> De la Fuente, J. M.; Barrientos, A. G.; Rojas, T. C.; Rojo, J.; Canada, J.; Fernández, A.; Penadés, S. Gold glyconanoparticles as water-soluble polyvalent models to study carbohydrate interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 12, 2257-2261.

Ces nanostructures ont été utilisées en tant qu'agents d'anti-adhésion pour l'inhibition de métastases, en tant que microbicides potentiels pour bloquer l'infection par le VIH-1. Elles sont également impliquées dans le développement de vaccins anti-cancer, ou encore dans le cadre de l'imagerie et le marquage cellulaire.<sup>126,128</sup>

Bien qu'une grande variété de méthodes synthétiques soit à l'origine d'une impressionnante variété de systèmes synthétiques multivalents possédant des motifs architecturaux extrêmement variés, de sérieuses limitations concernant leur caractère polydisperses sont à souligner. Pour cette raison, des stratégies ont été développées ces dernières années afin d'élaborer des architectures saccharidiques multivalentes, monodisperses et bien définies.

Dans ce contexte, la section suivante sera consacrée à la description détaillée d'architectures uniformes appelées « glycoclusters » et « glycodendrimères », appartenant à la classe des dendrimères.

## 1.6 LES SYSTÈMES MONODISPERSÉS: LES GLYCOCLUSTERS ET LES GLYCODENDRIMÈRES

Le contrôle des réactions chimiques permettant l'agencement des différents éléments constitutionnels d'une macromolécule branchée acquis au cours des années a permis l'émergence de dérivés multivalents monodisperses présentant un nombre de glucides périphériques précis. Ces systèmes, qualifiés de monomoléculaires, ont ainsi pu être préparés à partir de scaffolds variés donnant accès à des glycoclusters, des glycodendrimères, des macromolécules agencées de façon supramoléculaire,<sup>129,130,131,132,133,134</sup> ou encore des

<sup>128</sup> Ojeda, R.; de Paz, J. L.; Barrientos, A. G.; Martín-Lomas, M. Penadés, S. Preparation of multifunctional glyconanoparticles as a platform for potential carbohydrate-based anticancer vaccines. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 448-459.

<sup>129</sup> Lehn, J.-M. Toward self-organization and complex matter. *Science* **2002**, *295*, 2400-2403.

<sup>130</sup> Sakai, S.; Sasaki, T. Multivalent carbohydrate ligands assembled on a metal template. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1587-1588.

<sup>131</sup> Hasegawa, T.; Yonemura, T.; Matsuura, K.; Kobayashi, K. Artificial metalloglycoclusters: compact saccharide shell to induce high lectin affinity as well as strong luminescence. *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 728-737.

<sup>132</sup> 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*, 3881-3893.

nanostuctures à base de fullerènes<sup>135,136,137,138,139</sup> ou de nanotubes de carbone.<sup>140,141,142,143,144</sup>

Seules les deux premières classes de structures multivalentes indiquées ci-dessus feront l'objet d'une étude détaillée dans la suite de ce chapitre.

### 1.6.1. Les glycoclusters

Les glycoclusters peuvent être assimilés, du point de vue de leur structure, à de véritables mimétiques des oligosaccharides multi-antennaires naturels. De façon arbitraire, nous les considérerons dans ce mémoire comme des glycoconjugués multivalents construits autour de scaffolds synthétisés ou disponibles commercialement ne contenant pas d'unités répétitives, indépendamment du nombre d'épitopes périphériques. Ainsi, ces particularités

---

<sup>133</sup> Kikkeri, R.; Hossain, L. H.; Seeberger, P. H. Supramolecular one-pot approach to fluorescent glycodendrimers. *Chem. Commun.* **2008**, 2127-2129.

<sup>134</sup> Thoma, G.; Streiff, M. B.; Katopodis, A. G.; Duthaler, R. O.; Voelcker, N. H.; Ehrhardt, C.; Masson, C. Non-covalent polyvalent ligands by self-assembly of small glycodendrimers: A novel concept for the inhibition of polyvalent carbohydrate-protein interactions in vitro and in vivo. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 99-117.

<sup>135</sup> Kroto, H. W.; Heath, J. R.; O'Brien, S. C.; Curl, R. F.; Smalley, R. E. C<sub>60</sub>: Buckminsterfullerene. *Nature* **1985**, *318*, 162-163.

<sup>136</sup> Vasella, A.; Uhlmann, P.; Waldraff, C. A. A.; Diederich, F.; Thielgen, C. Fullerene sugars: Preparation of enantiomerically pure, spiro linked C-glycosides of C<sub>60</sub>. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1388-1390.

<sup>137</sup> Kato, H.; Yashiro, A.; Mizuno, A.; Nishida, Y.; Kobayashi, K.; Shinohara, H. Syntheses and biological evaluations of  $\alpha$ -D-mannosyl [60]fullerenols. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2935-2939.

<sup>138</sup> Cardullo, F.; Diederich, F.; Echegoyen, L.; Habicher, T.; Jayaraman, N.; Leblanc, R. M.; Stoddart, J. F.; Wang, S. Stable Langmuir and Langmuir-Blodgett films of fullerene-glycodendron conjugates. *Langmuir* **1998**, *14*, 1955-1959.

<sup>139</sup> Isobe, H.; Cho, K.; Solin, N.; Werz, D. B.; Seeberger, P. H.; Nakamura, E. Synthesis of fullerene glycoconjugates via a copper-catalyzed Huisgen cycloaddition reaction. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4611-4614.

<sup>140</sup> Tasis, D.; Tagmatarchis, N.; Bianco, A.; Prato, M. Chemistry of carbon nanotubes. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 1105-1136.

<sup>141</sup> Chen, X.; Lee, G. S.; Zettl, A.; Bertozzi, C. R. Biomimetic engineering of carbon nanotubes by using cell surface mucin mimics. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6112-6116.

<sup>142</sup> Chen, X.; Tam, U. C.; Czlapiński, J. L.; Lee, G. S.; Rabuka, D.; Zettl, A.; Bertozzi, C. R. Interfacing carbon nanotubes with living cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6292-6293.

<sup>143</sup> Wu, P.; Chen, X.; Hu, N.; Tam, U. C.; Blixt, O.; Zettl, A.; Bertozzi, C. R. Biocompatible carbon nanotubes generated by functionalization with glycodendrimers. *Angew. Chem. Int. ed.* **2008**, *47*, 5022-5025.

<sup>144</sup> Gu, L.; Luo, P. G.; Wang, H.; Mezziani, M. J.; Lin, Y.; Veca, L. M.; Cao, L.; Lu, F.; Wang, X.; Quinn, R. A.; Wang, W.; Zhang, P.; Lacher, S.; Sun, Y.-P. Single-walled carbon nanotubes as a unique scaffold for the multivalent display of sugars. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2408-2418.



structurales nous permettront de les distinguer des véritables glycodendrimères multi-générationes que nous évoquerons en détail par la suite.

Considérant l'accès synthétique direct à cette famille de « petites » macromolécules, un large panel de glycoclusters basés sur des scaffolds multivalents fonctionnalisés illustrés à la Figure 23 a été décrit durant ces dernières années.

Puisqu'une grande variété de scaffolds multivalents a fait l'objet de revues par les équipes de Roy<sup>145,146,147</sup> et de Santoyo-González,<sup>148,149</sup> cette section offrira un bref descriptif des structures glycoconjuguées de type cluster de la littérature en insistant sur les structures aux activités biologiques les plus marquées et construites à partir de cœurs aliphatiques ou aromatiques, dont certains seront l'objet des chapitres suivants, ou encore de type glucidiques et peptidiques.

---

<sup>145</sup> Roy, R. A decade of glycodendrimer chemistry. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2003**, *15*, 291-310.

<sup>146</sup> Touaibia, M.; Roy, R. Application of multivalent mannosylated dendrimers in glycobiology. in J. P. Kamerling (Ed.), *Comprehensive Glycoscience*, Elsevier, **2007**, Vol. 3, 821-870.

<sup>147</sup> Chabre, Y. M.; Roy, R. Recent trends in glycodendrimer syntheses and applications. *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, *8*, 1237-1285.

<sup>148</sup> Perez-Balderas, F.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernández-Mateo, F.; Isac-García, J.; Santoyo-González, F. Click multivalent homogeneous neoglycoconjugates - Synthesis and evaluation of their binding affinities. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 2441-2453.

<sup>149</sup> Ortega-Muñoz, M.; Perez-Balderas, F.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernández-Mateo, F.; Isac-García, J.; Santoyo-González, F. Click multivalent heterogeneous neoglycoconjugates - Modular synthesis and evaluation of their binding affinities. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 2454-2473.

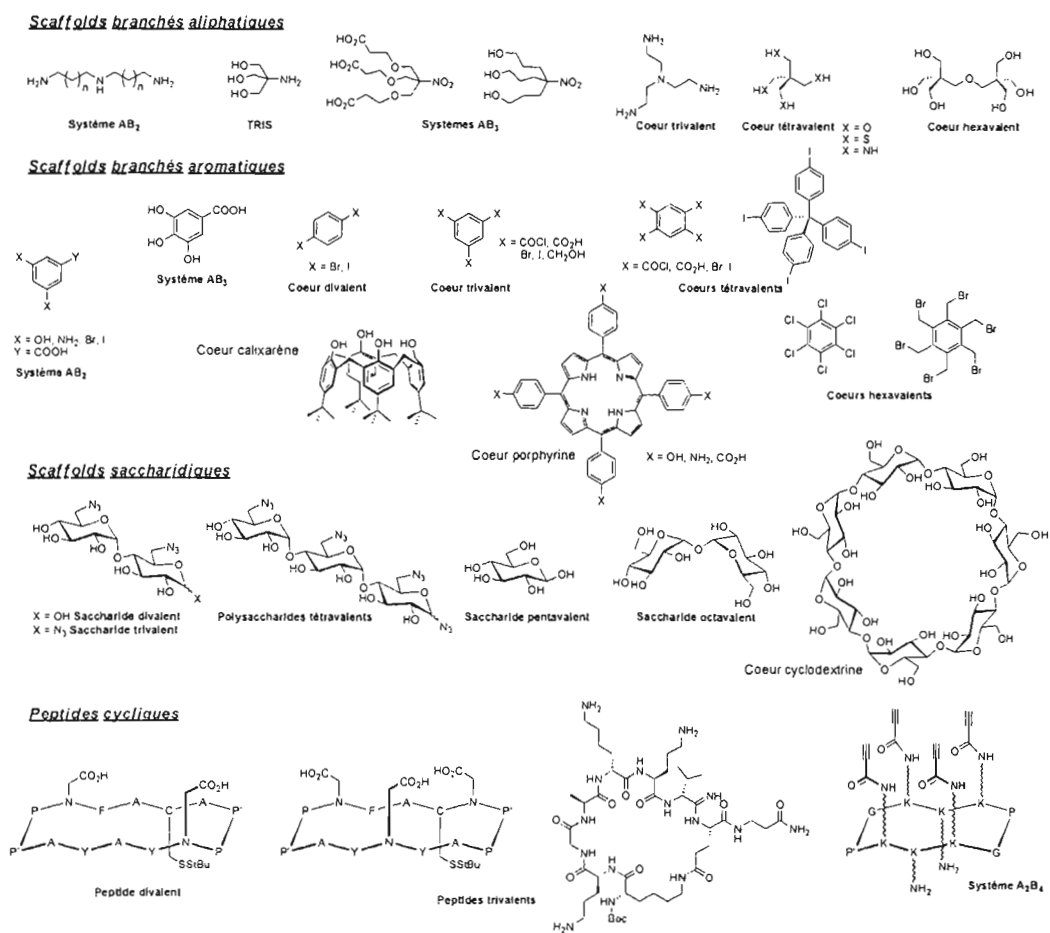


Figure 23. Scaffolds communs utilisés pour la synthèse de glycoclusters et de glycodendrimères.

La facilité avec laquelle des structures branchées peuvent être synthétisées, notamment en raison de l'accessibilité des scaffolds multivalents présentés, a permis le développement rapide de glycoconjugués multivalents présentant une avidité grandement accrue par rapport aux glycoconjugués monovalents correspondants. Plus particulièrement, le design de tels systèmes incluant la modulation de facteurs structuraux tels que la valence, l'introduction de fonctions chimiques et d'espaces plus ou moins rigides avec des longueurs optimales, et la topologie induite a pu être étudié de façon systématique. Leur optimisation a ainsi pu permettre l'essor de macromolécules « sucrées » synthétisées sur-mesure, présentant des géométries et des distances inter-épitopes idéales pour de fortes interactions avec les protéines étudiées.

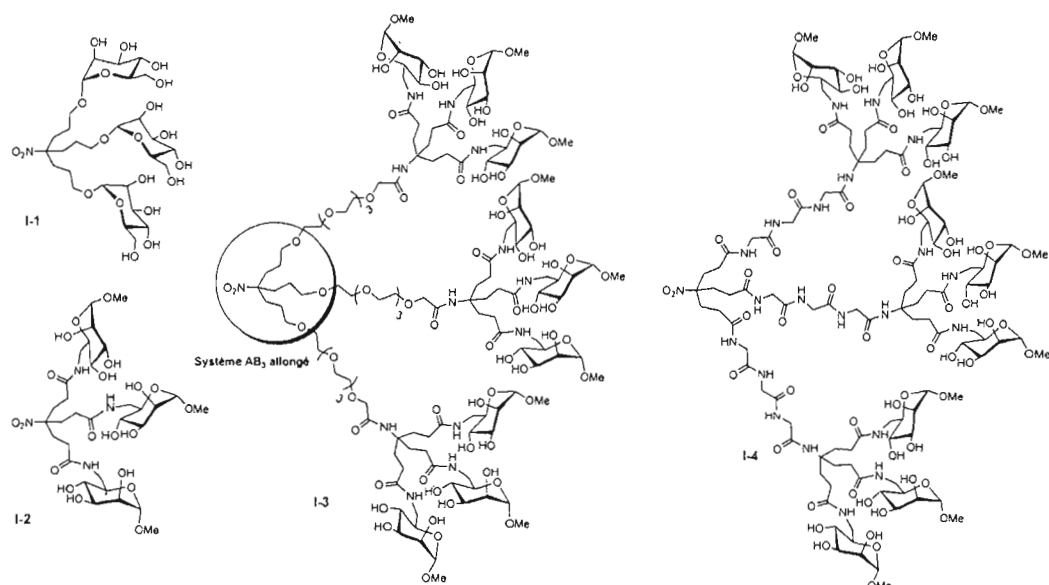
a) *Les glycoclusters avec des cœurs aliphatiques*

Historiquement, l'un des premiers glycoclusters branchés a été synthétisé à partir du composé commercial TRIS (tris(hydroxyméthyl)aminométhane) par Lee *et al.* à la fin des années 1970.<sup>150</sup> Ce cœur de type AB<sub>3</sub>, que l'on décrira plus en détail dans les chapitres suivants, offre des avantages synthétiques en termes de symétrie en procurant un contrôle orthogonal et en permettant une fonctionnalisation rapide, et représente ainsi un candidat idéal pour une présentation multiple d'épitopes. Malheureusement, les premiers exemples consistant en l'attachement direct de saccharides sur les trois fonctions hydroxyles généraient des glycoconjugués stériquement encombrés défavorables pour une reconnaissance avec les protéines étudiées. Ce n'est qu'une dizaine d'années plus tard que le groupe de Lindhorst a utilisé des systèmes analogues allongés pour la synthèse rapide de clusters mannosylés trivalents (**I-1** et **I-2**) et nonavalents (**I-3** et **I-4**) par l'intermédiaire de couplages peptidiques (Fig. 24).<sup>151</sup>

---

<sup>150</sup> Lee, Y. C. Synthesis of some cluster glycosides suitable for attachment to proteins or solid matrices. *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 509-514.

<sup>151</sup> Kötter, S.; Krallman-Wenzel, U.; Ehlers, S; Lindhorst, T. B. Multivalent ligands for the mannose-specific lectin on type 1 fimbriae of *Escherichia coli*: Syntheses and testing of trivalent  $\alpha$ -D-mannoside clusters. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1998**, 2193-2200.



**Figure 24.** Clusters mannosylés synthétisés par Lindhorst *et al.* en tant que ligands de FimH de *E. coli*.

La valence et la flexibilité de ces systèmes ont pu être modulées en fonction de la nature et la longueur des espaceurs.<sup>152</sup> Ainsi, les auteurs ont démontré au moyen de tests d'inhibition d'agglutination et d'ELISA que le composé trivalent **I-2** était le plus efficace pour lier FimH de *E. coli* avec un  $IC_{50}$  de 11  $\mu$ M. En revanche, les composés de plus haute valence présentaient des avidités plus faibles, certainement dû au fait du faible nombre de fonctions hydroxyles et à la position des épitopes périphériques.

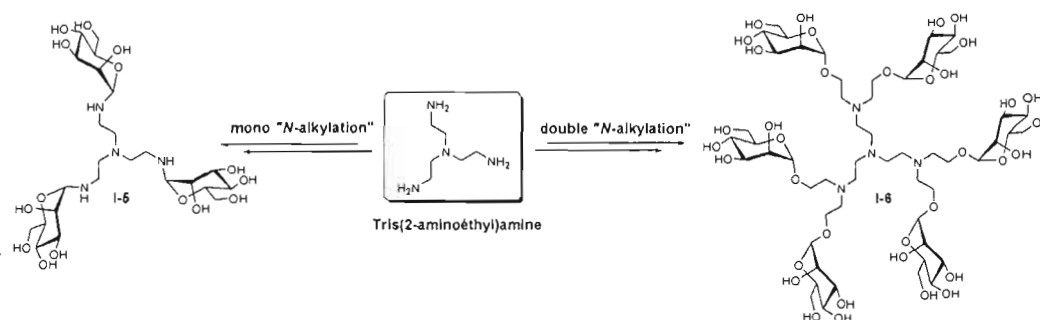
D'autres systèmes fonctionnels permettant la triple présentation de saccharides sont de même décrits, incluant l'utilisation du dérivé tris(2-aminoéthyl)amine que l'on retrouvera dans les chapitres relatant nos travaux (Fig. 25). Dans ce contexte, les groupes de Hayes et Lindhorst ont mis au point des méthodologies de synthèse incluant une modulation de paramètres structuraux pour des ligands optimisés, soit à partir de D-mannose,<sup>153</sup> soit à partir des analogues aldéhydiques correspondants.<sup>154</sup> Ainsi, la méthodologie « one-pot » de Hayes a

<sup>152</sup> Patel A.; Lindhorst, T. B. Multivalent glycomimetics: Synthesis of nonavalent mannoside clusters with variation of spacer properties. *Carbohydrate Res.* **2006**, *341*, 1657-1668.

<sup>153</sup> Hayes, W.; Osborn, H. M. I. S.; Osborne, D.; Rastall, R. A.; Romagnoli, B. One-pot synthesis of multivalent arrays of mannose mono- and disaccharides. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7983-7996.

<sup>154</sup> Dubber M.; Lindhorst, T. K. Exploration of reductive amination for the synthesis of cluster glycosides. *Synthesis* **2001**, *2*, 327-330.

permis la synthèse du cluster trimannosylé C<sub>3</sub>-symétrique **I-5** à partir de saccharide libre, alors que l'utilisation d'excès de dérivés aldéhydiques dans des conditions de réaction d'amination réductrice par Lindhorst *et al.* a généré des dérivés hexavalents (**I-6** par exemple) *via* une double *N*-alkylation (Fig. 25).



**Figure 25.** Synthèse de systèmes trivalent et hexavalent proposés par les groupes de Hayes et Lindhorst.

Il est à mentionner que d'autres exemples basés sur l'utilisation de ce cœur trivalent, notamment proposés par Li *et al.* en 2004 ont été obtenus selon une synthèse multicomposantes de type Ugi.<sup>155</sup> Les meilleures structures ont ainsi présenté des IC<sub>50</sub> de 31 μM dans des tests d'inhibition d'interaction entre les mannanes de levure et Con A, correspondant à une amélioration d'un facteur 10 par rapport à la référence méthyl α-D-mannopyranoside.

D'autres systèmes aliphatiques branchés permettant la présentation de quatre groupements similaires ou différents ont de même été utilisés. Ainsi, depuis les premiers exemples d'architectures basées sur le pentaérythritol et de ses dérivés proposées par le groupe d'Hanessian au milieu des années 90 permettant la présentation de Tn (GalNac) (**I-7**) et de TF (D-Galβ(1→3)GalNac) (**I-8**),<sup>156</sup> la synthèse de systèmes fonctionnalisés tétravalents

<sup>155</sup> Li, Y.; Zhang, X.; Chu, S.; Yu, K.; Guan, H. Synthesis of cluster mannosides *via* a Ugi four-component reaction and their inhibition against the binding of yeast mannan to concanavalin A. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 873-879.

<sup>156</sup> Hanessian, S.; Qiu, D.; Prabhanjan, H.; Reddy, G. V.; Lou, B. Synthesis of clustered D-GalNac (Tn) and D-Galβ(1→3)GalNac (T) antigenic motifs using a pentaerythritol scaffold. *Can. J. Chem.* **1996**, *74*, 1738-1747

comportant des épitopes aux activités biologiques intéressantes tels que des  $\beta$ -D-galactopyrannosides,<sup>157</sup> des antigènes de Galili,<sup>158,159</sup> des galabiosides (**I-9**),<sup>160</sup>  $\alpha$ -D-mannopyrannosides (**I-10** et **I-11**)<sup>161,162</sup> ou encore des acides sialiques<sup>163</sup> (**I-12**) a été décrite (Fig. 26). Plus particulièrement, le dérivé soufré tétravalent contenant quatre unités galabiosides périphériques (**I-9**) et synthétisé par le groupe de Magnusson permet d'induire l'inhibition de l'hémagglutination par la bactérie gram-positif *Streptococcus suis* à des concentrations nanomolaires (IC<sub>50</sub> de 2 nM). Des investigations concernant le blocage *in vitro* des interactions entre *E. coli* et la levure de mannane ont de même été réalisées sur des composés mannosylés. Dans ce contexte, l'activité biologique du dérivé **I-10** contenant des espaceurs de type C<sub>3</sub> a été évaluée au moyen de tests ELISA. Les résultats indiquaient une avidité 250 fois supérieure à celle de la référence monovalente  $\alpha$ -MeMan (63 fois si on considère la valence corrigée) avec un IC<sub>50</sub> de 12.6  $\mu$ M, mettant en valeur l'effet bénéfique de l'effet de multivalence. De même, le dérivé « allongé » **I-11**, contenant des chaînes éthylène glycol pour assurer une hydrosolubilité satisfaisante ainsi que quatre heptyl- $\alpha$ -D-mannosides périphériques, s'est avéré selon des tests d'inhibition d'hémagglutination impliquant la bactérie *E. coli* de type 1, comme étant l'une des molécules anti-adhésives les plus puissantes contre les infections du tractus urinaire avec un IC<sub>50</sub> de 12 nM. Cette valeur représente en fait une activité respectivement 6000 fois supérieure à celle du D-mannose et 64 fois plus grande que le dérivé heptyle correspondant. Le composé **I-12** contenant quatre dérivés d'acides sialiques non naturels a quant à lui été synthétisé par voie de chimie click afin d'évaluer son

<sup>157</sup> Liu B.; Roy, R. Facile synthesis of glycotope bioisosteres bearing  $\beta$ -D-galactoside moieties. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6909-6913.

<sup>158</sup> Liu B.; Roy, R. Synthesis of clustered xenotransplantation antagonists using palladium-catalyzed cross-coupling of prop-2-ynyl  $\alpha$ -D-galactopyranoside. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 773-779.

<sup>159</sup> Liu B.; Roy, R. Olefin self-metathesis as a new entry into xenotransplantation antagonists bearing the Galili antigen. *Chem. Commun.* **2002**, 594-595.

<sup>160</sup> Hansen, H. C.; Haataja, S.; Finne, J.; Magnusson, G. Di-, tri-, and tetravalent dendritic galabiosides that inhibit hemagglutination by *Streptococcus suis* at nanomolar concentration. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6974-6979.

<sup>161</sup> Lindhorst, T. K.; Dubber, M.; Krallmann-Wenzel, U.; Ehlers, S. Cluster mannosides as inhibitors of type 1 fimbriae-mediated adhesion of *Escherichia coli*: Pentaerythritol derivatives as scaffolds. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2027-2034.

<sup>162</sup> Gouin, S. G.; Wellens, A.; Bouckaert, J.; Kovensky, J. Synthetic multimeric heptyl mannosides as potent antiadhesives of uropathogenic *Escherichia coli*. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 749-755.

<sup>163</sup> Weïwer, M.; Chen, C.-C.; Kemp, M. M.; Linhardt, R. J. Synthesis and biological evaluation of non-hydrolyzable 1,2,3-triazole-linked sialic acid derivatives as neuramidase inhibitors. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 2611-2620.

potentiel inhibiteur de neuraminidase, estimé à 20  $\mu\text{M}$  dans une étude d'inhibition et comparable à l'inhibiteur de référence Neu5Ac2en.

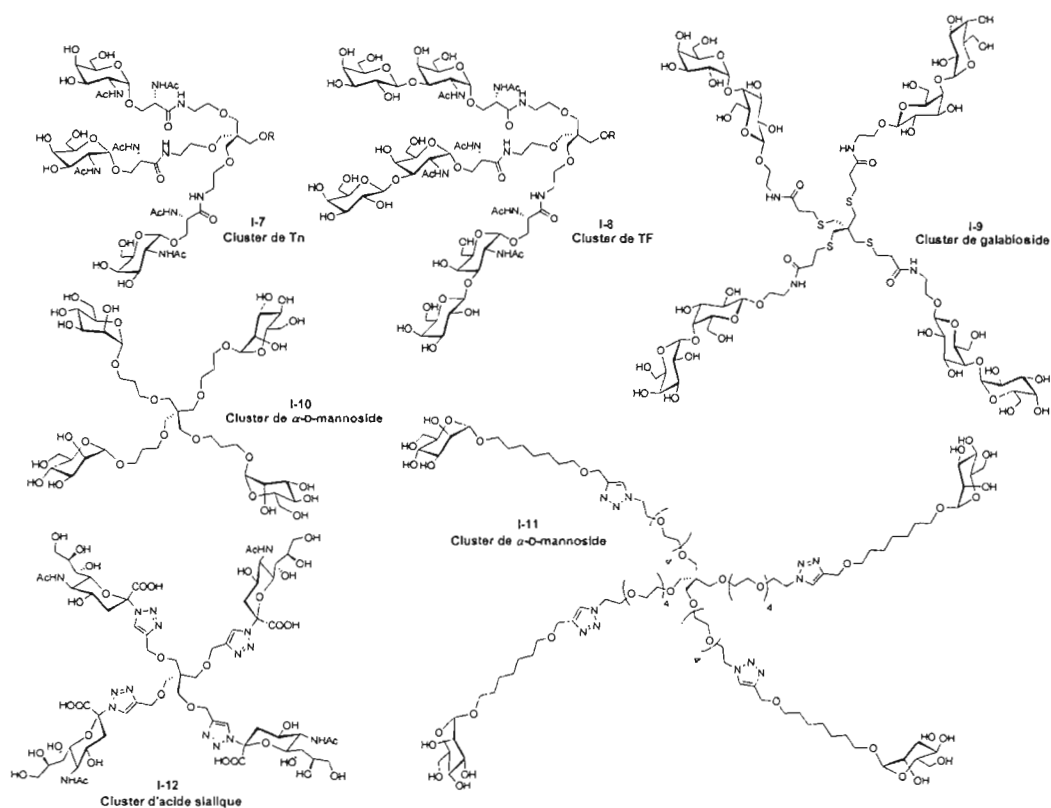


Figure 26. Exemples choisis de la littérature d'architectures tétravalentes basées sur le pentaérythritol.

Un des exemples d'architectures les plus probants est à mettre au crédit du groupe de Roy qui a développé une petite famille de glycoclusters basée sur le pentaérythritol et ses dérivés selon des réactions organométalliques de type Sonogashira.<sup>164</sup> Leur préparation a en fait été basée sur les observations pionnières de Sharon faisant état de l'importance du caractère aromatique et hydrophobe de l'aglycone présent sur les dérivés inhibiteurs des mannoypyranosides synthétiques<sup>17</sup> permettant une étroite interaction avec les bactéries *E. coli* fimbriées de type 1 par l'intermédiaire d'un phénomène d'association au sous-site assisté par

<sup>164</sup> Touaibia, M.; Wellens, A.; Shiao, T. C.; Wang, Q.; Sirois, S.; Bouckaert, J.; Roy, R. Mannosylated G(0) dendrimers with nanomolar affinities to *Escherichia coli* FimH. *ChemMedChem* 2007, 2, 1190-1201.

l'aglycone.<sup>165</sup> La synthèse repose sur la dérivatisation du pentaérythritol tétrabromé en dérivé tétra-propargylé (**I-13**) ou *p*-iodophénylé (**I-14**) *via* des réactions de substitution de type S<sub>N</sub>2. De même, l'homologue aromatique hexavalent dérivé du dipentaérythritol hexatosylé (**I-15**) a pu être obtenu dans les mêmes conditions. L'utilisation des glucides fonctionnalisés 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 4-iodophényle et 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle comportant les fonction complémentaires en position anomérique a permis leur couplage dans des conditions de Sonogashira optimisées. Ainsi, l'utilisation du catalyseur dichloro-bis(triphenylphosphine)palladium (II), de l'iodure de cuivre (I) en tant que co-catalyseur, et de pipéridine en tant que base dans du THF anhydre a permis l'obtention des clusters tétra- (**I-16** et **I-17**) et hexavalents (**I-18**) correspondants après une étape de déprotection standard de Zemplén. Quelque soit le nombre d'unités fonctionnelles périphériques, un rendement avoisinant les 80% a été obtenu pour chaque exemple, avec une légère modification dans le protocole pour l'obtention de l'hexamère (triéthylamine en tant que base, DMF comme solvant et absence de co-catalyseur) (Schéma 1).

---

<sup>165</sup> Arya, P.; Kutterer, K. M. K.; Qin, H.; Roby, J.; Barnes, M. L.; Kim, J. M.; Roy, R. Diversity of C-linked neoglycopeptides for the exploration of subsite-assisted carbohydrate binding interactions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998, 8, 1127-1132.



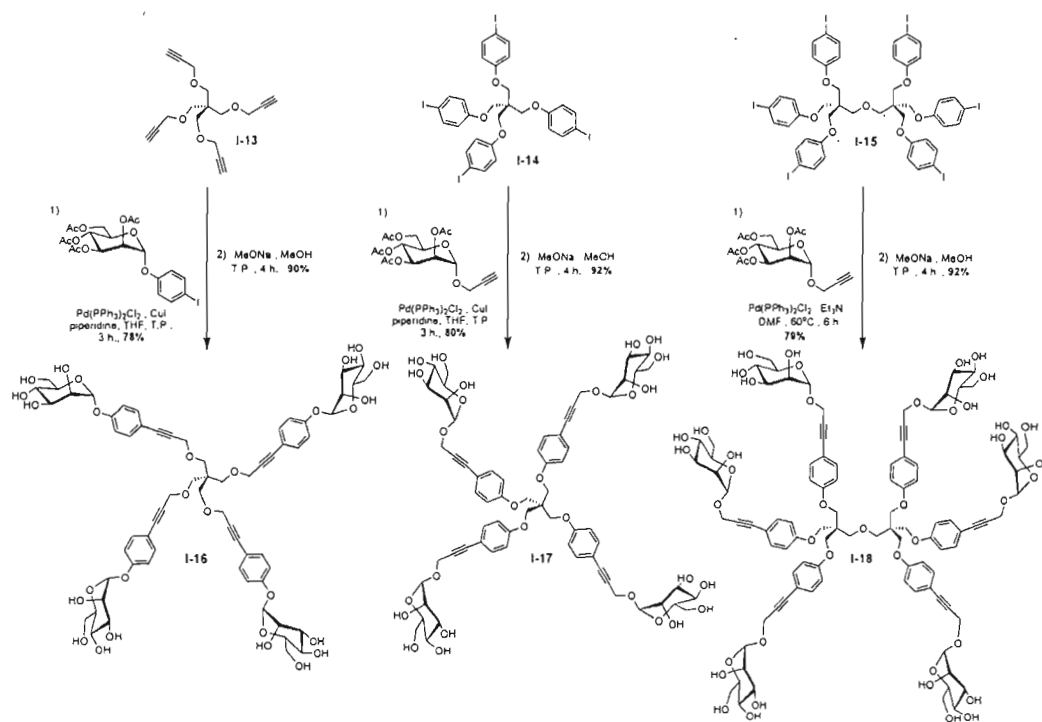


Schéma 1. Structures tétra- et hexavalentes obtenues par le groupe de Roy *via* des réactions de type Sonogashira.

Les premiers tests préliminaires de néphélogétrie avec Con A indiquaient une affinité particulière du composé **I-16** avec cette phytohémagglutinine tétramérique, induisant la formation quasi-instantanée d'un réseau réticulé. De plus, des études plus avancées par résonance des plasmons de surface (SPR) impliquant des FimH isolés de la bactérie *E. coli* K12, des anticorps immobilisés (IC10) et les clusters ont permis de déterminer d'excellentes constantes d'affinité ( $K_d$ ) de l'ordre de 0.45 nM pour le composé **I-16**. Ces valeurs correspondent à une amélioration de l'avidité de l'ordre de 1200 par rapport à la référence  $\alpha$ -MeMan. De plus, comme attendu, la position du cycle phényle directement lié à la position anomérique est critique pour une activité optimale, comme en témoigne le  $K_d$  obtenu pour l'isomère de constitution **I-17** (243 nM). Finalement, ces composés se sont avérés d'excellents inhibiteurs de l'hémagglutination d'érythrocytes de porc et de lapin par la bactérie piliée *E. coli* UT189. Plus particulièrement, le dérivé **I-16** représente le meilleur inhibiteur de ce type d'hémagglutination connu à ce jour avec une concentration inhibitrice

minimale empêchant l'agglutination IT (titre d'inhibition) de 3  $\mu\text{M}$  correspondant à une amélioration d'un facteur 1000.

b) *Les glycoclusters avec des cœurs aromatiques*

Considérant que seuls quelques résidus glucidiques présents dans de larges oligosaccharides sont impliqués dans les processus de reconnaissance spécifique, il a été rapidement assumé que le squelette « sucré » pouvait être considéré comme une matrice semi-rigide servant d'espaces et de présentoirs sur mesure d'épitopes pour une interaction optimale. Dès lors, la construction d'architecture tridimensionnelle rigide de substitution mimant le squelette original et comportant des éléments aromatiques a été envisagée dans les années 60. Ainsi, le groupe de Graf a mis au point des structures de type « antigènes artificiels » basées sur le phloroglucinol avec pour formule générale [1,3,5-tri-(*p*-glycosyloxyphénylazo)-2,4,6-trihydroxybenzène] (**I-19**), possédant la capacité d'induire des précipités réticulés colorés avec les anticorps dirigés contre les déterminants glucidiques appropriés (Fig. 27).<sup>166</sup>

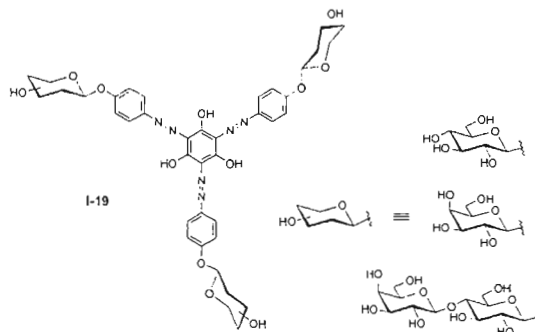
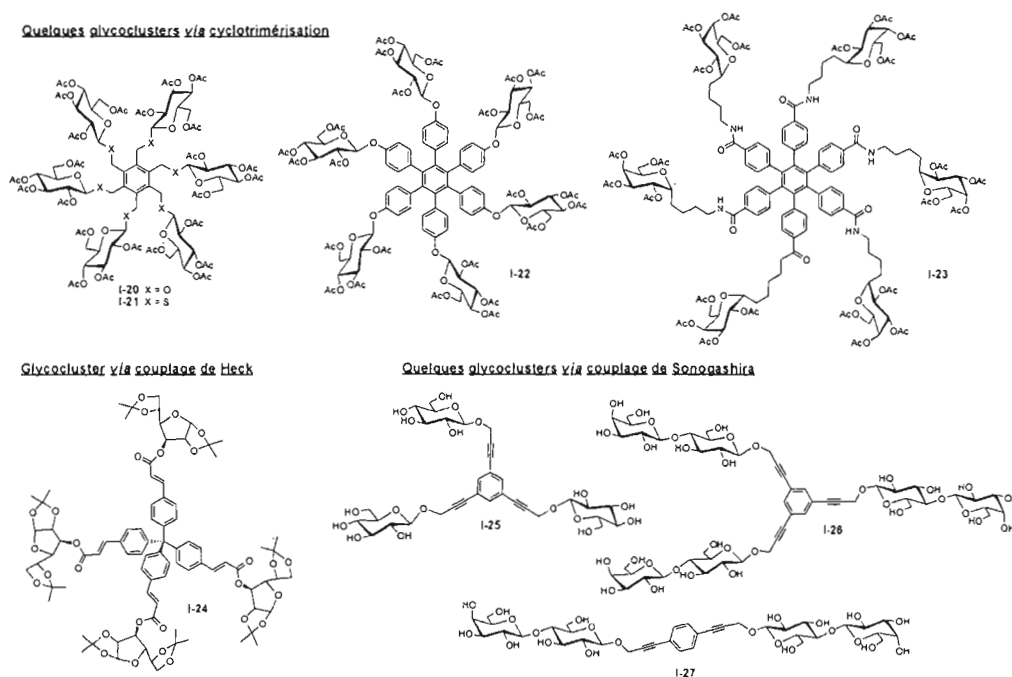


Figure 27. Premiers glycoclusters aromatiques synthétisés par Graf *et al.*

Depuis, le développement de méthodologies optimisées impliquant la catalyse par des métaux de transition incluant les réactions de cyclotrimérisation catalysées par le cobalt (typiquement un alcyne symétrique disubstitué en présence de  $\text{Co}_2(\text{CO})_8$  à reflux dans le

<sup>166</sup> Yariv, J.; Rapport, M. M.; Graf, L. The interaction of glycosides and saccharides with antibody to the corresponding phenylazo glycosides. *Biochem. J.* 1962, 85, 383-388.

dioxane)<sup>167,168,169</sup> et des réactions dites de couplage croisé de type Sonogashira et Heck catalysées par le palladium,<sup>170,171,172</sup> a permis un accès direct et efficace à des glycostructures aromatiques avec une rigidité et une valence contrôlées et possédant des propriétés biologiques notables (Fig. 28).



**Figure 28.** Quelques exemples choisis de glycoclusters aromatiques synthétisés par: *i*) cyclotrimerisation (I-20 à I-22<sup>167</sup> et I-23<sup>168</sup>); *ii*) couplage de type Heck (I-24<sup>171</sup>); *iii*) couplage de type Sonogashira (I-25<sup>171</sup> et I-26, I-27<sup>172</sup>).

<sup>167</sup> Kaufman R.; Sidhu, R. S. Synthesis of aryl cluster glycosides by cyclotrimerization of 2-propynyl carbohydrate derivative. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4941-4947.

<sup>168</sup> Dominique, R.; Liu, B.; Das, S. K.; Roy, R. Synthesis of "molecular asterisks" via sequential cross-metathesis, Sonogashira and cyclotrimerization reactions. *Synthesis* **2000**, *6*, 862-868.

<sup>169</sup> Roy, R.; Corazon Trono, M.; Giguère, D. Effects of linker rigidity and orientation of mannoside clusters for multivalent interactions with proteins. In R. Roy (Ed.), *Glycomimetics: Modern Synthetic Methodologies*, ACS Symp. Ser., Washington, DC, **2005**, *896*, 137-150.

<sup>170</sup> Roy, R.; Das, S. K.; Santoyo-González, F.; Hernández-Mateo, F.; Dam, T. K.; Brewer, C. F. Synthesis of "sugar-rods" with phytohemagglutinin cross-linking properties by using the palladium-catalyzed Sonogashira reaction. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1757-1762.

<sup>171</sup> Sengupta S.; Sadhukhan, S. K. Synthetic studies on dendritic glycoclusters: a convergent palladium-catalyzed strategy. *Carbohydr. Res.* **2001**, *332*, 215-219.

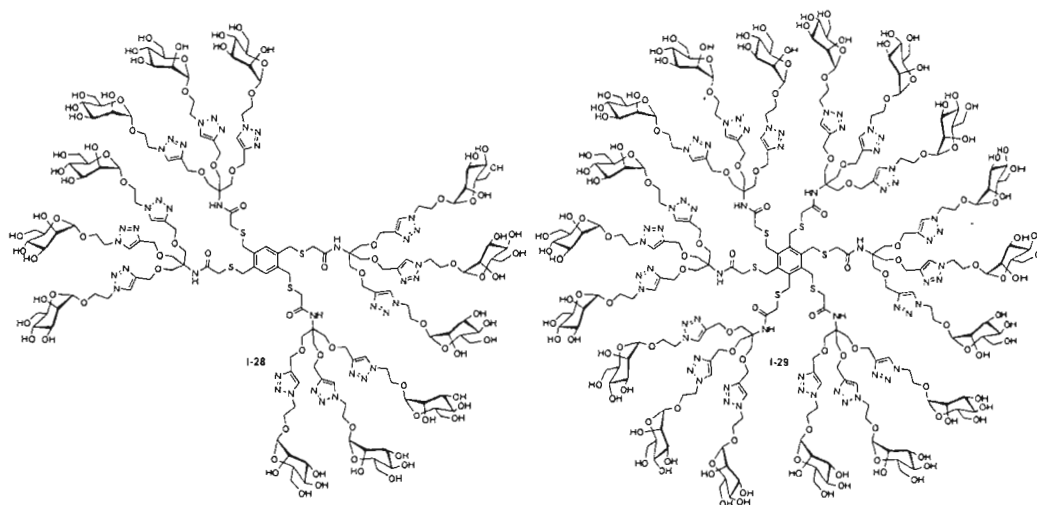
<sup>172</sup> André, S.; Liu, B.; Gabius, H.-J.; Roy, R. First demonstration of differential inhibition of lectin binding by synthetic tri- and tetravalent glycoclusters from cross-coupling of rigidified 2-propynyl lactoside. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3909-3916.

Particulièrement, le dérivé trivalent **I-26** possède une forte affinité pour la galectine 3 avec un  $IC_{50}$  de 30.8  $\mu M$  (vs 700  $\mu M$  pour le lactose libre) avec un effet cluster prononcé. Cette avidité a par ailleurs été confirmée par expérience d'inhibition d'hémagglutination et de cytométrie de flux sur des cellules tumorales.

Récemment, quelques structures glycosylées persulfurées organisées autour de cœurs aromatiques de type benzénique ont vu le jour. Dans ce contexte, le groupe de Roy a proposé la synthèse de glycoclusters densément substitués pouvant contenir jusqu'à 18 unités périphériques de type  $\alpha$ -D-mannopyranosides installés *via* la chimie click.<sup>173</sup> La stratégie de synthèse a reposé sur la fabrication préliminaire de cœurs benzéniques tétra- ou hexathioacétylés sur lesquels des dérivés bifonctionnels tripropargylés du TRIS ont pu réagir dans des conditions basiques et réductrices. Les cœurs multivalents dodéca- et octadécapropargylés résultants ont alors pu être fonctionnalisés efficacement avec l'introduction de 12 et 18 résidus mannosylés périphériques contenant la fonction azoture complémentaire au moyen de la chimie click (Figure 29). Les dérivés désacétylés correspondants (**I-28** et **I-29**) obtenus après réaction de Zemplén représentent des candidats prometteurs ayant des affinités intéressantes pour la lectine BclA de *Burkholderia cenocepacia* (Chabre *et al.*, résultats non publiés).

---

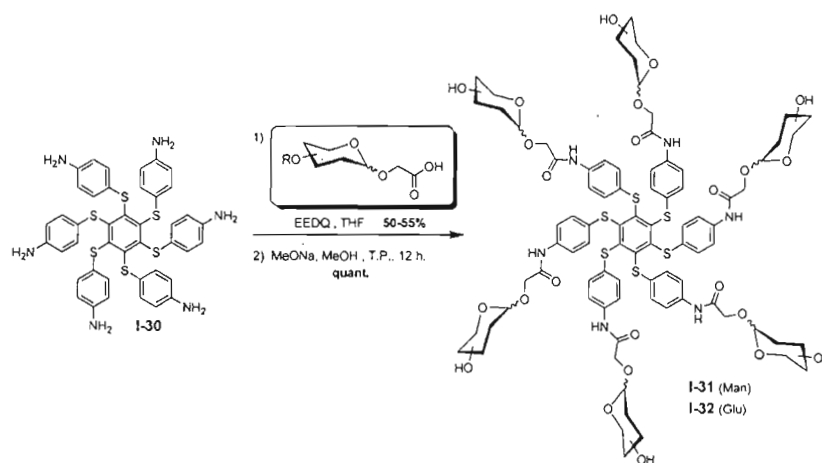
<sup>173</sup> Chabre, Y. M.; Contino-Pépin, C.; Placide, V.; Shiao, T. C.; Roy, R. Expeditive synthesis of glycodendrimer scaffolds based on versatile TRIS and mannoside derivatives. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5602-5605.



**Figure 29.** Architectures persulfurées dodéca- et octadéca-valentes décrites par Roy *et al.*

Le second exemple a été proposé la même année par le groupe de Gingras qui a décrit une nouvelle classe d'astérisques moléculaires soufrés, semi-rigides et de basse valence, possédant à la fois des fonctions de ligands et de sondes colorées en vertu du système conjugué central.<sup>174</sup> De plus, ce type de systèmes peut permettre une orientation dans l'espace contrôlée des épitopes avec des conformations préférentielles alternées haut-bas par rapport au benzène central. Leur synthèse est initiée par l'obtention du dérivé hexaaminé **I-30** en couplant le 4-acétamidothiophénolate de sodium avec l'hexachlorobenzène commercial dans un solvant polaire aprotique (DMI) et une déprotection subséquente dans l'acide chlorhydrique concentré. Différents glucides fonctionnalisés possédant une fonction acide carboxylique terminale ont alors été introduits au moyen de l'agent de couplage EEDQ (2-éthoxy-1-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline) avec des rendements satisfaisants de 50 à 55%. Une déprotection dans des conditions standard a enfin conduit quantitativement aux dérivés libres correspondants (**I-31** et **I-32**) (Schéma 2).

<sup>174</sup> Sleiman, M.; Varrot, A.; Raimundo, J.-M.; Gingras M.; Goekjian, P. G. Glycosylated asterisks are among the most potent low valency inducers of Concanavalin A aggregation. *Chem. Commun.* **2008**, 6507-6509.



**Schéma 2.** Glycoastérisques moléculaires synthétisés par le groupe de Gingras.

L'habilité de ces glycoastérisques à inhiber l'hémagglutination des érythrocytes de lapin induite par Con A a été évaluée. Tandis que le composé  $\alpha$ -glucosylé I-32 inhibe ce phénomène à des concentrations 60 fois inférieures à celle de la référence monovalente  $\alpha$ MeGlu (11  $\mu$ M vs 650  $\mu$ M), l'analogue mannosylé I-31 représente un bien meilleur candidat avec une concentration minimale de 89 nM, correspondant à une amélioration d'un facteur 3750 par épitope de l'activité en comparaison du glucide monovalent  $\alpha$ MeMan. Il a par la suite été démontré que cette avidité était observable par diffusion dynamique de la lumière (DLS) et que l'architecture elle-même n'induisait aucune interaction non spécifique.

D'autres architectures de type glycocluster incluant l'utilisation de calixarènes<sup>175,176,177,178</sup> ou encore de porphyrines et de leurs dérivés,<sup>179,180,181,182</sup> ont été décrites mais ne feront pas l'objet d'une description détaillée.

<sup>175</sup> Marra, A.; Schermann, M.-C.; Dondoni, A.; Casnati, A.; Minari, P.; Ungaro, R. Sugar calixarenes: Preparation of calix[4]arenes substituted at the lower and upper rims with *O*-glycosyl groups. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 2479-2481.

<sup>176</sup> Roy R.; Kim, J. M. Amphiphilic *p*-tert-butylcalix[4]arene scaffolds containing exposed carbohydrate dendrons. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 369-372.

<sup>177</sup> Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. Peptido- and glyco-calixarenes: Playing with hydrogen bonds around hydrophobic cavities. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 246-254.

<sup>178</sup> Vecchi, A.; Melai, B.; Marra, A.; Chiappe, C.; Dondoni, A. Microwave-enhanced ionothermal CuAAC for the synthesis of glycoclusters on a calix[4]arene platform. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6437-6440.

c) *Les glycoclusters avec des cœurs glucidiques*

D'un point de vue structural, les dérivés des glucides représentent des plateformes multivalentes intéressantes pour la synthèse de glycoclusters ou de mimiques d'oligosaccharides. L'essor de techniques permettant la fonctionnalisation sélective des différents groupements hydroxyles associé au contrôle de l'orientation et de la géométrie des épitopes ont grandement participé au développement de glycoclusters entièrement constitués de glucides et biologiquement actifs. Dans ce contexte, un panel de structures diversement fonctionnalisées a été décrit au fil des années et certaines possédant des liens chimiques de type éther (**I-33**),<sup>183</sup> thioéther (**I-34α** et **I-34β**),<sup>184</sup> thiourée (**I-35** et **I-36**)<sup>185</sup> ou encore triazole (**I-37** et **I-38**)<sup>186,187</sup> sont illustrées à la Figure 30.

<sup>179</sup> Cavaleiro, J. A. S.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F. Synthesis of glycoporphyrins. *Top. Heterocycl. Chem.* **2007**, *7*, 179-248.

<sup>180</sup> Fülling, G.; Schröder, D.; Franck, B. Water-soluble porphyrin diglycosides with photosensitizing properties. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 1519-1521.

<sup>181</sup> Pasetto, P.; Chen, X.; Drain, C. M.; Franck, R. W. Synthesis of hydrolytically stable porphyrin C- and S- glycoconjugates in high yields. *Chem. Commun.* **2001**, 81-82.

<sup>182</sup> Ballut, S.; Makky, A.; Loock, B.; Michel, J.-P.; Maillard, P.; Rosilio, V. New strategy for targeting of photosensitizers. Synthesis of glycodendrimeric phenylporphyrins, incorporation into a liposome membrane and interaction with a specific lectin. *Chem. Commun.* **2009**, 224-226.

<sup>183</sup> Dubber, M.; Lindhorst, T. K. Synthesis of carbohydrate-centered oligosaccharide mimetics equipped with a functionalized tether. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5275-5281.

<sup>184</sup> Köhn, M.; Benito, J. M.; Mellet, C. O.; Lindhorst, T. K.; García Fernández, J. M. Functional evaluation of carbohydrate-centred glycoclusters by enzyme-linked lectin assay: Ligands for Concanavalin A. *ChemBioChem* **2004**, *5*, 771-777.

<sup>185</sup> Dubber, M.; Lindhorst, T. K. Trehalose-based octopus glycosides for the synthesis of carbohydrate-centered PAMAM dendrimers and thiourea-bridged glycoclusters. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4019-4022.

<sup>186</sup> Ortega-Muñoz, M.; Morales-Sanfrutos, J.; Perez-Balderas, F.; Hernandez-Mateo, F.; Giron-Gonzalez, M. D.; Sevillano-Tripero, N.; Salto-Gonzalez, R.; Santoyo-Gonzalez, F. Click multivalent neoglycoconjugates as synthetic activators in cell adhesion and stimulation of monocyte/macrophage cell lines. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2291-2301.

<sup>187</sup> Gouin, S. G.; Vanquelef, E.; Garcia Fernández, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Dupradeau, F.-Y.; Kovensky, J. Multi-mannosides based on a carbohydrate scaffold: Synthesis, force field development, molecular dynamics studies, and binding affinities for lectin Con A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9032-9045.

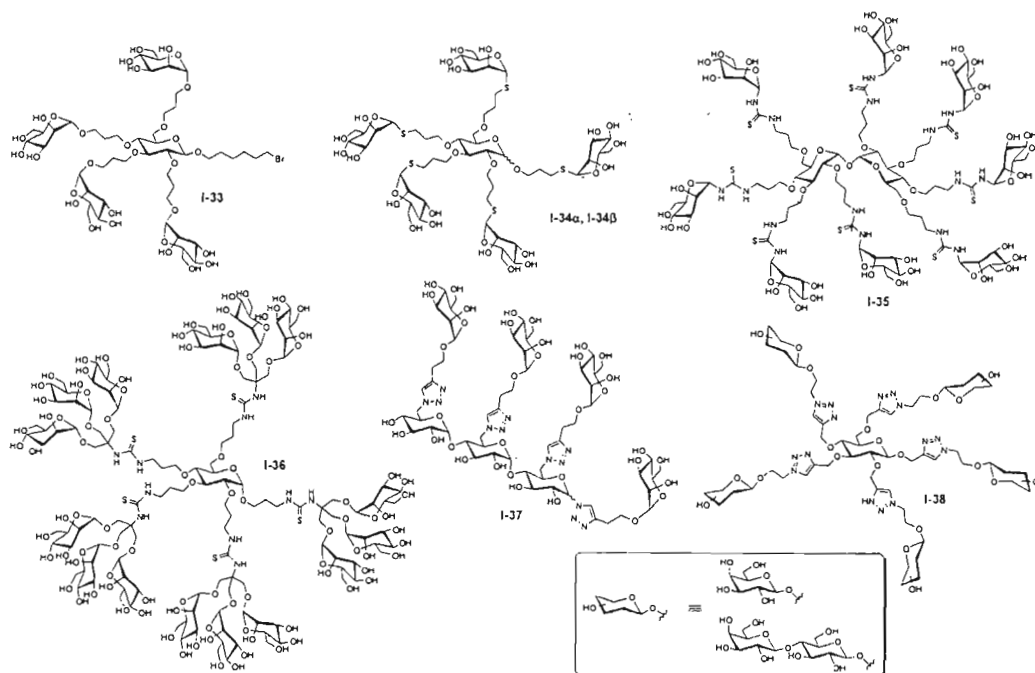


Figure 30. Quelques exemples choisis de la littérature de glycoclusters contenant un cœur glucidique.

Bien que certaines de ces structures décrites ci-dessus possèdent des propriétés d'inhibition intéressantes, un exemple remarquable a été reporté par le groupe de Bundle dont le système décavalent centré sur le D-glucose et nommé **STARFISH** possède une extraordinaire affinité avec la toxine I semblable au Shiga (*Shiga Like Toxin*, SLT).<sup>25</sup> Cette toxine bactérienne de type AB<sub>3</sub> a intensément été étudiée pour la conception de ligands de haute affinité qui agissent par mode de chélation. Ce type de toxine peut engendrer des dysfonctionnements graves du tractus urinaire et gastro-intestinal et peut avoir une action fatale sur les reins par l'intermédiaire du syndrome hémolytique et urémique (SHU). Structuralement, elle se compose de cinq sous-unités identiques arrangées autour d'une unité centrale enzymatiquement active. Chaque sous-unité possède trois sites d'association. Les quinze sites d'association sont pré-organisés de manière symétrique dans la même direction, ce qui facilite l'identification et l'attachement aux cellules. Le récepteur *in vivo* de ce type de toxine est la portion trisaccharidique (**P<sup>k</sup>**) du glycolipide neutre globotriosylceramide (**Gb<sub>3</sub>**,  $\alpha$ Gal-(1-4) $\beta$ Gal(1-4) $\beta$ Glc(1-1)céramide), présent en grande quantité à la surface des cellules endothéliales glomérulaires rénales (Fig. 31).



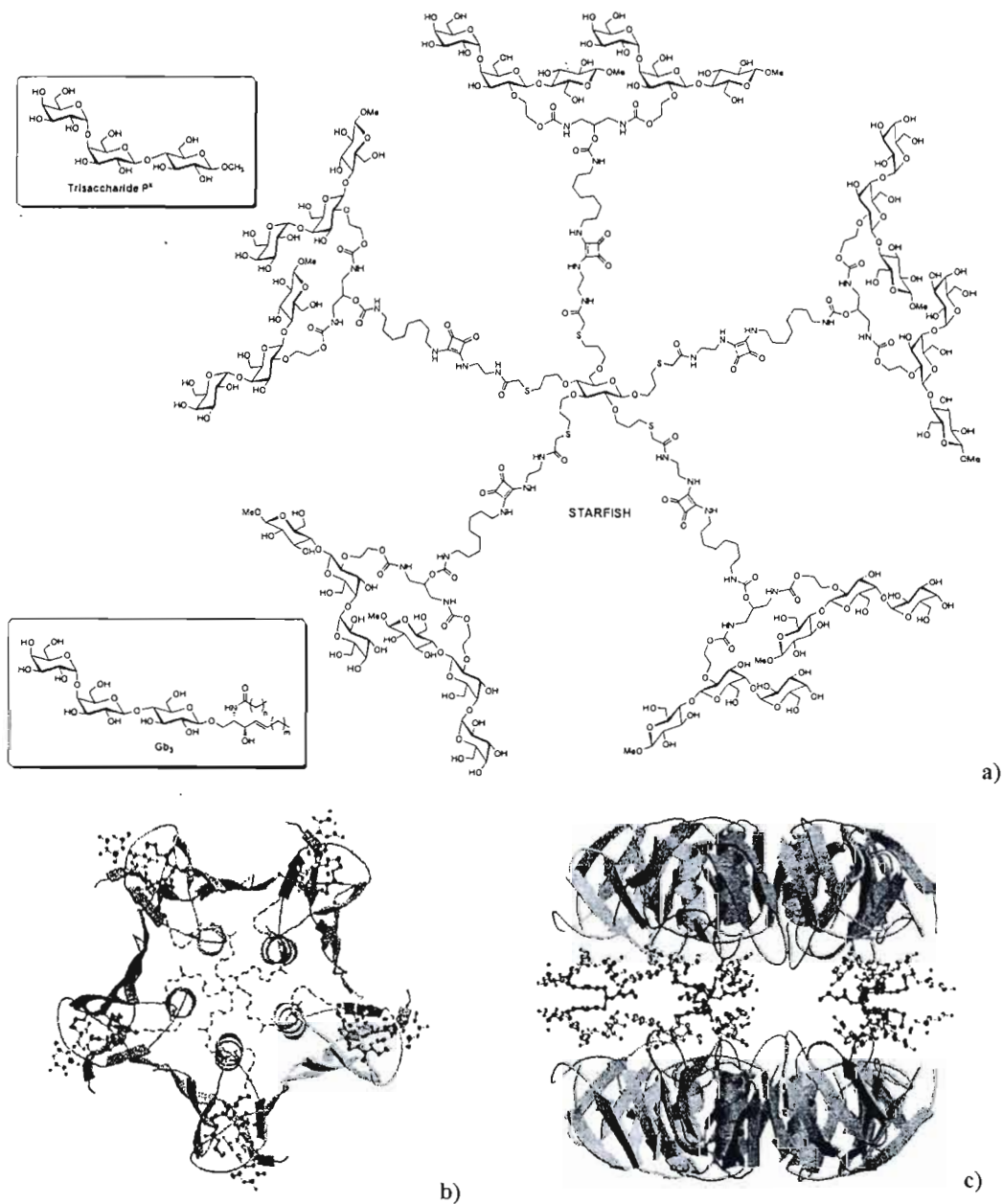


Figure 31. a) Représentation de la molécule décavale STARFISH; b) et c) Structures cristallographiques de la SLT avec STARFISH (reproduit de Bundle *et al.*).<sup>25</sup>

Le ligand optimisé **STARFISH**, élaboré après analyse des structures cristallines des sous unités B<sub>5</sub> de la toxine I semblable au Shiga (SLT-IB), comporte un squelette flexible induisant une distribution radiale et symétrique de dix unités Gb<sub>3</sub> terminales, idéalement espacées et orientées pour une interaction forte avec chaque sous-unité B, et ainsi permettant une interaction pentavalente avec SLT. Des investigations en ELISA et d'inhibition en phase-solide ont permis de mettre en valeur un IC<sub>50</sub> de l'ordre du sous-nanomolaire (0.4 nM), ce qui représente une amélioration d'environ 1 million de fois celle du ligand monovalent. L'analyse cristallographique du complexe ligand-récepteur a indiqué une réticulation de deux sous-unités B pentamères par un seul ligand décavalent. Ainsi, ce ligand montre deux modes d'action simultanés: aggrégation et chélation. Il est à noter que ce ligand a été conçu avec des espaceurs plus longs que nécessaire pour occuper deux sites dans une conformation étendue. Ce type de structures s'est vu attribuer une activité dans des expériences *in vivo* sur des souris entérohémorragiques d'*E. coli*, démontrant ainsi le potentiel thérapeutique des inhibiteurs saccharidiques.

D'autres structures glucidiques basées sur l'utilisation de cyclodextrines (CD) notamment en tant que cœur polyfonctionnel ont aussi vu le jour ces dernières années.<sup>188,189,190,191,192</sup>

#### d) Autres glycoclusters

Bien évidemment, d'autres dérivés multivalents permettant la présentation d'un nombre réduit d'épitopes ont été utilisés. Parmi eux, les scaffolds peptidiques, naturels ou

<sup>188</sup> Fulton D. A.; Stoddart, J. F. An efficient synthesis of cyclodextrin-based carbohydrate cluster compounds. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1113-1116.

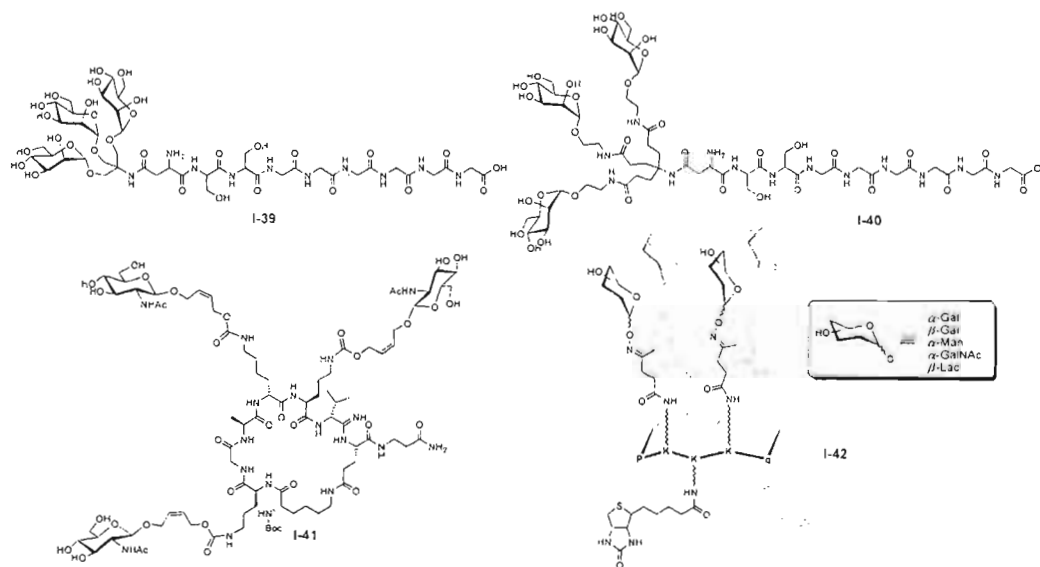
<sup>189</sup> García-López, J. J.; Santoyo-González, F.; Vargas-Berenguel, A.; Giménez-Martínez, J. J. Synthesis of cluster *N*-glycosides based on a  $\beta$ -cyclodextrin core. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1775-1784.

<sup>190</sup> Ortiz-Mellet, C.; Benito, J. M.; García Fernández, J. M.; Law, H.; Chmurski, K.; Defaye, J.; M. O'Sullivan, L.; Caro, H. N. Cyclodextrin-scaffolded glycoclusters. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2523-2531.

<sup>191</sup> Roy, R.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F. Synthesis of persialylated  $\beta$ -cyclodextrins. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8743-8746.

<sup>192</sup> Benito, J. M.; Gómez-García, M.; Ortiz Mellet, C.; Baussanne, I.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. Optimizing saccharide-directed molecular delivery to biological receptors: Design, synthesis, and biological evaluation of glycodendrimer-cyclodextrin conjugates. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10355-10363.

non, représentent des candidats intéressants pouvant mimer les constituants présents dans le glycolalyxe. Ils permettent une optimisation de la géométrie, de la flexibilité et de la valence des structures finales en fonction de la longueur et du nombre d'acides aminés, conduisant à des dérivés performants.<sup>193</sup> Bien souvent, la synthèse en phase-solide (SPPS) s'est avérée la méthode de choix pour la construction de plateformes peptidiques pouvant accueillir des glycanes périphériques. Par exemple, des peptides linéaires contenant des glycoclusters (I-39, I-40),<sup>194</sup> des néoglycopeptides multivalents cycliques (I-41),<sup>195</sup> ou encore des glycoclusters biotinylés multitopiques (I-42)<sup>196</sup> constituent de remarquables illustrations de cette puissante stratégie de synthèse (Fig. 32).



**Figure 32.** Exemples choisis de la littérature de glycoclusters à base de peptides, cycliques ou linéaires.

<sup>193</sup> Kamitakahara, H.; Suzuki, T.; Nishigori, N.; Suzuki, Y.; Kanie, O.; Wong, C.-H. A lysoganglioside/poly-L-glutamic acid conjugate as a picomolar inhibitor of Influenza Hemagglutinin. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1524-1528.

<sup>194</sup> Shaikh, H. A.; Sönnichsen, F. D.; Lindhorst, T. K. Synthesis of glycocluster peptides. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1665-1674.

<sup>195</sup> Wittmann V.; Seeberger, S. Combinatorial solid-phase synthesis of multivalent cyclic neoglycopeptides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4348-4352.

<sup>196</sup> Renaudet O.; Dumy, P. A fully solid-phase synthesis of biotinylated glycoclusters. *Open Glycosci.* **2008**, *1*, 1-7.

Des résultats biologiques encourageants ont été enregistrés pour certaines de ces structures, avec des activités contre la toxine du choléra,<sup>197</sup> l'infection par le VIH-1,<sup>198</sup> ou encore en tant que vaccins synthétiques.<sup>199</sup>

### 1.6.2. Les glycodendrons et les glycodendrimères

Les glycodendrimères et les glycodendrons, pouvant être considérés comme des intermédiaires de synthèse par voie convergente des premiers cités, seront traités sans distinction dans cette section. Les glycodendrimères construits à partir d'enchaînements peptidiques et plus particulièrement de L-lysine, de scaffolds dendritiques commerciaux, ou entièrement synthétisés à partir d'éléments permettant une croissance dendritique contrôlée, seront à l'étude.

#### a) Les glycodendrimères peptidiques

Historiquement, les premières structures glycodendritiques ont été rapportées au début des années 90 par le groupe de Roy.<sup>200</sup> Il s'agissait de dendrimères glycopeptidiques synthétisés selon une méthode divergente en phase solide sur résine de Wang, basée sur la chimie Fmoc et l'utilisation de L-lysine en tant que motifs peptidiques répétitifs. Les acides sialiques initialement installés en périphérie, en nombre contrôlé, devaient conférer à l'architecture des propriétés contre l'hémagglutinine du virus de la grippe. Ainsi, les modifications apportées à ce type de structure, avec notamment l'introduction d'espacesurs chloroacétylglycylglycines, ont permis d'obtenir des stabilités intéressantes, avec des efficacités 1000 fois supérieures par épitope, comparativement au sucre monovalent de

---

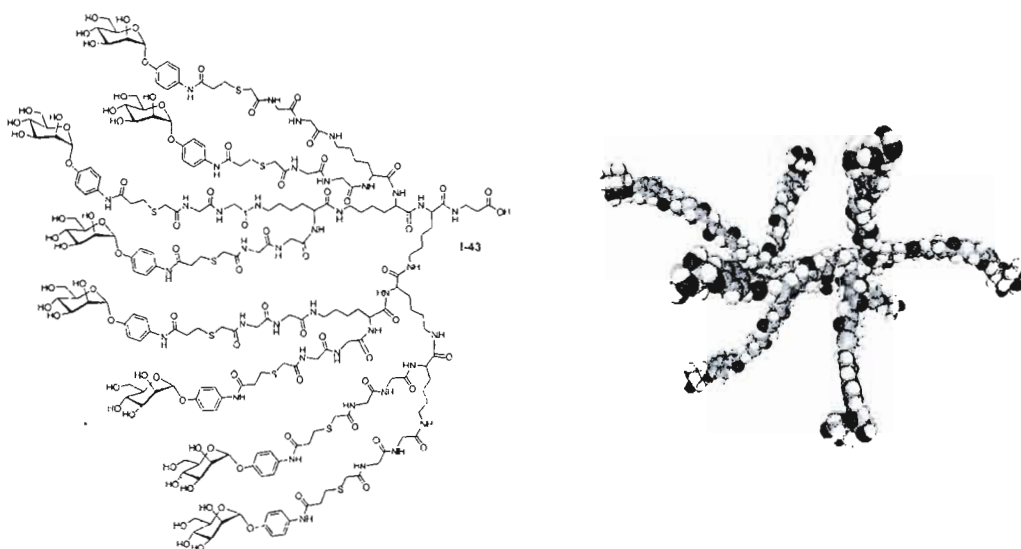
<sup>197</sup> Zhang, Z.; Liu, J.; Verlinde, C. L. M. J.; Hol, W. G. J.; Fan, E. Large cyclic peptides as cores of multivalent ligands: Application to inhibitors of receptor binding by cholera toxin. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7737-7740.

<sup>198</sup> Krauss, I. J.; Joyce, J. G.; Finnefrock, A. C.; Song, H. C.; Dudkin, V. Y.; Geng, X.; Warren, J. D.; Chastain, M.; Shiver, J. W.; Danishefsky, S. J. Fully synthetic carbohydrate HIV antigens designed on the logic of the 2G12 Antibody. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11042-11044.

<sup>199</sup> Wang, J.; Li, H.; Zou, G.; Wang, L.-X. Novel template-assembled oligosaccharide clusters as epitope mimics for HIV-neutralizing antibody 2G12. Design, synthesis, and antibody binding study. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1529-1540.

<sup>200</sup> Roy, R.; Zanini, D.; Meunier, S. J.; Romanowska, A. Solid phase synthesis of dendritic sialoside inhibitors of influenza A virus haemagglutinin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1869-1872.

référence.<sup>201</sup> Cependant, l'activité obtenue demeurait plus faible que les sialopolymères, du fait d'une plus faible surface d'action. Lorsque la même plateforme peptidique a été utilisée pour obtenir des résidus mannosides arborant un aglycone aromatique, les glycodendrons octa- (I-43) et hétéradécavalents résultants ont entraîné une augmentation drastique de l'activité par un facteur de 100000 contre les bactéries uropathogéniques fimbriées *E. coli* K12 (Fig. 33).



**Figure 33.** Structure et représentation schématique du dendron mannosylé à base de poly-L-lysine proposé par le groupe de Roy.

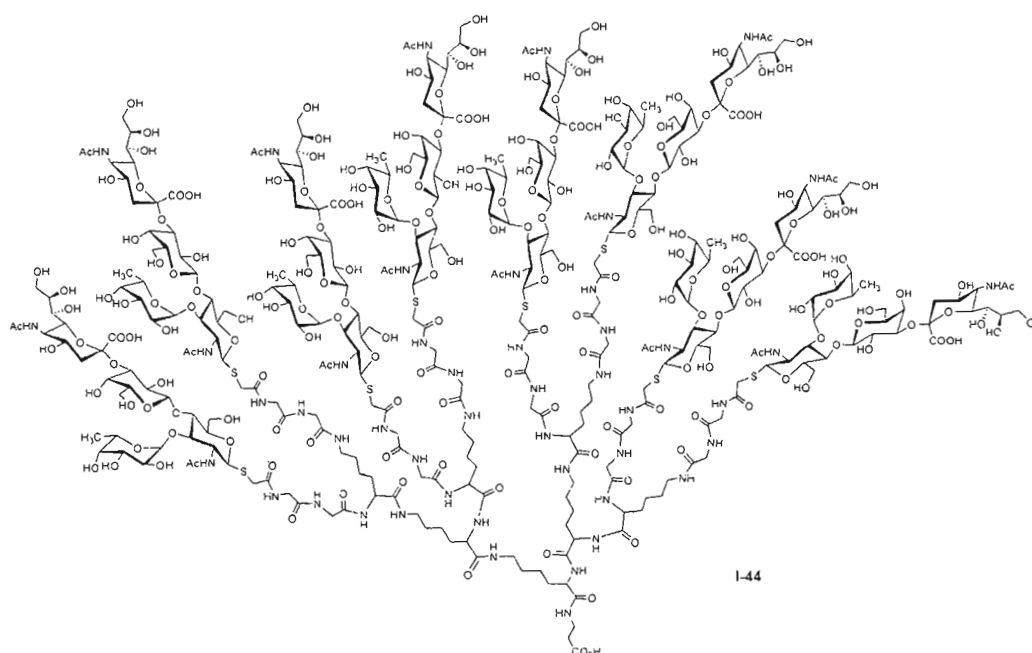
En fait, les dendrimères de poly-L-lysine décrits comme non-toxiques et non-immunogènes font partie des premières structures dendritiques obtenues, puisqu'elles ont été décrites et brevetées au début des années 80 par le groupe de Denkwalter.<sup>202</sup> Plus récemment, des structures dendritiques sphériques contenant des épitopes de type cellobioside ont par exemple été proposées.<sup>203</sup> De plus, une excellente série de revues a été proposée par le groupe de Ježek sur la synthèse sur support solide ou en solution et les

<sup>201</sup> Roy, R.; Zanini, D.; Meunier, S. J.; A. Romanowska, Syntheses and antigenic properties of sialic acid-based dendrimers. In P. Kováč, (Ed.), *Synthetic oligosaccharides: Indispensable probes for the life sciences. ACS Symp. Ser.* **1994**, 560, 104-119.

<sup>202</sup> Denkwalter, R. G.; Kolc, J.; Lukasavage, W. J. Macromolecular highly branched homogeneous compound based on lysine units. *US Patent*, 4289872, 1981.

<sup>203</sup> Han, S.; Baigude, H.; Hattori, K.; Yoshida, T.; Uryu, T. Synthesis of new spherical and hemispherical oligosaccharides with polylysine core scaffold. *Carbohydr Polym.* **2007**, 68, 26-34.

applications de ce type d'architectures glycoconjuguées.<sup>204,205,206</sup> Profitant des fonctions amines terminales, des glycanes biologiquement actifs et fonctionnalisés portant des groupements électrophiles tels que des fonctions isothiocyanates ou acides carboxyliques ont pu être introduits. Ainsi, l'antigène disaccharidique de Thomsen-Friedenreich (TF) ( $\beta$ -D-Gal(1,3)- $\alpha$ -D-GalNAc).<sup>207</sup> connu pour être un marqueur du cancer du sein, et l'antigène Lewis<sup>X</sup> sialylé introduit de façon chimio-enzymatique (**I-44**)<sup>208</sup> ont pu être greffés sur des plateformes poly-L-lysine (Fig. 34).



**Figure 34.** Exemple de glycodendrimère contenant 8 antigènes Lewis<sup>X</sup> sialylés synthétisé selon un procédé chimio-enzymatique.

<sup>204</sup> Niederhafner, P.; Šebestík, J.; Ježek, J. Glycopeptide dendrimers. Part I. *J. Pept. Sci.* **2008**, *14*, 2-43.

<sup>205</sup> Niederhafner, P.; Šebestík, J.; Ježek, J. Glycopeptide dendrimers. Part II. *J. Pept. Sci.* **2008**, *14*, 44-65.

<sup>206</sup> Niederhafner, P.; Reiniš, M.; Šebestík, J.; Ježek, J. Glycopeptide dendrimers, Part III - a review: Use of glycopeptide dendrimers in immunotherapy and diagnosis of cancer and viral diseases. *J. Pept. Sci.* **2008**, *14*, 556-587.

<sup>207</sup> Roy, R.; Baek, M.-G.; Rittenhouse-Olson, K. Synthesis of *N,N'*-bis(acrylamido)acetic acid base-T antigen glycodendrimers and their mouse monoclonal IgG antibody binding properties. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1809-1816.

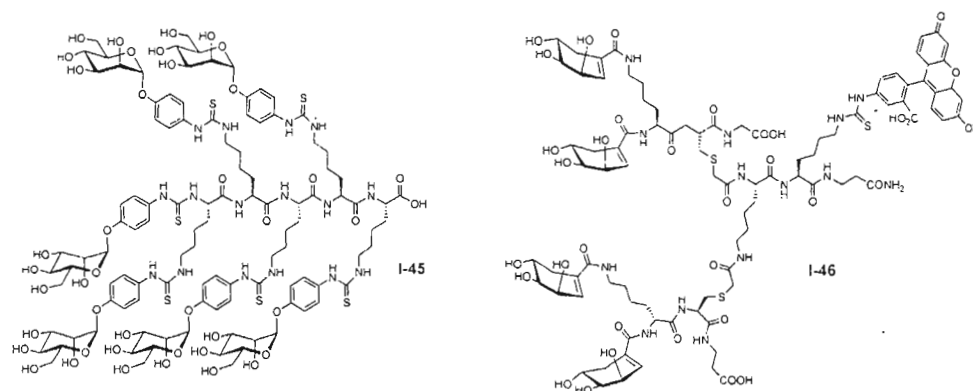
<sup>208</sup> Palcic, M. M.; Li, H.; Zanini, D.; Bhella, R. S.; Roy, R. Chemoenzymatic synthesis of dendritic sialyl Lewis<sup>X</sup>. *Carbohydr. Res.* **1998**, *35*, 433-442.

La protéine humaine DC-SIGN, responsable de la reconnaissance de glycoprotéines hautement mannosylées telles que gp-120 du VIH, gp-1 du virus Ebola ou encore gp E du Dengue, constitue une véritable porte d'entrée aux pathogènes exogènes. Elle a ainsi été une cible privilégiée pour l'étude de l'efficacité de glycodendrimères mannosylés à base de poly-L-lysine. Dans ce contexte, le groupe de van Berkel a conçu des oligomères linéaires de L-lysine contenant des glycanes de type mannosides contenant des aglycones aromatiques et liés à la structure via des liens thiourée.<sup>209</sup> Un effet dendritique marqué a pu être observé puisque l'affinité du ligand hexamérique (**I-45**) (~2 nM) s'est avérée bien supérieure à celle observée pour l'homologue dimérique (~20 nM) (Fig. 35). Dans le même ordre d'idée, le groupe de Grandjean a récemment présenté la synthèse de nouveaux glycomimétiques hyperbranchés fluorescents comportant des dérivés des acides shikimiques et quiniques (**I-46**), tous deux bioisostères du mannose (Fig. 35).<sup>210</sup> Bien que les investigations biologiques par cytométrie de flux aient débouché sur des résultats moins valorisants qu'en présence de dérivés mannosides, cette stratégie a permis de se rendre compte que ce type de récepteur pouvait engager des interactions non négligeables avec des structures semblables aux ligands naturels.

---

<sup>209</sup> Biessen, E. A. L.; Noorman, F.; van Teijlingen, M. E.; Kuiper, J.; Barrett-Bergshoeff, M.; Bijsterbosch, M. K.; Rijken, D. C.; van Berkel, T. J. C. Lysine-based cluster mannosides that inhibit ligand binding to the human mannose receptor at nanomolar concentration. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 28024-28030.

<sup>210</sup> Grandjean, C.; Angyalosi, G.; Loing, E.; Adriaenssens, E.; Melnyk, O.; Pancré, V.; Auriault, C.; Gras-Masse, H. Novel hyperbranched glycomimetics recognized by the human mannose receptor: Quinic or shikimic acid derivatives as mannose bioisosteres. *ChemBioChem* 2001, 2, 747-757.



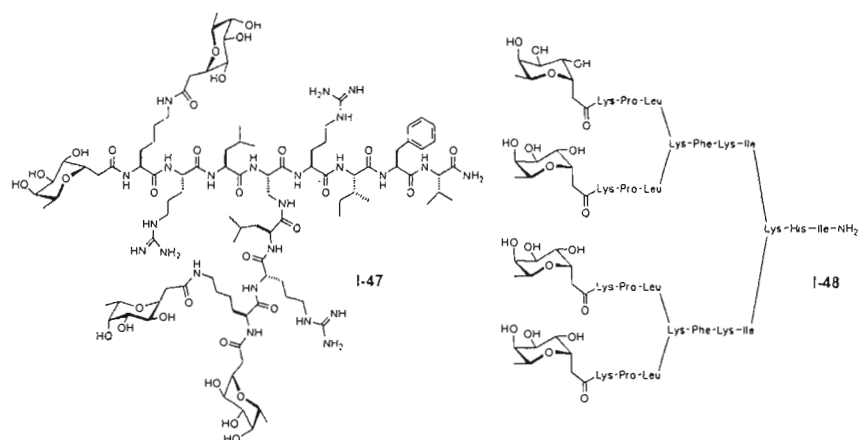
**Figure 35.** Structures glycodendritiques poly-L-lysine proposées par les groupes de van Berkel et Grandjean.

Certains groupes de recherche, incluant celui de Reymond, s'intéressent particulièrement à la synthèse de néoglycopeptide dendritique selon un protocole combinatoire en phase-solide. Une grande quantité de dendrimères (une librairie de 390625 membres) comportant des motifs lysines et présentant des extrémités C-fucosylées ont ainsi été synthétisés. Le ligand optimisé **I-47** a montré de très fortes affinités ( $IC_{50}$  of  $0.6 \mu M$ ) avec la lectine PA-IIL de *Pseudomonas aeruginosa* reconnue pour être un des facteurs de virulence de la fibrose kystique (Fig. 36).<sup>211</sup> Une librairie plus restreinte et améliorée de 15625 membres a par la suite été préparée selon un protocole identique.<sup>212</sup> La structure optimisée **I-48** (Fuc- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>CO-Lys-Pro-Leu)<sub>4</sub>(Lys-Phe-Lys-Ile)<sub>2</sub>Lys-His-Ile-NH<sub>2</sub> représente de nos jours le ligand synthétique le plus efficace contre la lectine végétale modèle (*Ulex europaeus* (UEA-I)) avec un  $IC_{50}$  de  $11 \mu M$  et la lectine PA-IIL ( $IC_{50}$  de  $0.14 \mu M$ ).

<sup>211</sup> Johansson, E. M. V.; Kolomiets, E.; Rosenau, F.; Jaeger, K.-E.; Darbre, T.; Reymond, J.-L. Combinatorial variation of branching length and multivalency in a large (390,625 member) glycopeptide dendrimer library: Ligands for Fucose-specific lectins. *New J. Chem.* **2007**, *31*, 1291-1299.

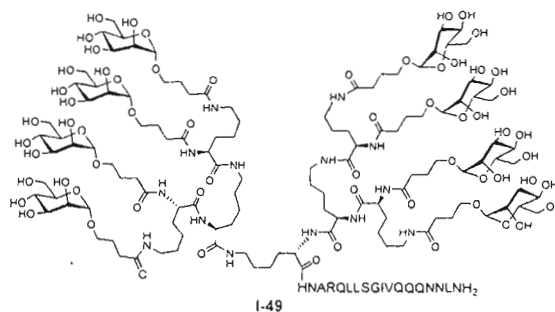
<sup>212</sup> Kolomiets, E.; Johansson, E. M. V.; Renaudet, O.; Darbre, T.; Reymond, J. L. Neoglycopeptide dendrimer libraries as a source of lectin binding ligands. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1465-1468.





**Figure 36.** Structures glycopeptidiques dendritiques C-fucosylées optimisées synthétisées par le groupe de Reymond et synthétisées en phase-solide combinatoire.

La confection de vaccin synthétique anti-HIV à partir de ce type de glycostructures a de même été envisagée en les introduisant aux extrémités de peptides reconnus comme étant immunogéniques (I-49) (Fig. 37).<sup>213</sup>



**Figure 37.** Vaccin anti-HIV potentiel entièrement synthétique proposé par le groupe de Chang.

Les données préliminaires de ce vaccin potentiel ont permis de conclure qu'il pouvait susciter des réponses d'anticorps polyclonaux dans le lapin plus prononcées que lors de l'utilisation de protéines immunogéniques standard de type « keyhole limpet hemocyanin » (KLH). Il a été conclu que le dendron mannosylé stabilisait l'ensemble de la structure en la

<sup>213</sup> Kantchev, E. A. B.; Chang, C.-C.; Chang, D.-K. Direct Fmoc/tert-Bu solid phase synthesis of octamannosyl polylysine dendrimer-peptide conjugates. *Biopolymers* 2006, 84, 232-240.

protégeant des phénomènes de protéolyse. De plus, ces structures peptidiques mannosylées portant 1 à 6 unités glucidiques terminales peuvent induire des réponses immunitaires jusqu'à 100 fois plus efficacement que des antigènes peptidiques nus.<sup>214</sup>

D'autres types d'architectures macromoléculaires basées sur l'utilisation de glycopeptides dendritiques comportant différentes unités glucidiques périphériques plus ou moins complexes sont aussi recensés et ont fait l'objet de revues.<sup>215,216,217,218</sup>

b) *Les glycodendrimères construits à partir de scaffolds commerciaux*

L'accès à des structures dendritiques commerciales, à l'architecture variée, contenant des fonctions chimiques de surface réactives et dont la monodispersité assure une valence et une géométrie définies, a représenté un atout majeur dans l'obtention rapide de structures glycodendritiques hyperbranchées. Certaines de ces structures commerciales, incluant les PAMAMs (poly(amidoamine)), les PPIs (poly(propylèneimine)), les polymères dendritiques de type Boltorn<sup>®</sup> et les polyglycérols, sont illustrées à la Figure 25 et feront l'objet de cette section.

i) *Les glycodendrimères de type PAMAM*

Les PAMAM représentent les premières architectures dendritiques commerciales ayant servi de support pour l'exposition multiple d'épitopes. Le tout premier exemple a ainsi été proposé par le groupe d'Okada en 1995 qui a proposé l'élaboration de macromolécules

<sup>214</sup> Tan, M. C. A. A.; Mommaas, A. M.; Drijfhout, R.; Jordens, J. J.; Onderwater, M.; Vervoerd, D.; Mulder, A. A.; van der Heiden, A. N.; Scheidegger, D.; Oomen, L. C. J. M.; Ottenhoff, T. H. M.; Tulp, A.; Neeffjes, J. J.; Koning, F. Mannose receptor-mediated uptake of antigens strongly enhances HLA class II-restricted antigen presentation by cultured dendritic cells. *Eur. J. Immunol.* **1997**, *27*, 2426-2435.

<sup>215</sup> Saphire, E. O.; Parren, P. W.; Pantophlet, R.; Zwick, M. B.; Morris, G. M.; Rudd, P. M.; Dwek, R. A.; Stanfield, R. L.; Burton, D. R.; Wilson, I. A. Crystal structure of a neutralizing human IGG against HIV-1: a template for vaccine design. *Science* **293** **2001**, 1155-1159.

<sup>216</sup> Chabre, Y. M.; Roy, R. Design and creativity in synthesis of multivalent neoglycoconjugates. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2010**, *63*, 168-393.

<sup>217</sup> Roy, R. Carbohydrate-based vaccines. In R. Roy (Ed.), *ACS Symp. Ser.* **2008**, *989*.

<sup>218</sup> Dziadek S.; Kunz, H. Synthesis of tumor-associated glycopeptides antigens for the development of tumor-selective vaccines. *Chem. Rev.* **2004**, *3*, 308-321.

sucrées appelées « sugar balls » *via* la formation de liens chimiques de type amides à partir de dérivés lactone.<sup>219</sup> Bien que cette stratégie permette une fonctionnalisation périphérique efficace, le sacrifice d'une partie glucidique servant alors d'espaceur flexible après l'étape de couplage, constitue un inconvénient synthétique non négligeable. Depuis, différentes stratégies de fonctionnalisation de PAMAM ont été décrites incluant *i*) l'introduction de fonctions thiourées en traitant l'architecture centrale aminée avec des dérivés glucidiques isothiocyanates; *ii*) la formation de fonctions amides à partir de dérivés acides carboxyliques ou contenant des fonctions carbonylées activées; *iii*) des réactions d'amination réductrice; *iv*) l'incorporation de groupements réactifs électrophiles de type halogéno-acétamides sur l'une ou l'autre des entités réactives. Ces différents modes de couplage feront l'objet d'une brève description dans cette section.

Une des stratégies les plus efficaces et les plus utilisées pour introduire de façon covalente des dérivés glucidiques à la surface des PAMAM aminés demeure par l'intermédiaire de la formation de fonctions de type thiourée. Historiquement, le groupe de Linhorst a été le premier à utiliser cette méthodologie en décrivant le couplage rapide et efficace de dérivés isothiocyanates du  $\beta$ -D-glucose,  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-mannose,  $\beta$ -D-galactose,  $\beta$ -cellobiose, et du  $\beta$ -lactose sur des dendrimères PAMAM de basse génération.<sup>220</sup> Une année plus tard, le groupe de Roy proposa une stratégie de couplage similaire conduisant à des dérivés hautement fonctionnalisés (**I-51**, jusqu'à 32 épitopes) en employant des glucides de type mannosides fonctionnalisés **I-50** contenant un aglycone hydrophobe de type aromatique pour profiter de l'effet bénéfique d'association au sous-site assisté par l'aglycone évoqué auparavant.<sup>221</sup> Les résultats d'évaluations biologiques préliminaires par ELLA et analyses turbidimétriques ont mis en évidence leurs avidités pour Con A et *Pisum Sativum*, jusqu'à 400 fois supérieures à celle des références monovalentes. De plus, puisque ces dérivés ont tendance à former des complexes insolubles avec les lectines étudiées, l'isolation de protéines issues de mélange pouvait être envisagée par l'intermédiaire de processus de précipitation

<sup>219</sup> Aoi, K.; Itoh, K.; Okada, M. Globular carbohydrate macromolecules "Sugar Balls". Synthesis of novel sugar-persubstituted Poly(amido amine) dendrimers. *Macromolecules* 1995, 28, 5391-5393.

<sup>220</sup> Lindhorst, T. K.; Kieburg, C. Glycoconjugate of oligovalent amines: Synthesis of thiourea-bridged cluster glycosides from glycosyl isothiocyanates. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1996, 35, 1953-1956.

<sup>221</sup> Pagé D.; Roy, R. Synthesis and biological properties of mannosylated starburst Poly(amidoamine) dendrimers. *Bioconjugate Chem.* 1997, 8, 714-723.

sélective.<sup>222</sup> Dans la continuité, l'introduction de dérivés lactosides a été décrite par le même groupe de recherche afin d'étudier le comportement des glycodendrimères synthétisés vis-à-vis de la famille des galectines, l'influence de la génération et de l'orientation des sites de reconnaissance des récepteurs.<sup>223</sup> Des variantes de cette stratégie impliquant l'utilisation de glucides déprotégés ont aussi été proposées.<sup>224</sup>

De même, des glucides plus complexes et aux activités biologiques plus marquées ont été greffés suivant cette stratégie. Ainsi, le groupe de Schengrund a envisagé la synthèse de petits glycodendrimères PAMAM comportant de quatre à huit unités oligo-GM1 (Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-4(Neu5Ac $\alpha$ (2-3)Gal $\beta$ (1-4)Glc $\beta$ 1-1Cer) comme inhibiteurs potentiels des toxines du cholera.<sup>225</sup> Les résultats biologiques ont confirmé le bien-fondé de la présentation multiple de ce dérivé glucidique par l'intermédiaire des PAMAMs avec une activité sur la toxine du cholera accrue de 5 à 15 fois par rapport au GM1 natif et de plus de 1000 fois par rapport à l'oligosaccharide libre. Parallèlement, le groupe de Roy, puis celui de Baker proposèrent la synthèse de glycodendrimères de générations 2, 3 et 4 (G(2), G(3) et G(4)) de type PAMAM contenant des acides sialiques périphériques possédant des activités intéressantes contre *Limax flavus* (Roy)<sup>226</sup> ou contre certaines souches d'influenza de type A (Baker).<sup>227</sup> De la même manière, l'introduction du disaccharide fonctionnalisé de type Man $\alpha$ 1-2Man (I-52) sur des dendrimères PAMAM de générations 3 ou 4 a conduit à l'obtention de structures

<sup>222</sup> Pagé D.; Roy, R. Glycodendrimers as novel biochromatography adsorbents. *Int. J. Bio-Chromatogr* **1997**, *3*, 231-244.

<sup>223</sup> André, S.; Ortega, P. J. C.; Perez, M. A.; Roy, R.; Gabius, H.-J. Lactose-containing starburst dendrimers: influence of dendrimer generation and binding-site orientation of receptors (plant/animal lectins and immunoglobulins) on binding properties. *Glycobiology* **1999**, *9*, 1253-1261.

<sup>224</sup> Kieburg C.; Lindhorst, T. K. Glycodendrimer synthesis without using protecting groups. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3885-3888.

<sup>225</sup> Thompson, J. P.; Schengrund, C.-L. Oligosaccharide-derivatized dendrimers: Defined multivalent inhibitors of the adherence of the cholera toxin B subunit and the heat labile enterotoxin of *E. coli* to GM1. *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 837-845.

<sup>226</sup> Zanini D.; R. Roy, Practical synthesis of starburst PAMAM  $\alpha$ -thiosialodendrimers for probing multivalent carbohydrate-lectin binding properties. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3486-3491.

<sup>227</sup> Landers, J. J.; Cao, Z.; Lee, I.; Piehler, L. T.; Myc, P. P.; Myc, A.; Hamouda, T.; Galecki, A. T.; Baker Jr, J. R. Prevention of influenza pneumonitis by sialic acid-conjugated dendritic polymers. *J. Infect. Dis.* **2002**, *186*, 1222-1230.

compétentes pour le recrutement de protéines du type cyanovirin-N, connues pour leur activité virucide (anti-HIV notamment) (I-53, Schéma 3)<sup>228</sup>

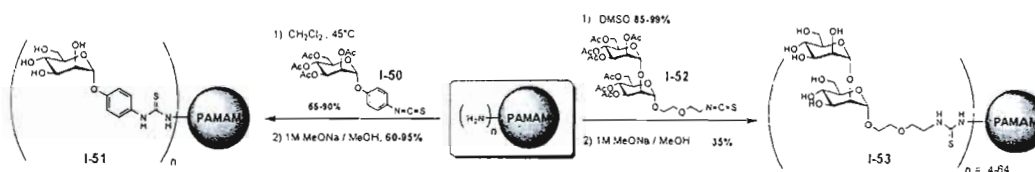


Schéma 3. Exemples de glycodendrimères contenant des fonctions thiourées.

D'autres structures glycodendritiques de type hétéro-bifonctionnelles comportant des dérivés mannosides et des fonctions hydroxyles libres ont aussi été synthétisées selon cette stratégie par le groupe de Cloninger afin d'étudier l'influence de la taille et de la valence de ces conjugués sur leur activité vis-à-vis de lectines à l'étude.<sup>229</sup>

Il est à souligner que le plus gros glycodendrimère décrit jusqu'à présent, contenant 256 résidus mannosides, a été obtenu selon cette méthodologie par le groupe de Cloninger en 2001.<sup>230</sup>

Du fait de la présence de fonctions amines ou d'acides carboxyliques en surface des dendrimères commerciaux de type PAMAM, des stratégies de fonctionnalisation basées sur le couplage peptidique direct de glucides possédant la fonction complémentaire ont été décrites (Schéma 4). De plus, le développement de réactifs de couplage efficaces a contribué à l'essor rapide de glycostructures monomoléculaires sophistiquées.<sup>231</sup> Une fois encore, des glucides complexes aux activités biologiques potentiellement intéressantes ont été introduits

<sup>228</sup> Mangold, S. L.; Morgan, J. R.; Strohmeyer, G. C.; Gronenborn, A. M.; Cloninger, M. J. Cyanovirin-N binding to Man $\alpha$ 1-2Man functionalized dendrimers. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 2354-2358.

<sup>229</sup> Wolfenden M. L.; Cloninger, M. J. Mannose/glucose-functionalized dendrimers to investigate the predictable tunability of multivalent interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12168-12169.

<sup>230</sup> Woller E. K.; Cloninger, M. J. Mannose functionalization of a sixth generation dendrimer. *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 1052-1054.

<sup>231</sup> Carpino, L. A.; Imazumi, H.; El-faham, A'; Ferrer, F. J.; Zhang, C.; Lee, Y.; Foxman, B. M.; Henklein, P.; Hanay, C.; Mügge, C.; Wenschuh, H.; Klose, J.; Beyermann, M.; Bienert, M. The uranium/guanidinium peptide coupling reagents: Finally the true uranium salts. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 441-445.

suivant cette stratégie expéditive. Ainsi, jusqu'à 32 unités antigéniques dérivatisées de type TF ( $\beta$ -Gal(1-3)- $\alpha$ -GalNAc, **I-54**) ont pu être greffées par le groupe de Roy *via* l'utilisation du puissant réactif de couplage TBTU (tétrafluoroborate de 2-(1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium) en présence de diisopropyléthylamine (DIPEA) en tant que base. Les propriétés des glycodendrimères résultants (**I-55**) ont été évaluées sur la lectine *Arachis hypogaea* et un anticorps IgG monoclonal de souris. Il en est ressorti que les structures les plus densément substituées induisaient les plus fortes inhibitions, allant jusqu'à des valeurs d' $IC_{50}$  de 0.6 nM pour des dendrimères de génération 3, correspondant à une augmentation de l'activité inhibitrice d'un facteur 3800 par rapport au monomère correspondant.

Selon une approche identique, des dendrimères PAMAM mannosylés (**I-57**) ont récemment été construits à partir de dérivés acides carboxyliques (**I-56**) afin d'évaluer leurs affinités envers les bactéries fimbriées uropathogéniques *E. coli*.<sup>232</sup> Bien que décevants du point de vue de l'activité par épitope, les résultats des tests ELISA des glycoconjugués déprotégés ont permis de confirmer des affinités des dendrimères de deuxième et troisième génération avec le FimH de l'ordre du bas  $\mu$ M.

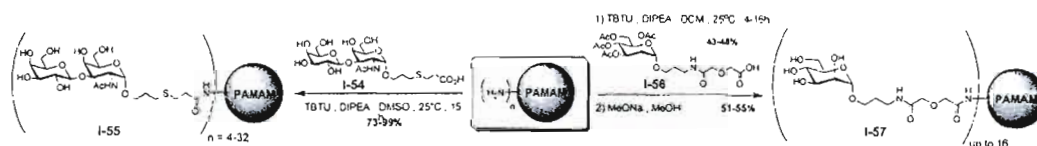


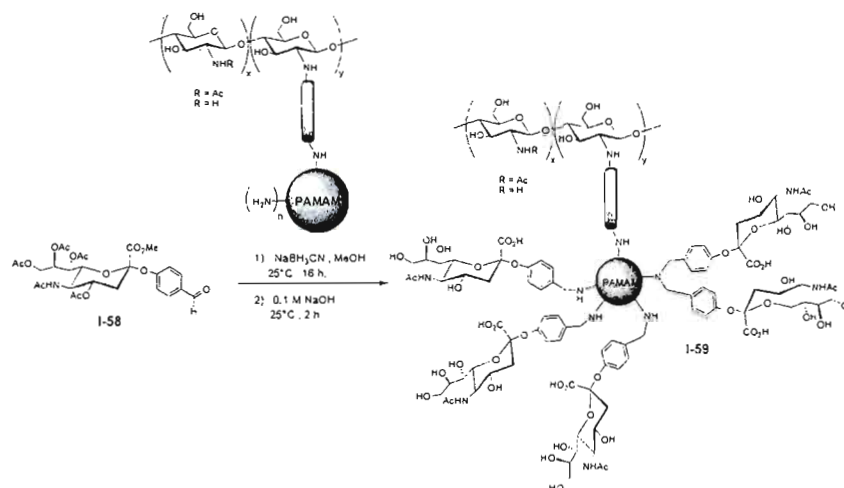
Schéma 4. Exemples de glycodendrimères PAMAM contenant des fonctions amides.

L'amination réductrice représente une alternative synthétique intéressante qui a notamment été utilisée à plusieurs reprises par le groupe de Roy pour engendrer des macromolécules dendronisées hybrides constituées de chitosan et d'acide sialique (Schéma 5).<sup>233,234</sup> Ainsi, les dérivés *p*-formylphényl d'acide sialique (**I.58**) ont pu être introduits sur les

<sup>232</sup> Appeldoorn, C. C. M.; Joosten, J. A. F.; el Maate, F. A.; Dobrindt, U.; Hacker, J.; Liskamp, R. M. J.; Khan, A. S.; Pieters, R. J. Novel multivalent mannose compounds and their inhibition of the adhesion of type 1 fimbriated uropathogenic *E. coli*. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 361-372.

<sup>233</sup> Sashiwa, H.; Shigemasa, Y.; Roy, R. Chemical modification of chitosan. 3. Hyperbranched chitosan-sialic acid dendrimer hybrid with tetraethylene glycol spacer. *Macromolecules* **2000**, *33*, 6913-6915.

PAMAMs dérivatisés *via* une réaction de *N*-alkylation avec NaBH<sub>3</sub>CN dans le MeOH. Malheureusement, des réactions non désirées de double *N*-alkylation sont à l'origine de la formation récurrente de produits secondaires difficilement séparables des produits désirés.



**Schéma 5.** Synthèse de macromolécules dendronisées hybrides constituées de chitosan et d'acide sialique.

Enfin, une stratégie basée sur l'introduction de fonctions réactives électrophiles de type halogéno-acétamides a été efficacement employée par le groupe de Roy au milieu des années 90, permettant la synthèse efficace de glycodendrimères par voie convergente. En plus d'être très générale, cette méthodologie permet d'éviter les réactions secondaires dites de rétro-Michael, principales responsables de la dégradation de dendrimères PAMAMs. Ainsi, les auteurs ont décrit la préparation de dendrimères  $\alpha$ -thiosialosides (**I-62**) à partir de dendrons symétriques *N*-chloro-acétylés (**I-60**) et un léger excès de glucides soufrés (**I-61**) dans des conditions basiques, polaires et aprotiques pour permettre une réaction de substitution de type S<sub>N</sub>2 (Schéma 6).

<sup>234</sup> Sashiwa, H.; Shigemasa, Y.; Roy, R. Highly convergent synthesis of dendrimerized chitosan-sialic acid hybrid. *Macromolecules* 2001, 34, 3211-3214.

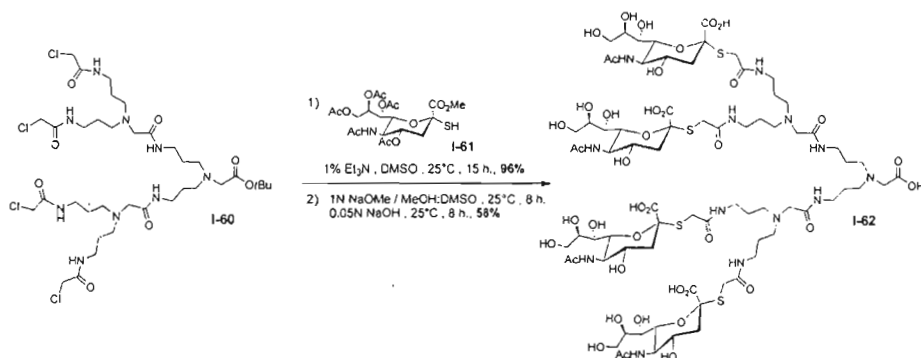
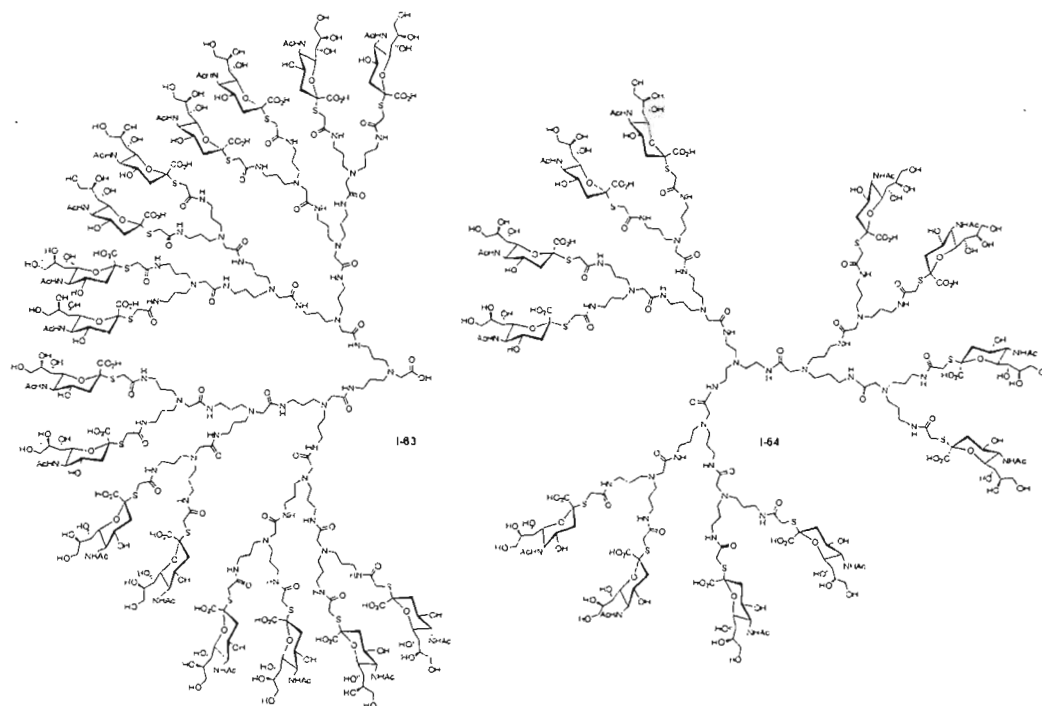


Schéma 6. Synthèse du dendron thiosialoside selon une réaction de type  $\text{S}_{\text{N}}2$ .

De plus, des dendrons de génération supérieure (**I-63**) ainsi que des structures dendritiques globulaires (**I-64**) dont les valences oscillaient entre 4 et 12 ont été synthétisées suivant cette stratégie (Fig. 38).<sup>235</sup> Leur potentiel à précipiter et à réticuler la lectine *Limax flavus* (LFA) a été révélé par des études préliminaires de turbidimétrie. Cette affinité a par la suite été confirmée par des tests ELLA, indiquant des valeurs d' $\text{IC}_{50}$  de 12 nM pour le dendron tétravalent **I-75** et une activité moins marquée pour l'analogue hexadécavalent **I-63** ( $\text{IC}_{50}$  de 425 nM). En revanche, la tendance s'inverse pour les structures globulaires correspondantes, avec un gain d'affinité pour les valences plus élevées, notamment pour le glycodendrimère **I-64** qui présente un  $\text{IC}_{50}$  de 8.2 nM, correspondant à une amélioration de 182 fois comparé au standard monovalent azoture de 5-acétamido-5-désoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosyle.

<sup>235</sup> Zanini D.; Roy, R. Synthesis of new  $\alpha$ -thiosialodendrimers and their binding properties to the sialic acid specific lectin from *Limax flavus*. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2088-2095.

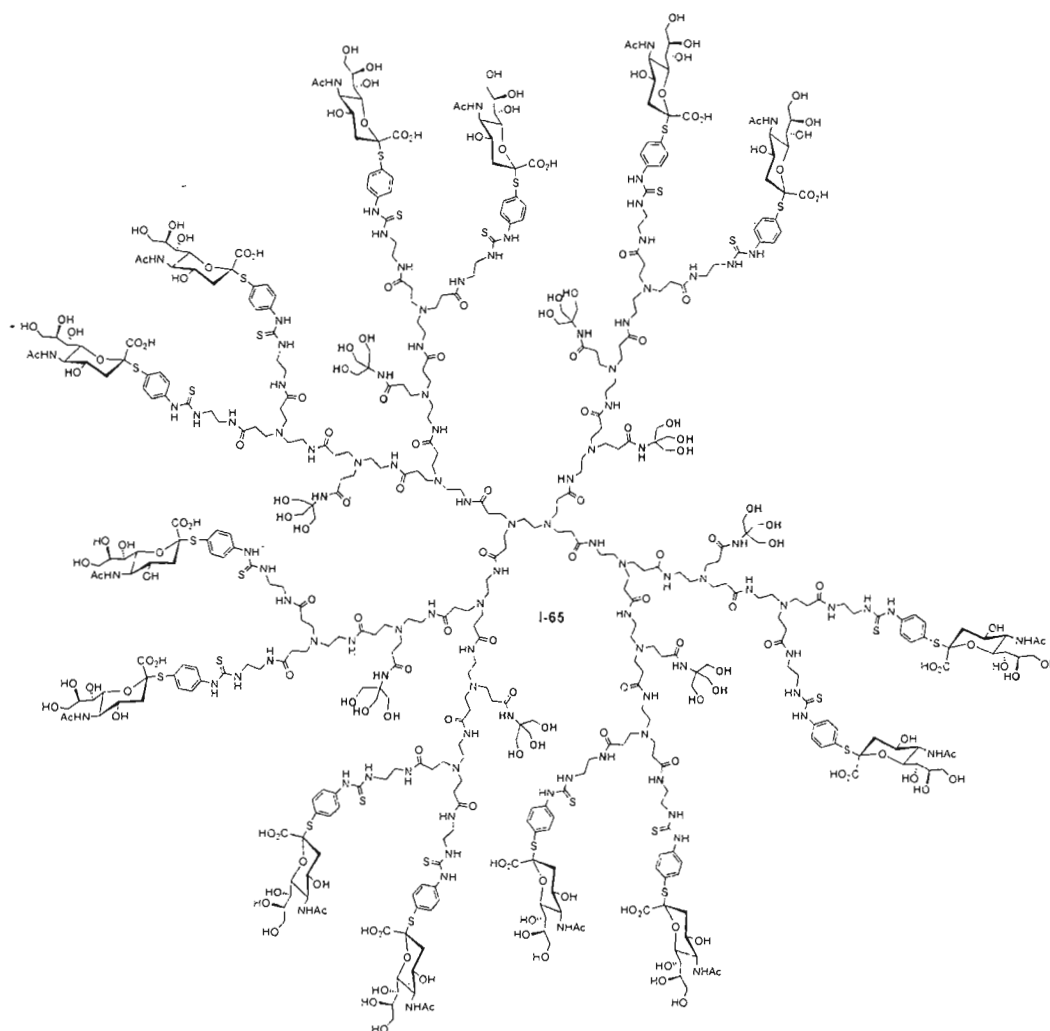




**Figure 38.** Représentation des glycodendrons et glycodendrimères globulaires contenant des dérivés thiosialosides.

Bien que les PAMAMs puissent représenter des architectures dendritiques multivalentes idéales pour la présentation d'épitopes, les résultats biologiques semblent indiquer que les structures les plus densément fonctionnalisées ne sont pas forcément les meilleurs candidats. Une explication plausible concernant un défaut d'accessibilité et donc de reconnaissance des unités glucidiques par les récepteurs a alors été avancée. Ainsi, des solutions synthétiques impliquant l'intercalation de résidus solubilisants hydrophiles de type TRIS dans la structure même du dendrimère ont été envisagées (**I-65**, Fig. 40).<sup>236</sup>

<sup>236</sup> Reuter, J. D.; Myc, A.; Hayes, M. M.; Gan, Z.; Roy, R.; Qin, D.; Yin, R.; Piehler, L. T.; Esfand, R.; Tomalia, D. A.; Baker Jr, J. R. Inhibition of viral adhesion and infection by sialic-acid-conjugated dendritic polymers. *Bioconjugate Chem.* 1999, 10, 271-278.



**Figure 39.** Représentation d'un glycodendrimer contenant un scaffold PAMAM modifié comportant des unités TRIS.

Pour conclure, la commercialisation des PAMAMs a ouvert la voie à la synthèse rapide de dendrimères fonctionnalisés et notamment de glycodendrimeres. Leur accès a permis des progrès dans la compréhension des phénomènes de reconnaissance multivalents. L'évaluation de leur toxicité intrinsèque, accompagnée de leur caractère non-immunogène, en font des candidats intéressants pour l'élaboration d'antiadhésines bactériennes et/ou virales.

## ii) Les glycodendrimères de type PPI

La séquence réactionnelle permettant la synthèse à grande échelle de dendrimères de type PPI ou DAB-*dendr*-(NH<sub>2</sub>)<sub>x</sub> a été décrite par le groupe de Meijer au début des années 90 en adaptant la stratégie originale de Vögtle<sup>36</sup> qui souffrait de problèmes de purification.<sup>237</sup> Ainsi, selon une double addition de Michael de l'acrylonitrile sur des amines, suivie d'hydrogénation catalysée par des métaux, des PPI contenant jusqu'à 64 amines primaires périphériques ont été obtenus. Le premier exemple de glycodendrimère à base de PPI a été proposé par le groupe de Stoddart dont l'approche divergente a permis la construction rapide et efficace de structures à masses moléculaires élevées contenant 4, 8, 16, 32 et 64 unités galactosides ou lactosides terminales.<sup>238</sup> La stratégie employée reposait sur la formation de liens amides *via* l'utilisation de dérivés esters *N*-succinimidyles de glucides (**I-66** et **I-67**) puis une réaction quantitative de déprotection dans les conditions de Zemplén. Un exemple de structures globulaires (**I-68** et **I-69**) contenant 32 unités périphériques est illustré dans le Schéma 7.

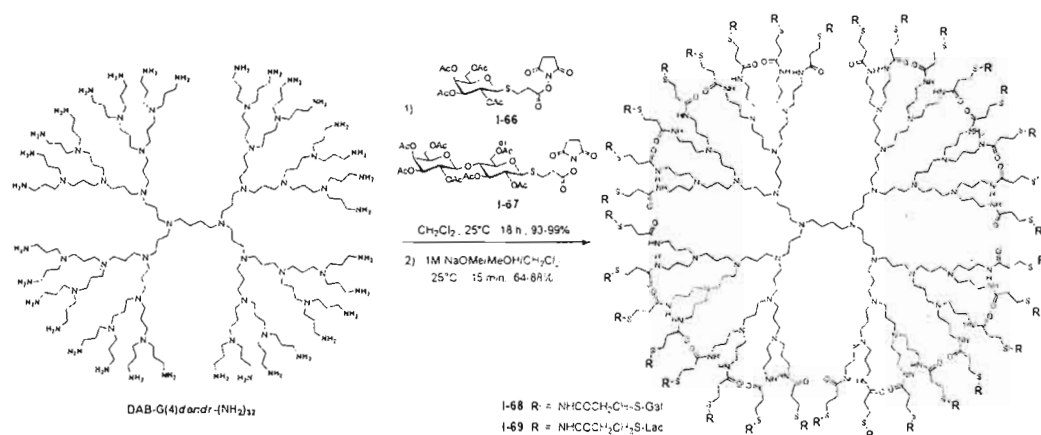


Schéma 7. Synthèse de glycodendrimères PPI contenant 32 unités glucidiques périphériques.

<sup>237</sup> de Brabander-van den Berg E. M. M.; Meijer, E. W. Poly(propylene imine) dendrimers: Large-scale synthesis by heterogeneously catalyzed hydrogenations. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1993, 32, 1308-1311.

<sup>238</sup> Ashton, P. R.; Boyd, S. E.; Brown, C. L.; Nepogodiev, S. A.; Meijer, E. W.; Peerlings, H. W. I.; Stoddart, J. F. Synthesis of glycodendrimers by modification of Poly(propyleneimine) dendrimers. *Chem. Eur. J.* 1997, 3, 974-984.

Le même groupe a adapté cette méthodologie à la synthèse par voie convergente et accélérée de glycodendrimères denses construits à partir d'unités TRIS contenant jusqu'à 24 dérivés galactosides.

En 2004, une application intéressante de glycodendrimères poly(sulfogalactosylés) à base de PPI a été décrite par le groupe de Schengrund qui les a par la suite évalués en tant qu'agents anti-infectieux contre le HIV.<sup>239</sup> Ainsi, une série de glycodendrimères contenant des mimétiques de céramide de galactosyles et de leurs dérivés sulfates a été synthétisée, analysée comme ligands pour les glycoprotéines gp120 IIIB par SPR et évaluée en tant qu'inhibiteurs de l'infection par le HIV. Les résultats biologiques obtenus ont mis en valeur l'importance du degré de sulfatation et l'influence de la position des groupements sulfates sur l'activité inhibitrice. Bien qu'intéressante pour les dérivés sulfates, l'activité de ces conjugués originaux demeurait plus faible que le dextran de contrôle.

iii) Les polymères glycodendritiques de type Boltorn<sup>®</sup> et polyglycérol

Bien que possédant une monodispersité moins contrôlée, une autre classe de polymères hyperbranchés commerciaux comprenant les architectures dendritiques de type Boltorn<sup>®</sup> et polyglycérol a plus récemment été utilisée pour la présentation multiple d'épitopes. Les premiers cités, construits selon une approche itérative divergente autour du pentaérythritol et avec l'utilisation de l'anhydride 2,2-bis(hydroxyméthyl)propionique, ont surtout été utilisés sous leur forme glycosylée pour mimer les structures naturelles hautement mannosylées de certains agents pathogènes. Ainsi, de telles structures se sont avérées particulièrement utiles pour étudier et bloquer l'interaction entre DC-SIGN et le virus *Ebola*.<sup>240</sup> Le polymère glycodendritique mannosylé **I-70**, contenant une moyenne de 32 unités périphériques, a pu inhiber sélectivement l'infection par le virus *Ebola* par l'intermédiaire de DC-SIGN avec un IC<sub>50</sub> de 340 nM, avec un effet dendritique marqué. Dans un effort plus récent, le groupe de

<sup>239</sup> Kensinger, R. D.; Yowler, B. C.; Benesi, A. J.; Schengrund, C.-L. Synthesis of novel, multivalent glycodendrimers as ligands for HIV-1 gp120. *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 349-358.

<sup>240</sup> Lasala, F.; Arce, E.; Otero, J. R.; Rojo, J.; Delgado, R. Mannosyl glycodendritic structure inhibits DC-SIGN-mediated Ebola virus infection in cis and in trans. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 3970-3972.

Hawker a proposé la synthèse de glycoconjugués multi-fonctionnels comportant une entité de ciblage, une unité biologiquement active ainsi qu'une sonde fluorescente.<sup>241</sup> De cette étude sont nés des matériaux sophistiqués dissymétriques (**I-71**) construits selon des étapes itératives contrôlées incluant la construction du motif dendritique Boltorn<sup>®</sup> et la chimie click comme mode de liaison des différents motifs (Fig. 40). L'activité de ces systèmes a été évaluée selon des tests standard d'inhibition d'hémagglutination entre la Con A et des cellules sanguines de lapin. Une activité 240 fois supérieure à celle enregistrée pour la référence monovalente a confirmé l'effet synergique induit par la présentation dendritique.

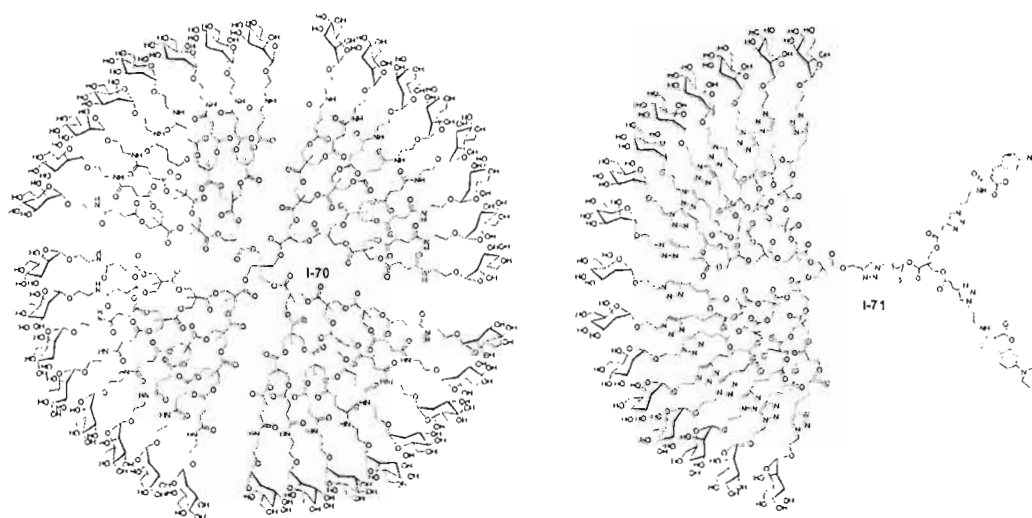


Figure 40. Exemples choisis de la littérature de glycodendrimères à base de Boltorn<sup>®</sup>.

Les exemples d'architectures incorporant une base polyglycérol sont beaucoup plus rares du fait de leur caractère récent. À notre connaissance, un seul type de glycoarchitectures a été rapporté à ce jour. Dans ce contexte, le groupe de Haag a récemment proposé l'élaboration de tels conjugués tridimensionnels, biocompatibles et hydrosolubles présentant des unités galactosides installées par voie de chimie click (**I-72** et **I-73**, Fig. 41).<sup>242</sup>

<sup>241</sup> Wu, P.; Malkoch, M.; Hunt, J. N.; Vestberg, R.; Kaltgrad, E.; Finn, M. G.; Fokin, V. V., Sharpless, K. B.; Hawker, C. J. Multivalent, bifunctional dendrimers prepared by click chemistry. *Chem. Commun.* **2005**, 5775-5777.

<sup>242</sup> Papp, I.; Dervede, J.; Enders, S.; Haag, R. Modular synthesis of multivalent glycoarchitectures and their unique selectin binding behaviour. *Chem. Commun.* **2008**, 5851-5853.

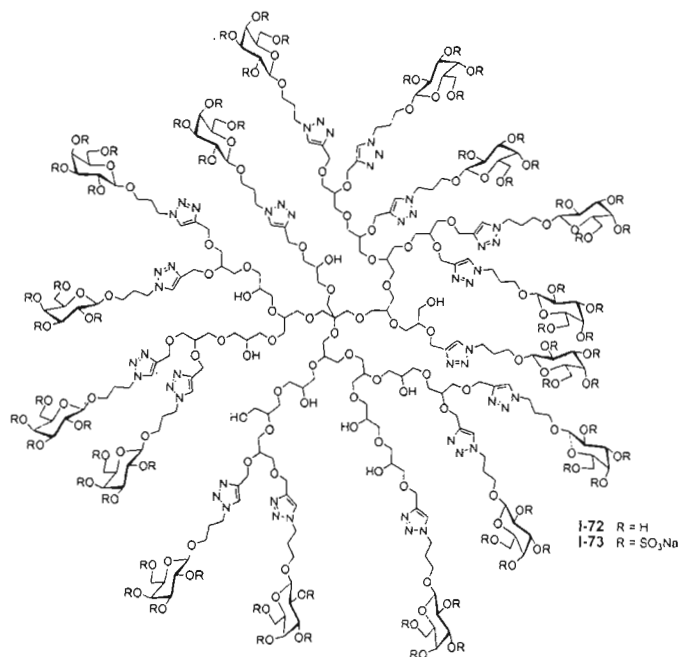


Figure 41. Exemple de polyglycérols dendritiques galactosylés.

L'activité inhibitrice évaluée sur des sélectines, des glycoprotéines transmembranaires liant des résidus glucidiques et oligosaccharidiques des glycoprotéines et des glycolipides mises en jeu dans des phénomènes d'adhérence, de reconnaissance intercellulaire et d'inhibition de contact, a été réalisée au moyen de SPR. Ces structures galactosylées, pouvant contenir jusqu'à 35 unités terminales, ont montré de fortes inhibitions des L-sélectines leucocytaires et des P-sélectines plaquettaires de l'ordre du nM et jusqu'au bas nM pour les dérivés polyanioniques sulfatés, confirmant ainsi leur rôle de ligands multivalents avec un effet dendritique marqué. Il a été montré que l'architecture polyglycérol seule n'induisait aucune interaction non-spécifique avec les récepteurs. Cette étude appuie donc le fait qu'une présentation multivalente contrôlée d'un glucide simple pouvait engendrer des activités remarquables en dépit de la complexité des mécanismes naturels mis en jeu.

c) *D'autres types de glycodendrons et glycodendrimères*

Une grande variété de glycostructures multivalentes autres que celles présentées dans les sections précédentes a été proposée au cours de ces dernières années. L'objectif de cette présente section est de fournir quelques exemples de glycodendrons et glycodendrimères synthétisés de façon expéditive et présentant les meilleures activités biologiques. Les lecteurs sont invités à consulter des revues à cet effet pour une liste plus complète et détaillée.<sup>23,107,116,145,147,243</sup> Ainsi, des architectures glycosylées dendritiques construites à partir d'entités branchées de type AB<sub>2</sub>, AB<sub>3</sub>, ou des motifs multivalents plus exotiques, seront mentionnées.

Que ce soit pour l'élaboration de glycodendrons ou de glycodendrimères plus globulaires, les systèmes aromatiques de type AB<sub>2</sub>, comportant une fonctionnalité réactive focale (A) ainsi que deux fonctions activables pour continuer la croissance dendritique, ont largement été utilisés. Dans ce contexte, des dérivés galactosides,<sup>244</sup> lactosides (I-74, I-75 et I-76)<sup>245</sup> et des mimétiques de GM1 (I-77, I-78 et I-79)<sup>246</sup> ont été attachés sur des dendrons de différentes valences pour la construction de macromolécules contre la toxine du choléra (Fig. 42). Bien que des activités intéressantes déterminées par FRET aient été observées pour les dérivés lactosides, jusqu'à huit fois supérieures par épitope comparé au lactose monovalent, il apparaît que l'augmentation de la valence ne permet pas d'augmenter les affinités. En revanche, les structures comportant les mimétiques de GM1 ont conduit à des augmentations significatives des avidités lors de tests ELISA, avec des concentrations inhibitrices de l'ordre du bas micromolaire pour les dérivés di-, tétra-, et octavalent (I-77, I-78, I-79,

<sup>243</sup> Röckendorf N.; Lindhorst, T. K. Glycodendrimers. *Top. Curr. Chem.* **2001**, *217*, 201-238.

<sup>244</sup> Minde, W. E.; Roach, C.; Hol, W. G. J.; Verlinde, C. L. Structure-based exploration of the ganglioside GM1 binding sites of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin and Cholera Toxin for the discovery of receptor antagonists. *Biochemistry* **1999**, *38*, 5684-5692.

<sup>245</sup> Vrasidas, I.; de Mol., N. J.; Liskamp, R. M. J.; Pieters, R. J. Synthesis of lactose dendrimers and multivalency effects in binding to the Cholera Toxin B subunit. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 4685-4692.

<sup>246</sup> Arosio, D.; Vrasidas, I.; Valentini, P.; Liskamp, R. M. J.; Pieters, R. J.; Bernardi, A. Synthesis and Cholera Toxin binding properties of multivalent GM1 mimics. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2113-2124.

respectivement) correspondant à une amélioration par un facteur 440 de celle de la référence monovalente.

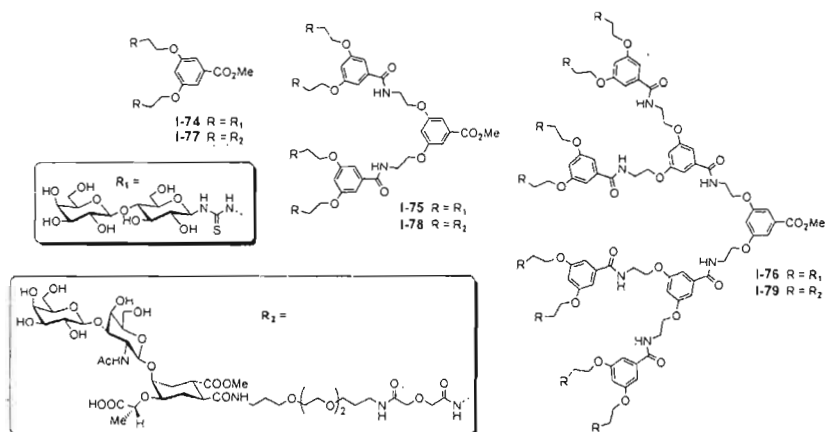
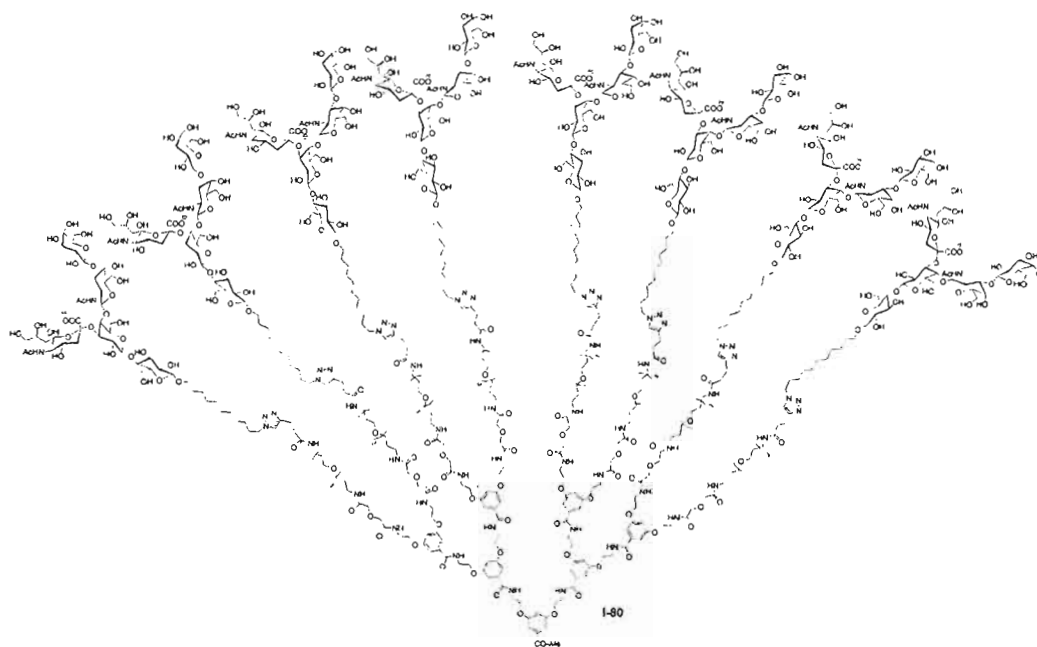


Figure 42. Représentation de glycodendrons contre la toxine choléra.

Le même groupe a récemment proposé l'intégration d'oligosaccharides GM1 authentiques sur des structures multivalentes optimisées allongées contenant des espaceurs solubilisants de type PEG (Fig. 43).<sup>247</sup> L'incorporation des unités GM1 par chimie click a permis l'obtention de dendrons di-, tétra- et octavalents (**I-80**) ayant les affinités les plus élevées enregistrées en test ELISA. Ainsi, des valeurs d'IC<sub>50</sub> égales à 50 pM, correspondant à des affinités 48000 fois supérieures à celle de la référence monovalente, ont été obtenues pour le dérivé octavalent **I-80**. Les analogues di- et tétravalents se sont avérés moins efficaces, avec une diminution d'un facteur 4-5 par rapport à l'octamère.

<sup>247</sup> Pukin, A. V.; Branderhorst, H. M.; Sisu, C.; Weijers, C. A. G. M.; Gilbert, M.; Liskamp, R. M. J.; Visser, G. M.; Zuilhof, H.; Pieters, R. J. Strong inhibition of Cholera Toxin by multivalent GM1 derivatives. *ChemBioChem* 2007, 8, 1500-1503.





**Figure 43.** Représentation d'un glycodendron optimisé contenant 8 unités GM1 ayant une  $IC_{50}$  de 50 pM contre la toxine de choléra.

D'autres dendrons constitués d'unités répétitives de type  $AB_2$  ont été proposés par d'autres groupes de recherche, incluant l'intégration de dérivés optimisés de type lactosides ayant pour cible les galectines-1, -3, et -5 (**I-81**),<sup>248</sup> des dérivés Gb3 contre les toxines de Shiga 1 et 2 (**I-82**), ou encore des conjugués de type mannosides pour la capture et la détection de la bactérie *E. coli* (**I-83**) (Fig. 44).

<sup>248</sup> Vrasidas, I.; André, S.; Valentini, P.; Böck, C.; Lensch, M.; Kaltner, H.; R Liskamp, M. J.; Gabius, H.-J.; Pieters, R. J. Rigidified multivalent lactose molecules and their interactions with mammalian galectins: a route to selective inhibitors. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 803-810.

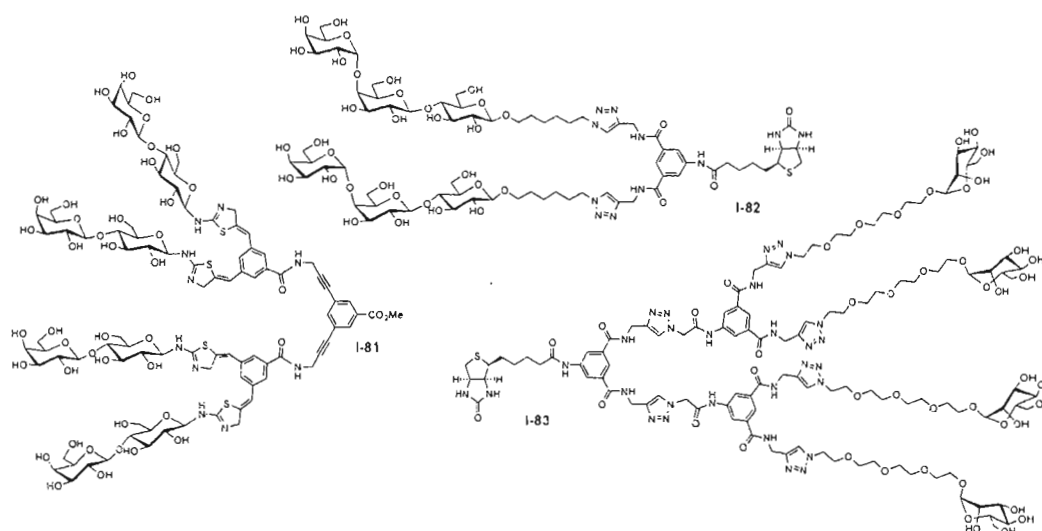


Figure 44. Exemples choisis de la littérature de glycodendrons de type AB<sub>2</sub>.

Les unités dendritiques de type AB<sub>2</sub> ont de même constitué des éléments utiles pour la construction de glycodendrimères globulaires. Ainsi, l'utilisation de l'acide dihydroxybenzoïque pour une croissance dendritique contrôlée a permis l'élaboration d'architectures glycosylées possédant jusqu'à 16 unités fucosides (**I-84**) ou galactosides installées *via* la chimie click.<sup>249</sup> Sachant que la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, principale cause de mortalité chez les patients atteints de fibrose kystique, exprime deux facteurs de virulence sous forme de lectines PA-IL et PA-IIL, spécifiques respectivement pour le D-galactose et le L-fucose, les architectures synthétisées ont été évaluées pour leur affinité envers ces deux protéines. Plus particulièrement, la structure hétéro-bifonctionnelle **I-85** possédant 4 unités fucosides ainsi que 8 unités galactosides pourrait représenter une anti-adhésine contre la bactérie étudiée en agissant sur les deux lectines simultanément (Fig. 45).

<sup>249</sup> Deguise, I.; Lagnoux, D.; Roy, R. Synthesis of glycodendrimers containing both fucoside and galactoside residues and their binding properties to Pa-IL and PA-IIL lectins from *Pseudomonas aeruginosa*. *New J. Chem.* **2007**, *31*, 1321-1331.

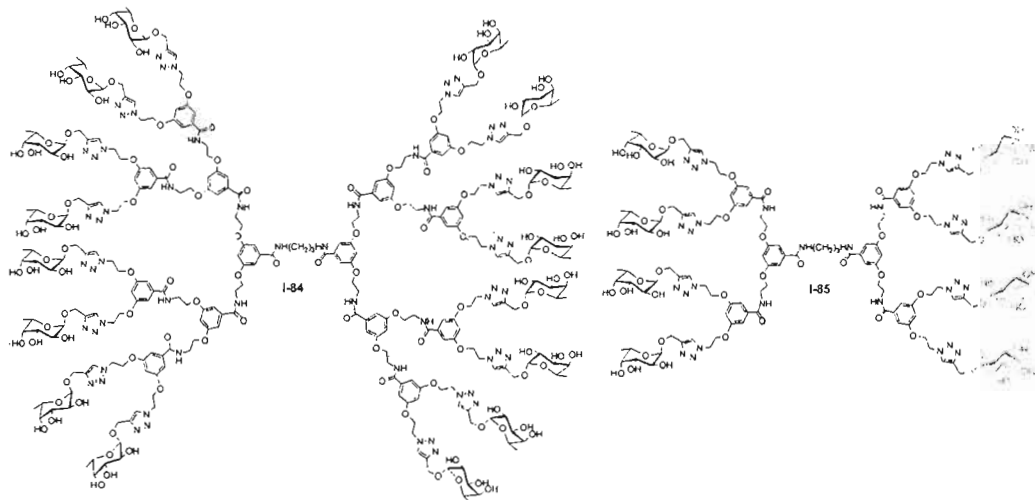


Figure 45. Exemples de glycodendrimères mono- et bi-fonctionnels proposés par le groupe de Roy.

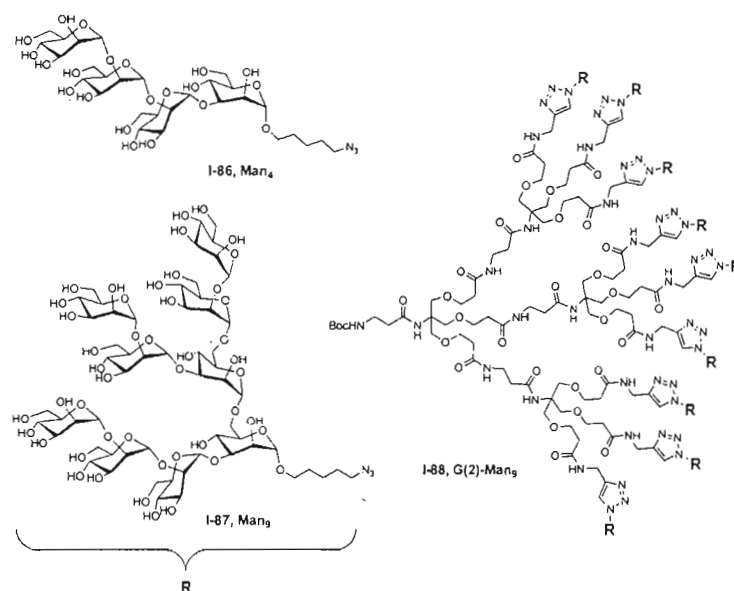
Les premières investigations biologiques par turbidimétrie ont indiqué une forte propension des molécules contenant plus de 4 unités fucosides sur la même face à réticuler la lectine PA-IIL en formant rapidement des complexes totalement insolubles. De plus, il a été démontré que la structure hétéro-bifonctionnelle **I-85** pouvait reconnaître simultanément les sites actifs des deux lectines.

Les motifs dendritiques de type  $AB_3$  permettant un embranchement de trois nouvelles unités ont aussi largement été utilisés pour assurer une croissance dendritique accélérée conduisant à des structures denses et compactes. Dans ce contexte, l'utilisation des dérivés aliphatiques du TRIS et aromatiques de l'acide gallique a permis l'élaboration de glycodendrons et glycodendrimères selon des stratégies orthogonales et itératives.

Par exemple, le groupe de Wong a récemment proposé la synthèse de glycodendrons à partir de dérivés fonctionnalisés du TRIS et comportant une forte densité en oligomannosides multivalents afin de mimer les glycanes des gp120 du HIV-1.<sup>250</sup> Ainsi, la chimie

<sup>250</sup> Wang, S.-K.; Liang, P.H.; R. Astronomo, D.; Hsu, T.-L.; Burton, D. R.; Wong, C.-H. Targeting the carbohydrates on HIV-1: Interaction of oligomannose dendrons with human monoclonal antibody 2G12 and DC-SIGN. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **2008**, *105*, 3690-3695.

click a été employée afin d'introduire de façon efficace les dérivés azotures des oligomannosides  $\text{Man}_4$  (**I-86**) et  $\text{Man}_9$  (**I-87**) sur les dendrons polypropargylés (Fig. 46).



**Figure 46.** Oligo-mannosides **I-86** et **I-87** et glycodendrion  $\text{G}(2)\text{-Man}_9$  (**I-88**) comme agents antiviraux.

Les résultats biologiques ont indiqué que le glycodendrion  $\text{G}(2)\text{-Man}_9$  (**I-88**) constituait un mimétique fidèle de la surface glycanique des gp120 et utilisable pour la conjugaison avec une protéine en vue d'un vaccin potentiel. De plus, des activités de l'ordre du nanomolaire sont ressorties des tests d'inhibition de DC-SIGN en ELISA, comparé à des activités de l'ordre du millimolaire pour la référence mannoside. Ces architectures peuvent de ce fait constituer des vaccins potentiels et des agents antiviraux puissants.

À l'instar des dérivés TRIS, les dérivés de l'acide gallique constituent de parfaits candidats pour une croissance dendritique rapide. Le groupe de Roy a été le premier à utiliser ce type d'éléments branchés pour la construction d'architectures dendritiques PEGylées lactosylées présentant jusqu'à 9 épitopes pour la première génération (**I-89**, Fig. 47), au moyen d'une réaction de type  $\text{S}_{\text{N}}2$ , avec des dérivés thiolés et des dendrons de type halogéno-

acétamides.<sup>251</sup> Les espaceurs hydrophiles ont été choisis pour assurer une solubilité accrue dans l'eau et contrebalancer l'effet aromatique des unités galliques.

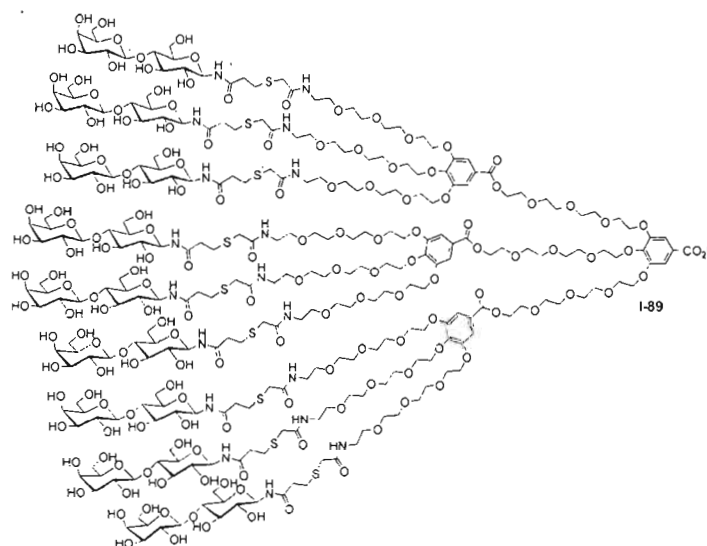


Figure 47. Représentation d'un glycodendron de 1<sup>ère</sup> génération contenant des unités galliques proposé par le groupe de Roy.

Des dérivés analogues d'acide sialique ont été construits quelques années plus tard par le même groupe et ont montré des propriétés de réticulation et de précipitation intéressantes envers deux lectines différentes: WGA (wheat germ agglutinin) et LFA (*Limax flavus*).<sup>252</sup>

Un exemple additionnel découlant de l'utilisation de dérivés d'acide gallique a été décrit par le groupe de Riguera, qui a adapté une séquence synthétique semblable basée sur la chimie click, mais en interchangeant les groupements fonctionnels terminaux.<sup>253,254</sup> Ainsi, des scaffolds dendritiques comportant jusqu'à 27 fonctions azotures périphériques ont été utilisés

<sup>251</sup> Roy, R.; Park, W. K. C.; Wu, Q.; Wang, S.-N. Synthesis of hyperbranched dendritic lactosides, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4377-4380.

<sup>252</sup> Meunier, S. J.; Wang, Q.; Wang, S.-N.; Roy, R. Synthesis of hyperbranched glycodendrimers incorporating  $\alpha$ -thiosialosides based on a gallic acid core. *Can. J. Chem.* **1997**, *75*, 1472-1482.

<sup>253</sup> Fernandez-Megia, E.; Correa, J.; Rodriguez-Meizoso, I.; Riguera, R. A click approach to unprotected glycodendrimers. *Macromolecules* **2006**, *39*, 2113-2120.

<sup>254</sup> Fernandez-Megia, E.; Correa, J.; Riguera, R. "Clickable" PEG-dendritic block copolymers. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3104-3111.

pour l'élaboration expéditive et efficace de glycodendrons PEGylés contenant des unités fucosides (I-90), mannosides (I-91) et lactosides (I-92) (Fig. 48).

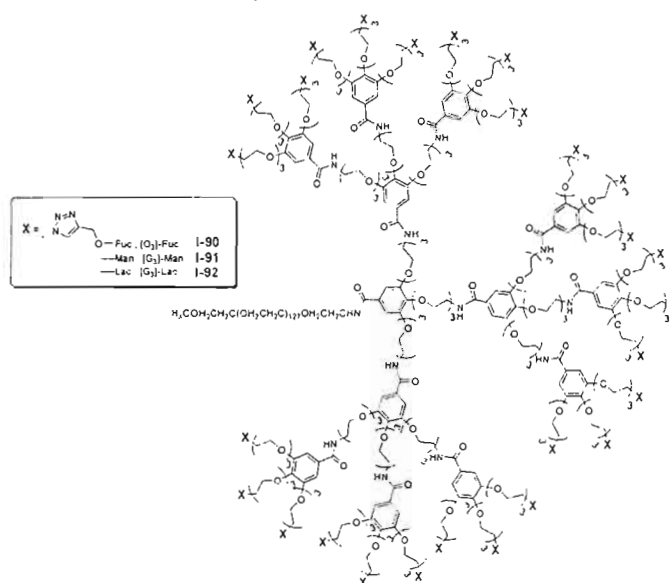
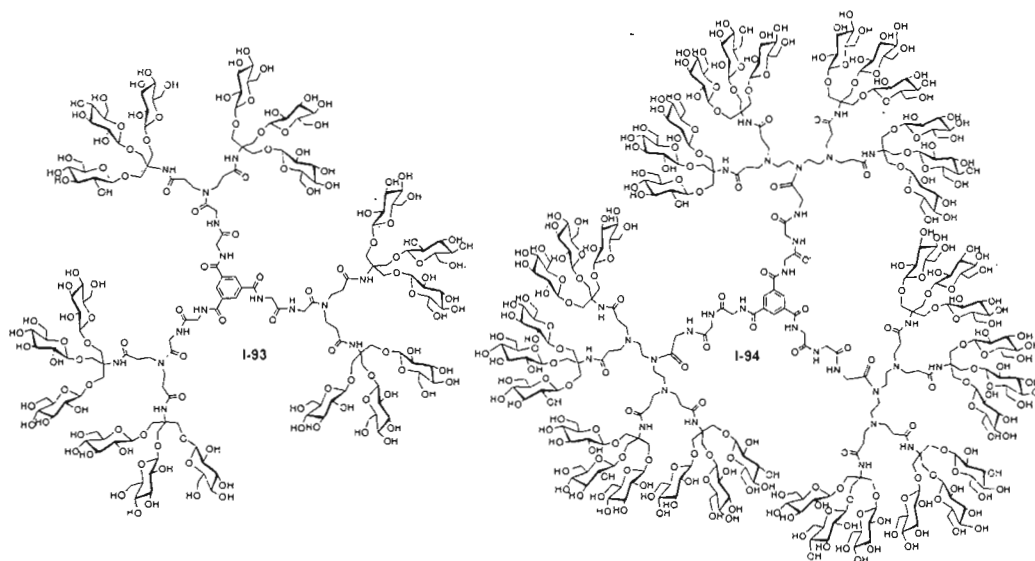


Figure 48. Glycodendron PEGylé proposé par le groupe de Riguera.

Des glycodendrimères denses ont été proposés par le groupe de Stoddart au milieu des années 90, en utilisant des éléments de type TRIS comme unités dendritiques et de courtes chaînes peptidiques en tant que connecteurs émanant du cœur aromatique.<sup>255,256</sup> Selon des approches convergentes améliorées basées sur l'élaboration préliminaire de glycodendrons multiple générations, des architectures glycosylées contenant jusqu'à 36 unités glucosides périphériques ont pu être générées (I-93 et I-94, Fig. 49).

<sup>255</sup> Ashton, P. R.; Boyd, S. E.; Brown, C. L.; Jayaraman, N.; Nepogodiev, S. A.; Stoddart, J. F. A convergent synthesis of carbohydrate-containing dendrimers. *Chem. Eur. J.* 1996, 2, 1115-1128.

<sup>256</sup> Ashton, P. R.; Boyd, S. E.; Brown, C. L.; Jayaraman, N.; Stoddart, J. F. A convergent synthesis of a carbohydrate-containing dendrimer. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, 36, 732-735.



**Figure 49.** Représentation de deux glycodendrimères glucosylés proposés par le groupe de Stoddart.

Enfin, d'autres architectures multivalentes plus exotiques ont été utilisées pour la construction de structures glycodendritiques incluant les dérivés carbosilanes, surmontées de motifs xylosides (**I-95**)<sup>257</sup> ou d'unités P<sup>K</sup> (**I-96**) ou galabiosides (**I-97**) ayant des activités intéressantes contre les toxines Shiga,<sup>258,259</sup> des scaffolds aromatiques de type polyphénylènes (**I-98**)<sup>260</sup> ou phosphorés (**I-99**) (Figs. 50 et 51).<sup>261</sup>

<sup>257</sup> Camponovo, J.; Hadad, C.; Ruiz, J.; Cloutet, E.; Gatard, S.; Muzart, J.; Bouquillon, S.; Astruc, D. "Click" glycodendrimers containing 27, 81, and 243 modified xylopyranoside termini. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5071-5074.

<sup>258</sup> Nishikawa, K.; Matsuoka, K.; Watanabe, M.; Igai, K.; Hino, K.; Hatano, K.; Yamada, A.; Abe, N.; Terunuma, D.; Kuzuhara, H.; Natori, Y. Identification of the optimal structure required for a Shiga Toxin neutralizer with oriented carbohydrates to function in the circulation. *J. Infect. Dis.* **2005**, *191*, 2097-2106.

<sup>259</sup> Yamada, A.; Hatano, K.; Matsuoka, K.; Koyama, T.; Esumi, Y.; Koshino, H.; Hino, K.; Nishikawa, K.; Natori, Y.; Terunuma, D. Syntheses and Vero toxin-binding activities of carbosilane. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5074-5083.

<sup>260</sup> Sakamoto J.; Müllen, K. Sugars within a hydrophobic scaffold: glycodendrimers from polyphenylenes. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4277-4280.

<sup>261</sup> Hadad, C.; Majoral, J.-P.; Muzart, J.; Caminade, A.-M.; Bouquillon, S. First phosphorous D-xylose-derived glycodendrimers. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1902-1905.

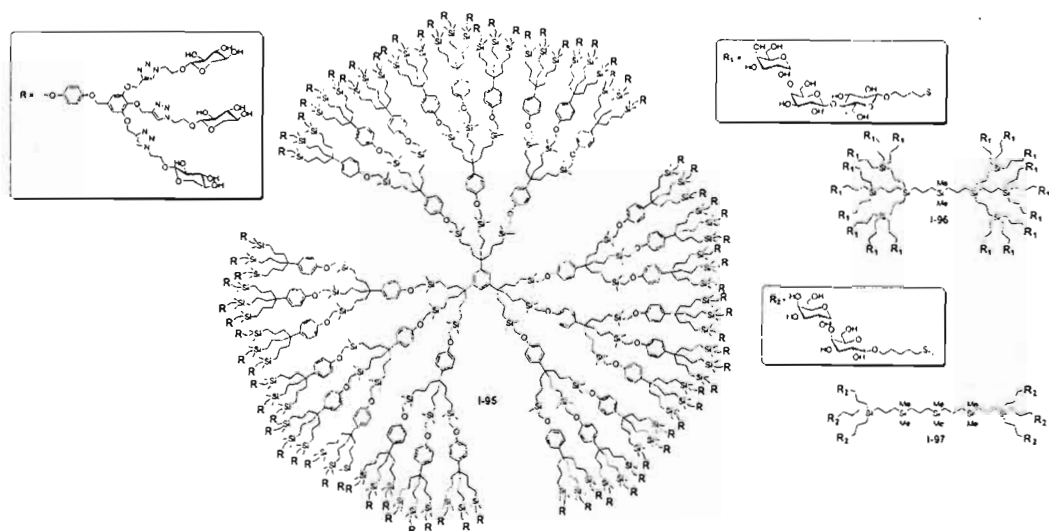


Figure 50. Exemples choisis de glycodendimères de type carboxilane.

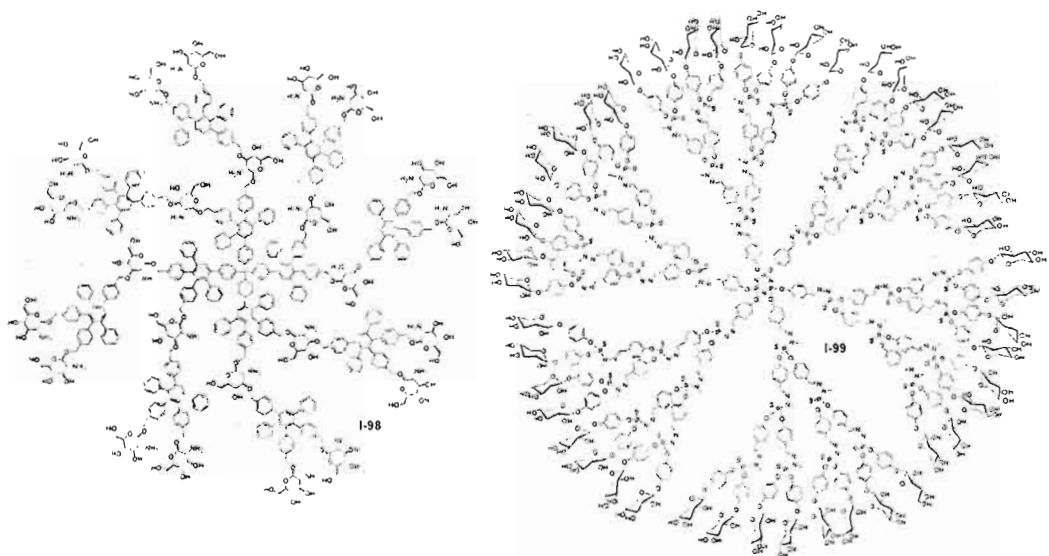


Figure 51. Exemples choisis de la littérature de glycodendrimères polyphénylène (I-98) et phosphorés (I-99).



## 1.7 DESCRIPTION DE LA CIBLE THÉRAPEUTIQUE: LA BACTÉRIE *E. coli* UROPATHOGÉNIQUE

### 1.7.1. Introduction à la bactérie *Escherichia coli*

Les bactéries sont apparues sur la terre il y a 3,8 milliards d'années et demeurent toujours bien présentes parmi nous. Elles peuplent tous les écosystèmes planétaires, que ce soit dans l'eau douce ou salée, dans le sol ou dans l'air. L'être humain est en permanence en étroite relation avec ces microorganismes car chacun d'entre nous hébergerait 10 000 à 100 000 milliards de bactéries, appartenant à plus de 400 espèces. De façon surprenante, le corps humain contiendrait dix fois plus de cellules bactériennes que de cellules humaines. Elles sont présentes sur notre peau, dans nos muqueuses et dans notre intestin. Bien que la très grande majorité de ces bactéries nous soient bénéfiques, il existe également des bactéries pathogènes, responsables de maladies infectieuses potentiellement léthales. Dans leur environnement naturel, les bactéries sont constamment soumises à une alternance de conditions favorables à leur croissance et de conditions de stress ou de carences nutritionnelles auxquelles elles doivent rapidement s'adapter pour survivre. Phénotypiquement, cette adaptation peut se manifester de diverses façons. Certaines bactéries ont ainsi développé des processus de différenciation morphologique, résultant en des formes cellulaires non répliquatives et adaptées aux conditions environnementales rigoureuses. Les bactéries sont donc capables de détecter les fluctuations de l'environnement et d'y répondre de façon adaptée par des changements phénotypiques importants et variés, qui résultent de modifications de l'expression globale de leurs gènes.<sup>262,263</sup>

La bactérie *Escherichia coli* est devenue un organisme modèle pour l'étude de bon nombre de processus essentiels à la vie, en partie dû à son taux de croissance rapide et ses besoins nutritionnels simples. À l'heure actuelle, nous connaissons plus sur *E. coli* que tout autre organisme vivant. Ce bacille Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et au genre *Escherichia* est retrouvé dans la microflore intestinale de tous

<sup>262</sup> Todar's Online Textbook of Bacteriology. Site internet: <http://www.textbookofbacteriology.net>

<sup>263</sup> McAdams, H. H., Srinivasan, B.; Arkin A. P. The evolution of genetic regulatory systems in bacteria. *Nature Rev. Genet.* **2004**, *5*, 1-9.

les animaux à sang chaud, incluant les humains (Figure 52). Cependant, depuis sa découverte par Thomas Escherich en 1855, des centaines de souches d'*E. coli* pathogènes ont acquis, dans l'évolution, une variété de traits de virulence leur permettant de manifester des symptômes pathologiques extra-intestinaux: méningites, infections urinaires ou intestinales. De plus, la découverte des antibiotiques pour lutter contre les bactéries pathogènes a constitué une révolution. En contrepartie, l'usage non raisonné des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire a provoqué la sélection de souches bactériennes résistantes. L'ampleur du problème est telle que dès la sortie d'un nouvel antibiotique, ses jours sont comptés.<sup>264,265</sup>

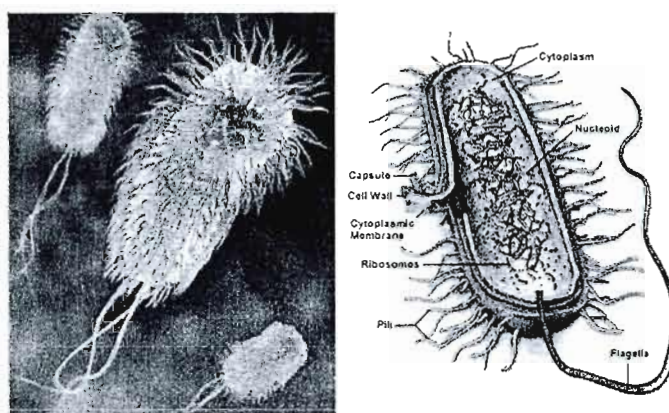


Figure 52. Présentation de la bactérie *E. coli* et sa structure générale.

En plus de cibler les mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques, il serait intéressant de trouver une nouvelle approche d'éradication de l'infection bactérienne. Pour éviter les phénomènes de résistance, les chercheurs se sont donc tournés vers une autre classe de médicament, les inhibiteurs. Les inhibiteurs ont pour effet de ralentir ou de stopper la formation d'un complexe substrat-protéine, en empêchant le substrat de se fixer sur le site de reconnaissance. Par exemple, l'étape de colonisation bactérienne implique la capacité de microorganismes impliqués à adhérer à la surface de la muqueuse intestinale. Virtuellement toutes les souches d'entérobactéries pathogènes ou non possèdent des systèmes d'adhésion, et

<sup>264</sup> Sussman, M. *Escherichia coli*-Mechanisms of virulence. Ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1997, 639 pp.

<sup>265</sup> Davies, J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 1994, 264, 375-382.

il est bien établi que ce pouvoir d'adhésion est la caractéristique la plus conservée chez les *E. coli* pathogènes. Par le biais d'interactions multivalentes sucre-protéine évoquées plus haut, la bactérie adhère à la surface de la cellule hôte. Il s'agit de l'étape cruciale pour mener à l'infection.

Plus particulièrement, les structures responsables de l'adhésion aux cellules épithéliales par *E. coli* sont les adhésines FimH retrouvées aux extrémités des *fimbriae* (ou pili). Exposées à la surface des bactéries, ces adhésines interagissent avec des glycanes de type mannoside de la membrane des cellules cibles. Contrecarrer cette adhésion par l'inhibition du premier contact entre la bactérie et les cellules constituerait une alternative thérapeutique de choix.<sup>264</sup>

### 1.7.2. Les bactéries *E. coli* uropathogènes (UPEC)

Les infections de tractus urinaire (ITU) touchent une grande proportion de la population mondiale et comptent parmi les maladies infectieuses les plus courantes. Une estimation révèle que presque une femme sur deux souffrira de cette pathologie au moins une fois dans sa vie et qu'un bon nombre des individus touchés feront face à de multiples infections récurrentes.<sup>266,267</sup> Normalement, l'urine constitue un liquide stérile, généralement libre de virus, de bactéries et de champignons mais contenant des fluides, des sels et des déchets métaboliques. La plupart des infections résultent d'un seul type de bactéries de type *E. coli*, qui vit normalement dans le système digestif. Une infection urinaire se produit lorsque les bactéries, généralement présentes dans le tube digestif, s'accrochent à l'ouverture de l'urètre et commencent à se multiplier. L'infection du tractus urinaire (ITU) représente une infection commune qui se produit généralement lorsque les bactéries *E. coli* uropathogènes (UPEC) entrent par l'ouverture de l'urètre et se multiplient dans les voies urinaires. L'appareil urinaire comprend les reins, les tubes qui transportent l'urine des reins à la vessie (uretère), la vessie et le tube qui transporte l'urine de la vessie à urètre. Dans de nombreux cas, les

<sup>266</sup> Bouckaert, J.; Berglund, J.; Schembri, M.; De Genst, E.; Cools, L.; Wuhler, M.; Hung, C. S.; Pinkner, J.; Slattegard, R.; Zaviyalov, A.; Choudhary, D.; Langerman, S.; Huitgren, S. J.; Wyns, L.; Klemm, P.; Oscarson, S.; Knight, S. D.; De Greve, H. Receptor binding studies disclose a novel class of high-affinity inhibitors of the *Escherichia coli* FimH adhesion. *Mol. Microbiol.* **2005**, *55*, 441-455.

<sup>267</sup> Foxman, B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am. J. Med.* **2002**, *113*, 5S-13S.

bactéries s'attachent tout d'abord à l'urètre. Lorsque les bactéries se multiplient, une infection peut prendre place et produire une très grande quantité de bactéries dans l'urine coïncidant avec un processus inflammatoire causant une bactériurie. Une infection limitée à l'urètre est appelée urétrite. Si les bactéries se déplacent vers la vessie et se multiplient, une inflammation aiguë ou chronique de la vessie, appelée cystite, en résulte. Si l'infection n'est pas traitée dans de brefs délais, les bactéries peuvent ensuite voyager plus loin jusqu'à l'uretère pour se multiplier et infecter les reins et ainsi causer des pyélonéphrites.<sup>268</sup> Les symptômes associés à ces conditions incluent de douloureux et urgents besoins d'uriner, des douleurs dans le bas du dos, et des hématuries (émissions par l'urètre de sang mélangé à l'urine). Dans certains cas, les ITU peuvent causer la septicémie (accident grave causé par les bactéries et les toxines se retrouvant dans le sang) et s'avérer fatales.<sup>269,270</sup>

Toutefois, contrairement aux résidents de souche intestinale normale, les UPEC codent pour un certain nombre de facteurs de virulence qui leur permettent de coloniser les voies urinaires et persister face aux défenses de l'hôte. Les facteurs de virulence associés aux UPEC incluent des toxines telles que l'hémolysine, des facteurs nécrotiques cytotoxiques ainsi qu'un certain nombre d'organelles d'adhésion. La possibilité d'adhérer aux cellules épithéliales de l'hôte au sein de l'appareil urinaire est probablement le plus important facteur déterminant de la pathogénicité. Le pili de type 1 uropathogène de *E. coli* joue un rôle crucial au cours des infections en lui permettant d'envahir les tissus hôtes par des phénomènes d'adhésion. La liaison des UPEC aux cellules hôtes induit une cascade d'événements et de signalisation qui, finalement, conduit à l'internalisation bactérienne et la formation de communautés bactériennes intracellulaires sous forme de biofilm.<sup>271</sup>

Le développement d'une ITU causée par UPEC consiste en une cascade pathogène en plusieurs étapes (Fig. 53) qui débute par l'adhésion (étape 1) et l'infection (étape 2)

<sup>268</sup> Anderson, G. G.; Martin, S. M.; Hultgren, S. J. Host subversion by formation of intracellular bacterial communities in the urinary tract. *Microbes Infect.* **2004**, *6*, 1094-1101.

<sup>269</sup> Stamm, W. E., Hooton T. M. Management of urinary tract infections in adults. *N. Engl. J. Med.* **1993**, *329*, 1328-1334.

<sup>270</sup> Shortliffe, L. M.; McCue, J. D. Urinary tract infection at the age extremes: pediatrics and geriatrics. *Am. J. Med.* **2002**, *113* (Suppl. 1A), 55S-66S.

<sup>271</sup> Schilling, J. D.; Mulvey, M. A.; Hultgren, S. J. Dynamic interactions between host and pathogen during acute urinary tract infections. *Urology* **2001**, *57*, 56-61.

bactérienne des cellules épithéliales du tractus urinaire.<sup>272</sup> Ce procédé invasif est caractérisé par l'engouffrement des bactéries adhérentes par la cellule épithéliale à la manière d'une fermeture éclair. Une fois internalisées, les bactéries UPEC se reproduisent et forment de véritables colonies intracellulaires (étape 3) qui, en retour, stimulent la réponse inflammatoire chez l'hôte. L'exfoliation des cellules uroépithéliales superficielles infectées en résulte (étape 4). Cependant les UPEC qui survivent prennent avantage de ce processus de défense pour aller se loger sous les tissus sous-jacents sous leur forme latente et ainsi créer des réservoirs bactériens (étape 5). La bactérie est maintenant protégée du système immunitaire et des antibiotiques et peut rester latente pour des mois avant de causer une infection récurrente (6).

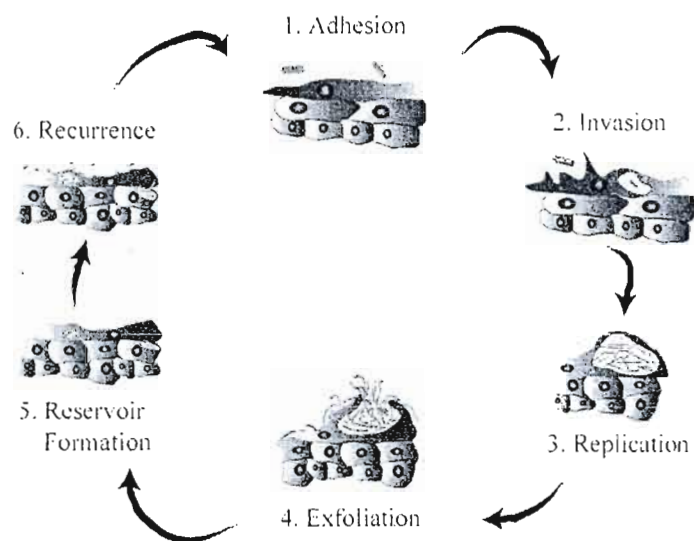


Figure 53. Cycle de récurrence des souches UPEC.<sup>272</sup>

### 1.7.3. Les parois du tractus urinaire et rôle des cellules uroépithéliales

Afin de préserver l'intégrité de l'uroépithélium durant la contraction ou la dilatation de la vessie, celle-ci est munie d'un épithélium de transition spécial qui empêche les fuites ou

<sup>272</sup> Larsson, A. *Antiadhesive Agents Targeting Uropathogenic Escherichia Coli: Multivariate Studies of Protein-Protein and Protein-Carbohydrate Interactions*, 2004, Umea University, VMC-KBC, Sweden ISBN: 91-7305-731-2.

la diffusion vers l'organisme des molécules toxiques présentes dans l'urine. L'épithélium, séparé du tissu musculaire par la lamina propria, est divisé en trois couches: la couche basale, la couche intermédiaire et la couche superficielle. Les cellules intermédiaires sont formées par extension des cellules basales vers la lumière. C'est la fusion des cellules intermédiaires qui aboutit à la formation des cellules superficielles. Ces dernières peuvent s'étaler sur la couche intermédiaire avec un diamètre pouvant atteindre 100  $\mu\text{m}$  ou plus, ce qui leur a valu le nom de cellules en parapluie.<sup>268</sup> Les cellules superficielles en parapluie se différencient en exprimant sur leur face luminale des protéines appelées uroplakines qui sont responsables de la préservation de l'intégrité membranaire. Les différentes uroplakines (UPIa, UPIb, UPII et UPIII) s'assemblent pour former des structures cristallines hexamériques, organisées en plaques visibles par microscopie électronique, mieux connues sous le nom de plaques urothéliales ou d'unités membranaires asymétriques (UMA). Ces plaques ont une forme étoilée de 16 nm sur la surface apicale alors que sur la surface cytoplasmique elles présentent une forme hexagonale de 14 nm (Fig. 54).<sup>273</sup> Elles assurent la solidité et l'imperméabilité de la paroi de la vessie lorsqu'elle est soumise à des variations de force telles que les processus de dilatation. De plus, les cellules superficielles contiennent des vésicules membranaires fusiformes enrobées d'uroplakines qui permettent l'expansion rapide de la vessie en augmentant sa surface par exocytose tout en préservant son imperméabilité.<sup>274</sup>

---

<sup>273</sup> Min, G.; Stolz, M.; Zhou, G.; Liang, F.; Sebbel, P.; Stoffler, D.; Glockshuber, R.; Sun, T. T.; Aebi, U.; Kong, X. P. Localization of uroplakin Ia, the urothelial receptor for bacterial adhesin FimH, on the six inner domains of the 16 nm urothelial plaque particle. *J. Mol. Biol.* **2002**, *317*, 697-706.

<sup>274</sup> Soto, G. E.; Hultgren J. C. Bacterial adhesions: common themes and variations in architecture and assembly. *J. Bacteriol.* **1999**, *181*, 1059-1071.

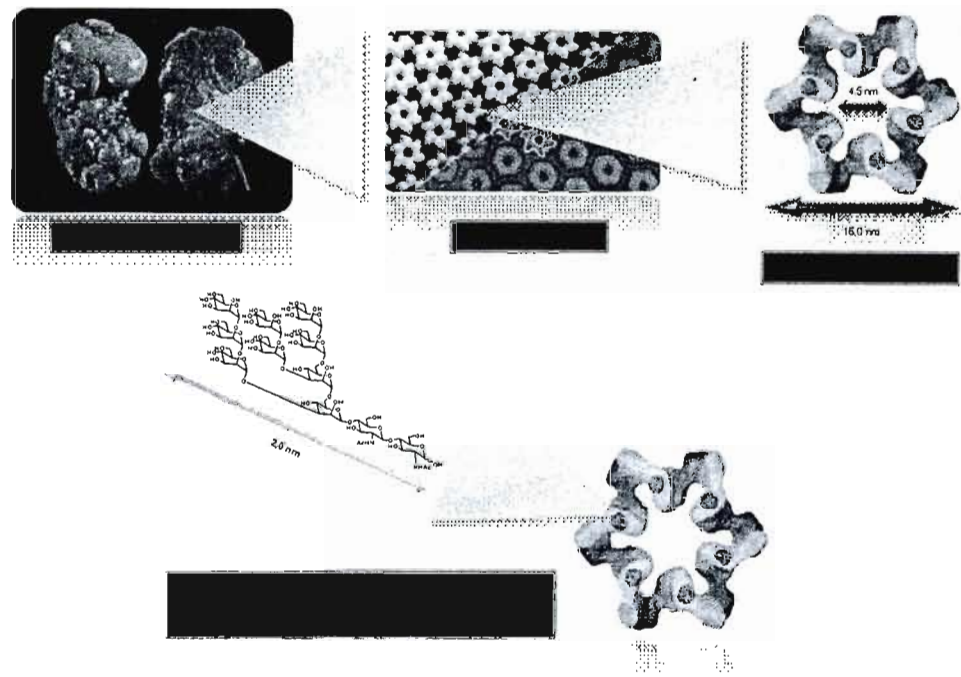


Figure 54. Visualisation de la surface urothéliale du rein.

La liaison de la bactérie *E. coli* uropathogène à la surface urothéliale est un événement initial critique pour l'établissement d'infection urinaire, car elle empêche la suppression des bactéries par miction et déclenche l'invasion bactérienne. En 2001, le groupe de Kong a mis en évidence le rôle de l'uroplakine Ia dans l'adhésion des UPEC via l'adhésine FimH située à la pointe de la fimbriae de type I de la bactérie chez la souris.<sup>275</sup> Ce groupe rapporte que la sous-unité protéique du pilus de type I, responsable de l'adhésion bactérienne (appelée sous-unité FimH), a la capacité de reconnaître et de se lier avec les résidus mannose présents en haute densité sur l'uroplakine Ia et rattachés à l'asparagine 169. Cette découverte montre que les bactéries UPEC tirent profit de la biologie des parois urinaires pour y adhérer et infecter leur hôte.

<sup>275</sup> Zhou, G.; Mo, W.-J.; Sebbel, P.; Min, G.; Neubert, T. A.; Glockshuber, R.; Wu, X.-R.; Sun, T.-T.; Kong, X.-P. Uroplakin Ia is the urothelial receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: evidence from *in vitro* FimH binding. *J. Cell Sci.* 2001, *114*, 4095-4103.

#### 1.7.4. Rôle des pili de type 1 comme organelles d'adhésion

L'adhésion des souches d'UPEC aux cellules uroépithéliales se fait par les pili fimbriales de type 1 exprimés sur la membrane de ces bactéries (Fig. 55).<sup>276</sup>

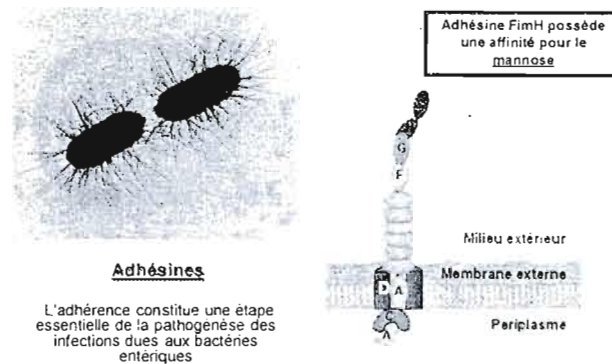


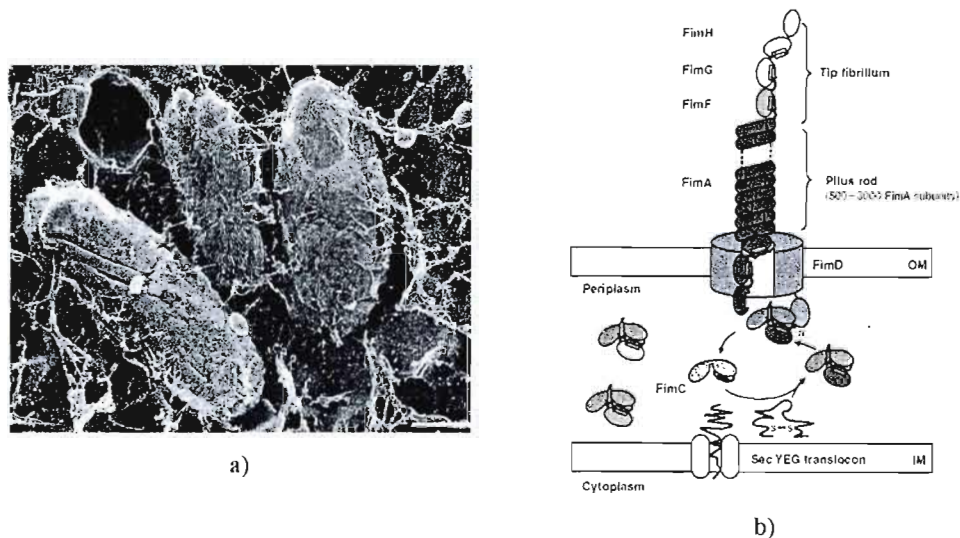
Figure 55. Représentation de la bacteria *Escherichia coli* et de son adhésine FimH à l'extrémité du pilus.<sup>276</sup>

Ces organelles d'adhésion sont de véritables assemblages filamenteux de sous unités protéiques, morphologiquement et fonctionnellement distinctes des flagelles, qui sont plus épaisses, plus longues, et responsables de la motilité (Fig. 56a)). Conformément à l'analyse structurale de Brinton, les fimbriales de type 1 ont un diamètre de 7 nm, une longueur de 0,5 à 2 µm, et un trou axial central de 0,2 à 0,25-nm de diamètre. Ils sont composés de sous-unités polymérisées répétées dans une hélice, avec 3 et 1/8 de sous-unités par tour. L'assemblage du pilus se fait selon une séquence bien déterminée qui a été élucidée et requiert l'expression d'une protéine chaperonne. Cette voie qui sert d'intermédiaire de translocation à la surface de la cellule fournit les sous-unités requises pour une plate-forme d'assemblage sur la membrane externe. La tige hélicoïdale est constituée d'une répétition de sous-unités FimA, jointes à une structure de 3 nm à l'extrémité distale du *fibrillum* contenant deux protéines: FimF, FimG et

<sup>276</sup> Thanassi, D. G.; Hultgren, S. J. Assembly of complex organelles: pilus biogenesis in gram-negative bacteria as a model system. *Methods* 2000, 20, 111-126.



de l'adhésine FimH (la sous-unité responsable de la reconnaissance moléculaire des glycanes de type mannosyle) (Fig. 56b)).<sup>277,278</sup>



**Figure 56.** a) Photo prise au microscope haute résolution de l'attachement des pili de type I de la bactérie *E. coli* sur les cellules urothéliales<sup>279</sup>; b) Assemblage du pilus fimbriaire de type I via la protéine chaperonne et la protéine porteuse.<sup>278</sup>

#### 1.7.5. Structure cristalline de la FimH et types d'interactions avec le D-mannose

Historiquement, le complexe FimH-FimC a d'abord été cristallisé en présence de cyclohexylbutanoyl-*N*-hydroxyéthyl-D-glucamide en 1999.<sup>280</sup> C'est en 2002 que le groupe de

<sup>277</sup> Johnson, J. R. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.* **1991**, *4*, 80-128.

<sup>278</sup> Vestch, M.; Puorger, C.; Spirig, T.; Grauschopf, U.; Weber-Ban, E. U.; Glockshuber, R. Pilus chaperonnes represent a new type of protein-folding catalyst. *Nature* **2004**, *431*, 329-332.

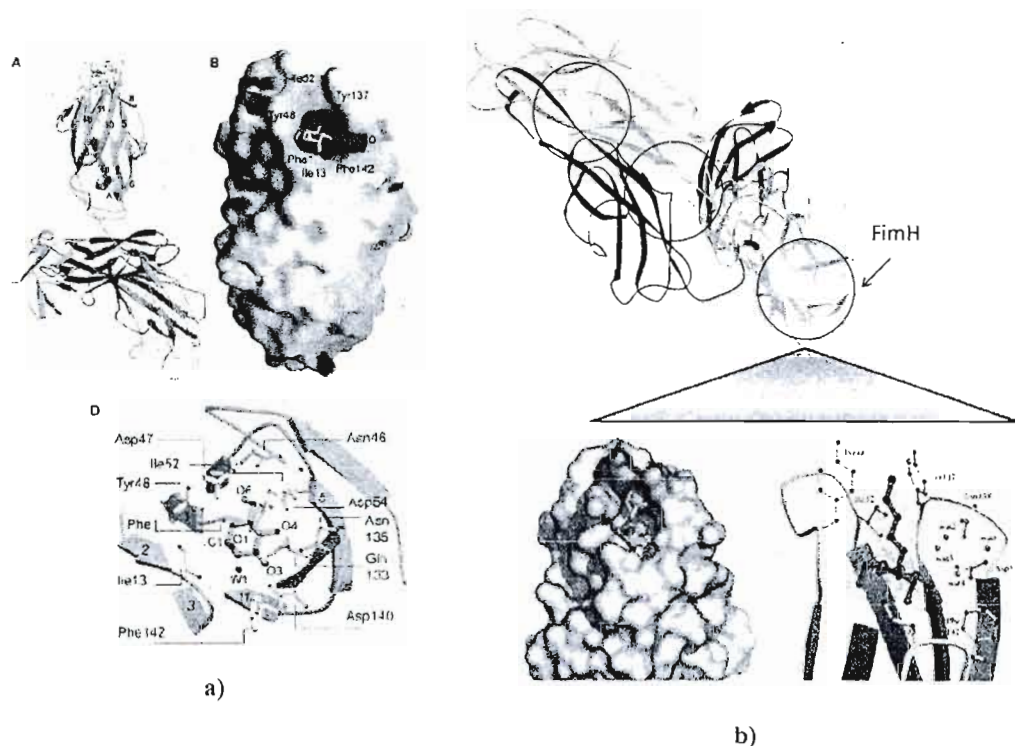
<sup>279</sup> Mulvey, M. A.; Schilling, J. D.; Martinez, J. J.; Hultgren, S. J. Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defences. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, *97*, 8829-8835.

<sup>280</sup> Choudhury, D.; Thompson, A.; Stojanoff, V.; Langemann, S.; Pinkner, J.; Hultgren, S. J.; Knight, S. D. X-ray structure of the FimC-FimH chaperone-adhesin complex from uropathogenic *Escherichia coli*. *Science* **1999**, *285*, 1061-1066.

Hultgren a réussi à cristalliser le complexe FimH-FimC en présence du  $\alpha$ -D-mannose.<sup>281</sup> Ainsi, la structure du site de liaison de la FimH en présence d'un ligand mannosidique a été élucidée et a permis de mieux comprendre la nature des interactions entre les résidus D-mannose du ligand naturel et la lectine FimH. Cette étude suggère également que les acides aminés du site de liaison sont hautement conservés chez les différentes souches d'UPEC. La structure cristalline démontre que tous les groupements hydroxyles du D-mannose excepté O1 interagissent avec les résidus Phe1, Asn46, Asp47, Asp54, Gln133, Asn135, Asp140 et Phe142 de FimH par des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes. Asp54 accepte des liaisons hydrogènes coopératives avec O4 et O6, alors que O6 accepte l'hydrogène du NH peptidique de Asp46 et du NH<sub>2</sub>-terminal de FimH. La fonction NH<sub>2</sub>-terminale est aussi donneur de ponts hydrogènes pour O2 et O5 du sucre. Gln133 (donneur d'hydrogène) et Asp140 (accepteur d'hydrogène) interagissent tous deux avec O3. Asn135 fait une liaison hydrogène bifurquée avec O3 et O4 (accepteurs d'hydrogène). Finalement, Phe142 forme une interaction hydrophobe avec la liaison C2-C3 du sucre, alors que Phe1 stabilise la pochette du site de liaison au D-mannose en effectuant un recouvrement de son noyau aromatique avec les chaînes latérales de Gln133 et de Phe144. La structure cristalline révéla également la présence d'une molécule d'eau conservée qui interagit avec O2 (Fig. 57a)).

---

<sup>281</sup> Hung, C. S.; Bouckaert, J.; Hung, D. L.; Pinkner, J.; Winberg, C.; Defusco, A.; Gale Auguste, C.; Strouse, R.; Langermann, S.; Waksman, G.; Hultgren, S. J. Structural basis of tropism of *Escherichia coli* to the bladder during urinary tract infection. *Mol. Microbiol.* **2002**, *44*, 903-915.



**Figure 57.** a) Structure cristalline du site de liaison (domaine adhésine) de FimH en présence d' $\alpha$ -D-mannose<sup>281</sup>; b) Structure cristalline du FimH de *E. coli* K12 incorporant l'inhibiteur butyl  $\alpha$ Man (PDB 1UWF).<sup>282</sup>

Bien que l'analyse cristalline du site de liaison du complexe FimH-FimC ait révélé la présence intéressante d'une couronne hydrophobe comprenant Ile13, Tyr48, Ile52 et Phe142, ce n'est qu'en 2005 que l'importance de ces résidus fut mise en évidence par le groupe de De Greve *via* l'obtention de la structure cristalline du domaine adhésine cloné de FimH, en présence du butyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside.<sup>266</sup> L'analyse révéla cette fois que les deux résidus tyrosine (Tyr48 et Tyr137), en plus des autres résidus formant la couronne hydrophobe, pouvaient facilement interagir avec un aglycone carboné par l'intermédiaire des forces de Van Der Waals impliquées. En constatant que le butyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside avait une affinité 15 fois plus élevée pour la lectine FimH que le D-mannose libre, le groupe de De

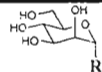











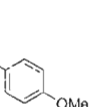
<sup>282</sup> Touaibia, M.; Roy, R. Glycodendrimers as anti-adhesion drugs against type 1 fimbriated *E. coli* uropathogenic infections. *Mini Rev. Med. Chem.* 2007, 12, 1270-1283.

Greve a par la suite décidé de déterminer les constantes de dissociation ( $K_d$ ) de différents mannosides et d'autres sucres.

### 1.7.6 Activité des inhibiteurs synthétiques de *E. coli* pathogène

L'étude des constantes de dissociation de différents ligands a permis de constater que la présence d'un aglycone hydrophobe sur le D-mannose permettait d'augmenter son affinité vis-à-vis de la lectine (Tableau I).<sup>266</sup>

**Tableau I.** Liste des inhibiteurs synthétiques mannosylés de *E. coli* pathogène contenant un aglycone aromatique

Ligand = 	$K_D$ (nM) SPR	$\Delta G^0$ SPR (Kcal.mol <sup>-1</sup> )	Affinité relative
R = OH	2300	-7.6	0.96
R = 	2200	-7.7	1.0
R = 	1200	-8.1	1.8
R = 	300	-8.9	7.3
R = 	151	-9.3	15
R = 	25	-10.4	88
R = 	10	-10.9	220
R = 	<b>5</b>	<b>-11.3</b>	<b>440</b>
R = 	22	-10.4	100
R = 	44	-10.0	50
R = 	20	-10.5	110
R = 	113 <sup>a</sup>	-9.5	19
R = 	55 <sup>a</sup>	-9.9	40
Uroplakine Ia	~ 0.1 ..		~ 23

<sup>a</sup> Résultats du groupe de recherche du Pr. Roy non publiés.

Ainsi, plus la chaîne alkyle aglyconique de l' $\alpha$ -D-mannoside est longue, plus les interactions hydrophobes qu'elle crée avec la couronne hydrophobe du site de liaison de la FimH sont importantes et plus les affinités sont fortes entre le sucre et la lectine. Cette tendance se confirme jusqu'à l'introduction d'une chaîne heptyle conduisant au meilleur

inhibiteur heptyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside possédant une affinité 440 fois plus élevée que la référence  $\alpha$ -MeMan et 20 fois supérieure au ligand naturel uroplakine Ia. En revanche, l'allongement de l'aglycone aliphatique par l'ajout d'un huitième carbone n'a plus aucune incidence positive sur l'affinité de l'inhibiteur.

Bien que l'heptyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside soit de loin le meilleur ligand pour FimH, le 4-nitrophényl  $\alpha$ -D-mannopyranoside ainsi que le 4-méthylumbélliféryl  $\alpha$ -D-mannopyranoside présentent tous deux des affinités très intéressantes. Ces résultats concordent avec les premières observations selon lesquelles les mannosides possédant un aglycone aromatique constituent des inhibiteurs particulièrement puissants de l'adhésion bactérienne *via* la FimH par l'intermédiaire du phénomène « d'association au sous-site assisté par l'aglycone »<sup>17,283</sup> Ces résultats expliquent par exemple les affinités du *o*-chloro-*p*-nitrophenyl  $\alpha$ -D-mannoside envers d'autres souches de *E. coli* pathogènes (346 et 128) observées il y a de cela quelques dizaines d'années par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes avec le site de liaison de FimH.<sup>284</sup> En effet, cette molécule a montré une inhibition d'agrégation de mycètes par la bactérie avec une inhibition relative 470 fois meilleure que le composé de référence  $\alpha$ -MeMan.

## 1.8 OBJECTIFS ET STRATÉGIE

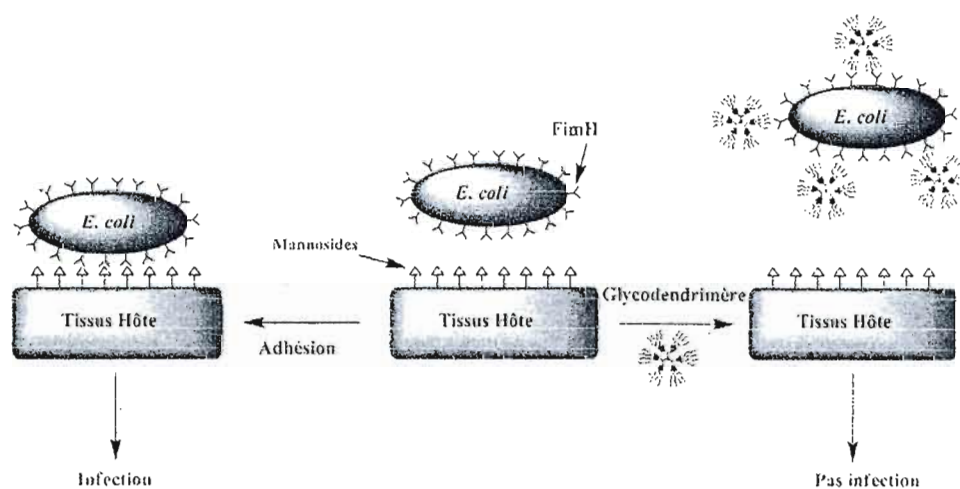
Bien que les traitements actuels permettent, dans la majorité des cas, la guérison d'infections provoquées par *E. coli* pathogène, les phénomènes de multirésistance aux antibiotiques, liés à leur usage non approprié ou non médical, constituent un réel problème de santé publique dans le monde. En effet, on estime qu'à ce jour, 20% des souches d'UPEC sont considérées comme résistantes aux antibiotiques classiques tels que l'ampicilline, la céphalotine, les sulfonamides et le triméthoprime-sulfaméthoxazole.<sup>272,285</sup> Ainsi, ces faits

<sup>283</sup> Nagahori, N.; Lee, R. T.; Nishimura, S.-I.; Pagé, D.; Roy, R.; Lee, Y. C. Inhibition of adhesion of type 1 fimbriated *Escherichia coli* to highly mannosylated ligands. *ChemBioChem* **2002**, *3*, 836-844.

<sup>284</sup> Firon, N.; Ashkenazie, S.; Mirelman, D.; Ofek, I.; Sharon, N. Aromatic  $\alpha$ -glycosides of mannose are powerful inhibitors of the adherence of type 1 fimbriated *Escherichia coli* to yeast and intestinal epithelial cells. *Infect. Immun.* **1987**, *55*, 472-476.

<sup>285</sup> Stamm, W. E. Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infections. *Am. J. Med.* **2002**, *113*, 1-4.

avérés stimulent l'utilisation de stratégies thérapeutiques alternatives basées sur l'intervention à un stade précoce en inhibant l'adhésion bactérienne. À la lumière des observations structurales et synthétiques concernant les inhibiteurs mannosylés connus de la littérature, l'objectif principal de notre travail de maîtrise a porté sur l'élaboration de structures multivalentes de type glycoclusters et glycodendrimères comportant des unités glucidiques fonctionnalisées en périphérie. Idéalement, ces macrostructures représenteraient de véritables agents thérapeutiques anti-infectieux agissant comme des leurres en proposant aux bactéries une surface mannosylée synthétique mimant fidèlement la surface des tissus-hôtes. Leur mode d'action est résumé à la figure 58.



**Figure 58.** Représentation schématique de l'action de structures mannosylées multivalentes agissant comme inhibiteurs potentiels de l'adhérence de *E. coli* pathogène aux cellules hôtes.

Ainsi, les chapitres suivants seront consacrés à la description de la synthèse d'architectures mannosylées multivalentes monodisperses *via* l'utilisation de différents éléments permettant une croissance dendritique contrôlée. Leur efficacité sera de même abordée dans le dernier chapitre au moyen d'investigations biologiques effectuées par nos soins ou avec l'aide de collaborateurs.

## CHAPITRE II

### SYNTHÈSE DE GLYCOCLUSTERS MANNOSYLÉS À PARTIR DU PENTAÉRYTHRITOL

#### 2.1 INTRODUCTION

Avant d'aborder l'aspect purement synthétique de notre travail concernant l'élaboration de clusters mannosylés construits autour des dérivés fonctionnalisés du pentaérythritol, nous allons survoler quelques notions de base dans la chimie des hydrates de carbones qui représentent un aspect important pour la fonctionnalisation de nos macromolécules. En effet, il est nécessaire de considérer plusieurs notions primordiales telles que les effets anomériques et anchimériques qui servent à expliquer ou prévoir la configuration préférentielle de la position anomérique après une réaction de glycosidation ou de glycosylation. Par la suite, nous allons explorer en détail la réaction de «chimie click» déjà abordée dans le premier chapitre, ainsi que celle de diazotransfert en décrivant leur mécanisme et les paramètres contrôlant ces réactions. Ces deux réactions sont à la base de la fonctionnalisation terminale de nos molécules. Finalement, la description de la synthèse des dérivés mannosylés fonctionnalisés utilisés durant ce travail et celle de l'élaboration des architectures multivalentes à base de pentaérythritol constitueront la suite de ce chapitre.

#### 2.2 CONCEPTS DE LA CHIMIE DES MANNOSIDES

Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'effet anomérique et l'effet anchimérique jouent un rôle primordial dans la configuration préférentielle de la position anomérique des glucides. Une glycosidation consiste en l'installation d'un aglycone autre qu'un hydrate de carbone sur la position anomérique, alors que la réaction permettant la jonction entre deux unités saccharidiques est qualifiée de glycosylation.

### 2.2.1. L'effet anomérique

L'effet anomérique favorise la configuration  $\alpha$  (axiale) d'un substituant électronégatif au centre anomérique. Cet effet peut s'expliquer par la rétro-donation du doublet libre de l'oxygène endocyclique dans l'orbitale  $\sigma^*$  antiliante du lien C-O en anomérique, ce qui contribue à stabiliser la configuration  $\alpha$  du glycoside. Les interactions dipôle-dipôle des liaisons C-O et des doublets non-liants de l'oxygène endocyclique doivent être également considérées. Chez l'anomère  $\beta$  (configuration équatoriale), les dipôles des acétals (C-O) sont pratiquement parallèles, résultant en une répulsion, tandis que ces dipôles sont orientés dans des directions opposées chez l'anomère  $\alpha$ . Ainsi, comme indiqué dans la Figure 59, cet effet établit une influence sur la configuration 1,2 soit *trans*, soit *cis*. D'une façon générale, l'effet anomérique favorise généralement la synthèse du sucre de type  $\alpha$ -D-glycosylé. Ce phénomène est toutefois compensé par le résultat de l'effet anchimérique qui entre en compétition.<sup>286</sup>

	Type 1,2-trans		Type 1,2-cis	
Effet anomérique	+	-	+	-

Figure 59. Influence de l'effet anomérique sur différents types de glycosides.

<sup>286</sup> Boons, G.-J. Mono- and oligosaccharide: structure, configuration and conformation. *Carbohydr. Chem.* 1998, London (UK): Blackie Academic & Professional, 1-20.



### 2.2.2. L'effet anchimérique

L'assistance anchimérique ou participation anchimérique indiquée dans le schéma 8 fait intervenir un groupement fonctionnel de type « participant » sur la position 2. Ainsi, après activation au moyen d'acide de Lewis de façon intramoléculaire, le doublet libre de la fonction acétate de la position 2 assiste à la position anomérique lors du passage par un état de transition de type oxonium pour former un oxocarbénium. En conséquence, l'acétoxy-carbénium est alors consommé par une attaque nucléophile lors de réactions de glycosidation ou de glycosylation. Dans le cas du D-mannopyranoside, en raison de l'encombrement stérique généré sur la face  $\beta$ , cette réaction de substitution nucléophile ne pourra se faire que par la face  $\alpha$  pour conduire aux composés 1,2-*trans*-glycosides.<sup>287,288</sup>

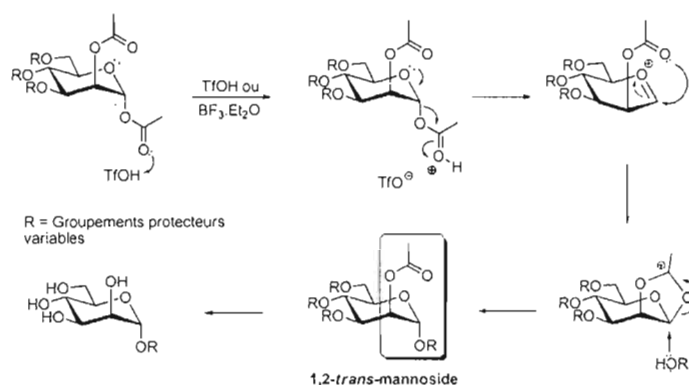


Schéma 8. Effet anchimérique en série D-mannoside lors de la glycosylation.

Dans le cas précis de la série D-mannoside, les deux effets présentés favorisent l'obtention préférentielle de dérivés  $\alpha$ . Ce sera donc la configuration privilégiée de tous nos dérivés mannosides décrits dans ce travail. Du reste, les  $\beta$ -mannosides sont reconnus pour être difficilement accessibles par voie de synthèse.

<sup>287</sup> Veeneman, G. H. Chemical synthesis of *O*-glycosides. *Carbohydr Chem.*, 1998. London (UK); Blackie Academic & Professional, 98-177.

<sup>288</sup> Wulff, G.; Rohle, G. Results and problems of *O*-glycoside synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1974, 13, 157-170.

## 2.3 RÉACTION DE « CHIMIE CLICK » ET DE DIAZOTRANSFERT.

### 2.3.1. La « chimie click » ou CuAAC

La chimie click constitue l'un des modes de couplage les plus utilisés ces dernières années pour l'introduction efficace d'hydrates de carbone fonctionnalisés sur les plateformes multivalentes complémentaires. Ce type de réaction, encore appelé CuAAC pour « *Cu-catalyzed azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition* » représente une version catalysée de la cycloaddition de Huisgen faisant intervenir un dérivé azoture et un composé possédant une fonction alcyne terminale. Cette réaction mise au point par Sharpless *et al.* au début des années 2000 présente des avantages du point de vue de sa mise en œuvre facile, de son efficacité et de la régiosélectivité qu'elle génère (Schéma 9).<sup>289,290</sup> Elle permet en effet d'obtenir exclusivement un cycle triazole 1,2,3-disubstitué en 1,4 avec de hauts rendements et dans des conditions douces, contrairement à la version de cycloaddition 1,3 dipolaire originale de Huisgen qui nécessitait un chauffage pendant de longues périodes, au détriment de la régiosélectivité. Un mélange de dérivés contenant une fonction triazole disubstituée en 1,4 et 1,5 était inexorablement obtenu.<sup>291</sup>

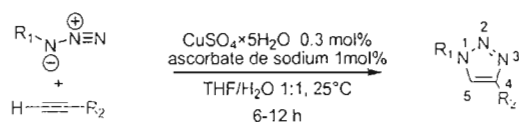


Schéma 9. Schéma général de la chimie click ou CuAAC.

L'équipe de Sharpless et d'autres groupes de recherche ont étudié en détail les conditions réactionnelles optimales de cette réaction. Dans notre cas, nous avons choisi celle qui préconise l'utilisation du  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  avec l'ascorbate de sodium dans un mélange

<sup>289</sup> 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**, *41*, 2596-2599.

<sup>290</sup> Meldal, M.; Tomøe, C. W. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952-3015.

<sup>291</sup> Huisgen, R.; Szeimies, G.; Moebius, L. 1,3-Dipolar cycloadditions. XXXII. Kinetics of the addition of organic azides to carbon-carbon multiple bonds. *Chem. Ber* **1967**, *100*, 2494-2507.

THF/H<sub>2</sub>O.<sup>292</sup> Dans ces conditions, le cuivre (II) provenant du CuSO<sub>4</sub> est réduit *in situ* en cuivre (0) par l'acide ascorbique et la réaction se poursuit avec la génération de l'espèce Cu (I) par comproportionnement du Cu(II) initial et du Cu(0) généré.<sup>293</sup> L'addition de base n'est pas requise dans ce cas précis, contrairement à l'utilisation directe de Cu(I) sous forme de CuI dans un milieu totalement organique avec l'addition d'une base de type amine tertiaire telle que DIPEA. Notons que ces dernières conditions ont été testées à titre comparatif lors de nos synthèses sans améliorations notables.

Le mécanisme réactionnel proposé par Sharpless est indiqué dans le schéma 10.<sup>289</sup> À défaut d'être une véritable cycloaddition 1,3-dipolaire, cette réaction non concertée met en jeu plusieurs intermédiaires réactionnels et complexes activés (Schéma 10).

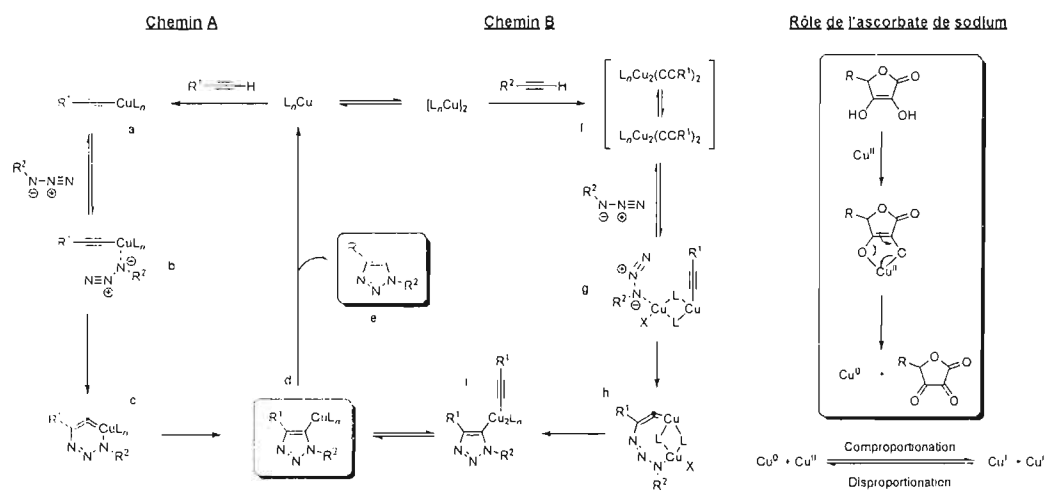


Schéma 10. Mécanisme proposé pour la réaction de CuAAC par les équipes de Sharpless (A) et de van Maarseveen (B).

Le chemin A préconise la complexation par le Cu(I) de l'alcyne terminal pour former un complexe acétylure. Ce complexe  $\pi$  formé est responsable du caractère acide et donc labile

<sup>292</sup> Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles: DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.

<sup>293</sup> Davies, M. B. Reactions of L-ascorbic acid with transition metal complexes. *Polyhedron* **1992**, *11*, 285-321.

du proton alcynique avec insertion de l'espèce métallique en réduisant le  $pK_a$  d'environ 10 unités (a). Ensuite, le côté riche en électrons de l'azoture (azote dit  $\alpha$ ) complexe avec le cuivre (b), pour former le complexe-clé déterminant dans la régiosélectivité de la réaction. Bien que la barrière énergétique soit élevée, la présence du cuivre dans le métallocycle à six membres (c) rend possible la formation de l'allène car l'orbitale 3d perpendiculaire au lien allène est utilisée pour la liaison cuivre/azote. Toutefois, ce dernier se contracte en un cycle à 5 membres (d) et l'élimination du cuivre permet la formation du triazole 1,4-disubstitué désiré (e) et la régénération du cuivre. Dans le chemin **B** proposé par van Maarseveen *et al.*, une autre famille de Cu(I) se formerait dans le mélange réactionnel sous forme de dicuprate complexé à deux acétylures terminaux (f) pour générer des complexes et des intermédiaires dimériques (g et h).<sup>294</sup> La contraction trans-annulaire du cycle par l'atome d'azote adjacent à  $R_2$  sur le carbone terminal de l'alcynure permet de former un cycle à 5 membres très rapidement (i) en équilibre avec l'intermédiaire (d).

### 2.3.2. La réaction de diazotransfert

Le diazotransfert est une réaction relativement peu employée qui permet de convertir une fonction amine en azoture (Schéma 11). Il s'agit d'une réaction compatible avec la plupart des groupements fonctionnels, donnant accès à de hauts rendements dans des conditions relativement douces avec rétention de configuration.

---

<sup>294</sup> Bock, V. D.; Hiemstra, H.; Van Maarseveen, J. H. Cu<sup>I</sup>-catalyzed alkyne-azide "Click" cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51-68.

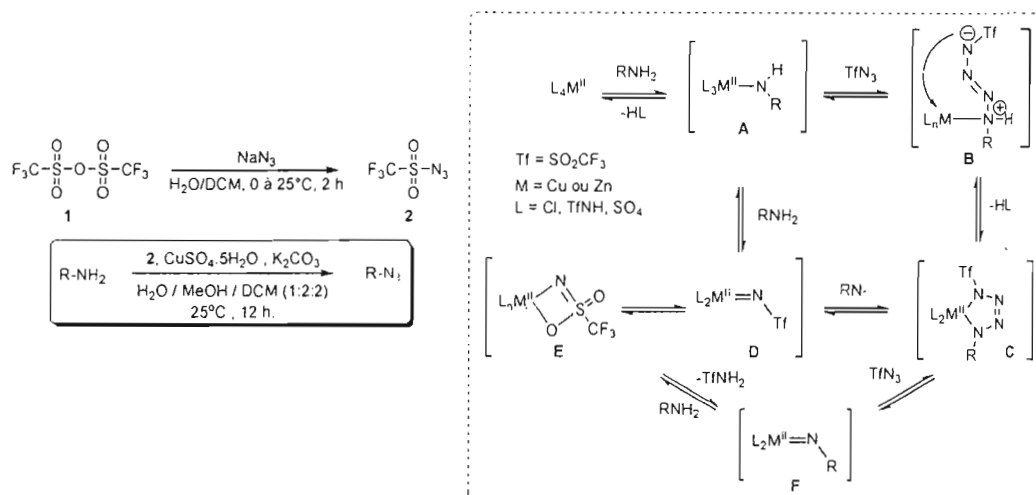


Schéma 11. Schéma général de la réaction de diazotransfert avec le mécanisme réactionnel catalysé par le cuivre.<sup>295</sup>

Cette réaction nécessite la synthèse préalable d'un réactif d'azote trifluoré dont la préparation a vu le jour en 1965 grâce au groupe de recherche de Ruff.<sup>296</sup> Depuis, plusieurs modifications ont été apportées à ce réactif et à la réaction de diazotransfert. Ce sont les travaux de Wong avec l'ajout de métal comme catalyseur qui en ont fait une procédure très efficace en comparaison avec les anciennes méthodes.<sup>297</sup> Ainsi, le nickel (II), le zinc (II), tout comme le cuivre (II) permettent de catalyser la réaction en agissant probablement comme un acide de Lewis pour activer le TfN<sub>3</sub>. Le mécanisme du diazotransfert proposé par Wong est illustré dans le schéma 11.<sup>295</sup> Premièrement, dans des conditions basiques, l'amine complexe le catalyseur métallique (A), provoquant la perte d'un ligand protoné. Une attaque nucléophile de l'amine complexée générée est initiée sur l'azote terminal de l'azote trifluoré qui est un puissant électrophile (B). Par la suite, une cyclisation engendrée par l'azote riche en électrons accompagnée de la perte d'un second ligand protoné conduit à l'intermédiaire métallacycle tétrazène mixte (C). L'azote désiré résulte d'une rétro-

<sup>295</sup> Nyffeler, P. T.; Liang, C.-H.; Koeller, K. M.; Wong, C.-H. The chemistry of amine-azide interconversion: catalytic diazotransfer and regioselective azide reduction. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10773-10778.

<sup>296</sup> Ruff, J. K. Sulfur oxyfluoride derivatives. II. *Inorg. Chem.* **1965**, *4*, 567-570.

<sup>297</sup> Alper, P. B.; Hung, S.-C.; Wong, C.-H. Metal catalyzed diazo transfer for the synthesis of azides from amines. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6029-6032.

cycloaddition [3+2] qui libère également un complexe triflylimido-métallique (**D**). Cet intermédiaire est en équilibre avec une structure similaire cyclisée à quatre membres (**E**). Une autre hypothèse de ce mécanisme implique l'intermédiaire triflylimido-métallique (**D**) qui en présence de l'amine initiale pourrait former le complexe imido métallique (**F**). Par la suite l'azoture triflique s'engagerait dans une cycloaddition dipolaire [3+2] pour alternativement former le complexe tétrazène (**C**).

Les conditions préconisées lors de notre travail ont impliqué l'utilisation du réactif azoture de triflate ( $\text{TfN}_3$ ) et du  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en tant que catalyseur. Le mélange de solvant est aussi un paramètre réactionnel important pour cette réaction car il doit permettre la solubilisation de tous les réactifs de façon homogène. De ce fait, plusieurs mélanges sont couramment utilisés comme l'acétonitrile, le toluène et le dichlorométhane accompagné d' $\text{H}_2\text{O}$  et de méthanol dans différentes proportions. Étant donné le fait que le  $\text{TfN}_3$  est synthétisé dans le DCM et conservé au frigo dans ce même solvant, un mélange  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{DCM}$  dans une proportion 1:2:2 a été utilisé pour les réactions de diazotransfert. La procédure décrite par Wong a été suivie pour former le  $\text{TfN}_3$  **2** dans le DCM/ $\text{H}_2\text{O}$  à partir de l'anhydride trifluorométhanesulfonique **1** et l'azoture de sodium (Schéma 11).<sup>297</sup> De façon similaire au protocole décrit dans la littérature, la concentration du  $\text{TfN}_3$  a été établie par spectroscopie IR à 0.37 M au moyen d'une courbe de calibration en comparant l'intensité de la bande avec une solution référence de  $\text{TsN}_3$  dont la concentration était connue.<sup>298</sup> Du fait de son caractère très réactif et explosif à l'état libre, ce réactif est conservé dans son solvant organique de réaction après un lavage basique et entreposé à 4°C. Sa caractérisation par spectroscopie infrarouge et spectrométrie de masse a tout de même pu être effectuée.

## 2.4 SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS MANNOSIDES

Le point de départ de l'élaboration des structures mannosylées multivalentes est la synthèse de trois dérivés glucidiques fonctionnalisés qui seront couplés sur les différents cœurs dendritiques présentés dans ce mémoire.

---

<sup>298</sup> Vasella, A.; Witzig, C.; Chiara, J.-L.; Martin-Lomas, M. Convenient synthesis of 2-azido-2-deoxy-aldoses by diazo transfert. *Helv. Chim. Acta.* 1991, 74, 2073-2077.

2.4.1 Synthèse des dérivés *O*-mannosides possédant une extrémité propargyle ou azoture.

La première étape consiste en la protection du D-mannose **3** sous forme d'acétate par acétylation en présence d'anhydride acétique, de pyridine et d'une quantité catalytique de DMAP. Après une procédure d'extraction et un lavage acide, le pentacétate **4** est obtenu avec un rendement quantitatif sous la forme d'une huile jaune qui est utilisée directement dans la prochaine étape dans une réaction de glycosidation.

Dans le but de fixer un aglycone alcynique en position anomérique, et selon l'expertise de notre laboratoire, nous avons solubilisé le composé **4** dans du DCM en présence de 1.9 équivalents de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  à  $0^\circ\text{C}$  pour l'activation de la position anomérique. À cette température, l'alcool propargylique commercial est alors additionné et laissé réagir à  $0^\circ\text{C}$  durant une période de 6 heures puis à  $24^\circ\text{C}$  pendant 24 heures. Le composé 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle **5** a ainsi été obtenu dans un rendement de 86% (Schéma 12).

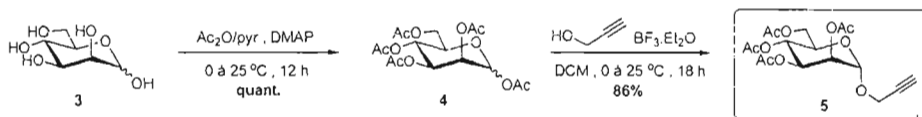


Schéma 12. Synthèse de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle **5**.

Une stratégie similaire a été utilisée pour la synthèse du dérivé 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 2-azidoéthyle **7** avec l'utilisation préliminaire du bromoéthanol pour conduire au dérivé bromé **6** avec un rendement de 75%. Une réaction de substitution nucléophile de type  $\text{S}_{\text{N}}2$  en présence d'azoture de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) dans un solvant polaire aprotique tel que le DMF et à  $80^\circ\text{C}$  a conduit quantitativement au mannoside azoture désiré **7**. Il est à noter qu'une séquence alternative basée sur l'introduction directe du 2-azidoéthanol, directement synthétisé à partir du bromoéthanol, dans les conditions classiques de glycosidation permet aussi d'obtenir le produit désiré avec des rendements similaires (Schéma 13).

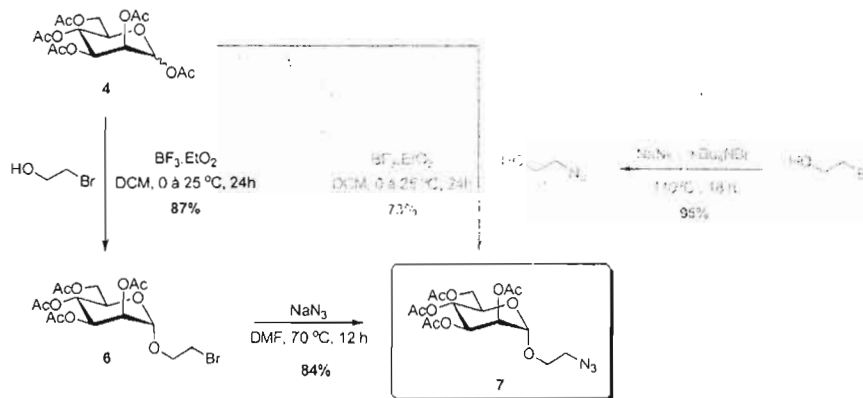


Schéma 13. Synthèse de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 2-azidoéthyle 7.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'obtention des dérivés mannosides dans leur configuration  $\alpha$  est favorisée par la conjugaison des effets anomériques et anchimériques. Pour apporter une preuve expérimentale supplémentaire, une expérience RMN du  $^{13}\text{C}$  non découplé de type HSQC (Heteronuclear Simple Quantum Correlation) a été effectuée sur le dérivé 5.<sup>299</sup> Dans la série D-mannose, la valeur de l'angle  $\varphi$ -dihèdre ( $\text{H}_1\text{-C}_1\text{-O}_1\text{-C}_x$  aglycone) se situe normalement entre 45 et 60° pour les deux configurations. Cette expérience RMN permet de déterminer la multiplicité entre  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  grâce au couplage  $^1J_{\text{C}_1\text{-H}_1}$ . Une valeur de la constante de couplage proche de 170 Hz est révélatrice d'une configuration  $\alpha$  alors qu'une valeur de 160 Hz correspond à une configuration  $\beta$ . La Figure 60 correspond au spectre RMN  $^{13}\text{C}$  non découplé de type HSQC du composé 5 et indique un doublet caractéristique du carbone anomérique avec une constante de couplage de 173.4 Hz, typique d'une configuration  $\alpha$ .

<sup>299</sup> Bock, K.; Pedersen, C. A study of  $^{13}\text{C}$ -H coupling constants in hexopyranoses. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1974, 293-297.



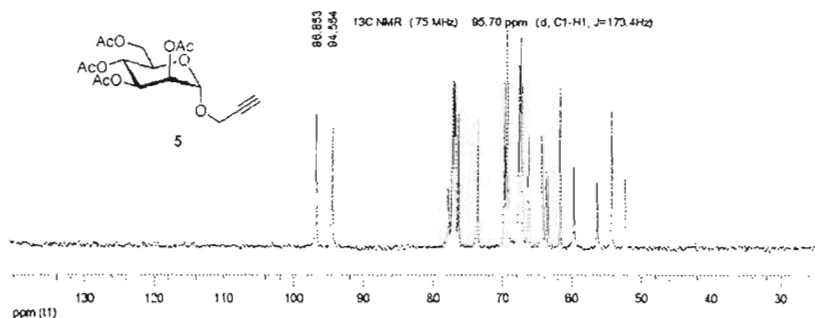


Figure 60. Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  non découplé de type HSQC du composé 5.

#### 2.4.2. Synthèse des dérivés *O*-aryle $\alpha$ -D-mannosides possédant une extrémité azoture.

Afin d'intégrer un aglycone aromatique fonctionnalisé à son extrémité avec une fonction azoture, pour profiter du phénomène bénéfique de l'« association au sous-site assistée par l'aglycone », la tyramine commerciale **8** constitue un substrat idéal. La synthèse de l'analogue azoture a pu être réalisée avec un rendement de 82% selon une réaction de diazotransfert dans les conditions réactionnelles classiques décrites plus haut (Schéma 14).

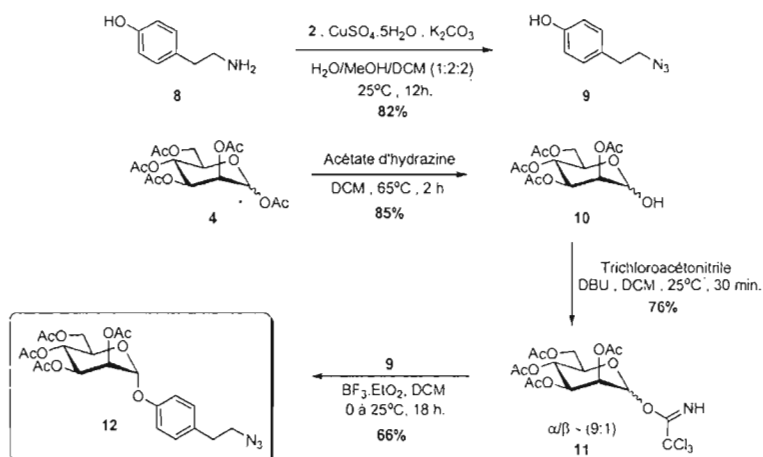


Schéma 14. Synthèse du du 4-(2-azidoéthyl)phényl 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside 12.

Des tentatives de glycosidation directe du penta-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranose **4** par le 4-(2-azidoéthyl)phénol **9** en présence de 5 équivalents de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  et dans les conditions

optimisées évoquées précédemment se sont avérées relativement infructueuses, conduisant au composé **12** désiré avec des rendements médiocres (10 à 14%). L'utilisation d'un acide de Lewis plus fort tel que le TMSOTf n'a pas permis d'améliorer ces rendements. Nous nous sommes donc tournés vers une stratégie reposant sur la glycosidation de Schmidt, basée sur la formation préalable du donneur activé de type imidate.<sup>300</sup> Dans un premier temps, le dérivé **4** a subi une déprotection sélective de la position anomérique en présence d'acétate d'hydrazine dans le DMF à 50°C. Le haut rendement observé (85%) peut s'expliquer par la réactivité accrue de l'ester anomérique. Le composé **10** ainsi formé a immédiatement été utilisé pour la réaction suivante en présence de trichloroacétonitrile et de DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène) pour former le donneur 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyle trichloroacétimide **11** avec un rendement de 76% sous la forme de mélange d'anomères  $\alpha/\beta$  (9:1) déterminé par RMN. L'instabilité de ce dérivé vis-à-vis de l'humidité et des conditions acides a impliqué une purification sommaire sur colonne de silice traitée à la triéthylamine. La réaction subséquente de glycosidation avec le 4-(2-azidoéthyl)phénol **9** en présence de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O a permis l'obtention exclusive du 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 4-(2-azidoéthyl)phényle **12** avec un rendement de 66%.

## 2.5 SYNTHÈSE DES CŒURS DE TYPE PENTAÉRYTHRITOL

Afin d'établir les plateformes multivalentes fonctionnalisées dont le rôle est d'assurer un greffage multiple des unités saccharidiques *via* des réactions efficaces et compatibles avec les fonctions chimiques en présence, les dérivés du pentaérythritol ont été élaborés. Comme il a été mentionné dans l'introduction, ces derniers présentent l'avantage de pouvoir multiplier le nombre d'épitopes attachés. Par ailleurs, ils constituent un choix pertinent en raison de la faible toxicité du pentaérythritol et de ses applications biologiques. En effet, il est utilisé pour diminuer la pression sanguine et sa toxicité a été testée de façon intensive sur divers animaux (rats, souris, cobayes, lapins...) par voie orale ou par inhalation (2000 mg/kg < LD<sub>50</sub> < 26000 mg/kg). De plus, bien qu'il ne soit pas biodégradé immédiatement, il ne présente pour l'homme ou l'animal qu'un faible potentiel de bio-accumulation ou d'irritation

<sup>300</sup> Schmidt, R. R.; Michel, J. Direct O-glycosyl trichloroacetimidate formation, nucleophilicity of the anomeric oxygen atom. *Tetrahedron Lett.* 1984, 25, 821-824.

ainsi qu'une très faible toxicité, même à des doses répétées. En raison de leurs propriétés biologiques associées à leur faible cytotoxicité, ces coeurs ont déjà fait l'objet d'études pour la synthèse de dendrimères à vocation médicinale.<sup>301,164</sup>

Dans cette section, deux types de coeurs dits dendritiques, contenant soit des fonctions alcynes terminales soit des fonctions azotures périphériques nécessaires à la réaction de chimie click, seront présentés. En plus de vérifier la versatilité de cette approche synthétique, la diversité structurale générée permettra d'étudier l'influence de la position du groupement triazole dans les processus de reconnaissance avec les lectines à l'étude.

#### 2.5.1. Synthèse des coeurs dérivés du pentaérythritol polyazotures

Le premier dérivé polyazoture **14** a été efficacement préparé dans les conditions décrites dans la littérature à partir du pentaérythritol tétrabromé **13** commercial, en présence de  $\text{NaN}_3$  dans le DMF à  $80^\circ\text{C}$  (Schéma 16).<sup>153</sup> Il est à préciser que des précautions particulières sont à prendre lors de la manipulation de ce produit en raison de son instabilité et de son caractère explosif. Un second dérivé du pentaérythritol contenant cette fois-ci trois fonctions azotures a de même été obtenu dans des conditions réactionnelles différentes. Ce système de type  $\text{AB}_3$  a été préparé à partir du pentaérythritol qui a été solubilisé dans le DMF à  $100^\circ\text{C}$  en présence d'une solution 33% de bromure d'hydrogène dans l'acide acétique, ainsi que d'acide sulfurique concentré. Bien que la stoechiométrie initiale du bromure d'hydrogène ait été fixée à 3 équivalents pour favoriser la trifonctionnalisation désirée, les dérivés mono-, di- et tétra-substitués, aux rapports frontaux bien distincts bien distincts, ont du être éliminés par chromatographie sur colonne. Ainsi, la molécule tribromée **16** a pu être isolée avec un rendement non optimisé de 36%. Par la suite, une réaction de substitution nucléophile de type  $\text{S}_{\text{N}}2$  en présence de  $\text{NaN}_3$  et dans les conditions réactionnelles décrites auparavant, a conduit au dérivé triazoture **17** avec un rendement de 88%. Il est à noter que la préparation initiale de ce composé, décrite par le groupe d'Hanessian, préconisait trois étapes synthétiques à partir du pentaérythritol incluant une réaction de mono-silylation (84%), une réaction one-pot de

<sup>301</sup> Rojo, J.; Delgado, R. Glycodendritic structures: promising new antiviral drugs. *J. Antimicrob. Chem.* **2004**, *54*, 579-591.

mésylation des fonctions alcool libres suivie de la  $S_N2$  avec  $\text{NaN}_3$  (57%) ainsi qu'une déprotection (95%).<sup>302</sup>

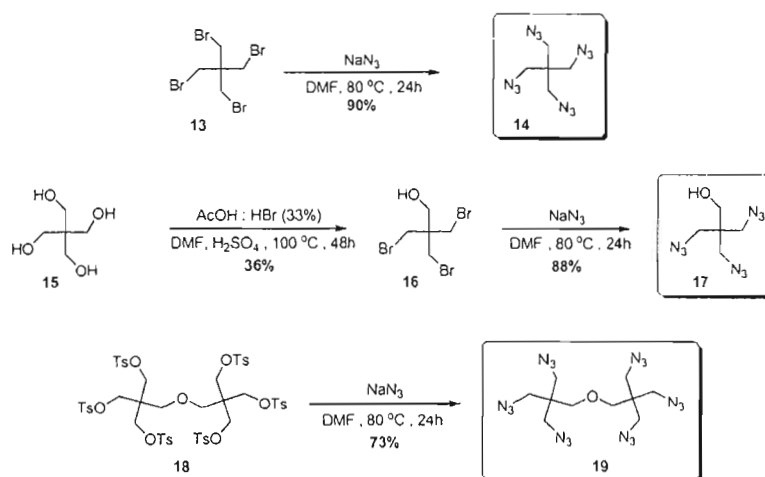


Schéma 15. Synthèse des dérivés polyazotures du pentaérythritol 14, 17, et 19.

La structure du produit **17** a été confirmée par RMN  $^1\text{H}$  effectué dans le  $\text{CDCl}_3$ , avec l'observation d'un signal triplet à  $\delta = 1.74$  ppm correspondant au proton de l'alcool couplant avec les deux protons présents sur le carbone adjacent (doublet,  $\delta = 3.56$  ppm). Un déplacement chimique différent est observé pour les 6 protons adjacents aux fonctions azotures ( $\delta = 3.39$  ppm) (Figure 61). La simplicité du spectre RMN  $^1\text{H}$  du dérivé symétrique **14**, ne comportant qu'un seul type de signal pour les 8 protons équivalents des méthylènes, contraste avec le spectre du composé « disymétrique » **17**.

<sup>302</sup> Hanessian, S.; Prabhanjan, H.; Qiu, D.; Nambiar, S. Synthesis of chemically and functionally diverse scaffolds from pentaerythritol. *Can. J. Chem.* 1996, 74, 1731-1737.

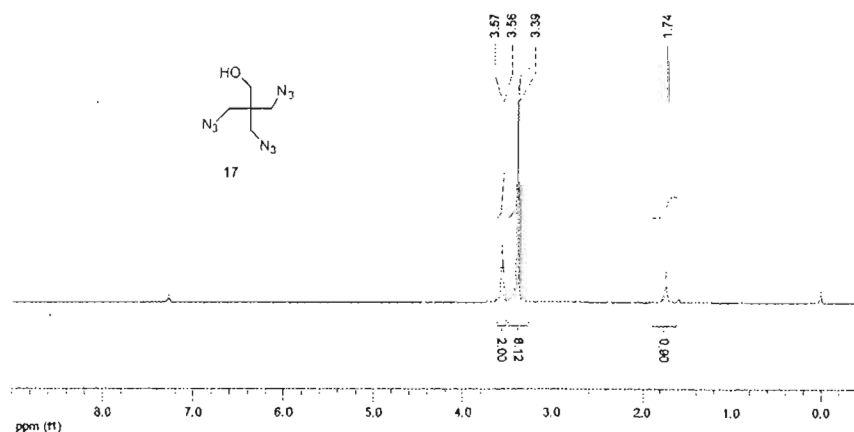


Figure 61. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du dérivé triazoture **17** dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Afin de multiplier de manière plus significative le nombre d'épitopes greffés sur nos plateformes multivalentes, les dérivés du dipentaérythritol ont été utilisés. Ainsi, par l'intermédiaire d'une chimie semblable à celle décrite précédemment pour les analogues pentaérythritol, le dérivé hexaazoture original **19** a été synthétisé avec un rendement satisfaisant de 73% à partir du précurseur tosylé **18**.<sup>303</sup>

Afin d'apporter une plus grande flexibilité à nos structures et permettre une meilleure accessibilité aux épitopes périphériques, des espaceurs de type poly(éthylène)glycol ont été insérés. Lors de nos travaux, des chaînes relativement courtes de type tri(éthylène)glycol et penta(éthylène)glycol ont été utilisées en raison de leur disponibilité commerciale en grande quantité, de leur faible coût et de leur caractère monodisperse. Bien que ce type d'espaceur court apporte une solubilité moindre en milieux aqueux et induise une toxicité accrue par rapport aux analogues plus longs, il représente tout de même un modèle d'étude intéressant pour nos travaux. D'ailleurs, les travaux récents réalisés par l'équipe de Bouckaert abondent dans ce sens.<sup>162</sup> De plus, ces chaînes pourraient agir comme des accepteurs de liaisons hydrogène et participer activement aux processus d'interaction entre les ligands et le site de reconnaissance des lectines.

<sup>303</sup> Laliberté, D.; Maris, T.; Sirois, A.; Wuest, J. D. Molecular tectonics. Dendritic construction of porous hydrogen-bonded networks. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4787-4790.

Dans ce contexte, le tri(éthylène)glycol bis tosylé **20**, obtenu à partir d'une réaction de tosylation standard du tri(éthylène)glycol dans la pyridine et en présence de chlorure de tosyloxy, a été engagé dans une réaction de type  $S_N2$  pour générer l'analogue bifonctionnel **21** avec un rendement de 36%. Bien que  $NaN_3$  ait été utilisé dans de façon sous-stoechiométrique (0.7 équivalent) et dans des conditions réactionnelles diluées en substrat afin de favoriser l'obtention du dérivé monoazoture, le composé symétrique bisazoture **22** a été formé à hauteur de 38% (Schéma 16). Après isolation et caractérisation, ce sous-produit réactionnel a pu constituer un substrat pour la synthèse de dimères par voie de chimie click. Le dérivé **21** a ensuite été engagé dans une réaction de substitution nucléophile avec le pentaérythritol dans le DMSO en présence d'une base forte tel que l'hydroxyde de potassium. Le dérivé tétraazoture allongé **23** a été obtenu avec un rendement de 68% après une purification classique par chromatographie sur gel de silice.

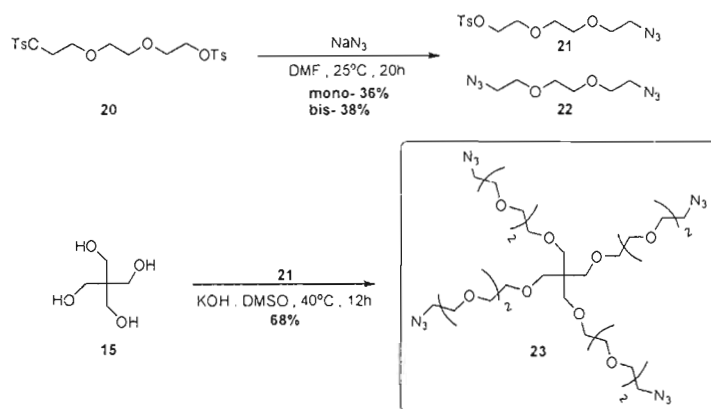


Schéma 16. Synthèse du dérivé PEGylé allongé tétraazoture **23**.

Dans le but de synthétiser un analogue PEGylé du bis-pentaérythritol contenant six fonctions azotures terminales, deux chaînes de type tri(éthylène)glycol et penta(éthylène)glycol ont été utilisés afin de connecter de façon covalente deux unités  $AB_3$  **17** par l'intermédiaire de la fonction alcool libre. Ainsi, la réaction entre les dérivés PEGylés bis tosylés **20** et **24** et le composé **17** dans des conditions basiques favorisant la substitution nucléophile a permis d'obtenir deux cœurs flexibles hexavalents **25** et **26** avec des rendements de 70 et 85%, respectivement (Schéma 17). L'influence de la longueur des

chaînes hydrophiles internes sur l'exposition des épitopes ou encore sur les interactions avec la cible thérapeutique pourra par la suite être appréciée lors des tests biologiques.

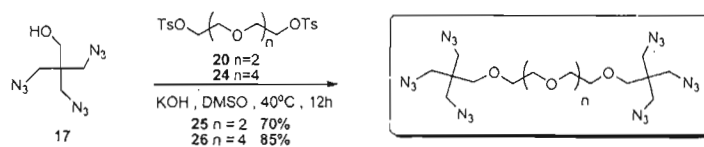


Schéma 17. Synthèses des coeurs multivalents hexaazotures **25** et **26**.

En outre, un cœur tétravalent contenant des fonctions azotures périphériques ainsi que des unités aromatiques dans la région centrale a été synthétisé à partir du pentaérythritol tétrabromé **13** et du dérivé azoture de la tyramine **9** selon une réaction de substitution nucléophile standard (Schéma 18).

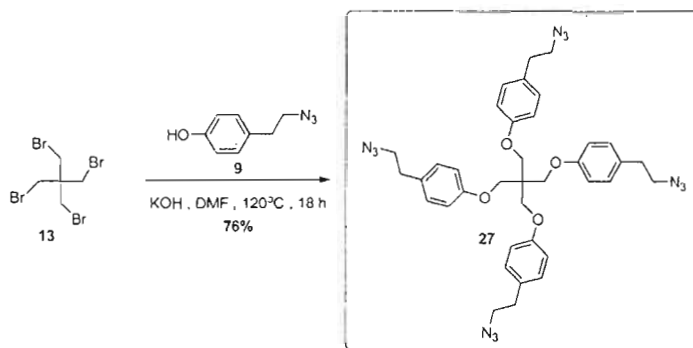
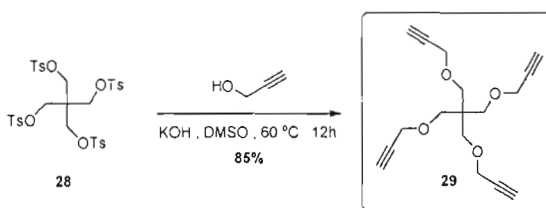


Schéma 18. Synthèse du coeur tétravalent **27** présentant une région centrale aromatique.

Le composé **27**, isolé avec un rendement de 76%, constitue en quelque sorte une structure intermédiaire aromatique analogue à celles des composés tétravalents compacts **14** et plus flexibles **23**. Une fois encore, la symétrie du composé formé se traduit au niveau du nombre restreint de signaux obtenus en RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$ .

### 2.5.2. Synthèse du cœur pentaérythritol tétrapropargylé

L'introduction de quatre fonctions propargyles sur le dérivé commercial tétrasosylé du pentaérythritol **28** a pu être effectuée dans des conditions de substitution nucléophile de type  $S_N2$ , en présence d'alcool propargylique et d'hydroxyde de potassium dans le DMSO (Schéma 19).



**Schéma 19.** Synthèse du dérivé tétra-propargylé du pentaérythritol **29**.

Ainsi, le dérivé fonctionnalisé désiré **29** a été obtenu avec un rendement de 85%. L'introduction complète de quatre fonctions propargyles a pu être confirmée par RMN avec un nombre réduit de signaux et des intégrations correspondantes à la théorie, indiquant ainsi la symétrie de la molécule synthétisée. Il est à noter que la réaction d'hexapropargylation à partir du dérivé tosylé **18** n'a pas été essayée dans le cadre de notre travail mais fera l'objet de futurs travaux au sein du laboratoire.

## 2.6 SYNTHÈSE DES GLYCOCLUSTERS

Comme nous l'avons mentionné auparavant, la méthode de couplage des épitopes mannosylés implique l'utilisation de la chimie click. Son efficacité et son caractère régiosélectif permettra, selon un procédé divergent, d'obtenir des structures entièrement fonctionnalisées et uniformes, quelque soit le nombre de fonctions actives périphériques présentes sur les cœurs dendritiques décrits.



### 2.6.1. À partir des cœurs polyazotures

Les plateformes polyazotures divalente (**22**), trivalente (**17**) et tétravalente (**14**) ont été les précurseurs de glycoclusters mannosylés. Dans des conditions de chimie click standard et en présence du dérivé mannosylé acétylé **5** contenant la fonction propargyle complémentaire, les dérivés di- (**34**), tri- (**30**) et tétravalents (**32**) correspondants ont été synthétisés avec des rendements supérieurs à 90% (Schéma 20).

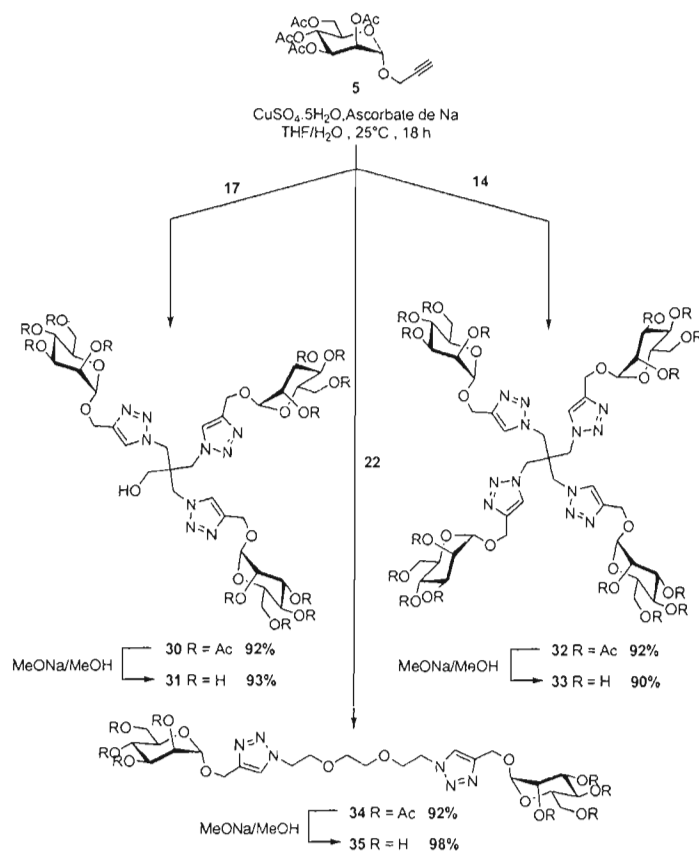


Schéma 20. Synthèse des glycoclusters di- (**35**), tri- (**31**) et tétra-valents (**33**).

L'intégrité et la symétrie des structures ont pu être confirmées par RMN et spectrométrie de masse à haute résolution. De plus, une analyse des composés finaux par

spectroscopie IR a indiqué l'absence de bande caractéristique des fonctions azotures terminales à  $2100\text{ cm}^{-1}$ , confirmant bien la complétude des réactions.

Afin de pouvoir étudier le pouvoir inhibiteur de ces composés, il est nécessaire de procéder à une déprotection totale des fonctions hydroxyles. Pour ce faire, des conditions douces de type Zemplén impliquant la solubilisation préalable des composés per-acétylés dans le MeOH et l'ajout d'une solution 1M de méthanolate de sodium (MeONa) dans le MeOH jusqu'à pH 10. Après quelques heures, le pH est ajusté à 7 au moyen d'une résine échangeuse de cations (Amberlyst- $\text{H}^+$  IR 120) et la solution est filtrée, évaporée à sec pour fournir les dérivés hydroxyles **35**, **31** et **33** correspondants avec des rendements quasi-quantitatifs sans purification supplémentaire. Une nouvelle fois, l'efficacité du procédé a été validée en RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans  $\text{D}_2\text{O}$  avec la disparition des signaux correspondant aux fonctions acétyles ( $\delta = 2.0\text{ ppm}$  et  $\delta = 20.0\text{ ppm}$ , respectivement) et la correspondance des intégrations des protons des triazoles avec celle des protons anomériques.

Selon un protocole similaire, les glycoclusters hexavalents **36**, **38** et **40**, construits à partir du cœur dérivé du bispentaérythritol **19** ou contenant les chaînes hydrophiles de type poly(éthylène)glycol **25** et **26**, ont été synthétisés avec des rendements de l'ordre de 75%, légèrement inférieurs à ceux observés précédemment (Schéma 21). Il est tout de même utile de noter qu'un rendement global de 75% pour six réactions équivaut à un rendement de 95% sur chaque site de réaction.

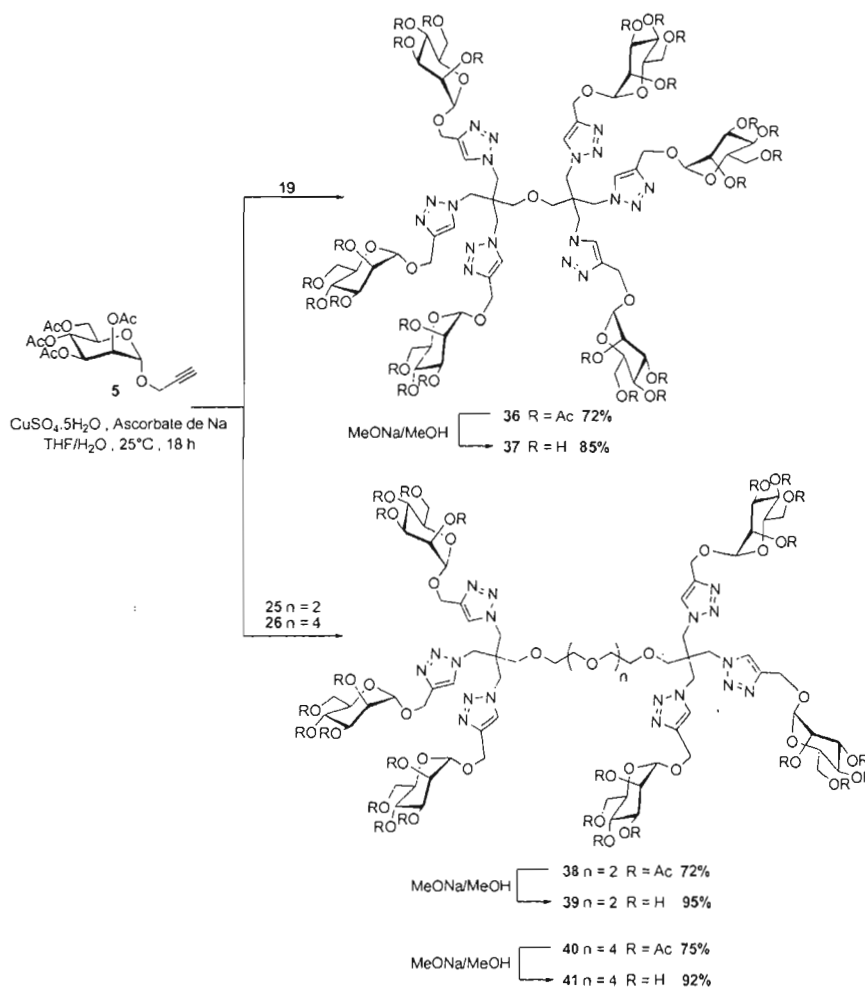


Schéma 21. Synthèse des glycoclusters hexavalents 37, 39 et 40.

Une fois encore, la procédure de désacétylation dans les conditions basiques de Zemplén a permis d'obtenir efficacement les dérivés déprotégés 37, 39 et 40 correspondants, sans étapes de purification supplémentaires. Outre la caractérisation complète par RMN et spectrométrie de masse à haute résolution des produits finaux, l'analyse par spectroscopie IR a confirmé l'absence de fonctions azotures résiduelles et, ainsi, la complétude du procédé réactionnel. De plus, l'apparition d'un seul signal en RMN  $^1\text{H}$  correspondant au proton situé sur le groupement triazole nouvellement formé atteste de la régiosélectivité de la réaction de chimie click avec la formation exclusive des triazoles 1,2,3-disubstitués en 1,4 pour tous les

composés finaux. Les deux signaux caractéristiques en RMN  $^{13}\text{C}$  entre 120 et 140 ppm confirment cette observation.

Les cœurs tétravalents contenant des chaînes à caractère hydrophile de type tri(éthylène)glycol (**23**) ou des éléments plus hydrophobes de type aromatiques et aliphatiques (**27**) ont aussi été utilisés comme plateformes multivalentes pour la présentation d'épitopes plus distants de la région centrale. En effet, l'insertion d'espaces de différentes natures pourrait induire une exhibition des dérivés mannosyles périphériques plus libres et ainsi amener une flexibilité moléculaire qui pourra être évaluée lors des tests biologiques. Dans ce contexte, le couplage du dérivé 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle **5** sur les cœurs **23** et **27** par chimie click a respectivement fourni les analogues tétravalents **42** et **44** avec des rendements excédant les 90% (Schéma 22).

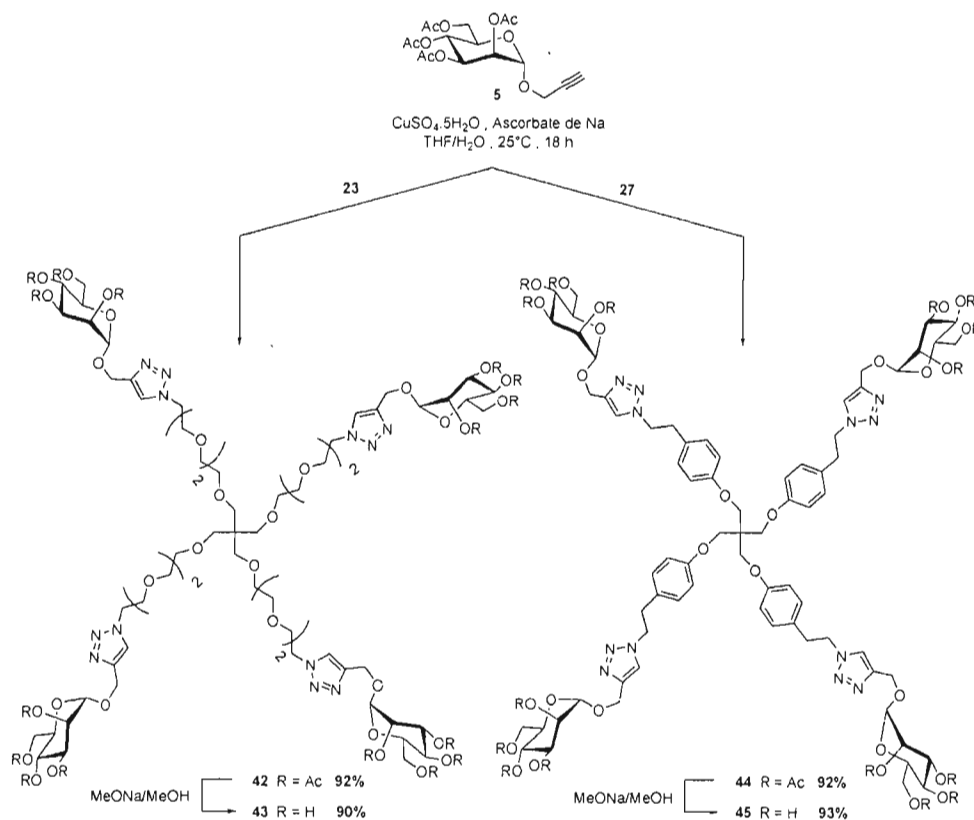


Schéma 22. Synthèse des glycoclusters tétravalents étendus 43 et 45.

La déprotection dans les conditions classiques a enfin conduit aux glycoclusters allongés finaux avec des rendements supérieurs à 90%.

Par l'intermédiaire du couplage par chimie click entre des coeurs dendritiques polyazotures et le dérivé mannosylé propargylé **5**, huit nouveaux glycoclusters déprotégés aux architectures, à la rigidité et à la valence variées, ont été synthétisés. Le point commun de ces structures réside dans le fait qu'ils possèdent des fonctions triazoles proches de la position anomérique en accord avec l'effet bénéfique d'un aglycone aromatique dans le phénomène de l'association au sous-site assisté par l'aglycone lors des processus de reconnaissance.

### 2.6.2. À partir du cœur tétrapropargylé 29

La versatilité de la réaction de chimie click a été mise au profit de la synthèse de glycoclusters tétravalents à partir du cœur tétrapropargylé **29** et de synthons mannosylés contenant une fonction azoture complémentaire terminale. Ceci induit donc une inversion dans le mode de branchement sur le groupement triazole, paramètre structural que l'on pourra évaluer lors des tests biologiques. Dans ce contexte, les composés 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 2-azidoéthyle **7** et 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 4-(2-azidoéthyl)phényle **12** ont été efficacement couplés sur le cœur **29** (Schéma 23).

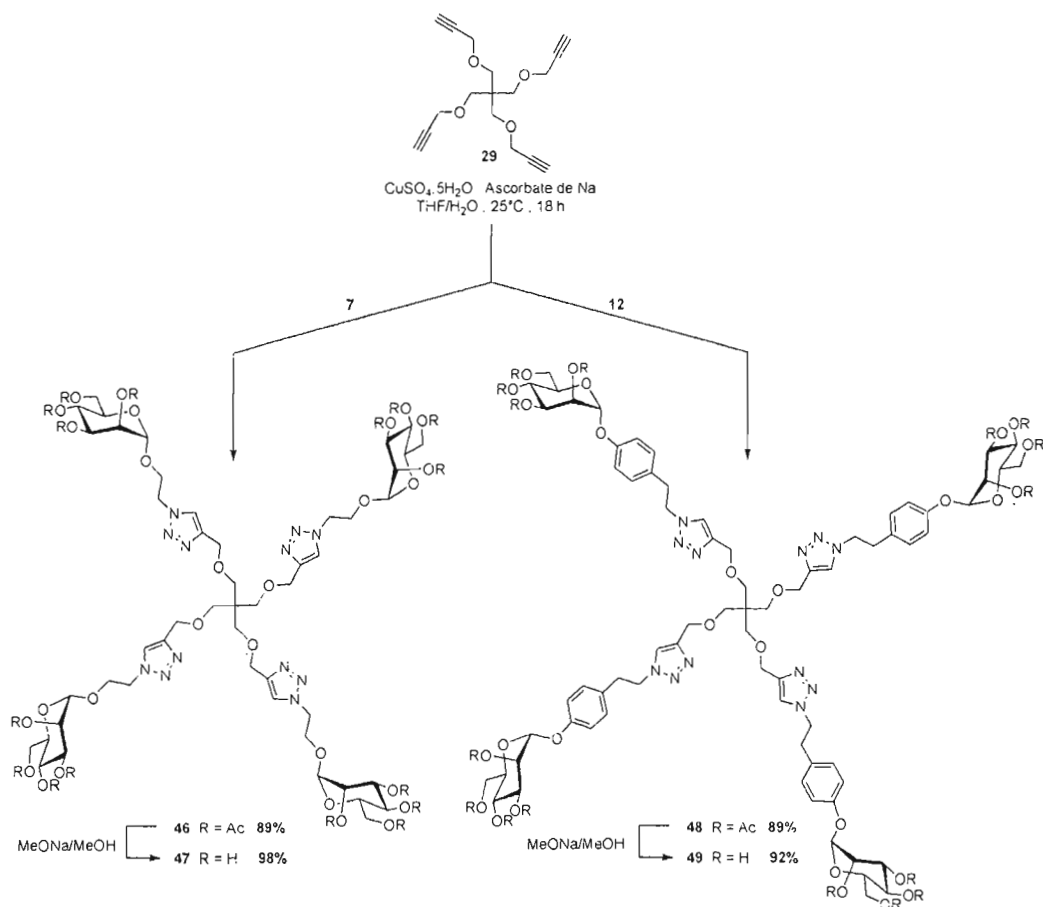


Schéma 23. Synthèse des glycoclusters tétravalents **47** et **49** à partir du pentaérytritol propargylé **29**.

La déprotection de ces structures tétravalentes **46** et **48** en présence de méthanolate de sodium dans le MeOH a conduit respectivement aux glycoclusters hydroxylés **47** et **49** avec d'excellents rendements. La disparition des signaux caractéristiques des protons propargyliques en RMN<sup>1</sup>H ( $\delta = 2.40$  ppm) prouve l'efficacité de la réaction de chimie click dans les deux cas. De plus, la correspondance entre les intégrations calculées des protons anomériques avec ceux des triazoles ou des méthylènes centraux confirme la symétrie des composés synthétisés.

## 2.7 CONCLUSIONS DU CHAPITRE

Dans ce chapitre, la synthèse de dérivés mannosides diversement fonctionnalisés au moyen de méthodes efficaces de glycosidation a été décrite. L'élaboration de cœurs dendritiques présentant en périphérie les fonctions d'ancrage complémentaires a de même été abordée en détail. La chimie click conjuguée au protocole classique de déprotection des fonctions acétates dans des conditions de Zemplén a permis la construction d'une nouvelle famille de glycoclusters mannosylés à base de dérivés du pentaérythritol contenant 10 membres. L'efficacité de certains de ces composés multivalents entièrement hydrosolubles, aux architectures et aux valences diverses, a été évaluée lors des tests biologiques qui seront présentés dans le chapitre 6. Leur affinité vis-à-vis de lectines reconnaissant spécifiquement les dérivés mannosides sera discutée.

Les travaux présentés dans ce chapitre ont fait l'objet d'une publication dans un journal international à comité de lecture en 2007 (*IF (2009) = 5.34*):

Touaibia, M.; Shiao, T. C.; **Papadopoulos, A.**; Vaucher, J.; Wang, Q; Benhamioud, K.; Roy, R. Tri- and hexavalent mannoside clusters as potential inhibitors of type 1 fimbriated bacteria using pentaerythritol and triazole linkages. *Chem. Commun.* **2007**, 380-382.

## CHAPITRE III

### SYNTHÈSE EN PHASE SOLIDE DE GLYCODENDRIMÈRES MANNOSYLÉS DE POLY-L-LYSINE

#### 3.1 INTRODUCTION

Le travail décrit dans ce chapitre concerne l'élaboration de mannodendrimères de poly-L-lysine réalisée au moyen de la synthèse peptidique en phase solide (SPPS). Cette stratégie a été inspirée des travaux pionniers du groupe du Pr. Roy qui a mis à profit les avantages synthétiques de cette dernière pour proposer la première synthèse de structures dendritiques portant des glucides en périphérie en utilisant une résine de type Wang et la chimie Fmoc.<sup>200</sup> Cependant, elle diffère de cette méthodologie dans l'approche puisque l'incorporation des unités glucidiques a été réalisée selon la chimie click et en faisant appel à la réaction de diazotransfert afin d'introduire les fonctionnalités chimiques actives adéquates. Bien que couramment utilisées en synthèse organique en phase homogène, peu de travaux les impliquant dans la synthèse en phase solide sont répertoriés dans la littérature. Ainsi, l'efficacité des réactions mises en jeu associée à cette méthodologie de synthèse aisée et expéditive seront mis à profit pour la conception contrôlée d'architectures dendritiques mannosylées aux structures variées. Une brève introduction sera d'abord effectuée sur les principes de base de la SPPS incluant le choix des agents de couplage, du support solide et des groupements protecteurs. La description détaillée de la procédure générale fera l'objet de la seconde partie de ce chapitre en se consacrant plus particulièrement à la conception de deux familles originales de glycodendrimères à base de poly-L-lysine. Ces derniers seront évalués dans notre étude biologique en tant qu'inhibiteurs potentiels de la FimH de *E. coli* pathogénique.



## 3.2 PRINCIPES DE LA SYNTHÈSE PEPTIDIQUE EN PHASE SOLIDE (SPPS)

La SPPS est basée sur l'addition séquentielle d'acides  $\alpha$ -aminés possédant une chaîne latérale protégée sur des acides aminés pré-installés sur un support polymérique insoluble. L'insolubilité de ce support polymérique (encore appelé « résine ») est à la base du concept et des avantages associés à la SPPS. Compte tenu de l'efficacité des réactions mises en jeu et la possibilité de pouvoir supprimer l'excès de réactifs par simple filtration, la séquence tandem lavage-couplage remplace les techniques fastidieuses de purification traditionnelle de la phase homogène. Une grande variété de résines est disponible commercialement de nos jours et le choix est dicté par le type de stratégie de couplage envisagé, la nature des groupements protecteurs et la nature des fonctions chimiques présentes sur les substrats.<sup>304</sup>

### 3.2.1. Choix de la résine polymérique

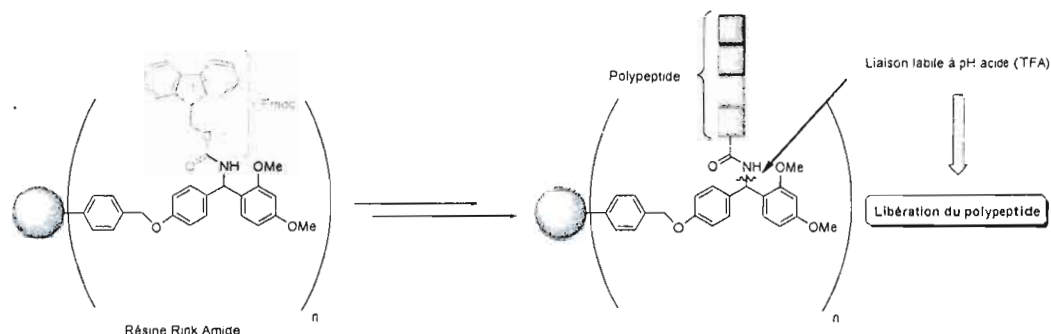
Depuis les premiers exemples de synthèse peptidique sur résine de polystyrène proposés par Merrifield au début des années 1960,<sup>305</sup> diverses stratégies basées sur un large panel de supports solides ont été développées. Afin de répondre à différents critères de synthèse imposés par l'essor de la chimie organique en phase solide dans le domaine de la chimie combinatoire et de la synthèse de peptides complexes, plusieurs nouveaux types de résines ont été mis au point et sont devenus commercialement disponibles. En raison des antécédents fructueux obtenus au laboratoire,<sup>306</sup> notre choix de support solide s'est arrêté sur la résine Rink Amide, un polystyrène réticulé inerte exhibant des unités [4-(2',4'-diméthoxyphenyl-Fmoc-aminométhyl)-phénoxy] avec un taux de charge de 0.54 mmol/g (Figure 62).

---

<sup>304</sup> Un catalogue des résines disponibles est consultable sur le site de la compagnie Novabiochem: <http://www.novabiochem.com> visité le 03 Décembre 2009.

<sup>305</sup> Merrifield, R. B. Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149-2154.

<sup>306</sup> Mémoire de Maîtrise de Tze Chieh Shiao (Pr. René Roy, Février 2009).



**Figure 62.** Structure de la résine Rink Amide et mode de clivage pour accéder au polypeptide synthétisé sur support solide.

L'élimination du groupement protecteur de type Fmoc dans les conditions réactionnelles que nous allons décrire dans les prochaines sections initie la synthèse peptidique. Une fois cette séquence aboutissant au polypeptide de longueur désirée achevée, le clivage de la résine est réalisé en conditions acides (typiquement TFA) et compatibles avec les fonctionnalités chimiques en présence, permettant ainsi l'isolation de la structure peptidique ramifiée (Figure 62).

### 3.2.2. Choix de l'acide aminé

L'acide aminé utilisé lors de la synthèse des mannodendrimères peptidiques en phase solide est la L-lysine. De par sa structure orthogonale de type AB<sub>2</sub> comprenant une fonction d'attache de type acide carboxylique et deux fonctions amines terminales non équivalentes, cet acide aminé naturel est idéal pour l'élaboration de structures peptidiques avec un branchement contrôlé. De plus, sa biocompatibilité et l'absence de toxicité observées chez l'homme a encouragé de nombreux groupes de recherche à concevoir des agents thérapeutiques efficaces tels que des antiadhésines,<sup>200,204,212</sup> des vaccins potentiels<sup>213</sup> ou des inhibiteurs de prolifération de biofilms,<sup>307</sup> basés sur l'utilisation de ce motif.

<sup>307</sup> Johansson, E. M. V.; Crusz, S. A.; Kolomietz, E.; Buts, L.; Kadam, R. U.; Cacciarini, M.; Bartels, K.-M.; Diggle, S. P.; Camara, M.; Williams, P.; Loris, R.; Nativi, C.; Rosenau, F.; Jaeger, K.-E.; Darbre, T.; Reymond, J.-L. Inhibition and dispersion of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by glycopeptides dendrimers targeting the fucose-specific lectin LecB. *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 1249-1257.

### 3.2.3. Choix des agents de couplage

Depuis l'utilisation de carbodiimides associés aux benzotriazoles (DIC/HOBt) par le groupe de Roy pour la synthèse des premiers glycodendrimères et le développement rapide des agents de couplage permettant de former efficacement la fonction amide (ou peptidique) requise, la synthèse d'architectures multivalentes glycosylées par SPPS a connu un essor important.<sup>308,309,310</sup> Classiquement, les liaisons peptidiques peuvent être générées efficacement en phase liquide homogène *via* l'utilisation d'un dérivé acide carboxylique pouvant être activé sous la forme d'un ester actif, avec le pentafluorophénol ou l'hydroxysuccinimide, d'un anhydride ou d'un chlorure d'acide. Cependant, des étapes de purification souvent fastidieuses sont associées à cette méthodologie et la génération de plusieurs fonctions amides sur une même structure peut devenir problématique. Le développement d'agents de couplage peptidique au cours de ces deux dernières décennies a grandement contribué à l'amélioration des mises en œuvre et de l'efficacité des réactions, aussi bien en synthèse en phase homogène que sur support solide. La Figure 63 illustre les cinq familles d'agents activants les plus couramment rencontrées.

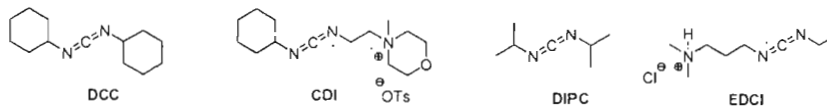
---

<sup>308</sup> Kantchev, E. A. B.; Chang, C.-C.; Cheng, S.-F.; Roche, A.-C.; Chang, D.-K. Direct solid-phase synthesis and fluorescence labeling of large, monodisperse mannosylated dendrons in a peptide synthesizer. *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, *6*, 1377-1385.

<sup>309</sup> Katajisto, J.; Lönnberg, H. Solid-Phase Synthesis of Cyclic C-Glycoside/Amino Acid Hybrids by Carbamate Coupling Chemistry and On-Support Cyclization. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *16*, 3518-3525.

<sup>310</sup> Ozawa, C. Hojo, H.; Nakahara, Y.; Katayama, H.; Nabeshima, K.; Akahane, T.; Nakahara, Y. Synthesis of MUC1 glycopeptide dendrimer. *Peptide Sci.* **2007**, *44*, 45-46.

## 1) Carbodiimides : DCC, CDI, DIPC, EDCI



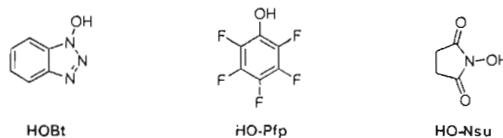
## 2) Composé phosphonium



## 3) Anhydride mixte : chloroformate



## 4) Esters activés : -OBt, -OPfp, -ONsu. Esters des alcools suivants + DCC + DMAP / Pyr.



## 5) Composé uronium/guanidinium

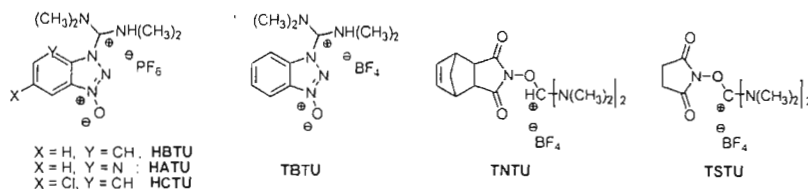


Figure 63. Structures des agents de couplage couramment utilisés pour la synthèse peptidique.

Les dérivés d'hydroxybenzotriazole sous forme de sels de phosphonium ou d'uronium tels que BOP, PyBOP, HBTU, HATU, HCTU ou encore TBTU comptent parmi les plus couramment utilisés. Ces agents réagissent très rapidement avec la fonction acide carboxylique pour former un intermédiaire benzotriazole réactionnel activé favorisant la réaction de l'amine complémentaire et la formation de la fonction amide désirée. L'avantage d'utiliser ce type d'agents de couplage de préférence aux dérivés carbodiimides (DCC, DIC, ou EDC) est qu'ils permettent d'obtenir de hauts rendements, avec la formation de peu de produits secondaires. En effet, malgré la popularité des carbodiimides, une des limitations à leur utilisation concerne des phénomènes de déshydratation de certains acides aminés (Asn et

Gln) et l'addition d'un catalyseur de type benzotriazole (HOBt) est souvent nécessaire pour l'éviter.<sup>311</sup> De plus, la formation de dérivés urées difficilement purifiables est inévitable. Un autre avantage des dérivés hydroxybenzotriazoles est leur solubilité dans la plupart des solvants organiques conventionnels et, surtout, qu'ils n'induisent pas de processus d'épimérisation au sein des structures d'acides aminés au niveau des centres stéréogéniques.<sup>231</sup> Ce dernier critère est fondamental afin de conserver l'uniformité et l'unité structurale de nos macromolécules branchées. En outre, ils permettent une activation très rapide de la fonction acide carboxylique dans l'ordre suivant: BOP > PyBOP > HBTU  $\approx$  TBTU.<sup>312</sup>

Compte tenu de ces résultats, notre choix s'est porté sur l'utilisation de l'agent de couplage de type hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino) phosphonium (BOP), introduit par Castro au milieu des années 70 et idéal pour la SPPS.<sup>313</sup> Il s'agit d'un sel non-hygroscopique, très stable et soluble dans les solvants organiques habituels utilisés en synthèse peptidique.<sup>314</sup> L'activation de la fonction acide est initiée par le biais de la formation d'un dérivé d'acyloxyphosphonium, transformé par la suite en ester actif de type benzotriazole, qui s'attache rapidement à la chaîne peptidique croissante. L'utilisation de BOP en présence de HOBt comme catalyseur fournit d'excellents résultats tout en accélérant davantage le processus d'activation dont le mécanisme est décrit au schéma 24.<sup>315</sup>

---

<sup>311</sup> Mojsov, S.; Mitchell, A. R.; Merrifield, R. B. A quantitative evaluation of methods for coupling asparagines. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 555-560.

<sup>312</sup> Données expérimentales obtenues au laboratoire.

<sup>313</sup> Castro, B.; Dormoy, J. R.; Evin, G.; Selve, C. Reactifs de couplage peptidique I (1) - l'hexafluorophosphate de benzotriazolyl N-oxytrisdiméthylamino phosphonium (BOP). *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 1219-1222.

<sup>314</sup> Fournier, A.; Wang, C-T.; Felix, A. M. Applications of BOP reagent in solid phase synthesis. Advantages of BOP reagent for difficult couplings exemplified by a synthesis of [Ala 15]-GRF(1-29)-NH<sub>2</sub>. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1988**, *31*, 86-97.

<sup>315</sup> Hudson, D. Methodological implications of simultaneous solid-phase peptide synthesis I: comparison of different coupling procedures. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 617-624.

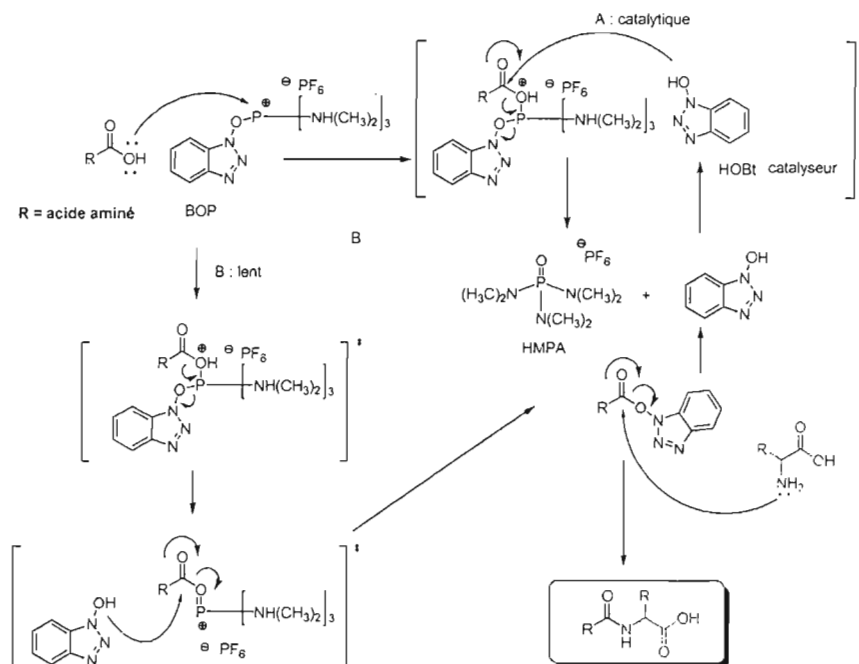


Schéma 24. Mécanisme de couplage de type peptidique impliquant l'utilisation du dérivé BOP.

L'affinité de l'oxygène de la fonction acide pour la fonction phosphorylée du BOP déclenche une première activation. La formation d'ester activé est alors catalysée par la présence de HOBt dans un premier temps qui libère ensuite un autre groupement HOBt lors de la formation de l'ester actif (A). La réaction sans HOBt catalytique en B est également possible mais l'activation est plus lente car l'étape limitante est la libération du HOBt *in situ* par le complexe BOP-acide. Une pré-activation à 4°C de l'acide carboxylique en présence de BOP et d'HOBt catalytique dans du DMF anhydre pendant 10-15 minutes suivie de l'ajout du dérivé aminé permet d'obtenir de hauts rendements, de l'ordre de 90-95%.

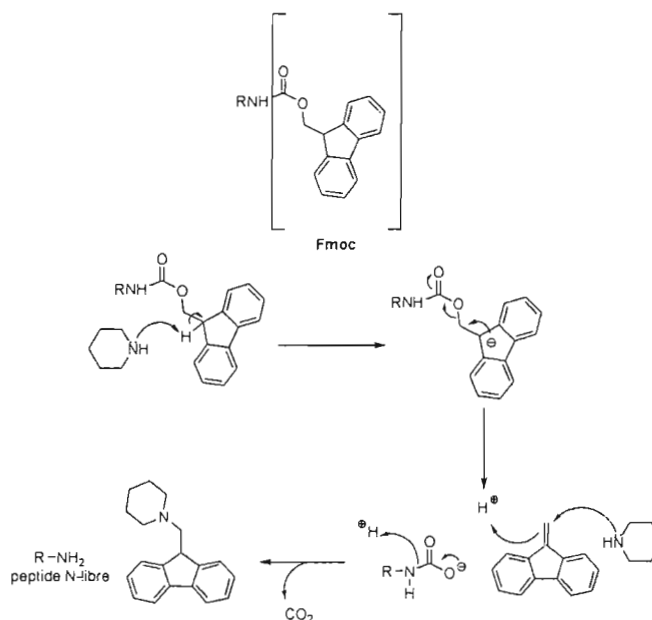
#### 3.2.4. Choix des groupements protecteurs

L'un des atouts principaux d'un groupement protecteur efficace est sa capacité à être enlevé facilement, dans des conditions réactionnelles douces. Presqu'exclusivement, une

stratégie de type Fmoc<sup>316</sup> est maintenant utilisée de préférence à la stratégie Boc qui avait été proposée initialement par Merrifield lors de ses premiers travaux. En raison des avantages que nous allons présenter dans les prochaines lignes, nous avons utilisé la chimie Fmoc pour nos travaux en SPPS. Elle requiert des conditions basiques douces pour éliminer le groupe protecteur temporaire de l'amine- $\alpha$  et un acide fort (TFA) pour cliver, à la fin de la synthèse, les groupes protecteurs des chaînes latérales et libérer le peptide synthétisé. Ainsi, une base telle que la pipéridine est habituellement utilisée pour les étapes de déprotection, contrairement à la chimie Boc où un acide fort tel le TFA, non compatible avec le mode de clivage de notre résine, est requis. L'élimination du Fmoc est très rapide, efficace et l'équilibre de la réaction est déplacé par une force motrice: la production de CO<sub>2</sub>. Le mécanisme de déprotection est illustré à la Figure 64. L'arrachement du proton labile du groupement fluorényle se fait par la piperidine. Par la suite, une réaction en cascade permet au doublet d'électron d'expulser la fonction carbamate du groupement fluorényle. Finalement, le sous produit 9-méthylène-9H-fluorène formé se lie à la pipéridine ou polymérise facilement dans la solution. Le groupement carbamate libéré se réarrange en expulsant du CO<sub>2</sub> et en laissant la partie NH<sub>2</sub> libre.

---

<sup>316</sup> Atherton, E.; Sheppard, R. C. *The peptides. Analysis, Synthesis, Biology*. Eds. Gross, E.; Meienhofer, J. Academic Press, New York, 1987.



**Figure 64.** Mécanisme de clivage du groupement Fmoc par la pipéridine.

### 3.2.5. Procédure générale pour la SPPS

La procédure générale pour la SPPS est représentée au schéma 25. D'une façon générale, elle est basée sur des cycles de couplages/déprotections pour aboutir au polypeptide fonctionnalisé avec la longueur et le degré de branchement désiré. Des étapes de protection ou de déprotection *N*- et *C*-terminales sont à effectuer à différents niveaux de la synthèse. Les groupements protecteurs des chaînes latérales des acides aminés à greffer doivent résister à la répétition de différents couplages. La fonction *N*-α sur laquelle les différents couplages sont effectués est dotée d'un groupement temporaire qui est enlevé facilement sans affecter le reste du peptide. Le troisième type de protection concerne la partie terminale du peptide, c'est-à-dire le point d'attache du premier peptide sur le support solide de la résine, qui doit rester en place durant toute la procédure synthétique pour élaborer la séquence peptidique désirée et être clivé dans des conditions compatibles avec la conservation de l'intégrité du polypeptide.



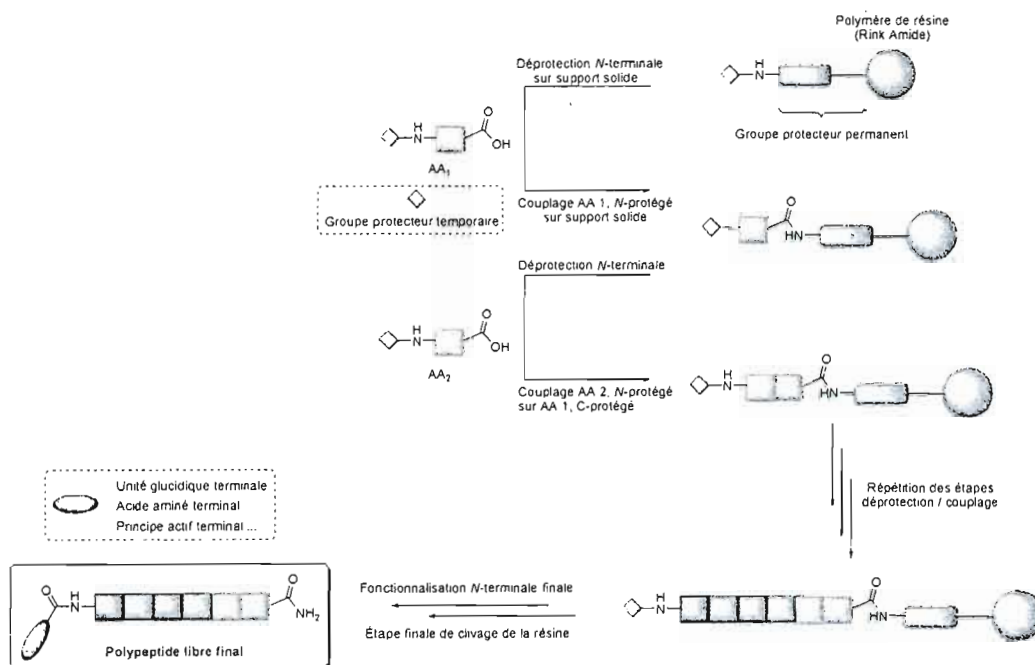


Schéma 25. Schéma de la procédure générale de la SPPS.

### 3.3 SYNTHÈSE DES MANNODENDRIMÈRES DE POLY-L-LYSINE PAR SPPS

#### 3.3.1. Description du protocole général

Le protocole synthétique général appliqué à la synthèse de nos structures multivalentes mannosylées est décrit dans le Tableau II.

**Tableau II.** Protocole synthétique appliqué pour la synthèse des structures multivalentes mannosylées par SPPS.

<i>Procédure</i>	<i>Réactifs</i>	<i>Temps de réaction</i>
Déprotection Fmoc	20 % pipéridine/DMF (10 mL)	2 x 20 min.
Lavage	DMF (10 mL), DCM (10 mL), MeOH (10 mL)	3 x 1 min.
Couplage	$\beta$ -Ala Fmoc acide (2 éq./NH <sub>2</sub> ), BOP (2 éq./NH <sub>2</sub> ), HOBt (cat.), DIPEA (6 éq./NH <sub>2</sub> ), DMF (10 ml)	3 x 30 min.
Lavage	DMF (5 mL), DCM (5 mL), MeOH (5 mL)	3 x 1 min.
Déprotection Fmoc	20 % pipéridine/DMF (10 mL)	2 x 20 min.
Lavage	DMF (10 mL), DCM (10 mL), MeOH (10 mL)	3 x 1 min.
Couplage	2 éq. L-lysine di-Fmoc acid OH, 2 éq. BOP, HOBt cat., 6 éq. DIPEA, DMF (10 mL)	2 x 30 min.
Lavage	DMF (10 mL), DCM (10 mL), MeOH (10 mL)	3 x 1 min.
Diazotransfert	TfN <sub>3</sub> (2 éq./NH <sub>2</sub> ), CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O (1% mol/NH <sub>2</sub> ), K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (3 éq./NH <sub>2</sub> ), H <sub>2</sub> O/MeOH/DCM	2 x 8 h.
Lavage	DMF (10 mL), DCM (10 mL), MeOH (10 mL)	3 x 1 min.
«Chimie click»	5 (1.5 éq./N <sub>3</sub> ), CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O (0.3 éq./N <sub>3</sub> ), Ascorbate de Na (0.4 éq./N <sub>3</sub> ), THF/H <sub>2</sub> O	2 x 8 h.

Les réactions de SPPS ont été effectuées dans des réacteurs de 20 ml munis d'un fritté avec une agitation rotationnelle lente. La dimension de la résine Rink Amide utilisée est de 100-200 mesh (75-150  $\mu$ m) avec une substitution de 0.54 mmol/g. L'attachement du premier acide aminé à la résine constitue une étape critique qui conditionne le bon déroulement de toute la séquence et donc la pureté du produit final. Ainsi, suite à l'étape de déprotection du groupement Fmoc de la résine Rink avec une solution à 20% de pipéridine dans le DMF, trois couplages peptidiques de 30 minutes, engageant le composé  $\beta$ -alanine *N*-protégée **50** en présence de BOP, d'HOBt et de DIPEA dans le DMF ont été effectués successivement afin de maximiser le nombre de sites fonctionnalisés. Notons que le dérivé Fmoc de la  $\beta$ -alanine **50**, qui est disponible commercialement, a pu être quantitativement synthétisé en présence de

$\beta$ -alanine, d'hydrogénocarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ) et de *N*-(9-fluorényléméthoxy-carbonyloxy)-succinimide (9-Fmoc-OSu) (Schéma 26).

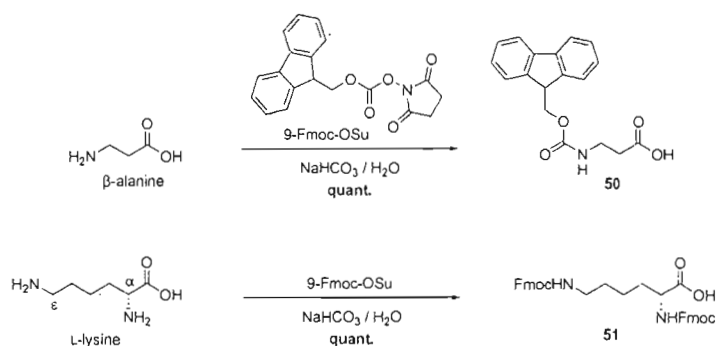


Schéma 26. Synthèse des dérivés Fmoc de la  $\beta$ -alanine **50** et de la L-lysine **51**.

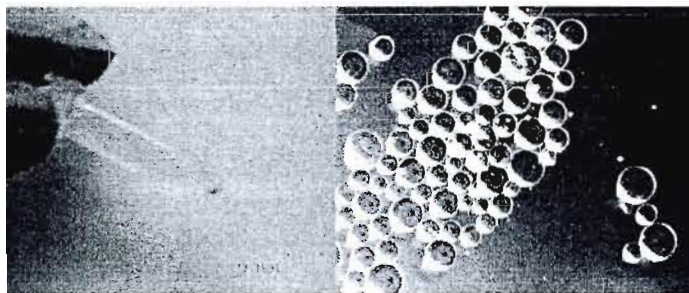
En raison de la fonction amine présente en  $\beta$  de la fonction acide carboxylique, la  $\beta$ -alanine Fmoc **50** joue le rôle de premier acide aminé greffé pour permettre de distancer la première lysine de la résine. Afin de nous assurer que toutes les amines libres de la résine ont été substituées, la résine a été traitée avec une solution d'anhydride acétique en présence de DIPEA dans le DMF dans une stratégie de «capping» (deux fois 20 minutes). Par ce procédé, les fonctions amines libres restantes seront acétylées et ne nuiront pas à la suite du procédé. Afin de laver l'excédent de réactifs et d'éliminer les sous-produits de réaction générés, les étapes de lavage sont cruciales. Dans ce contexte, les trois différents solvants utilisés jouent un rôle important. Le DMF est le solvant de réaction primaire mais est aussi utilisé comme solvant de lavage du fait de ses propriétés solubilisantes des réactifs et des sous-produits. Le DCM est employé pour gonfler la résine alors que le MeOH est utilisé pour la rétrécir. En effet, les réactions en SPPS sont non seulement effectuées à la surface du polymère mais surtout à l'intérieur de celui-ci. L'utilisation alternée de ces deux solvants permet de mettre entièrement en solution la totalité des réactifs en grossissant et en contractant la résine. Après trois cycles de lavage, le DCM est ultimement utilisé durant 15 minutes avant d'être filtré, ce qui a pour effet de gonfler la résine afin de maximiser la surface fonctionnelle pour la prochaine étape de synthèse. En ce qui concerne les couplages peptidiques, la fonction acide carboxylique des peptides a été préalablement activée à 4°C en présence de l'agent de couplage (BOP) et d'une quantité catalytique d'HOBt dans du DMF sec pendant une période

de 20 minutes. Par la suite, la solution obtenue et 9 équivalents de base (DIPEA) sont ajoutées à la résine puis le mélange est agité à température ambiante durant 30 minutes. La séquence est répétée 2 à 3 fois pour une efficacité de couplage optimale. Mise à part l'étape initiale du couplage du dérivé de la  $\beta$ -alanine sur la résine, cette méthodologie a permis l'introduction séquentielle du dérivé de L-lysine **51** diprotégée par des groupements Fmoc, disponible commercialement ou synthétisable de façon similaire au composé **50** (Schéma 26). L'utilisation de ce type de dérivé Fmoc a été judicieuse puisqu'aucun groupement protecteur secondaire n'a été requis. Les réactions de diazotransfert et de chimie click, cette dernière impliquant le composé propargylé **5** dans tous les cas, se sont déroulées dans les conditions présentées au chapitre 2 durant des périodes de 8 heures, avec encore une fois la nécessité de répéter les séquences pour mener les transformations à complétion.

Une fois la longueur et le degré de branchement désirés atteints, les résines ont été lavées avec du DCM (5 x 15 mL) puis transférées dans des tubes à centrifuger de 50 mL. La solution de clivage (90% TFA et 10% DCM, 5 ml) a ensuite été ajoutée puis laissée à réagir durant 1 heure. S'en suit alors un traitement nommé « post-cleavage work up » permettant de solubiliser le groupement protecteur clivé du milieu réactionnel alors que le peptide libre précipite à température ambiante. Dans ce contexte, 30 ml de *tert*-butyl méthyl éther ont été ajoutés, puis une agitation vigoureuse et une centrifugation à 2000 rpm pendant 20 minutes ont été effectuées. Le surnageant a alors été séparé du culot formé et ce dernier a été resuspendu deux autres fois dans le *tert*-butyl méthyl éther et centrifugé. Le précipité est enfin évaporé; le résidu solubilisé dans 30 ml de DCM est lavé deux fois avec une solution de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturé pour enlever les dernières traces de cuivre utilisé dans les étapes de diazotransfert et de chimie click. Enfin, les composés multivalents mannosylés à base de poly-L-lysine générés ont subi une dé-O-acétylation complète dans les conditions standard de Zemplén. Les composés déprotégés correspondants, comprenant jusqu'à 16 mannoses en périphérie (G(3)), ont été dialysés contre de l'eau nanopure durant 12 heures puis lyophilisés.

### 3.3.2. Contrôle des réactions en SPPS

En plus des précautions prises durant les différentes étapes décrites précédemment, un contrôle de l'efficacité des réactions a été effectué. Plus précisément, des tests qualitatifs par révélation au TNBS ont été menés après les étapes de déprotection et de couplage.<sup>317</sup> Bien que le test de Kaiser,<sup>318</sup> basé sur l'utilisation de ninhydrine, soit le plus répandu pour visualiser les amines libres, les conditions de chauffage précises requises ainsi que la difficulté de discernement des couleurs caractéristiques en font un test peu compatible avec notre étude. Afin de contourner ces problèmes de mise en œuvre, le test de révélation au TNBS a été adapté à la SPPS. Il s'agit d'une méthode basée sur la réaction entre l'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique et les groupements amines libres. Une coloration rougeâtre des billes confirme leur présence. Dans le cas contraire, les billes ne sont pas colorées, ce qui est donc caractéristique de la présence de fonctions amines protégées. Cette révélation ne requiert pas de chauffage et peut être visualisée facilement à l'œil ou bien par microscope afin de confirmer le bon déroulement des étapes de couplage et de déprotection pour continuer la synthèse (Figure 65).<sup>319</sup>



**Figure 65.** Image des billes lors du test au TNBS (+); image microscopique de la résine après le test TNBS (-).

<sup>317</sup> Hancock, W. S.; Battersby, J. E. A new micro-test for the detection of incomplete coupling reactions in solid-phase peptide synthesis using 2,4,6-trinitrobenzene-sulphonic acid. *Anal. Biochem.* **1976**, *71*, 260-264.

<sup>318</sup> Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptide. *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.

<sup>319</sup> Krchnák, V.; Vágner, J.; Lebl, M. Noninvasive continuous monitoring of solid-phase peptide synthesis by acid-base indicator. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1988**, *32*, 415-416.

Un contrôle par spectroscopie IR impliquant le broyage de quelques billes fonctionnalisées a de même été effectué suite aux réactions de diazotransfert et de chimie click. La présence du signal caractéristique à  $2100\text{ cm}^{-1}$  des fonctions azotures permet de s'assurer de leur présence alors que la disparition complète du signal après la chimie click indique la complétion de la réaction (Figures 66a et b).

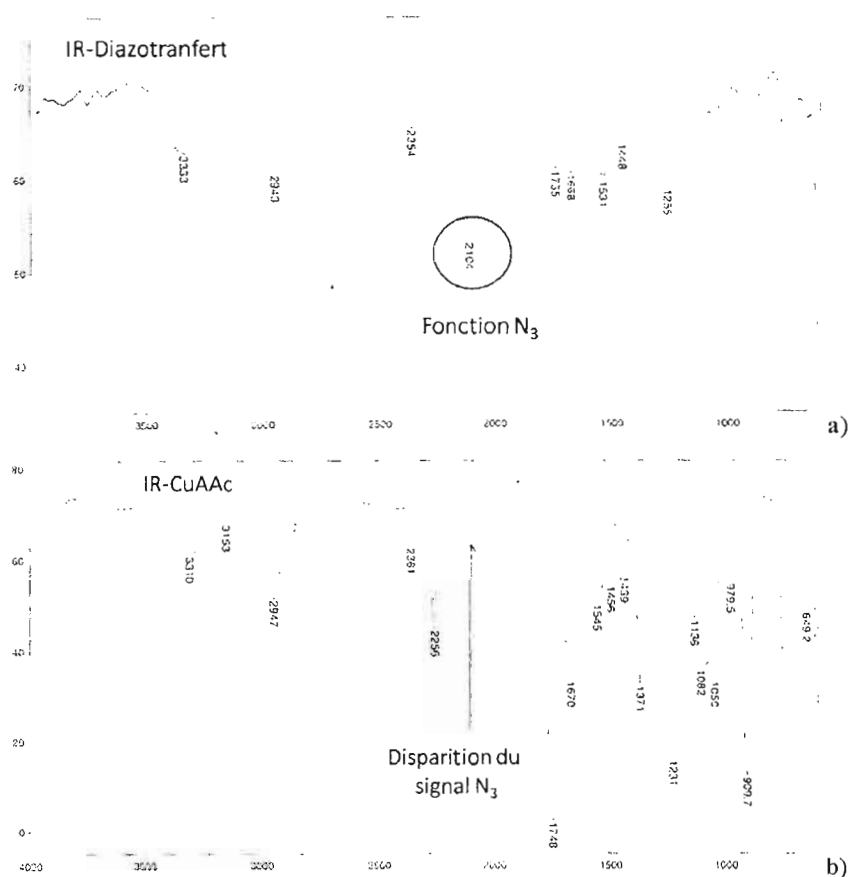


Figure 66. Spectres IR caractéristiques des billes fonctionnalisées après diazotransfert (a) et chimie click (b).

Enfin, la complétude des réactions a été contrôlée et prouvée de façon non équivoque en fin de séquence par RMN et spectrométrie de masse à haute résolution notamment.

### 3.3.3. Synthèse des mannodendrimères par SPPS

Selon la méthodologie SPPS, des structures multivalentes comportant de 2 (G(0)) jusqu'à 16 épitopes périphériques (G(3)) ont été efficacement synthétisées. Les schémas suivants décrivent les différentes étapes synthétiques permettant une croissance dendritique totalement contrôlée.

Dans un premier temps, le glycocluster **52** contenant deux unités mannosides a été élaboré à partir d'une première étape de couplage du dérivé **50** décrit précédemment faisant suite à la déprotection préliminaire de la résine Rink Amide. Le clivage du groupement Fmoc et le couplage du dérivé diprotégé de la L-lysine **51** permettent d'introduire le précurseur de la croissance dendritique contenant deux fonctions d'ancrage de type amine protégée. Une réaction subséquente de déprotection en présence de pipéridine, suivie de la séquence tandem diazotransfert/chimie click permettent d'obtenir le cluster protégé qui est libéré de la résine au moyen d'une solution de TFA et déprotégé dans les conditions de Zemplén (Schéma 27).

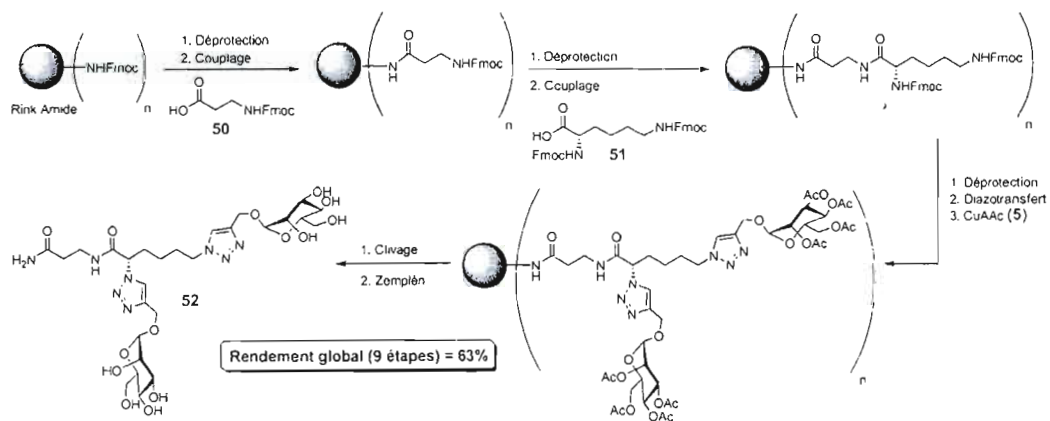


Schéma 27. Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycocluster G(0)52.

Les analogues mannosylés **53**, **54**, et **55** de génération supérieure, comprenant respectivement 4 (G(1)), 8 (G(2)) et 16 épitopes (G(3)) ont été synthétisés selon la même méthodologie, en utilisant la répétition de la séquence déprotection/couplage qui permet d'insérer l'unité répétitive **51** avant la réaction de diazotransfert (Schémas **28**, **29** et **30**).

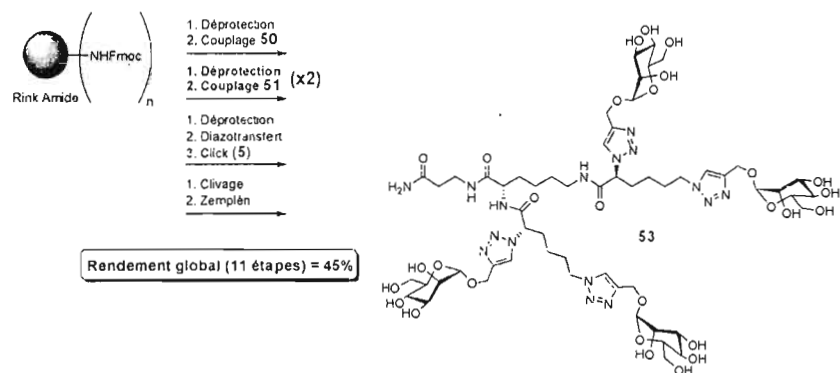


Schéma 28. Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère de poly-L-lysine G(1) 53.

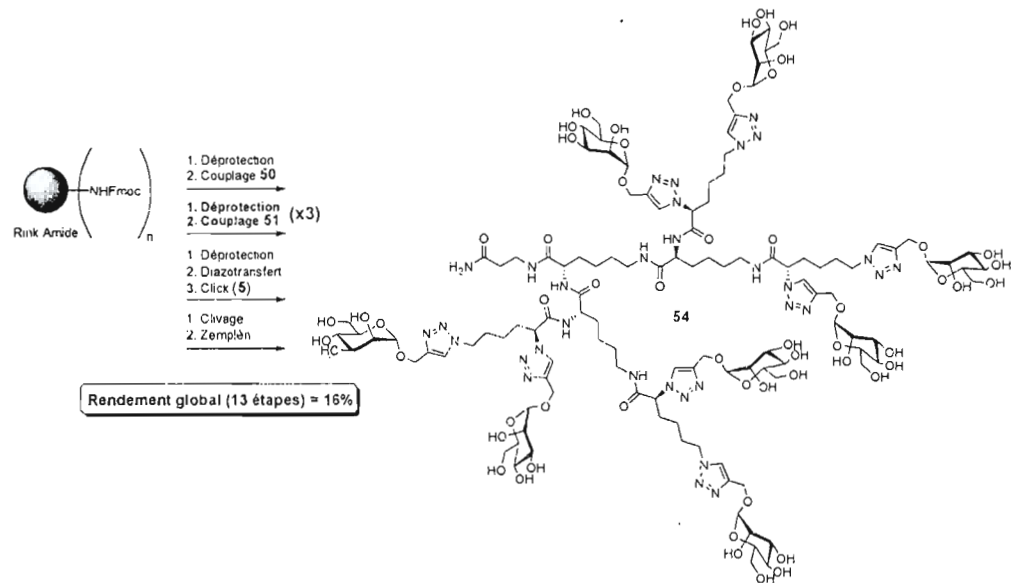


Schéma 29. Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère de poly-L-lysine G(2) 54.



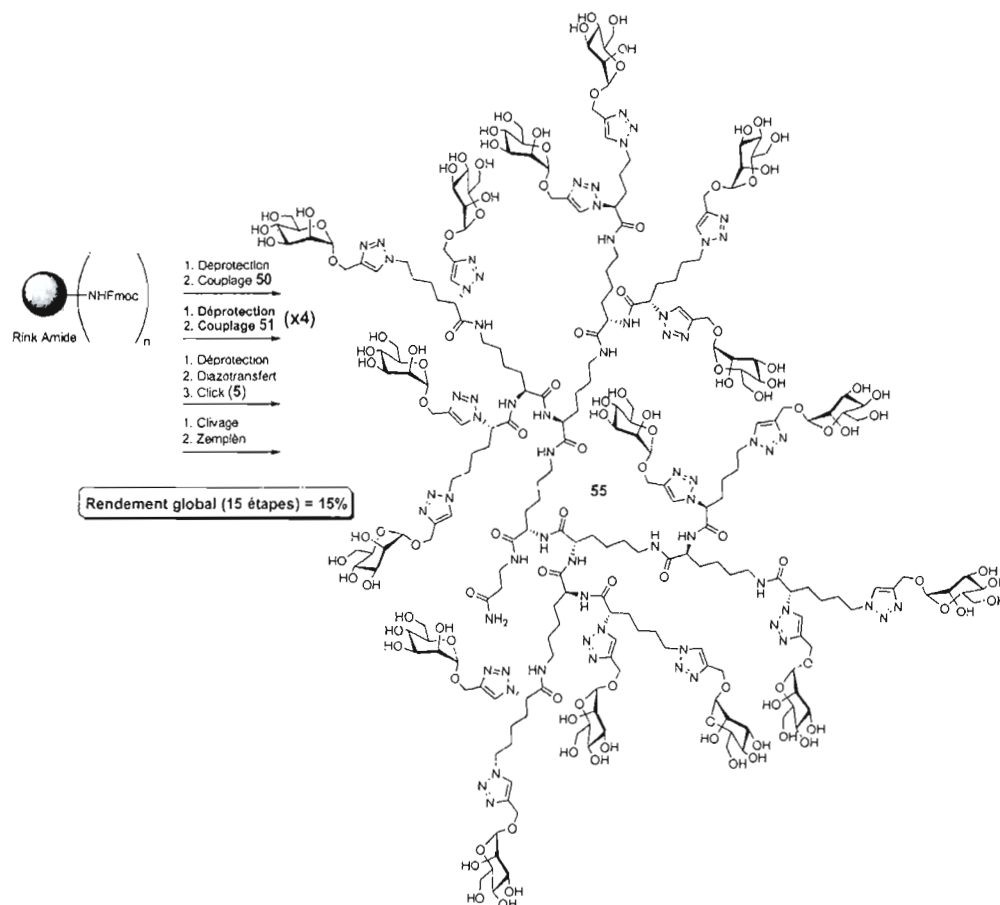


Schéma 30. Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère de poly-L-lysine G(3) 55.

Après lyophilisation des produits finaux, les quatre architectures multivalentes construites autour de poly-L-lysine ont été notamment caractérisées par RMN et spectrométrie de masse à haute résolution. Dans tous les cas, l'analyse RMN  $^1\text{H}$  dans  $\text{D}_2\text{O}$  confirme la symétrie des structures finales et la répétition de certains signaux, bien que moins définis pour les générations supérieures, facilite l'assignation. Ainsi, le signal du proton anomérique à environ 4.90 ppm apparaît sous la forme d'un singulet apparent dans chaque génération, avec une intégration proportionnelle au nombre de protons présents sur les cycles triazoles nouvellement formés aux positions  $\alpha$  et  $\epsilon$  de la lysine (7.90 et 8.20 ppm, respectivement). De même, les signaux relatifs aux protons aliphatiques en positions  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  de la lysine sont conservés entre 1.17 et 2.20 ppm. Quant au proton  $\alpha$  présent sur le motif

lysine comportant le cycle triazole, il donne lieu à un triplet à 5.25 ppm pour le composé **52** alors que deux singulets larges prennent place au même déplacement chimique pour les générations supérieures, signe d'un environnement chimique différent (Figure 67).

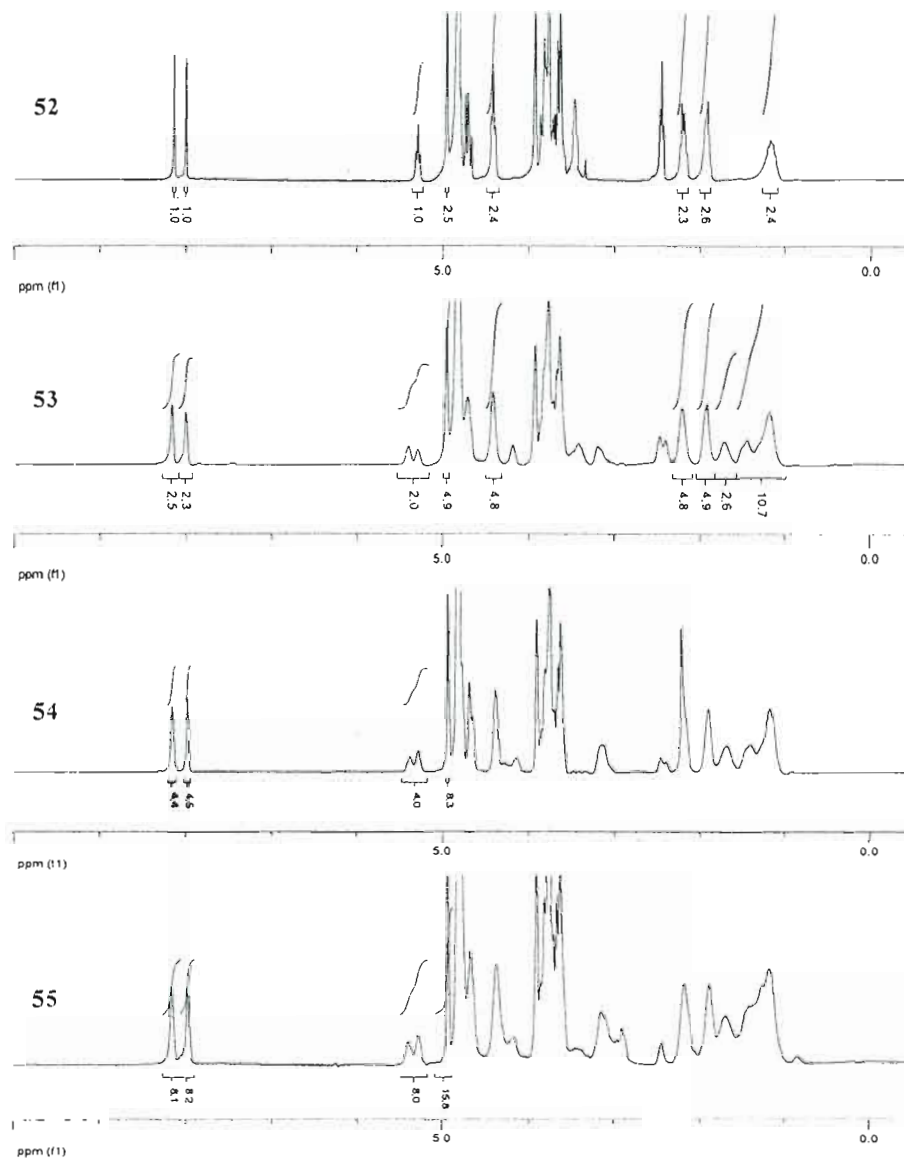


Figure 67. Comparaison des spectres RMN<sup>1</sup>H des composés **52**, **53**, **54** et **55**.

Afin de démontrer l'efficacité de la méthode, les rendements globaux ainsi que ceux calculés pour chaque étape de synthèse sont répertoriés dans le Tableau III.

**Tableau III.** Rendements globaux et par réaction de la synthèse des dendrimères mannosylés de poly-L-lysine **52-55** en SPPS.

<i>Composé (génération)</i>	<i>Nombre d'étapes</i>	<i>Rendements globaux</i>	<i>Rendements par réaction</i>
<b>52</b> (G(0))	9	63%	95%
<b>53</b> (G(1))	11	45%	93%
<b>54</b> (G(2))	13	16%	87%
<b>55</b> (G(3))	15	15%	88%

En comparant le nombre d'étapes requis pour la synthèse de chaque composé, nous pouvons constater que les rendements « partiels » correspondant aux rendements moyens obtenus à chaque réaction ne faiblissent que très peu. En effet, les rendements globaux de 16 et 15% obtenus pour les composés **54** et **55**, synthétisés respectivement en 13 et 15 étapes, représentent tout de même une efficacité moyenne de réaction aux alentours de 90%, quelque soit le type de manipulation effectué.

Afin de désengorger la partie centrale du glycodendrimère et d'augmenter l'accessibilité des mannosides clickés sur la position  $\alpha$  des unités lysine, une stratégie impliquant l'utilisation du dérivé acide 6-azidohexanoïque **56** a été mise en place. La synthèse de ce dérivé à partir du précurseur bromé sera détaillée dans le chapitre 4. Ainsi, l'introduction de ce dérivé aliphatique « allongé » selon un couplage peptidique standard sur les deux positions  $\alpha$  et  $\epsilon$  des unités de lysine terminales, avant l'étape du greffage des unités mannosylées par CuAAc, permettra d'améliorer l'exposition des épitopes et, ainsi, l'accessibilité relative des résidus mannosylés sur chaque position. L'influence de cette extension sur les processus de reconnaissance avec les lectines fera l'objet d'une évaluation lors des tests biologiques en comparaison avec les analogues non étendus présentés auparavant.

La synthèse SPPS de ces dérivés dendritiques **57** (G(1)), **58** (G(2)) et **59** (G(3)), contenant respectivement 4, 8 et 16 résidus mannosides est décrite dans les schémas **31**, **32** et **33**.

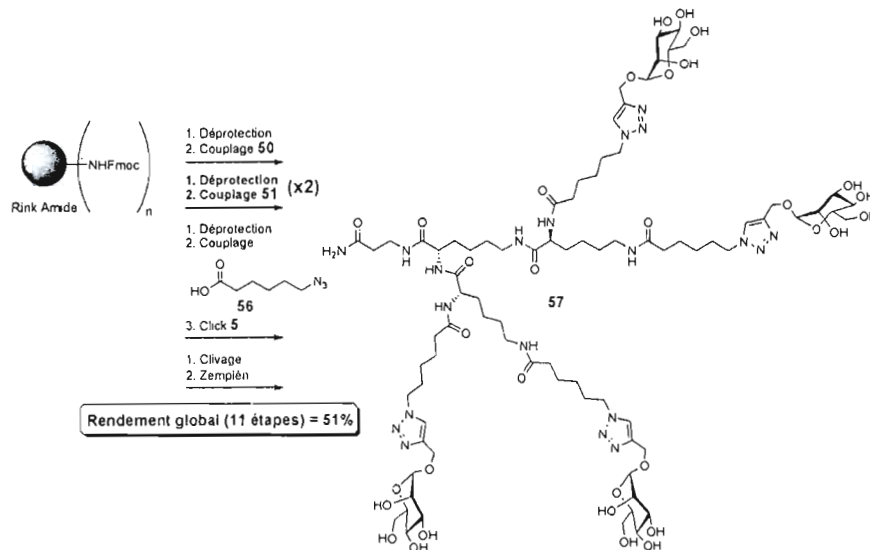


Schéma 31. Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère allongé de poly-L-lysine G(1) **57**.

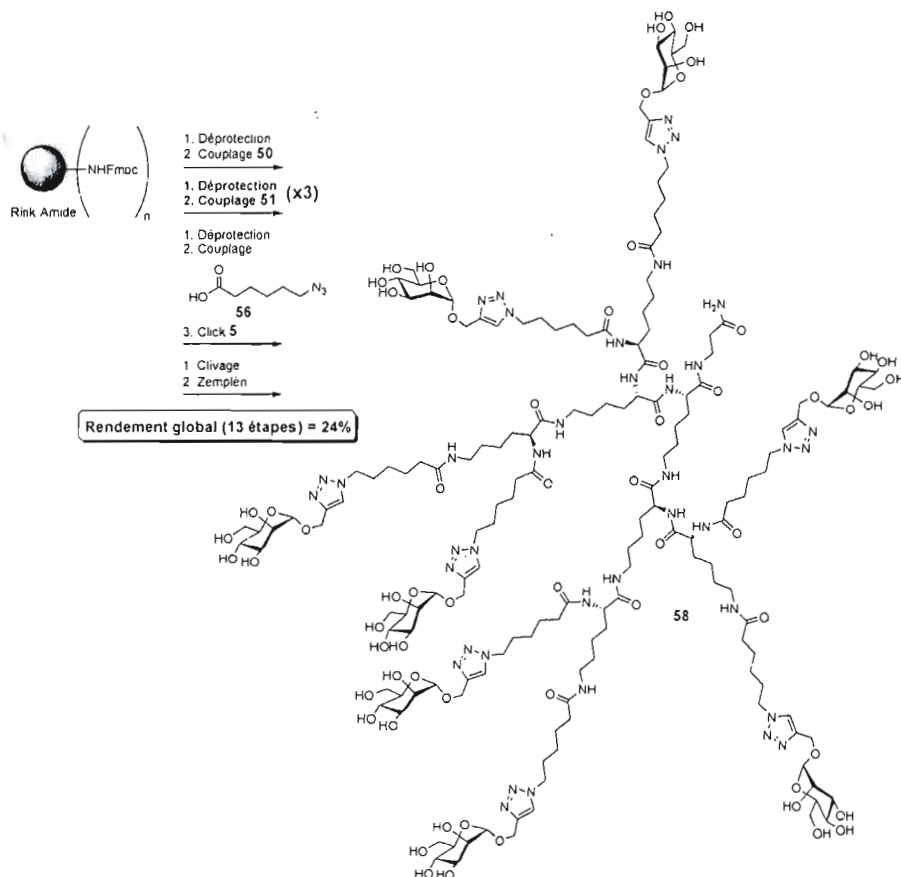


Schéma 32. Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère allongé de poly-L-lysine G(2) 58.

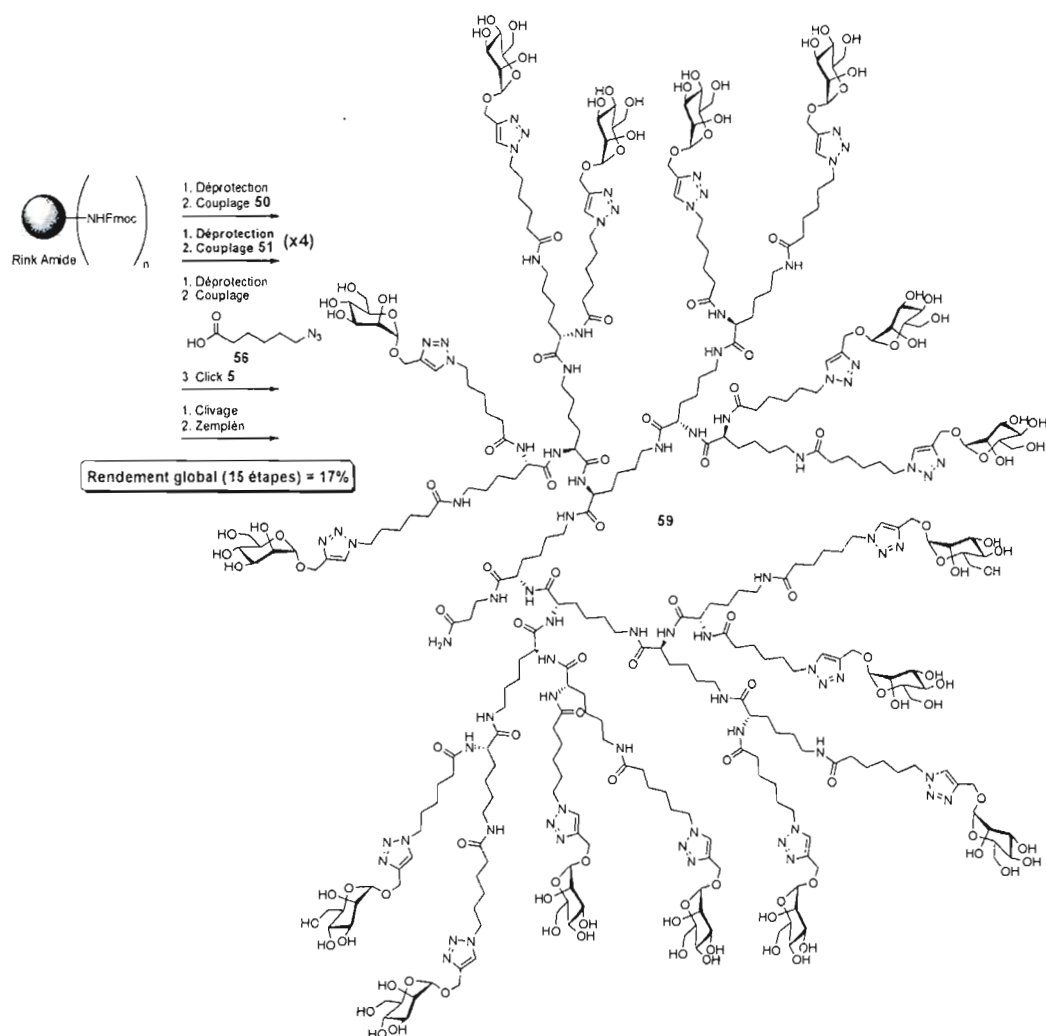


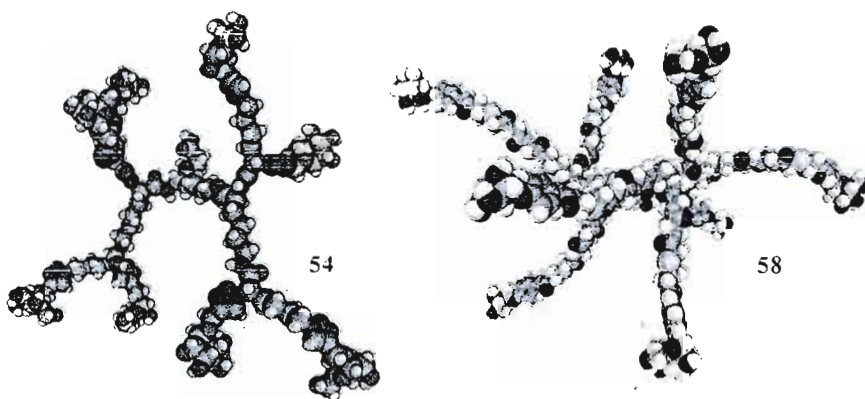
Schéma 33. Séquence réactionnelle en SPPS menant au glycodendrimère allongé de poly-L-lysine G(3) **59**.

Une fois de plus, l'efficacité de la méthode a engendré des rendements moyens supérieurs ou égaux à 90% malgré le nombre élevé d'étapes réactionnelles (Tableau IV).

**Tableau IV.** Rendements globaux et par réaction de la synthèse des dendrimères mannosylés de poly-L-lysine allongés **57-59** en SPPS.

<i>Composé (génération)</i>	<i>Nombre d'étapes</i>	<i>Rendements globaux</i>	<i>Rendements par réaction</i>
<b>57</b> (G(1))	11	51%	94%
<b>58</b> (G(2))	13	24%	90%
<b>59</b> (G(3))	15	17%	89%

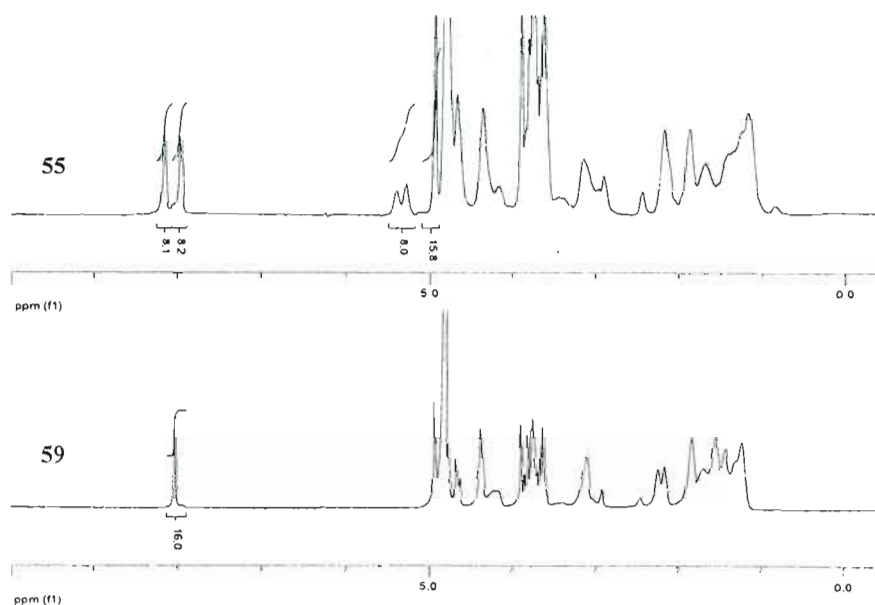
Une modélisation au moyen du logiciel MOE des dendrimères mannosylés analogues **54** et **58**, de deuxième génération et exhibant le même nombre d'épitopes (8) permet de se rendre compte de la différence au niveau de l'exposition des unités saccharidiques lorsque l'unité **56** est incorporée dans les structures (Figure 68).



**Figure 68.** Modélisation des mannodendrimères de poly-L-lysine de deuxième génération **54** et **58**.

Bien que l'aspect général soit similaire, l'introduction de l'espaceur **56** a aussi une incidence sur les spectres RMN  $^1\text{H}$  obtenus dans  $\text{D}_2\text{O}$ . Par exemple, on peut observer la présence d'un seul signal correspondant aux protons des triazoles à 8.05 ppm pour le composé **59** alors que deux signaux distincts étaient observables pour l'analogue **55**. Puisque ces cycles triazoles se retrouvent dans la région externe du dérivé **59**, ceci indique bien que l'environnement périphérique de ce type d'architectures est uniforme et laisse présager une

présentation et donc une reconnaissance sans distinction des épitopes situés sur les positions  $\alpha$  et  $\epsilon$ . On note aussi un blindage du signal correspondant aux protons situés sur la position  $\alpha$  des unités lysine par rapport à ceux obtenus pour **55**, du fait de la présence de fonctions amides (Figure 69).



**Figure 69.** Comparaison des spectres RMN  $^1\text{H}$  dans  $\text{D}_2\text{O}$  des mannodendrimères de troisième génération **55** et **59**.

### 3.4 CONCLUSIONS DU CHAPITRE

Pour conclure, deux familles de mannodendrimères de poly-L-lysine contenant jusqu'à 16 épitopes ont été élaborées efficacement en SPPS. L'adaptation de la synthèse pionnière du Pr. Roy incluant l'utilisation nouvelle des réactions de diazotransfert et de chimie click pour la dérivation et la fonctionnalisation finale des architectures supportées a engendré des réactions multi-étapes à hauts rendements. De plus, malgré le grand nombre d'étapes nécessaires pour atteindre le degré d'embranchement et donc la valence désirés, le temps réactionnel global s'est avéré relativement restreint, de l'ordre de 3 jours pour des séquences d'une dizaine d'étapes. Le respect systématique de chaque cycle de synthèse et de lavage a grandement contribué à l'uniformité et la pureté des structures synthétisées. Toutes les



structures ont été confirmées et entièrement caractérisées par RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, ainsi que par spectroscopie IR et spectrométrie de masse à haute résolution. Les avantages et les inconvénients de l'élaboration de mannodendrimères peptidiques suivant cette méthodologie de synthèse en phase solide seront comparés à ceux de la stratégie classique en phase homogène qui sera présentée dans le chapitre IV.

## CHAPITRE IV

### SYNTHÈSE EN PHASE HOMOGÈNE DE GLYCODENDRIMÈRES MANNOSYLÉS DE POLY-L-LYSINE À PARTIR DU CŒUR TRIS(2-AMINOÉTHYL)AMINE

#### 4.1 INTRODUCTION

Dans ce quatrième chapitre, il sera question de synthèse de mannodendrimères en phase homogène construits autour du cœur trivalent principal tris(2-aminoéthyl)amine. Les dendrimères ont été synthétisés selon une voie divergente avec une fois de plus l'utilisation d'unités L-lysine en tant que motifs branchés pour assurer la multivalence. Différents cœurs dendritiques polyazotures, pouvant être surmontés d'espaceurs aliphatiques dérivés de la  $\beta$ -alanine, de l'acide hexanoïque ou encore de la L-lysine ont été au préalable synthétisés afin d'étudier l'influence de la longueur des chaînes carbonées. Une fois de plus, les réactions-clés ont été le diazotransfert, catalysé par le cuivre pour transformer nos fonctions amines en fonctions azotures, le couplage peptidique pour la confection des scaffolds dendritiques, et la chimie click afin de fonctionnaliser dans l'étape finale les cœurs multivalents avec le 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle **5**. La méthodologie développée a permis l'élaboration efficace de dendrimères mannosylés de L-lysine multi-génération.

#### 4.2 SYNTHÈSE DES GLYCODENDRIMÈRES DE POLY-L-LYSINE EN PHASE HOMOGÈNE

La synthèse des mannodendrimères de poly-L-lysine en phase liquide s'est effectuée selon une stratégie divergente reposant sur la construction au préalable de la partie centrale des architectures multivalentes puis sur le couplage final par chimie click des unités glucidiques périphériques. Ainsi, afin de varier différents paramètres structuraux tels que la valence, la rigidité ou la compaction, différentes unités branchées ou non ont dû être incorporées lors de l'élaboration des échafauds dendritiques polyazotures.

#### 4.2.1. Synthèse des espaceurs de type azoture

Afin d'introduire des espaceurs fonctionnalisés de différentes longueurs sur le cœur tris(2-aminoéthyl)amine **65**, quelques transformations permettant l'installation des fonctions azotures désirées sont nécessaires. Dans ce contexte, ces dernières ont été installées par substitution nucléophile en présence de NaN<sub>3</sub> dans l'eau sur l'acide 3-bromopropionique **60** et l'acide 6-bromohexanoïque **62** (Schéma 34) commerciaux.

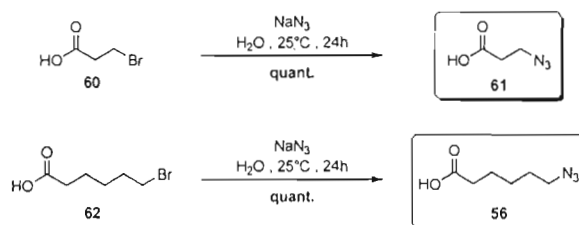


Schéma 34. Synthèse de l'acide 3-azidopropionique **61** et de l'acide 6-azidohexanoïque **56**.

Ainsi, les dérivés azotures de la  $\beta$ -alanine **61** et l'analogue allongé **56** déjà rencontrés dans le chapitre précédent ont pu être isolés quantitativement par simple acidification du milieu réactionnel avec HCl concentré et extraction par le DCM.

Le dérivé bis azoture de la L-lysine **64** a été obtenu à partir du sel hydrochlorure de la L-lysine **63** suivant une réaction de diazotransfert dans les conditions classiques décrites dans les chapitres précédents (Schéma 35).

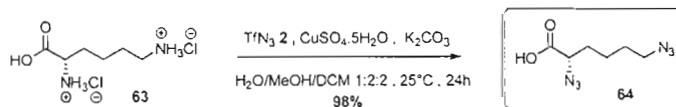


Schéma 35. Synthèse du dérivé azoture de la L-lysine **64**.

Afin de générer le composé **64** selon d'autres conditions expérimentales, une seconde méthodologie impliquant l'utilisation de l'azoture imidazole-1-sulfonyle comme agent de

transfert en lieu et place du triflate d'azoture **2** a été utilisée. Le développement et l'utilisation de ce réactif ont récemment été proposés par le groupe de Stick afin de proposer une alternative plus pratique, stable et moins « dangereuse » comparé à l'emploi d'une solution de  $TfN_3$ .<sup>320</sup> Malheureusement, en raison de la nécessité de purifier par colonne de chromatographie ce réactif ainsi que les composés synthétisés, associée à une chute des rendements, cette procédure n'a pas été réitérée.

Les dérivés azotures **56**, **61** et **64** ont été entièrement caractérisés selon les techniques usuelles incluant l'IR et la spectrométrie de masse à haute résolution et la RMN. La complétion des réactions a été vérifiée avec le déplacement chimique des signaux du groupement méthylène en  $\alpha$  de la fonction azoture, différent en présence du Br initial. Plus particulièrement, le proton situé en  $\alpha$  sur le dérivé **64** est caractérisé par un doublet dédoublé à 4.00 ppm, tandis qu'un triplet à 3.27 ppm correspond aux protons sur le  $CH_2$  en  $\epsilon$  (Figure 70).

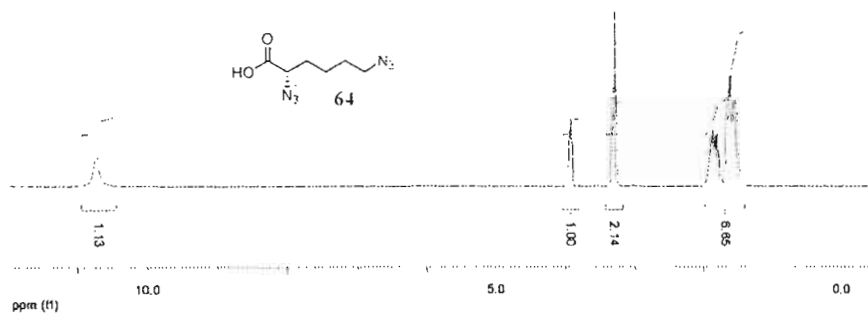


Figure 70. Spectre RMN  $^1H$  dans le  $CDCl_3$  obtenu pour le composé diazoture **64**.

#### 4.2.2. Synthèse des cœurs dendritiques polyazotures

Quatre types de cœurs dendritiques, contenant ou non des espaceurs, construits autour du dérivé tris(2-aminoéthyl)amine **65** ont été synthétisés suivant des stratégies différentes. Dans un premier temps, une triple réaction de diazotransfert sur le cœur triaminé **65** dans les

<sup>320</sup> Goddard-Borger, E. D.; Stick R. V. An efficient, inexpensive and shelf-stable diazotransfer reagent: imidazole-1-sulfonyl azide hydrochloride. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797-3800.

conditions optimisées a permis la synthèse du premier cœur triazoture **66** avec un rendement de 93%. Il est toutefois à signaler qu'un traitement différent a dû être effectué car la présence de la fonction amine tertiaire centrale ne permet pas l'utilisation des conditions d'acidification classique du milieu réactionnel pour une isolation avec un rendement satisfaisant. Ainsi, la phase aqueuse a été basifiée (pH = 11) avec une solution de NaOH 3M puis extraite avec du DCM pour pouvoir isoler le composé désiré. Les cœurs tri- et hexavalents **67** et **68** ont été obtenus selon un protocole classique de couplage peptidique en présence des acides carboxyliques **61** et **64**, respectivement, dans le DMF durant 12 heures. Les rendements obtenus oscillaient entre 86 et 91% (Schéma 36). En revanche, le cœur trivalent allongé **71** n'a pu être isolé dans ces conditions. En effet, en dépit de plusieurs tentatives de purification par chromatographie sur colonne, une quantité importante d'hexaméthyle phosphoramidate (HMPA), produit lors de la réaction de couplage et possédant une polarité similaire à celle du composé désiré, demeurait et affectait la pureté de ce dernier. L'utilisation de différents agents de couplage de type HBTU ou TBTU a conduit aux mêmes résultats. L'utilisation du pentafluorophénol **69**, en présence de DCC et d'HOBt dans le DCM a permis de générer le dérivé ester actif du composé **56** avec un rendement de 80%. Ainsi, l'ester **70** nouvellement formé a été le précurseur du cœur trivalent étendu **71** désiré avec la simple utilisation d'une base de type DIPEA.

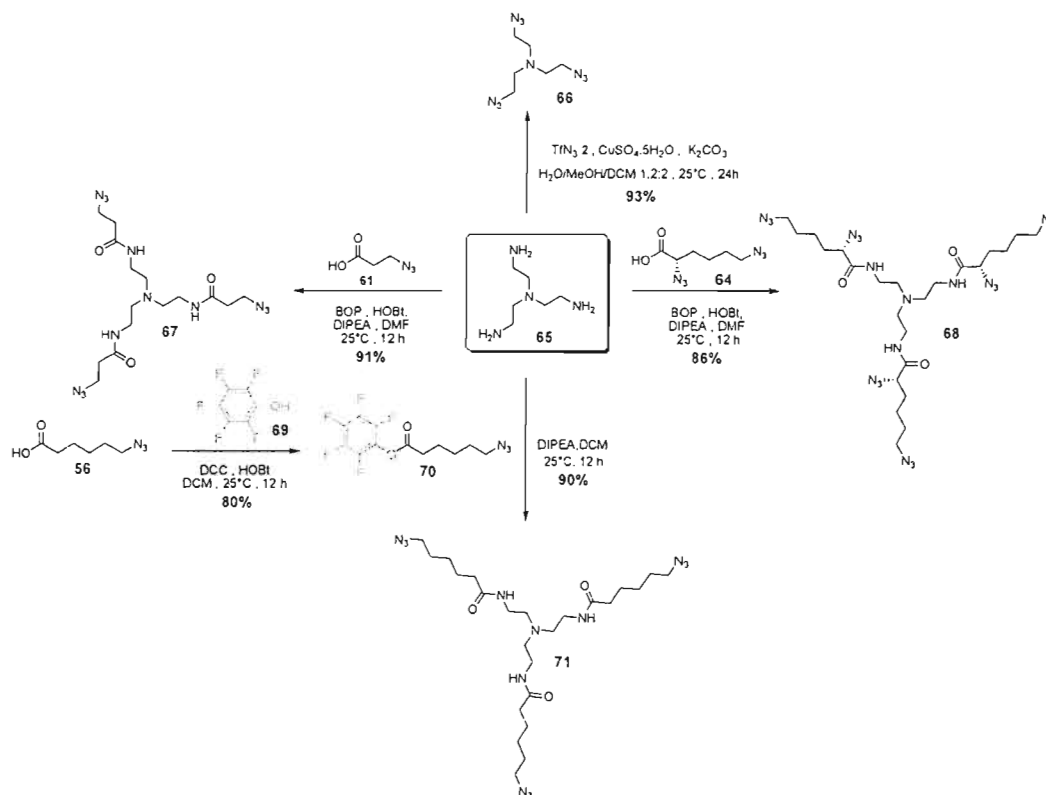


Schéma 36. Synthèse des cœurs dendritiques polyazotures 66, 67, 68 et 71 à partir de 65.

Étant donnée la symétrie  $C_3$  de ces composés, leur caractérisation par RMN est facilitée par le faible nombre de signaux et la proportionalité des intégrations.

#### 4.2.3. Synthèse des glycoclusters mannosylés

À partir de ces cœurs multivalents, quatre glycoclusters mannosylés ont pu être obtenus grâce à l'utilisation de la chimie click en présence du dérivé alcyne 5. Dans ce contexte, les macromolécules acétylées trivalentes 72, 74, 76 et hexavalentes 78 ont été synthétisés avec des rendements supérieurs à 90% dans tous les cas (Schéma 37).

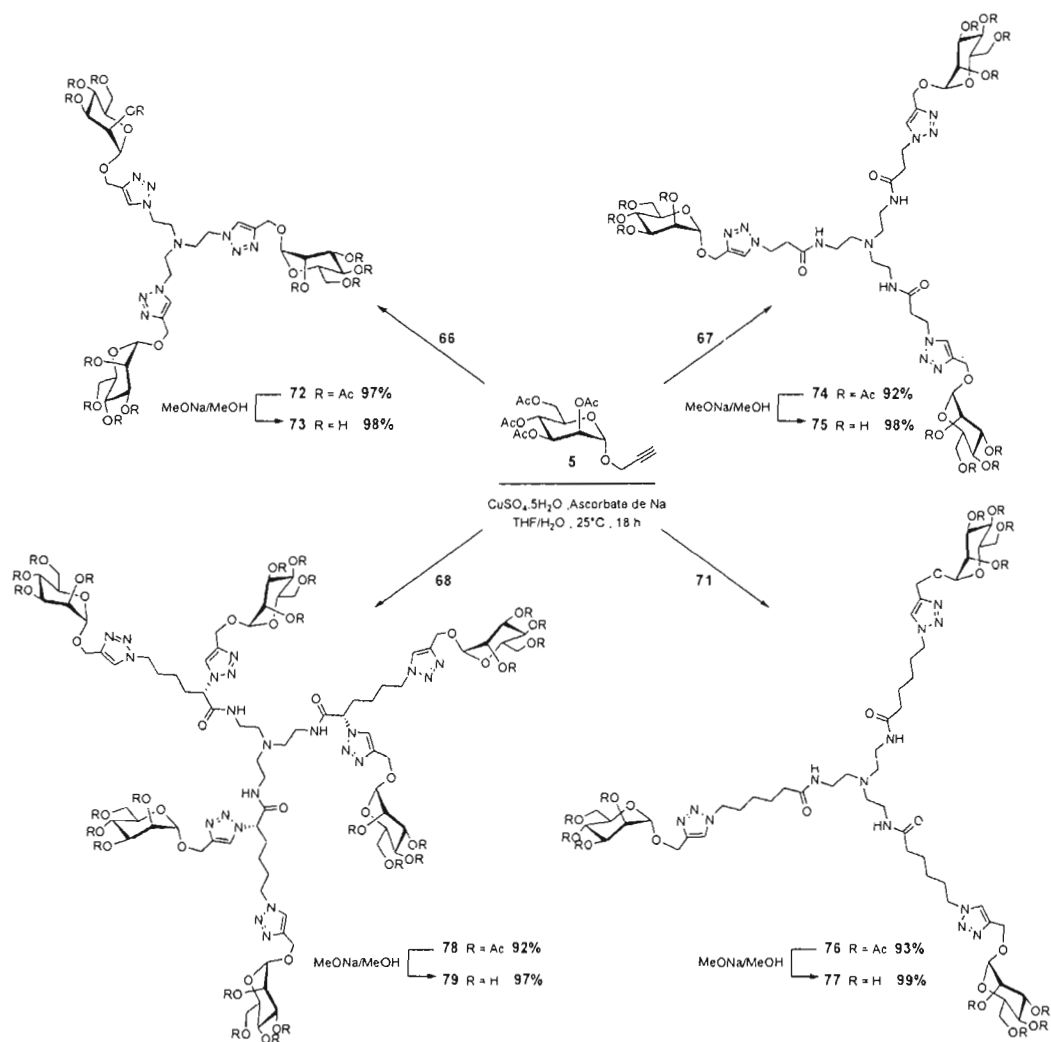
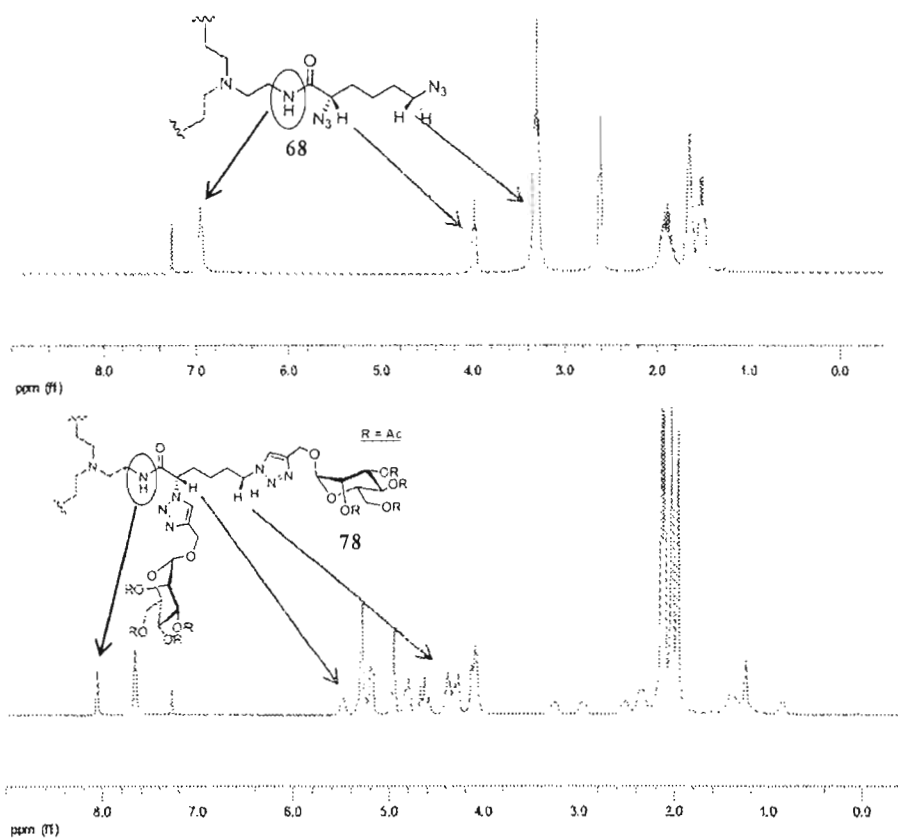


Schéma 37. Synthèse des glycoclusters mannosylés 73, 75, 77 et 79.

L'analyse par RMN  $^1\text{H}$  permet de rendre compte de l'efficacité de la séquence avec, par exemple, la disparition des signaux distincts des protons situés sur les groupements méthylènes en  $\alpha$  des fonctions azotures sur les positions  $\alpha$  et  $\epsilon$  du composé **68**. Un déblindage supérieur à 1 ppm des deux signaux est observable lors de l'analyse du dérivé **78** par rapport aux déplacements chimiques obtenus pour le cœur **68**, dû à la formation du cycle triazole (Figure 71). On observe de plus un déblindage du proton de la fonction amide de 6.9 ppm à 8.0 ppm et l'apparition des protons du groupement triazole à 7.6 ppm. Les signaux

correspondant aux deux atomes de carbone présents sur les cycles triazoles sont de même observables en RMN  $^{13}\text{C}$  à 124 et 140 ppm.



**Figure 71.** Comparaison des spectres RMN  $^1\text{H}$  dans  $\text{CDCl}_3$  du cœur dendritique 68 et du glycluster mannosylé acétylé correspondant 78.

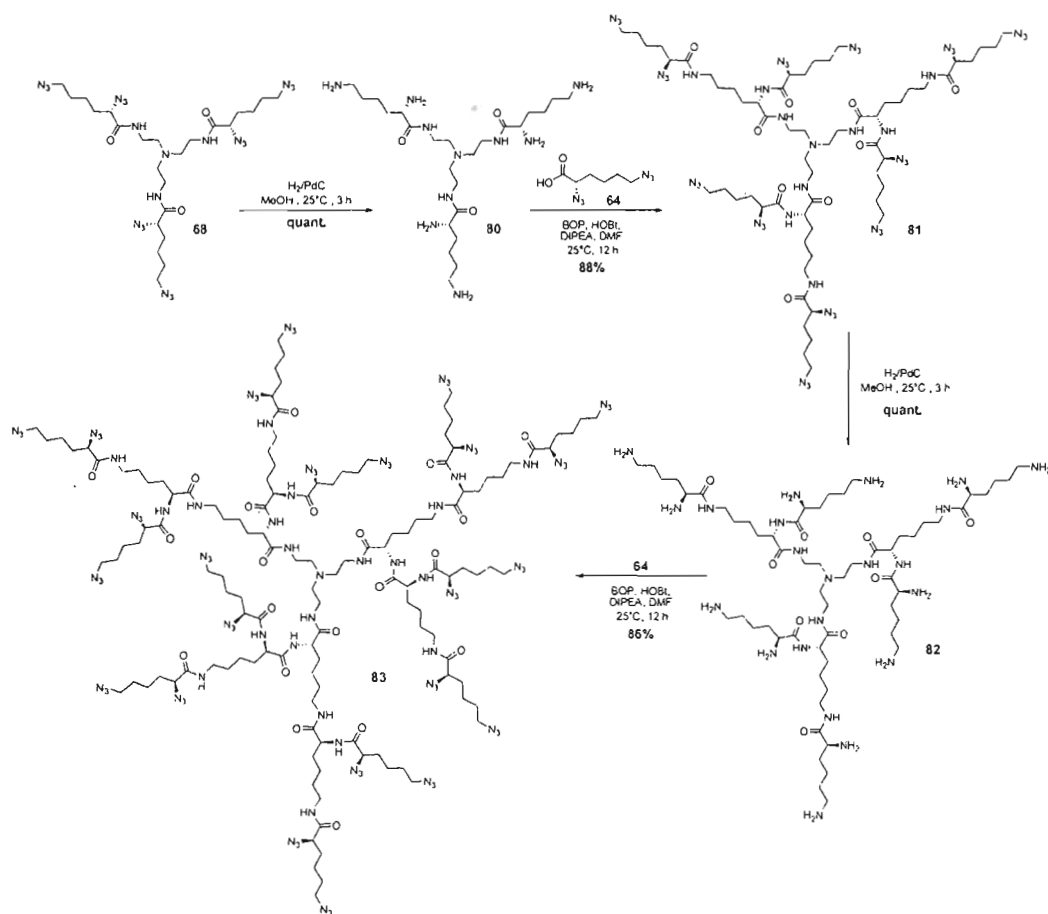
De plus, une analyse par spectroscopie IR des glyclusters acétylés a également confirmé l'efficacité des couplages avec l'absence de la bande caractéristique des fonctions azotures à  $2100\text{ cm}^{-1}$ .

Les réactions de dé-*O*-acétylation dans les conditions classiques de Zemplén dans le MeOH ont permis d'isoler avec d'excellents rendements les glyclusters mannosylés entièrement hydrosolubles 73, 75, 77 et 79 (Schéma 37).



#### 4.2.4. Synthèse des mannodendrimères à base de poly-L-lysine

Afin d'accéder aux structures dendritiques de générations supérieures, c'est-à-dire contenant une répétition des motifs branchés, le cœur de L-lysine **68** a été utilisé. À l'instar de la stratégie développée lors de la synthèse des mannodendrimères en SPPS présentée dans le troisième chapitre, l'installation de plusieurs niveaux d'unités L-lysine par couplage peptidique a été envisagée. Pour ce faire, la stratégie employée pour une croissance dendritique contrôlée a été basée sur la transformation quantitative des fonctions azotures terminales en fonctions amines primaires au moyen d'une hydrogénation catalytique en présence de palladium sur charbon pour conduire au cœur polyaminé **80**. Une multiple réaction de couplage peptidique dans les conditions standard en présence du dérivé **64** a conduit à l'analogue de génération supérieure **81** qui représente un précurseur de première génération pour la synthèse de glycodendrimères dodécavalents. La présence des fonctions azotures pré-installées a aussi permis d'envisager un second cycle basé sur une séquence hydrogénation/couplage peptidique pour la formation du cœur dendritique de deuxième génération **83** contenant 24 fonctions périphériques actives. Il est à signaler que malgré le nombre important de réactions de couplage peptidique sur le composé dodécaaminé **82**, les rendements demeurent excellents (Schéma 38).



**Schéma 38.** Synthèse des cœurs dendritiques polyazotures de première (81) et deuxième (83) génération.

À partir de ces cœurs poly-L-lysine multivalents, les mannodendrimères de génération correspondante ont été synthétisés selon la chimie click en présence du mannoside **5**. Ainsi, le dendrimère acétylé de première génération **84** contenant 12 épitopes a été isolé avec un rendement de 88% puis désacétylé dans des conditions classiques de Zemplén pour fournir le composé hydroxylé **85** (Schéma 39).

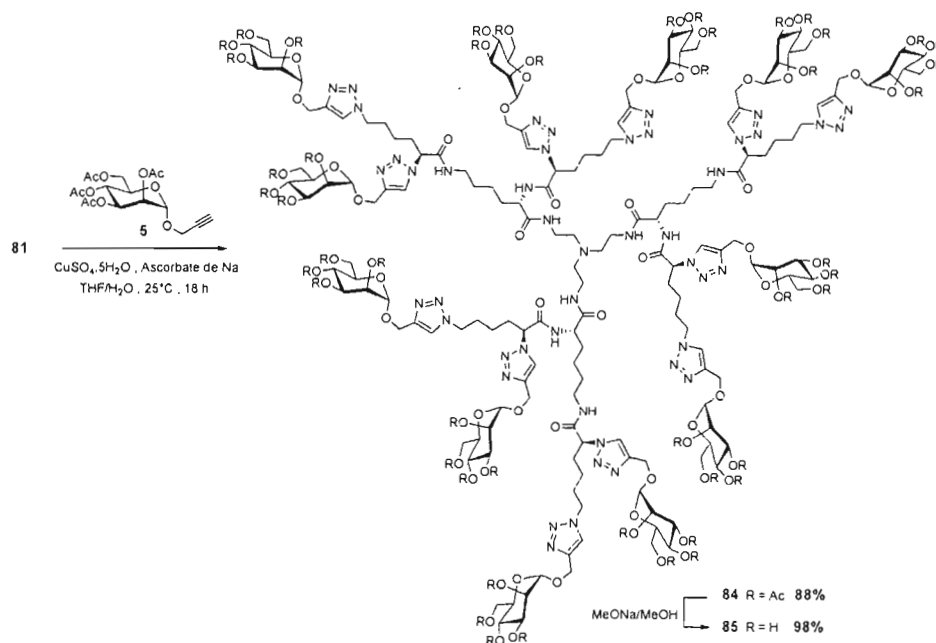


Schéma 39. Synthèse du mannodendrimère de poly-L-lysine de première génération **85** contenant 12 épitopes.

En revanche, l'analogue acétylé de seconde génération n'a pu être isolé convenablement en raison de problèmes de solubilité. L'étape de déprotection a donc été engagée directement, suivie d'une purification finale par dialyse contre de l'eau nanopure afin d'éliminer les produits indésirables de faibles masses moléculaires (<1500 g/mol). Le produit déprotégé **86** densément fonctionnalisé contenant 24 épitopes a donc pu être obtenu avec un rendement sur deux étapes de 85% (Schéma 40). Les deux mannodendrimères **84** et **86**, hautement hydrosolubles, ont été entièrement caractérisés par les analyses conventionnelles.

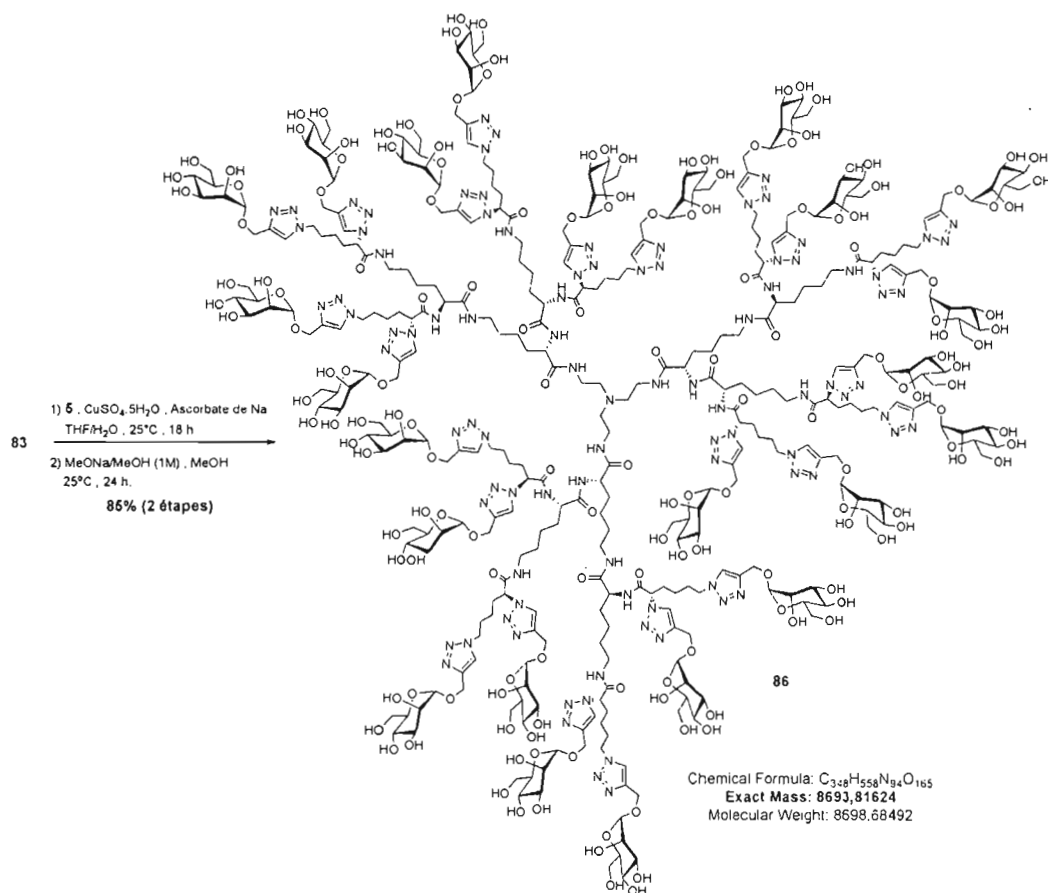


Schéma 40. Synthèse du mannodendrimère de poly-L-lysine de deuxième génération 86 contenant 24 épitopes.

L'analyse par spectrométrie de masse à haute résolution a notamment généré des résultats spectaculaires pour la structure de deuxième génération 86 avec une parfaite correspondance du signal de l'adduit tétrachargé  $[\text{M}+4\text{H}]^{4+}$  avec le patron théorique (Figure 72).

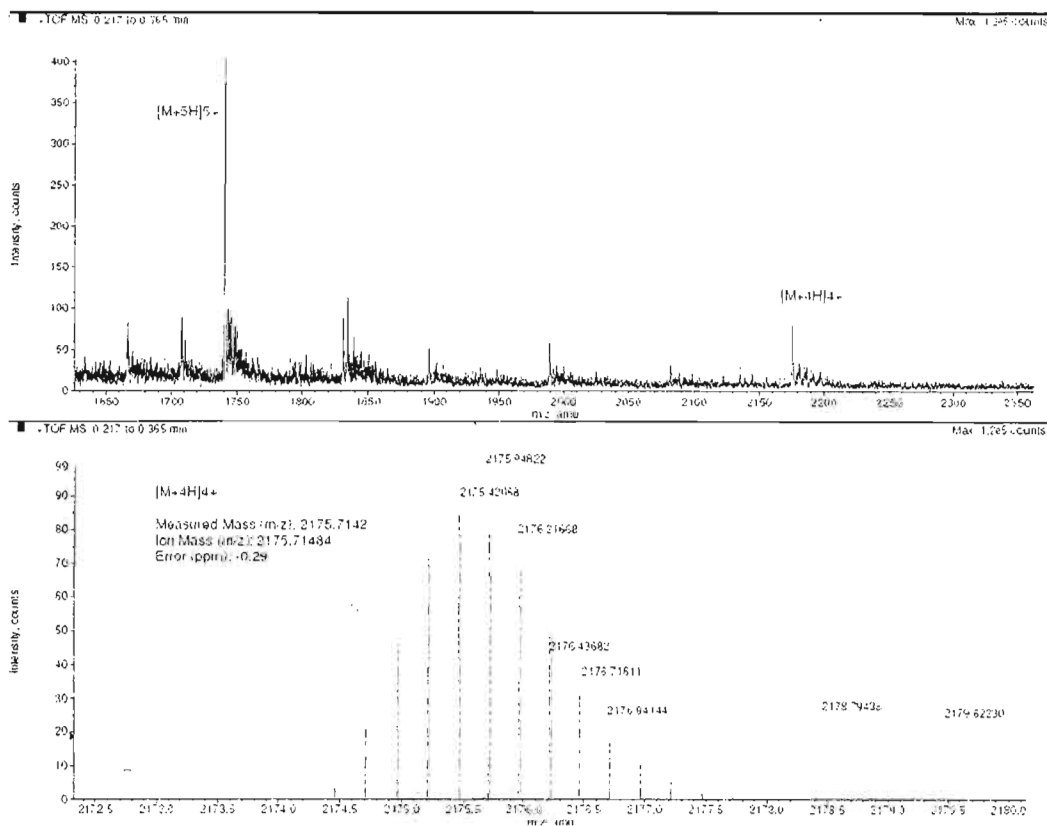


Figure 72. Spectre de masse à haute résolution obtenu pour le glycodendrimer 86.

#### 4.2.5. Synthèse de glycoclusters à base de poly-L-lysine modifiée

D'une façon similaire à la stratégie de désengorgement des positions  $\alpha$  des motifs L-lysine utilisée lors de la synthèse des mannodendrimères en SPPS afin d'améliorer l'accessibilité des épitopes qui y sont greffés, le système poly-L-lysine a été légèrement modifié. Dans ce contexte, le dérivé protégé de la  $\beta$ -alanine **88**, appelé Z- $\beta$ -alanine, a été couplé sur la position libre  $N_\alpha$  d'un dérivé commercial ester méthylique de L-lysine comportant le groupement protecteur carbamate de benzyle (Cbz ou Z) sur le  $N_\epsilon$ . De façon intéressante, le fait d'intégrer ce type d'espaceur permet la synthèse du dérivé diprotégé **89**, quasi-symétrique dans le sens où les fonctions azotures équivalentes sont séparées de 4 atomes et donc équidistantes par rapport à l'atome de carbone  $\alpha$ . Ce dernier, obtenu avec un rendement de 86%, a ensuite été saponifié afin de générer la fonction acide carboxylique

nécessaire, puis hydrogénélysé quantitativement pour libérer les fonctions amines terminales. Une réaction de diazotransfert a ensuite permis la transformation de ces dernières en azotures pour générer le composé bifonctionnel orthogonal **91** avec un rendement de 91% après purification sur colonne de chromatographie. Une étape de couplage peptidique subséquente en présence du cœur tris(2-aminoéthyl)amine **65** dans les conditions optimisées a conduit avec un rendement de 80%, au cœur hexavalent « symétrique » **92**, analogue en terme de valence au composé **68** décrit plus haut (Schéma 41).

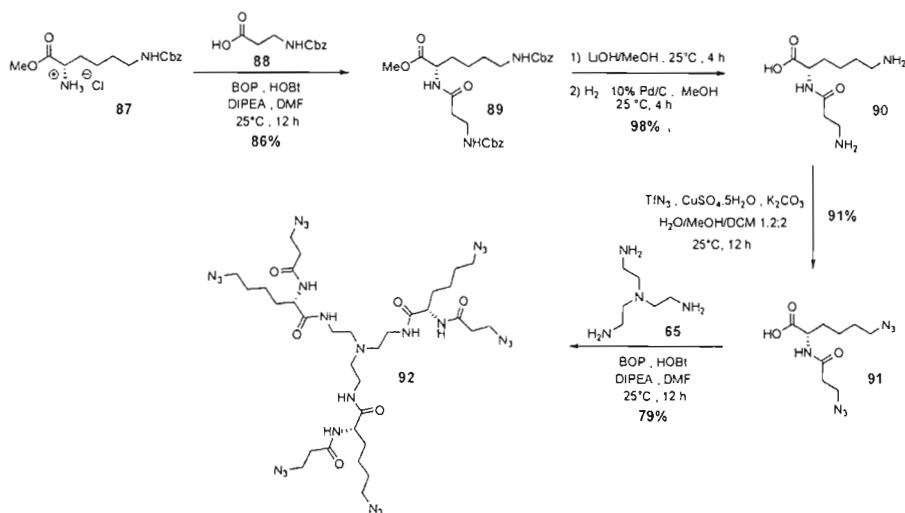


Schéma 41. Synthèse du cœur "symétrique" hexavalent **92**.

Enfin, l'introduction des unités mannosylées en périphérie par chimie click en présence du dérivé propargylé **5** avec un rendement de 91%, suivie d'une déprotection standard des fonctions acétates a permis d'obtenir le glycocluster mannosylé hexavalent **94** (Schéma 42).

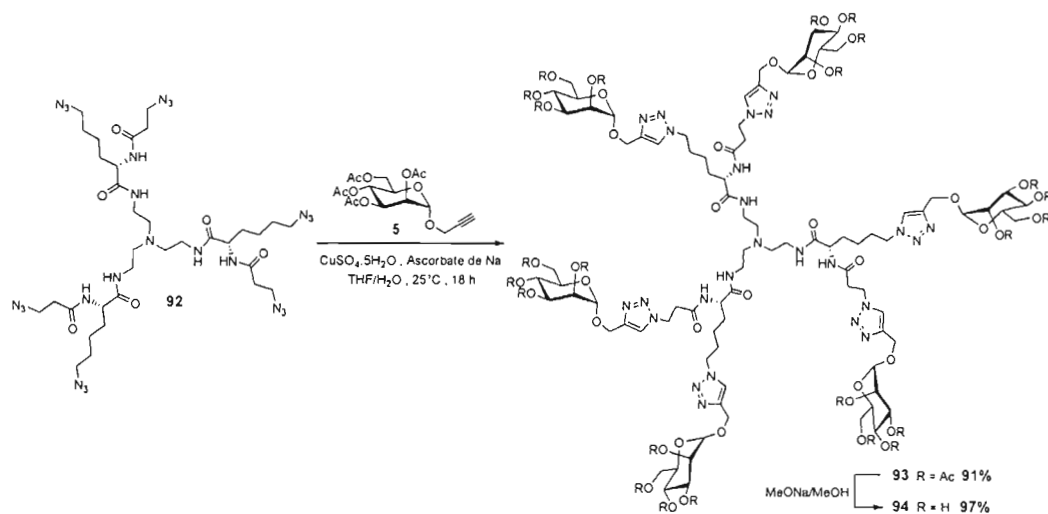
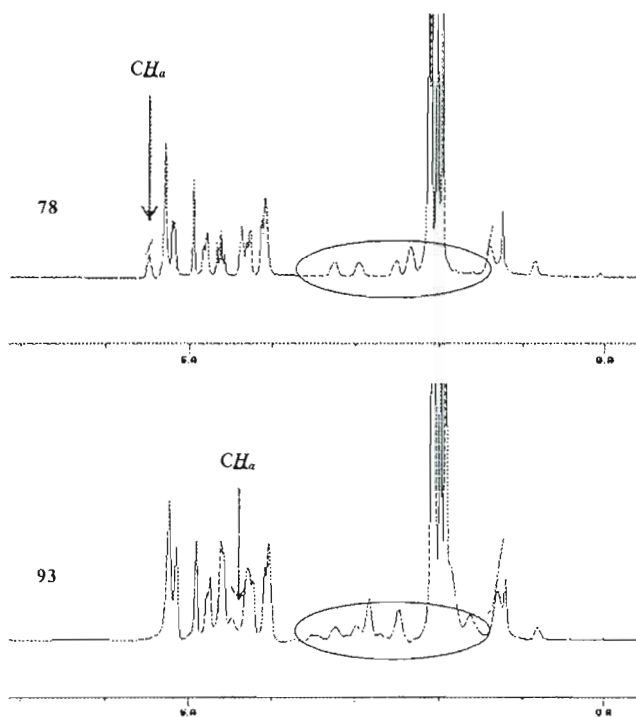


Schéma 42. Synthèse du glycocluster mannosylé hexavalent 94.

Une fois de plus, la caractérisation complète de cette structure finale a été réalisée. Des différences notables dans le spectre RMN<sup>1</sup>H du dérivé acétylé ont pu être enregistrées par rapport à celui de l'analogue hexavalent 78 au niveau des signaux relatifs aux protons de la position  $\alpha$  de la lysine. En effet, l'introduction de l'espaceur  $\beta$ -alanine a eu pour conséquence la présence d'une fonction amide sur cette position, responsable du blindage du proton vers 4.6 ppm alors qu'on observe un déplacement chimique vers 5.5 ppm avec le groupement triazole (Figure 72). De plus, on note la présence de signaux additionnels entre 1.5 et 4.0 ppm, relatifs aux protons aliphatiques de l'espaceur.



**Figure 73.** Comparaison des spectres RMN  $^1\text{H}$  dans  $\text{CDCl}_3$  obtenus pour les glycoclusters analogues hexavalents **78** et **93**.

L'influence de l'introduction d'un espaceur permettant la présentation périphérique des unités glucidiques connectées à partir de la position  $\alpha$  des unités L-lysine sera directement évaluée lors des investigations biologiques présentées dans le chapitre VI.

#### 4.3 CONCLUSIONS DU CHAPITRE

La synthèse des mannodendrimères par couplage peptidique en phase homogène avec le cœur central tris(2-aminoéthyl)amine s'est révélée très efficace, et ce quelque soit la génération. La majorité des réactions engagées telles que couplages peptidiques, le diazotransfert et la CuAAC ont engendré des rendements supérieurs à 80% et certains composés précurseurs ont pu être obtenus avec une pureté satisfaisante sans avoir à utiliser la chromatographie sur colonne. En cas de difficultés avec les protocoles traditionnels, des stratégies alternatives efficaces ont été mises en place et adaptées avantageusement à nos



séquences. Comparativement à la méthodologie SPPS, les temps de réaction se sont avérés plus longs et des étapes de purification classiques par chromatographie sur colonne ont quelquefois été nécessaires pour les composés fonctionnalisés. En revanche, cette stratégie parallèle en phase homogène a permis d'élargir la famille des mannodendrimères peptidiques initiée dans le chapitre III. L'utilisation d'espaceurs différents et l'accès à des structures possédant une région interne diversement fonctionnalisée offrent une diversité structurale appréciable dans le cadre d'une étude préliminaire structure-activité vis-à-vis des lectines étudiées et *E. coli* pathogène plus particulièrement. Enfin, il est intéressant de souligner que les cœurs dendritiques azotures présentés dans ce chapitre ont également servi pour la présentation multivalente de glucides de type galactosides, lactosides et fucosides afin d'élaborer des anti-adhésines potentielles des lectines PA-IL et PA-IIL, reconnues pour être des facteurs de virulence développés par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant, ces travaux sortent du cadre de ce présent mémoire et ne seront donc pas exposés.

## CHAPITRE V

### SYNTHÈSE DE MANNODENDRIMÈRES À PARTIR D'UN COEUR AROMATIQUE TRIVALENT

#### 5.1 INTRODUCTION

Afin de construire une grande variété d'architectures mannodendritiques dans le but de déterminer les paramètres induisant les meilleures propriétés inhibitrices vis-à-vis de *E. coli* uropathogène, certains éléments structuraux intégrant la région centrale des architectures ont fait l'objet de variations. Suite à l'utilisation fructueuse de cœurs multivalents aliphatiques dérivés du pentaérythritol et du tris(2-aminoéthyl)amine, présentés précédemment, l'objet du travail présenté dans ce cinquième chapitre concerne l'élaboration de glycoclusters et de glycodendrimères autour des dérivés aromatiques de l'acide trimésique. Ce cœur trivalent, contenant trois fonctions carbonyles réactives sur les positions 1,3,5 d'un cycle benzénique, permettra l'embranchement de trois unités branchées ou fonctionnalisées, tout comme les dérivés du tris(2-aminoéthyl)amine. En revanche, du fait de la nature de ce cœur et des fonctionnalités chimiques présentes, le mode de couplage des unités dendritiques glucidiques sera adapté et la géométrie, la valence et par conséquent la présentation des épitopes seront différentes de celles observées pour les structures bâties autour de dérivés aliphatiques. La méthodologie permettant de générer une croissance dendritique contrôlée et l'insertion des unités glucidiques de façon covalente au sein des échafauds polyazotures ou polypropargylés s'appuiera sur des réactions de couplage peptidique classique et la chimie click. Afin de moduler la flexibilité des structures, des bras espaceurs linéaires fonctionnalisés seront utilisés. De plus, dans le but d'augmenter le nombre d'épitopes, des unités branchées de type AB<sub>2</sub> ou AB<sub>3</sub>, commercialement disponibles ou synthétisées au laboratoire, seront incorporées. La synthèse de mannodendrimères de première génération contenant 27 unités mannosides en périphérie sera de même décrite.

## 5.2 SYNTHÈSE DES CLUSTERS ET DES DENDRIMÈRES MANNOSYLÉS

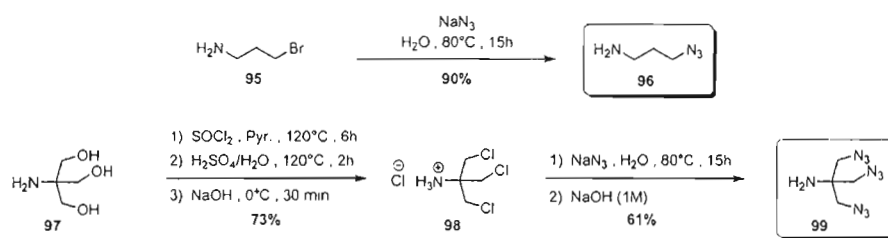
La synthèse des glycoclusters par voie divergente implique tout d'abord la préparation de cœurs multivalents polyazotures ou polypropargylés construits autour de l'acide trimésique puis le couplage final du dérivé mannoside contenant la fonction complémentaire. Une stratégie différente a été adaptée pour la synthèse des glycodendrimères de première génération contenant une répétition des motifs de type AB<sub>3</sub> puisqu'une croissance dendritique par voie accélérée impliquant le couplage entre un cœur hyperbranché et un dendron pré-synthétisé a été privilégiée.

### 5.2.1. Synthèse des cœurs aromatiques polyazotures

Idéalement, l'absence de groupements protecteurs lors de la séquence est souhaitée pour une synthèse efficace et directe des composés multivalents. La présence de fonctions orthogonales sur les bras espaceurs a permis leur élaboration rapide. En effet, afin de pouvoir les coupler efficacement sur le dérivé chlorure de l'acide trimésique disponible commercialement, les différents espaceurs bifonctionnels contiennent d'une part une fonction d'ancrage de type amine, et d'autre part une fonction azoture non réactive dans la première étape mais utilisée lors du couplage des hydrates de carbone.

Dans ce contexte, un dérivé azoture de la propylamine a été préalablement synthétisé à partir de la 3-bromopropylamine **95** dans des conditions de substitution nucléophile dans l'eau à 80°C en présence d'azoture de sodium. Une simple basification du mélange réactionnel avec une solution de NaOH 3M, suivie d'une extraction au moyen d'éther diéthylique, a permis d'isoler le composé désiré **96** dans un rendement de 90% (Schéma 43). Il est à noter que le caractère volatil de ce composé impose une évaporation lente en gardant l'eau du bain de l'évaporateur rotatif à 4°C. De plus, les azotures organiques de faible masse moléculaire sont reconnus pour être explosifs et tout chauffage lors des étapes de purification

est contre-indiqué.<sup>321</sup> La synthèse du système AB<sub>3</sub> contenant une fonction d'ancrage de type amine ainsi que trois fonctions azotures a été effectuée à partir du composé commercial tris(hydroxyméthyl)aminométhane (TRIS) **97** selon une procédure multi-étapes décrite par le groupe de Dailey.<sup>322</sup> Dans un premier temps, les fonctions hydroxyles ont été transformées en fonctions chlorures nucléofuges en présence de chlorure de thionyle dans la pyridine à 120°C puis selon un traitement avec de l'acide sulfurique concentré à reflux. Le mélange réactionnel est ensuite basifié au moyen d'une solution de NaOH (pH ~ 13) puis extrait avec du DCM. Après séchage sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtration et évaporation de la phase organique, le résidu a été redissous dans de l'éther diéthylique. Une solution de HCl (2.0M dans l'éther diéthylique) a ensuite été additionnée à cette solution pour précipiter le sel formé **98** qui a été filtré et isolé avec un rendement de 73%, comparable à celui obtenu dans la littérature. Cet intermédiaire a ensuite été dissous dans de l'eau puis traité avec de l'azoture de sodium à reflux. En fin de réaction, une solution aqueuse de NaOH 1M a été rajoutée au milieu pour neutraliser toute trace d'acide. Une extraction avec de l'hexane et de l'éther diéthylique, suivie d'une purification par chromatographie sur colonne, a conduit au dérivé triazoture désiré **99** avec un rendement de 61% (Schéma 43). Les précautions de manipulation identiques à celles présentées pour le dérivé **96** sont à prendre.

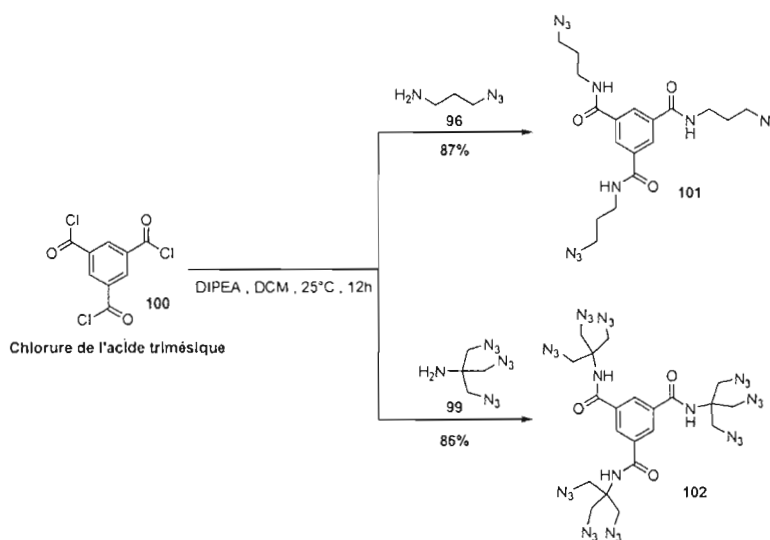


**Schéma 43.** Synthèse des bras espaceurs linéaires (**96**) et branchés (**99**) contenant une ou plusieurs fonctions azotures terminales.

<sup>321</sup> Diaz, D. D.; Punna, S.; Holzer, P.; Mcpherson, A.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Finn, M., G. Click chemistry in materials synthesis. I. Adhesive polymers from copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *J. Polym. Sci.* **2004**, *42*, 4392-4403.

<sup>322</sup> Martinu, T.; Dailey, W. P. Facile one-pot preparation of 3-chloro-2-(chloromethyl)propene and an Ab Initio study of the deamination reaction of nitrosoaziridine. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6784-6786.

Les dérivés **96** et **99** ont pu ensuite être introduits sur le cœur chlorure de l'acide trimésique **100**, disponible commercialement sous la forme de cristaux incolores et très hygroscopiques, au moyen d'une réaction d'amidation classique en présence de DIPEA et dans du DCM fraîchement distillé. Une purification sur colonne de chromatographie a permis d'isoler les cœurs polyazotures correspondants **101** et **102**, sous la forme de solides blancs, avec des rendements de l'ordre de 85% (Schéma 44). Une fois encore, spécialement pour le dérivé nonaazoture **102**, des précautions sont à prendre lors de l'utilisation de ces composés.



**Schéma 44.** Synthèse du cœur tri- (**101**) et nona-azoture (**102**) à partir du chlorure de l'acide trimésique (**100**).

L'efficacité de la triple réaction de couplage est notamment appréciée avec l'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  de ces dérivés: la symétrie générale d'ordre  $C_3$  est à l'origine d'un faible nombre de signaux (3 pour la molécule **102**) et l'apparition d'un signal déblindé sous la forme d'un singulet défini ( $\sim 7.40$  ppm pour **101** et  $\sim 8.40$  ppm pour **102**), correspondant aux protons aromatiques du benzène central, atteste de la tri-fonctionnalisation dans les deux cas. En effet, un défaut de fonctionnalisation aurait provoqué l'apparition de deux signaux distincts sous la forme de doublet et de triplet.

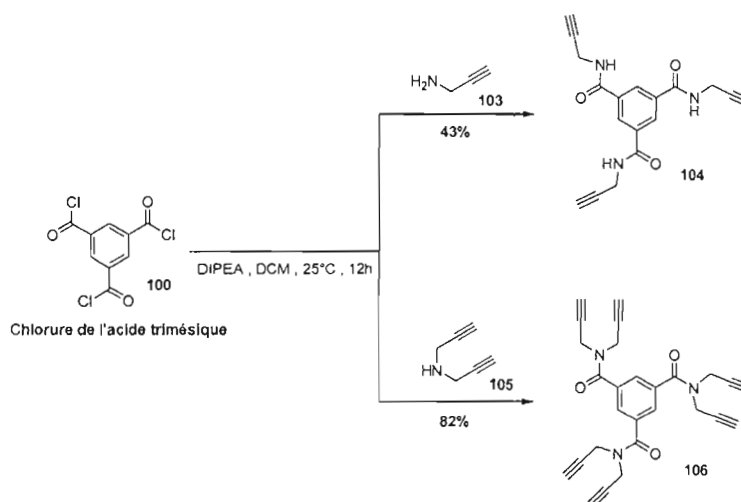
### 5.2.2. Synthèse des cœurs aromatiques polypropargylés

Selon une stratégie strictement similaire, des cœurs aromatiques polypropargylés construits autour du dérivé de l'acide trimésique ont été préparés. L'élaboration des composés multivalents issus de cette nouvelle famille aura pour but principal d'étudier l'influence de l'inversion et du positionnement du groupement triazole et celle des espaceurs aliphatiques dans les phénomènes de reconnaissance avec les lectines étudiées. Dans ce contexte, des espaceurs bifonctionnalisés aminés, linéaires ou bien branchés, et contenant une (ou des) fonction(s) propargyle(s), ont été utilisés.

La propargylamine commerciale **103** constitue le premier motif à avoir été incorporé sur le cœur **100** dans les conditions classiques. Bien que toutes les précautions nécessaires pour une réaction dans des conditions strictement anhydres aient été prises, le rendement observé pour le composé trivalent **104** désiré n'a jamais excédé 43%.<sup>323</sup> L'utilisation d'un large excès de propargylamine (6 équivalents) et de DIPEA pour piéger l'acide chlorhydrique généré n'a pas non plus permis d'améliorer ce rendement. En revanche, la dipropargylamine **105**, qui constitue un système branché de type AB<sub>2</sub> arborant deux fonctions propargyles, a été efficacement couplé au cœur **100** dans un rendement satisfaisant de 82% pour générer le cœur hexavalent **106** (Schéma 45).

---

<sup>323</sup> Giguère, D.; Patnam, R.; Bellefleur, M.-A.; St-Pierre, C.; Sato, S. Roy, R. Carbohydrate triazoles and isoxazoles as inhibitors of galectins-1 and -3. *Chem. Commun.* **2006**, 2379-2381.



**Schéma 45.** Synthèse du coeur tri- (**104**) et hexa-propargylé (**106**) à partir du chlorure de l'acide trimésique (**100**).

Tel que mentionné plus haut, l'apparition d'un signal singulet entre 7.0 et 8.0 ppm correspondant aux protons aromatiques est caractéristique d'une réaction totale pour les deux composés. De plus, on note une différenciation des protons sur les méthylènes en  $\alpha$  de l'atome d'azote pour le dérivé **106** avec un large signal dédoublé entre 4.2 et 4.4 ppm que l'on pourrait attribuer à une certaine rigidité induite par ce cœur ainsi qu'à la présence de rotamères. Le même constat est fait en RMN  $^{13}\text{C}$  avec deux signaux distincts entre 34.0 et 38.0 ppm. Cette hypothèse pourrait s'avérer intéressante dans le cadre d'une présentation privilégiée des épitopes.

Afin de multiplier le nombre de fonctions d'ancrage en périphérie, un système de type  $\text{AB}_3$  construit à partir du TRIS **97** et contenant trois fonctions propargyles a été utilisé. La séquence synthétique, décrite par notre groupe, a été réalisée en protégeant dans un premier temps, de façon sélective, la fonction amine libre par une fonction *tert*-butoxycarbonyle (Boc) avec l'anhydride commercial dans un mélange de *t*-BuOH et de MeOH.<sup>173</sup> Le dérivé NHBoc **107**, obtenu avec un rendement de 90% et sur une échelle de 10 g, a par la suite été mis en présence de bromure de propargyle dans le DMF (Schéma 46). L'ajout par petites portions d'hydroxyde de potassium a entraîné la propargylation complète avec un rendement de 65% après 24 heures. La déprotection du composé **108** ainsi généré, dans des conditions standard (TFA dans le DCM) a conduit à l'obtention du sel de TFA

correspondant après co-évaporation de l'acide en excès avec du toluène. Son utilisation sans purification ultérieure en présence du cœur **100** et de DIPEA en excès a engendré efficacement l'isolation après chromatographie sur colonne du composé nonapropargylé **109** avec un rendement de 75% sur deux étapes.

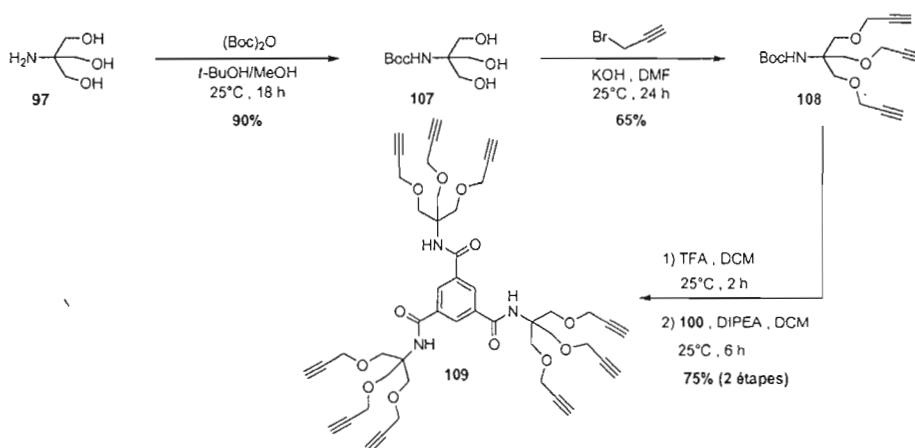


Schéma 46. Synthèse du cœur nonapropargylé **109** à partir du chlorure de l'acide trimésique **100**.

Une caractérisation complète par spectroscopie IR, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , COSY et spectrométrie de masse haute résolution confirme la synthèse et la pureté du produit **109** désiré.

### 5.2.3. Synthèse des glycoclusters mannosylés

Les cœurs dendritiques polyazotures **101** et **102**, ainsi que les analogues propargylés **104**, **106** et **109** ont été fonctionnalisés par l'intermédiaire de la chimie click avec les mannosides contenant la fonction terminale complémentaire, c'est-à-dire le composé propargylé **5** pour la première série et le dérivé azoture **7** pour la seconde. Dans ce contexte, les glycoclusters mannosylés tri- (**110**) et nona-valent (**112**) ont été obtenus avec des rendements de l'ordre de 80% puis déprotégés dans les conditions classiques avec une solution de méthanolate de sodium 1M pour conduire aux conjugués hydroxylés correspondants **111** et **113**, respectivement (Schéma 47).



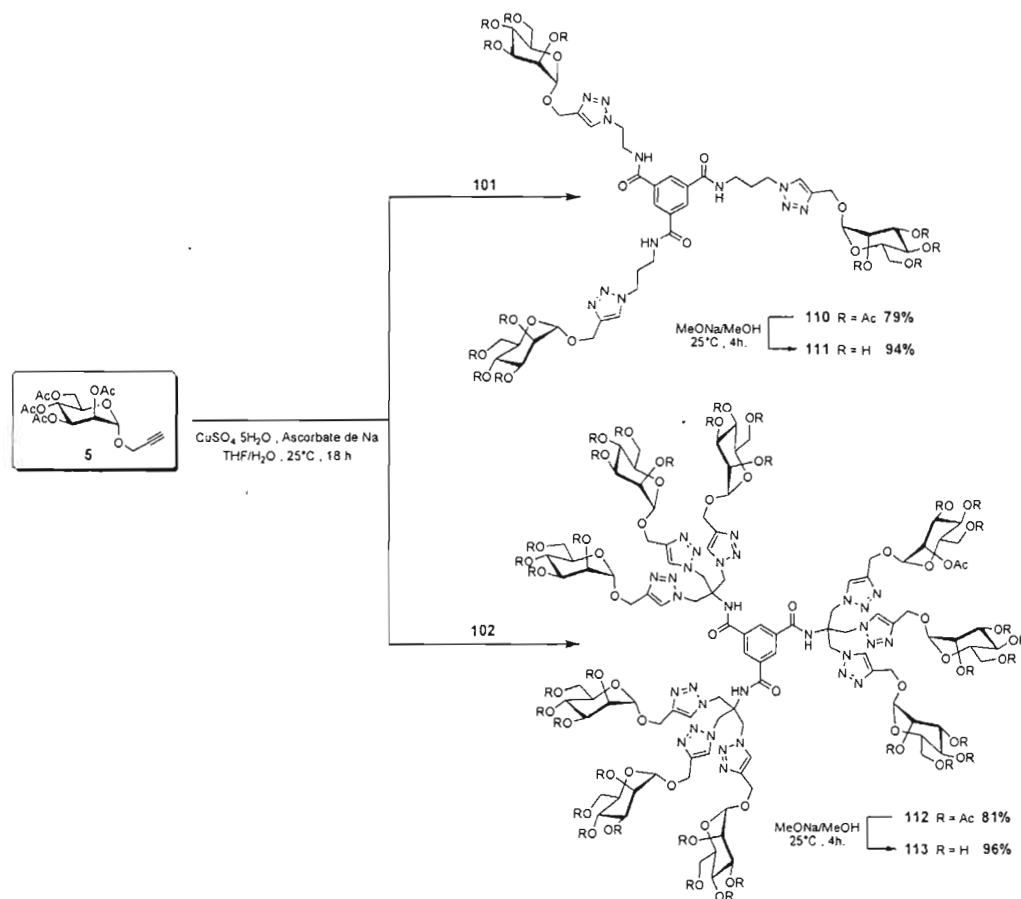


Schéma 47. Synthèse des glycoclusters déprotégés tri- (111) et nona-valent (113) à partir du dérivé mannoside 5.

La complétion des multiples réactions de chimie click a notamment été vérifiée par spectroscopie IR puisque l'absence de bande caractéristique à  $2100\text{ cm}^{-1}$ , caractéristique des fonctions azotures, constitue une excellente preuve qualitative. Malgré le nombre important de réactions effectuées sur un même coeur, l'uniformité moléculaire de tous les composés glycosylés multivalents a pu être affirmée avec l'apparition d'un seul signal en RMN  $^1\text{H}$  correspondant au proton situé sur le groupement triazole nouvellement formé, indiquant la présence exclusive des triazoles 1,2,3-disubstitués en 1,4. Les deux signaux caractéristiques en RMN  $^{13}\text{C}$  entre 120 et 140 ppm confirment une nouvelle fois cette observation.

Une stratégie similaire a été utilisée afin de fonctionnaliser les trois cœurs polypropargylés **104**, **106** et **109** par le dérivé mannoside azoture **7** (Schéma 48). Mis à part le rendement obtenu pour la synthèse du composé trivalent **114** (56%), les réactions de chimie click se sont avérées efficaces pour l'élaboration des composés de plus haute valence **116** et **118**. La déprotection dans des conditions standard de Zemplén a enfin conduit efficacement aux glycoclusters déprotégés correspondants **115**, **117** et **119**.

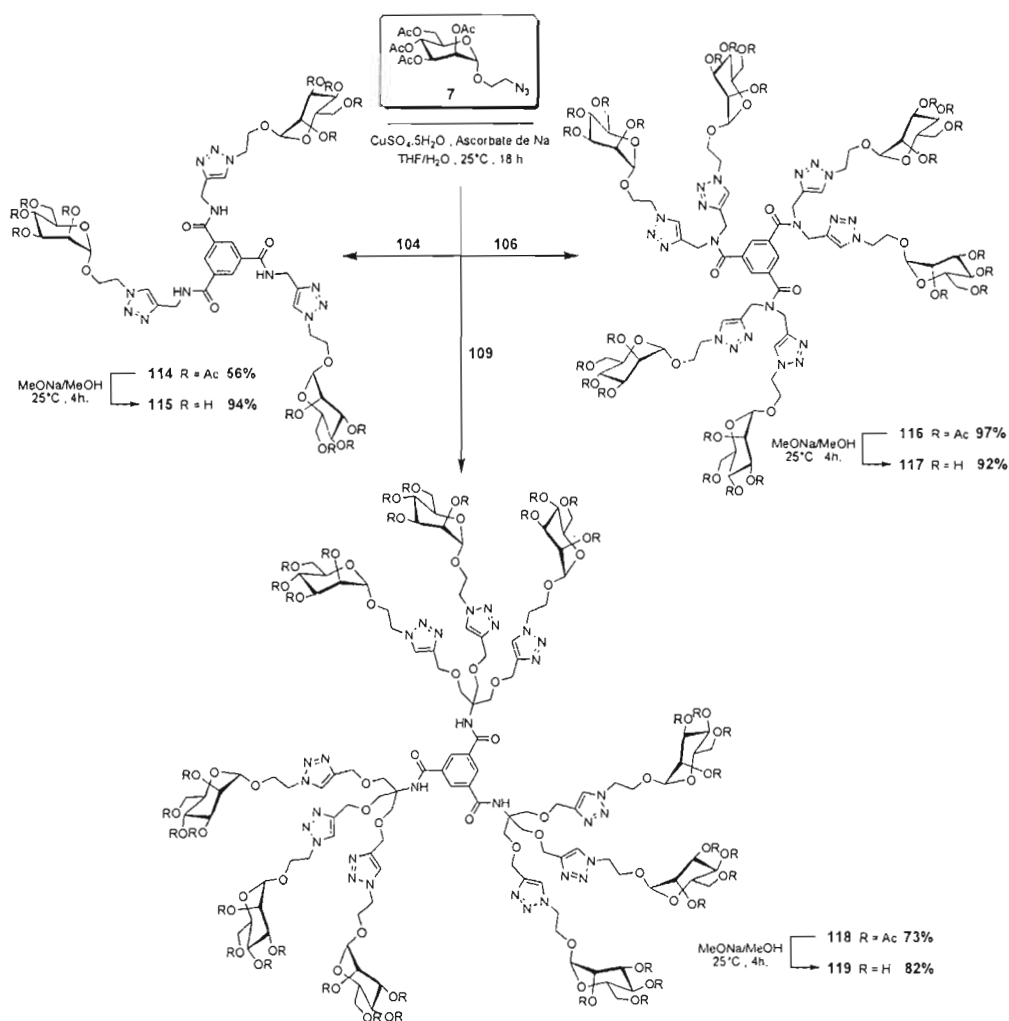


Schéma 48. Synthèse des glycoclusters déprotégés tri- (**115**), hexa-valent (**117**) et nona-valent (**119**) à partir du dérivé mannoside **7**.

Le contrôle de l'efficacité des réactions de couplage par formation des triazoles s'est aussi effectué en s'assurant de la disparition des signaux caractéristiques des fonctions propargyles en RMN  $^1\text{H}$  (3.1 ppm pour les protons alcyniques pour **104**, ~ 2.5 ppm pour ceux de **106** et **109**, sous la forme de triplet) et RMN  $^{13}\text{C}$  (~ 79 et 75 ppm pour les deux carbones de la fonction alcynique).

En raison de la similarité structurale existant entre les composés trivalents **111** et **115** et nonavalents **113** et **119**, l'influence de la position du groupement triazole et de la flexibilité des motifs espaceurs, au sein d'une sous-famille de valence identique, pourra être appréciée précisément lors des tests biologiques.

#### 5.2.4. Synthèse des mannodendrimères G(1)

Afin de multiplier le nombre d'épitopes incorporés en périphérie des structures multivalentes de façon covalente, une méthodologie simple et efficace a été adaptée. Puisque dans le domaine des dendrimères, le principe de génération s'appuie sur la répétition de motifs hyperbranchés au sein d'une même structure, cette stratégie dite « accélérée » repose sur l'élaboration préalable de dendrons triglycosylés bâtis autour du composé TRIS et leur couplage dans l'étape ultime sur le cœur nonavalent **109**.

Les précurseurs de dendrons ont été synthétisés à partir du dérivé aminé **99** et du composé protégé **108**, en fonctionnalisant dans un premier temps la fonction d'ancrage de type amine (libre ou protégée) en la prolongeant à l'aide d'un espaceur de type bromure d'acétamide. L'introduction de cette fonction a pu être effectuée directement sur le composé triazoture **99**, en présence de chlorure de bromoacétyle commercial **120** et de DIPEA dans du DCM fraîchement distillé (Schéma 49). Le composé bromoacétamide **121**, sensible dans des conditions de substitution nucléophile, a pu être isolé avec un rendement de 87% et recristallisé sous la forme d'aiguilles blanches à partir d'un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole. La synthèse de l'analogue propargylé a été réalisée dans des conditions réactionnelles similaires avec toutefois la nécessité de déprotéger dans l'étape initiale le précurseur **108** au moyen de l'acide TFA. Le composé désiré **122** a ainsi été obtenu dans un rendement plus faible de 62%.

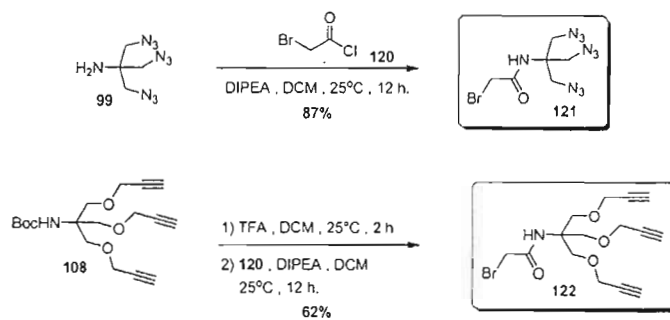


Schéma 49. Synthèse des dérivés bromoacétamides, précurseurs de dendrons mannosylés 121 et 122.

Afin de pouvoir coupler ces précurseurs de dendrons sur le cœur polyfonctionnel **109**, l'introduction d'une fonction azoture est nécessaire. En raison d'une incompatibilité évidente avec l'extrémité trisubstituée dans le cas de son insertion précoce sur les dérivés **121** et **122**, les dérivés mannosides **5** et **7** ont respectivement été incorporés sur ces derniers au moyen de la chimie click (Schéma 50).

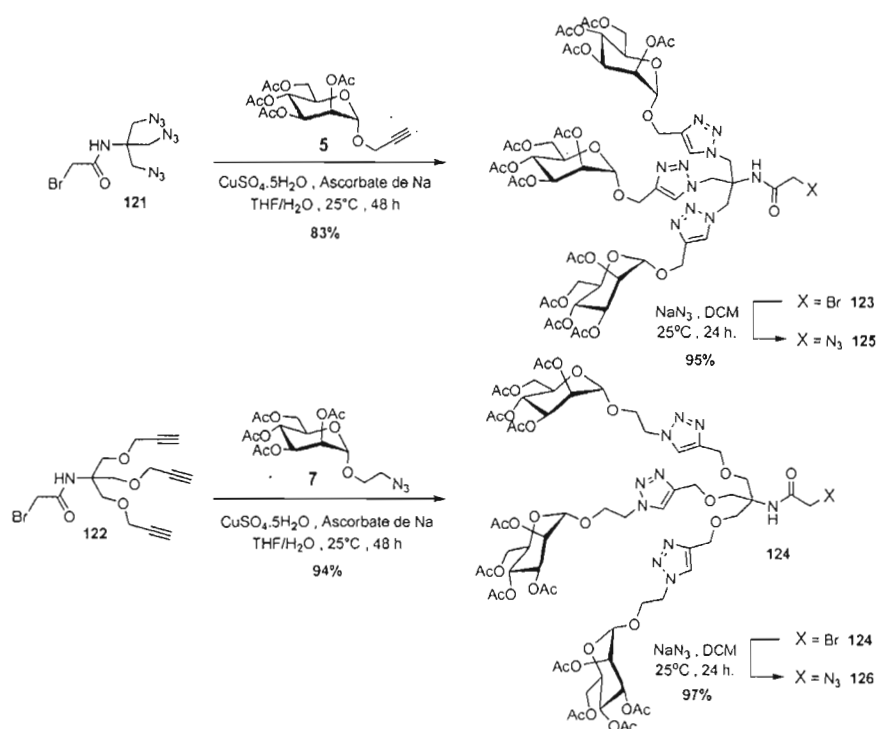


Schéma 50. Synthèse des dendrons trimannosylés bromés 123 et 124, et azotures 125 et 126.

Les dérivés bromés analogues 123 et 124 obtenus avec des rendements de 84 et 93% ont par la suite été dérivatisés dans des conditions de substitution classique impliquant le solvant polaire aprotique DMF et de l'azoture de sodium. La transformation de la fonction bromure en azoture s'est effectuée de façon quasi-quantitative dans les deux cas et la RMN  $^{13}\text{C}$  a permis de confirmer la substitution complète avec l'apparition d'un signal correspondant au méthylène en  $\alpha$  de la fonction azoture à 52.5 ppm et la disparition complète de celui du méthylène bromé, plus blindé, à 29.5 ppm.

Les dendrons mannosylés 125 et 126, analogues en termes de valence mais différents dans leur constitution et leur flexibilité, ont enfin été engagés dans des réactions de chimie click en présence du cœur nonapropargylé 109 afin de générer deux dendrimères de première génération contenant 27 unités mannosides périphériques (Schémas 51 et 52). Malgré le nombre important de réactions de chimie click effectuées sur le cœur nonavalent et l'encombrement stérique grandissant généré par les installations successives des dendrons trivalents, les rendements globaux observés sont satisfaisants.

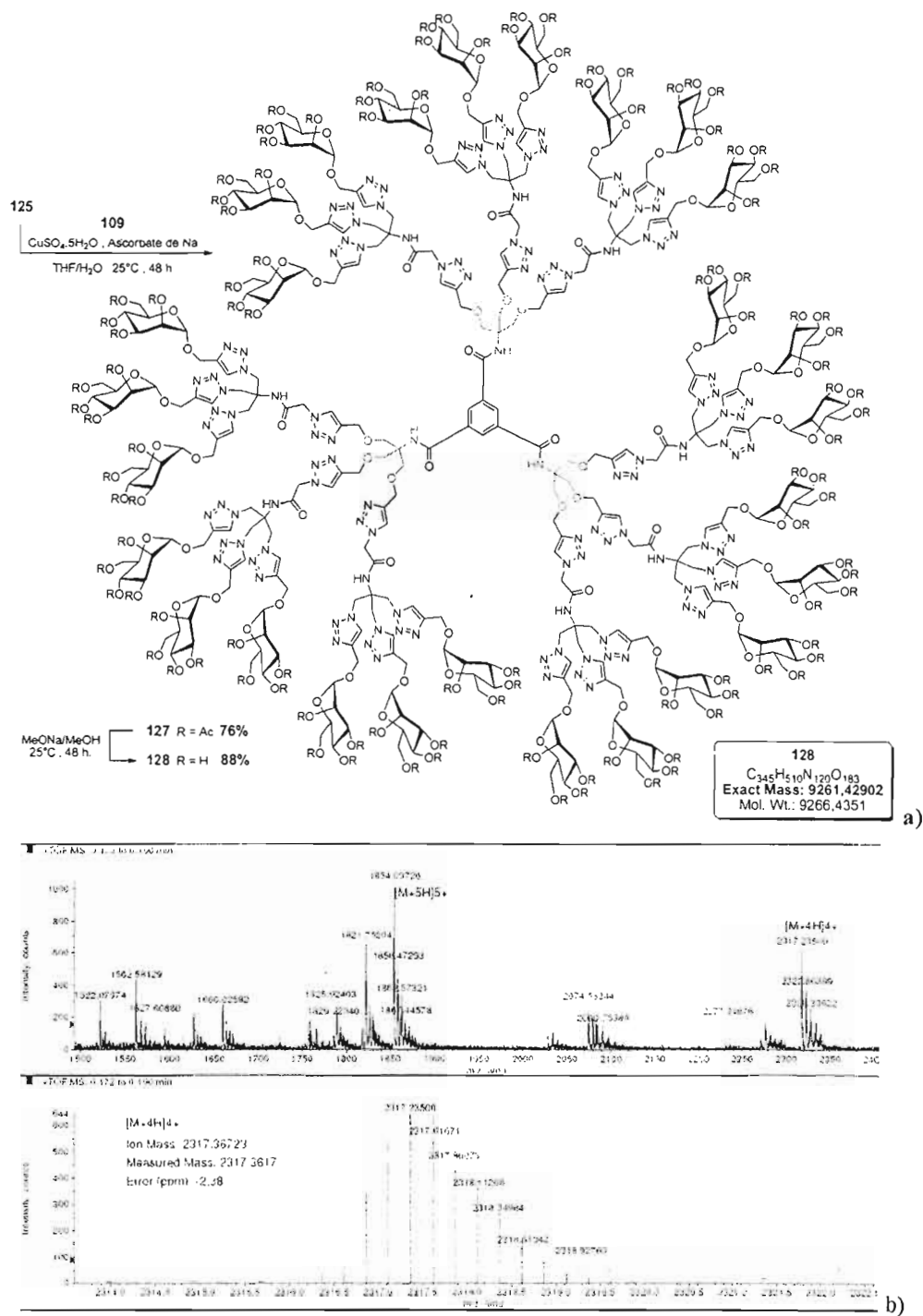


Schéma 51. (a) Synthèse du mannodendrimer déprotégé de première génération 128; (b) spectre de masse à haute résolution obtenu en TOF en mode positif.

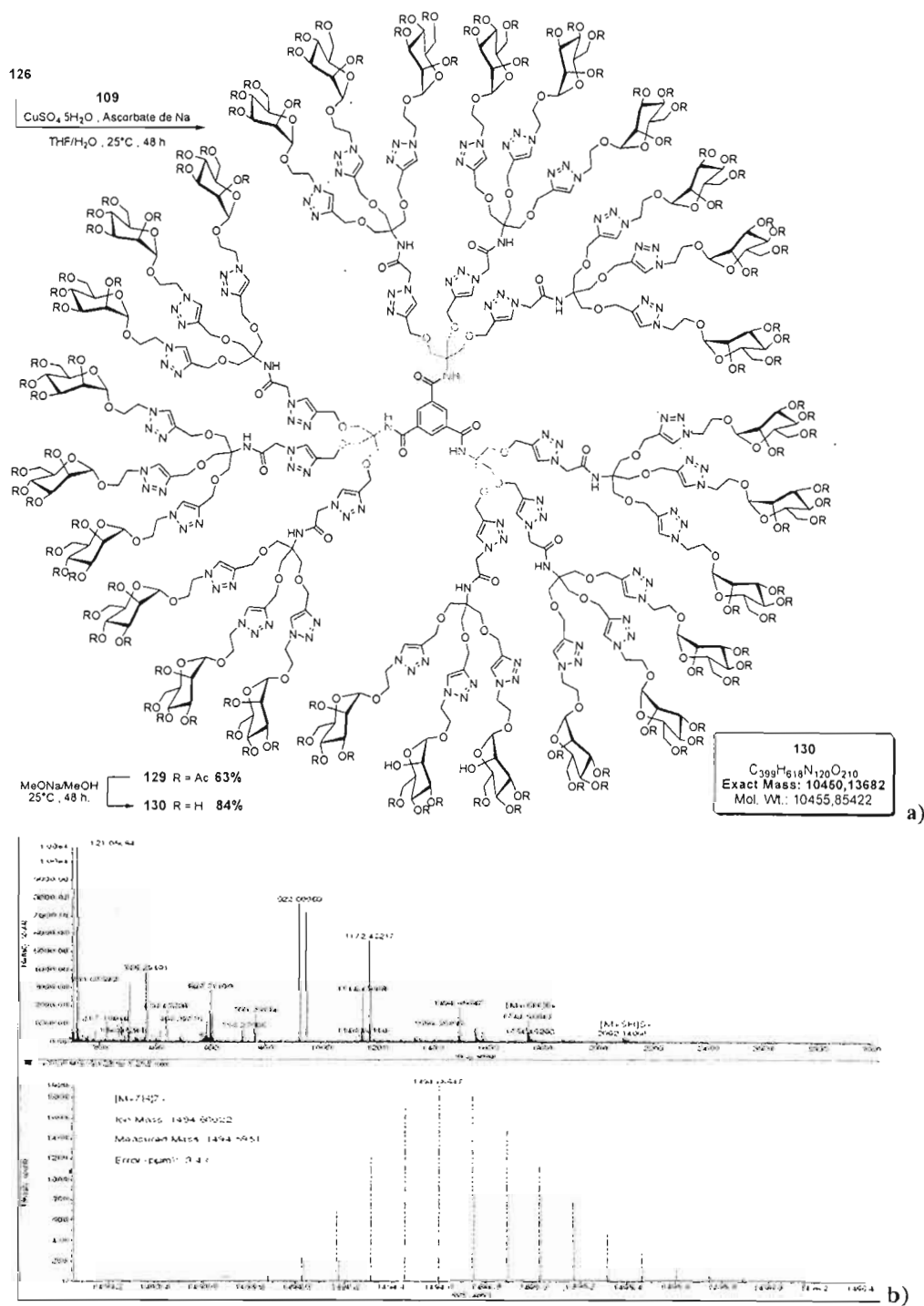


Schéma 52. (a) Synthèse du mannodendrimer déprotégé de première génération 130; (b) Spectre de masse à haute résolution obtenu en TOF en mode positif.

Les glycodendrimères acétylés ainsi que les dérivés déprotégés hydrosolubles **128** et **130** correspondants, obtenus selon une procédure de Zemplén sur une période de 48 heures suivie d'une dialyse contre de l'eau nanopure (membrane benzoylée, cut-off de 1500 g/mol) ont fait l'objet d'une caractérisation complète incluant la RMN<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, COSY, et la spectrométrie de masse. Dans les deux cas, l'uniformité des architectures synthétisées a pu être vérifiée et aucune trace de fonctions propargyles résiduelles n'a été observée en RMN et ce, même en accumulant un grand nombre d'acquisitions sur l'appareil 600 MHz. La correspondance des rapports d'intégration concernant les signaux des protons triazoles, ceux des protons aromatiques du cœur benzénique central et ceux des protons anomériques présents sur les unités mannosides a aussi apporté des preuves supplémentaires de la fonctionnalisation totale. Ainsi, nous pouvons considérer que la synthèse de ces macromolécules hyperbranchées densément fonctionnalisées n'obéit pas à la théorie de compaction de de Gennes à la première génération.<sup>43</sup> Enfin, des résultats spectaculaires ont été enregistrés avec un spectromètre de masse à haute résolution, opéré par la Dre. Alexandra Furtos du laboratoire de spectrométrie de masse de l'université de Montréal, avec l'acquisition des adduits multi-chargés [M+4H]<sup>4+</sup> et [M+7H]<sup>7+</sup> pour les dérivés **128** et **130**, correspondant exactement aux valeurs théoriques avec une erreur calculée inférieure à la valeur acceptable ( $\pm 5$  ppm) (Schémas 51 et 52).

Bien que le nombre d'épitopes soit équivalent pour les deux glycodendrimères de première génération, la région intermédiaire, s'inscrivant à partir de la première couche interne de motifs TRIS jusqu'à l'atome d'oxygène de la position anomérique, induit une compaction plus grande pour le dérivé **128** et pourrait conduire à une présentation différente des hydrates de carbone. En outre, la construction de structures de seconde génération pouvant contenir 81 épitopes serait envisageable en procédant à la synthèse préliminaire de dendrons mannosylés nonavalents de première génération contenant deux niveaux d'unités TRIS en couplant les composés **125** ou **126** au synthon **122**. La transformation de la fonction focale en azoture dans les conditions décrites précédemment et le couplage subséquent sur le cœur nonapropargylé **109** par chimie click permettraient la synthèse des structures attendues. Cependant, à la lumière des observations effectuées récemment, des structures trop densément fonctionnalisées peuvent induire un défaut d'accessibilité des ligands lors des



processus de reconnaissance<sup>236</sup> et présenter des défauts de structure partiels. Ces candidats encombrés et polydisperses ne constitueraient donc plus des architectures optimales pour l'application visée.

### 5.3 CONCLUSIONS DU CHAPITRE

Pour conclure, une nouvelle famille de glycoclusters et de glycodendrimères de première génération a été élaborée autour d'un cœur benzénique trivalent avec l'utilisation des modes de couplage efficaces que nous avons présentés dans les chapitres précédents. La stratégie synthétique s'est appuyée sur une voie de type divergente pour l'élaboration des cinq glycoclusters alors qu'une approche accélérée a été privilégiée pour élaborer les deux glycodendrimères contenant 27 épitopes. Une fois de plus, des analyses spectroscopiques systématiques ont permis l'identification sans équivoque des dérivés synthétisés. La variété des architectures utilisées a induit des valences et des géométries différentes et nous permettra d'effectuer des tests comparatifs précis, intra- et inter-familles, afin de mettre le doigt sur les paramètres critiques conduisant à une reconnaissance optimale avec la lectine. Il est à signaler que les cœurs dendritiques polyazotures et polypropargylés décrits dans ce présent chapitre ont servi à la présentation d'épitopes C-galactosylés pour cibler les lectines PA-IL et PA-IIL. Ce travail fera l'objet d'un article complet et sera soumis sous peu à un journal avec comité de lecture.

Chabre, Y. M.; Giguère, D.; Blanchard, B.; Rodrigue, J.; Neault, M. Rocheleau, S.; **Papadopoulos, A.**; Arnold, A.; Imberty, A. Roy, R. Synthesis and biological investigations of C-galactosylated dendrimers towards PA-IL from *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Am. Chem. Soc.* (Full paper), *en cours de rédaction*.

## CHAPITRE VI

### ÉVALUATIONS BIOLOGIQUES DES DÉRIVÉS MULTIVALENTS SYNTHÉTISÉS

#### 6.1 INTRODUCTION

Ce dernier chapitre sera consacré à la présentation des résultats obtenus des tests biologiques pratiqués sur la plupart des macromolécules multivalentes synthétisées et décrites lors de ce travail. Le but de cette évaluation biologique est de mesurer l'affinité des différents ligands avec les lectines à l'étude et de déterminer ainsi la capacité des molécules à inhiber et réticuler les récepteurs. Cette étude contribuera à une meilleure compréhension des phénomènes mis en jeu lors des processus de reconnaissance protéine-hydrate de carbone lors des infections et pourrait permettre de déterminer les paramètres structuraux optimaux conduisant à une meilleure inhibition. Dans ce contexte, les différentes architectures mannosylées multivalentes, sous leur forme déprotégée, présentées dans les chapitres précédents, ont fait l'objet de diverses études biologiques impliquant la lectine végétale Con A dans des tests de néphélométrie impliquant des cellules cancéreuses U87 dans une analyse par cytométrie de flux (FACS), ainsi que des bactéries *E. coli* dans des tests d'inhibition d'hémagglutination. Après une brève description de chacun des tests engagés, les résultats seront présentés, discutés de manière approfondie et comparés à ceux obtenus avec des dérivés monovalents utilisés comme contrôles positifs ou en tant qu'inhibiteurs efficaces des diverses cibles testées.

#### 6.2 SYNTHÈSE DES INHIBITEURS MONOVALENTS

Afin de procéder à une étude comparative rigoureuse, différents inhibiteurs mannosylés monovalents commercialement disponibles ou synthétisés dans notre laboratoire ont été utilisés (Figure 74).

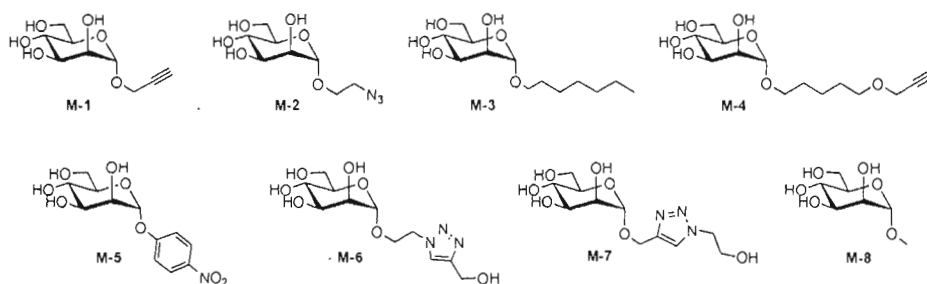


Figure 74. Dérivés mannosides monovalents utilisés lors des investigations biologiques.

Les dérivés **M-1** et **M-2** sont directement issus d'une réaction quantitative de désacétylation dans des conditions de Zemplén des composés **5** et **7**, respectivement. Les mannosides **M-5** et **M-8** sont commercialement disponibles. Les composés triazoles **M-6** et **M-7** ont été synthétisés à partir des précurseurs **7** et **5** en présence d'alcool propargylique ou d'azidoéthanol, respectivement, dans les conditions de chimie click, suivi d'une réaction de désacétylation. Ces dérivés correspondent en fait aux unités périphériques présentes sur la majorité de nos structures clickées et l'efficacité de chaque épitope présent sur ces dernières pourra être comparée avec les composés monovalents correspondants afin de déterminer l'effet cluster dendritique. Le dérivé heptyle **M-3**, connu pour être l'inhibiteur monovalent le plus efficace pour la bactérie *E. coli*, a été obtenu à partir d'une glycosylation de Fisher du mannose en présence d'heptanol en conditions acides, suivie d'une acétylation dans la pyridine puis d'une réaction de Zemplén. Le composé **M-4** a quant à lui été isolé après une réaction de glycosylation de Schmidt impliquant le dérivé trichloroacétimide du mannose tétraacétylé et le dérivé 5-(prop-2-ynoxy)pentan-1-ol<sup>324</sup>, en présence de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  dans le DCM (rendement de 30%), suivie d'une déprotection.

<sup>324</sup> Yamamoto, Y.; Kurihara, K.; Yamada, A.; Takahashi, M.; Takahashi, Y.; Miyaura, N. Intramolecular allylboration of  $\gamma$ -( $\omega$ -formylalkoxy)allylboronates for syntheses of *trans*- or *cis*-2-(ethenyl-tetrahydropyran-3-ol and 2-(ethenyl)oxepan-3-ol. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 537-542.

### 6.3 TESTS DE TURBIDIMÉTRIE AVEC LA LECTINE CONCANAVALINE A

#### 6.3.1. Introduction à la lectine Con A

Les premiers tests préliminaires ont impliqué la lectine Concanavaline A (Con A) dans des études de néphélométrie (ou de turbidimétrie). Isolée et cristallisée par Sumner dès 1919, cette lectine figure parmi les plus étudiées.<sup>325</sup> En effet, cette protéine provenant du haricot grim pant (Jack bean *Canavalia ensiformis*) a été considérée comme un mitogène en raison de sa capacité à regrouper les récepteurs d'interleukine II et à induire la division des lymphocytes. Elle est de même reconnue pour provoquer l'agglutination des hématies. Plus tard, son rôle a été étendu à l'association et la précipitation de polysaccharides comme le glycogène et l'amidon. De plus, elle agglutine les érythrocytes par un processus de réticulation des complexes multivalents avec des résidus  $\alpha$ -glucosidiques et  $\alpha$ -mannosidiques non réducteurs, avec plus d'affinité pour les derniers cités.

Sa structure, caractérisée en 1975, révèle une protéine tétramérique qui offre ainsi quatre sites de liaisons potentiels pour accommoder des dérivés hydrates de carbone spécifiques ( $\alpha$ -mannosides) simultanément.<sup>326</sup> Plus précisément, selon le pH, elle existe sous forme d'un dimère entre pH 4 et 6, ou d'un tétramère à pH physiologique (Figure 75). Chaque sous-unité a une masse moléculaire de 26 KDa et contient un site de reconnaissance (CRD). Les quatre sites sont séparés par une distance de 65Å.<sup>327</sup> Elle reconnaît les unités glucidiques seulement quand le site S2 est occupé par un ion calcium.<sup>328</sup> L'association du calcium est conditionnelle à la présence d'un ou de plusieurs ions divalents métalliques de transition dans un site à proximité ( $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ , ou  $Zn^{2+}$ ).<sup>329</sup> Les ions métalliques en S1 et S2 sont séparés par une distance de 4,2 Å. L'association des ions métalliques

<sup>325</sup> Sumner, J. B. The globulins of the Jack bean, *Canavalia ensiformis*: Preliminary paper. *J. Biol. Chem.* **1919**, *37*, 137-142.

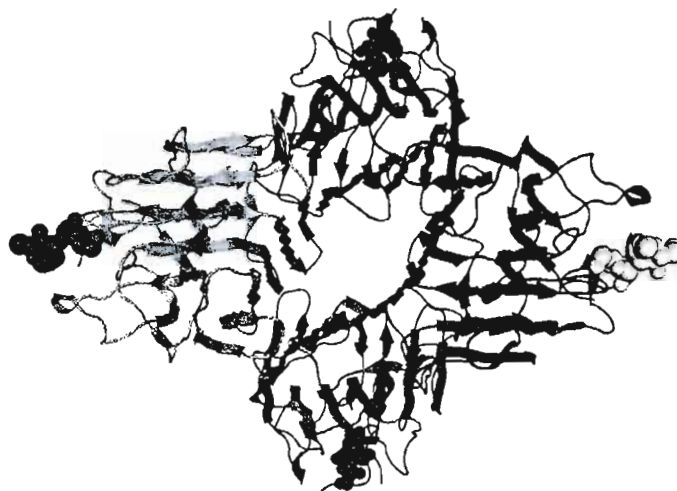
<sup>326</sup> Reeke, Jr, G. N.; Becker, J. W.; Edelman, G. M. The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. IV. Atomic coordinates, hydrogen bonding, and quaternary structure. *J. Biol. Chem.* **1975**, *250*, 1525-1547.

<sup>327</sup> Van Damme, E. J. M.; Peumans, W. J.; Barre, A.; Rouge, P. Plant lectins. *Crit. Rev. Plant Sci.* **1998**, *17*, 575-692.

<sup>328</sup> Kalb, A. J.; Levitzki, Metal-binding sites of Concanavalin A and their role in the binding of  $\alpha$ -methyl D-glucopyranoside. *A. Biochem. J.* **1968**, *109*, 669-672.

<sup>329</sup> Shoham, M.; Kalb, A. J.; Pecht, I. Specificity of metal ion interaction with concanavalin A. *Biochemistry* **1973**, *12*, 1914-1917.

provoque de grands changements structuraux qui permettent l'association du ligand saccharidique dans le CRD.



**Figure 75.** Structure cristalline de la Concanavaline A en présence des ligands.

Du fait de son habileté à participer à des interactions multivalentes avec les polysaccharides, la Con A constitue un candidat idéal pour l'étude préliminaire de l'effet dendritique induit par nos macromolécules synthétisées.

Comme contrôle positif, nous avons utilisé la levure provenant de *Saccharomyces cerevisiae* (Yeast mannan ou YM) qui est un polysaccharide de mannose. Cette levure, aussi connue sous le nom de levure de boulanger, comporte à sa surface cellulaire des résidus oligosaccharidiques de mannose reliés par des liaisons  $\alpha$ -1,2 et  $\alpha$ -1,3, ce qui en fait un récepteur polymérique idéal pour la Con A.<sup>330</sup> Le but premier de ce test est d'évaluer la progression de la précipitation du complexe qui se forme entre la Con A et la molécule testée en fonction du temps. Le mécanisme de turbidimétrie est caractérisé par un phénomène de réticulation ou «cross-linking» au cours duquel les sites de reconnaissance de la Con A interagissent avec les dérivés mannosides. En raison du renforcement des interactions

<sup>330</sup>Firon, N.; Ofek, I; Sharon, N. Carbohydrate-binding sites of the mannose-specific fimbrial lectins of enterobacteria. *Infect. Immun.* 1984, 43, 1088-1090.

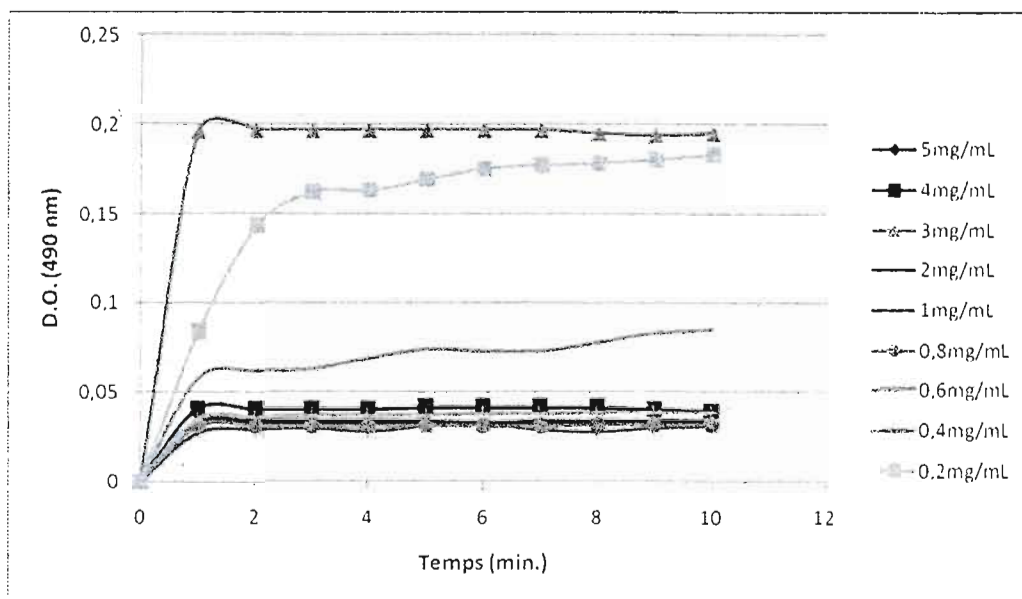
monovalentes par le processus d'effet dendritique, les molécules mannosylées multivalentes forment des complexes hautement réticulés qui deviennent insolubles et visibles à l'œil nu. Les composés multivalents peuvent créer une réticulation intramoléculaire (au sein d'une même entité) ou intermoléculaire (entre deux ou plusieurs entités différentes).<sup>331</sup> La réticulation intramoléculaire consiste en une chélation entre deux sites de reconnaissance d'une même lectine sur une seule molécule multivalente. Ainsi, des conditions structurales exceptionnelles, propres à l'architecture des molécules dendritiques synthétisées et impliquant une conformation, un encombrement, des longueurs et des flexibilités favorables, permettrait la formation d'un tel réseau réticulé. Du fait de l'éloignement de chaque CRD de cette lectine, le second phénomène de réticulation intermoléculaire, basé sur des processus d'aggrégation, est donc favorisé.

### 6.3.2. Résultats

Les tests de turbidimétrie ont été effectués dans des microplaques de titration 96 puits en forme de U et la lecture de la densité optique a été effectuée à 25°C, au moyen d'un lecteur microplaque à 490 nm. Ils ont été réalisés avec les structures multivalentes désacétylées à la concentration requise, mises en présence de la lectine Con A à une concentration de 1 mg/mL. Toutes les dilutions ont été effectuées dans du tampon PBS (0.17 M NaCl, 3.3 mM KCl, 10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.4) pour un volume total de 100 µL pour chaque puits. Les lectures de densité optique (D.O.) rendent compte de l'opacité des précipités formés en fonction du temps et représentent la moyenne de trois essais effectués. Une courbe de quantification préliminaire de la Con A (à une concentration de 1 mg/ml) en présence de différentes concentrations de levure *Saccharomyces cerevisiae* (YM) a été réalisée afin de déterminer la concentration optimale pour une bonne lecture des données lors des tests de turbidimétrie (Figure 76).

---

<sup>331</sup>Olsen, L. R.; Dessen, A.; Gupta, D.; Sabesan, S.; Sacchettini, J. C.; Brewer, C. F. X-ray crystallographic studies of unique cross-linked lattices between four isomeric biantennary oligosaccharides and soybean agglutinin. *Biochemistry* 1997, 36, 15073-15080.



Les mesures sont effectuées dans du tampon PBS avec des concentrations variables de 5 à 0.2 mg/mL pour la levure alors que la concentration de la Con A est établie à 1 mg/mL. Le volume total de chaque puits est de 100  $\mu$ L (50  $\mu$ L de chaque) et les plaques ont été incubées à 25 °C pendant 1 heure. La lecture de la densité optique a été faite par un lecteur microplaque à 490 nm et correspond à la moyenne de valeurs obtenues en triplicate.

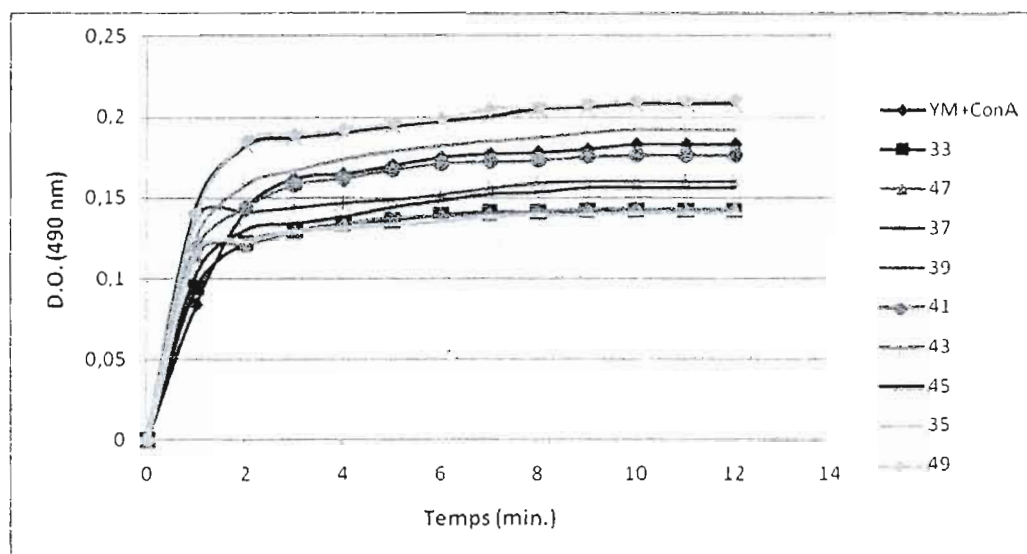
**Figure 76.** Analyses turbidimétriques de la quantification de la levure (YM) avec une concentration établie de Con A.

À la lecture du graphe de la Figure 76, deux concentrations en levure YM paraissent intéressantes pour une lecture optimale des données. Ainsi, pour des raisons pratiques, une concentration de 0,2 mg/mL de nos composés multivalents synthétisés, correspondant à la plus petite concentration induisant une activité de réticulation élevée, a été préconisée lors de ces tests.

a) *Les glycoclusters à base de dérivés du pentaérythritol*

Les premiers tests réalisés ont concerné la série des glycoclusters bâtis autour des dérivés du pentaérythritol, présentée dans le chapitre 2 de ce présent mémoire. L'étude des composés 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, et 49, présentant différentes valences et diverses

structures plus ou moins rigides et compactes, a permis de dégager les premières tendances (Figure 77).



Les mesures sont effectuées dans du tampon PBS avec des concentrations de 0.2 mg/mL pour les glycoclusters alors que la concentration de la Con A est établie à 1 mg/mL. Le volume total de chaque puits est de 100  $\mu$ L (50  $\mu$ L de chaque) et les plaques ont été incubées à 25 °C pendant 1 heure. La lecture de la densité optique a été faite par un lecteur microplaque à 490 nm et correspond à la moyenne de valeurs obtenues en triplicate.

**Figure 77.** Analyses turbidimétriques de la série des glycoclusters basés sur les dérivés du pentaérythritol avec une concentration établie de Con A.

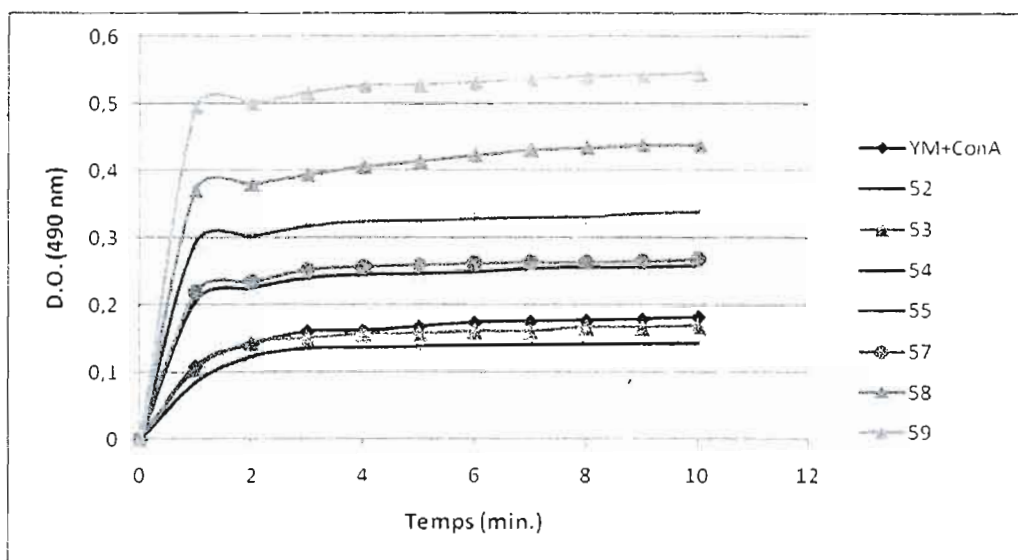
Les dérivés analogues tétravalents **45** et **49**, présentant un enchaînement inversé des groupements triazoles et phényles, induisent la précipitation du complexe réticulé formé avec Con A la plus rapide et la plus intense. Avec des valeurs de D.O. de l'ordre de 0.22 après 12 minutes d'expérience, ces dérivés se sont avérés plus efficaces que la levure YM. D'ailleurs, il est à noter que la D.O. observée pour cette dernière est égale à celle obtenue lors du premier test pour la détermination de la concentration idéale en ligands (Figure 76). La constance de cette valeur pour tous les tests de turbidimétrie effectués démontre la reproductibilité de la manipulation. Les premières hypothèses soutenant le fait que la présence d'un groupement hydrophobe de type aromatique à proximité de la position anomérique entraînerait une meilleure affinité au niveau de la pochette d'interaction et



induirait donc une meilleure réticulation semblent être mises en avant. D'ailleurs, le fait que le tétramère **47**, seul dérivé ne contenant pas de groupe hydrophobe en position anomérique, n'induit qu'une très faible réticulation (D.O.  $\sim 0.14$ ) renforce cette idée. Le composé **43**, contenant quatre chaînes de type tri(éthylène)glycol émanant du cœur pentaérythritol, constitue aussi un meilleur ligand de réticulation de la Con A que la levure de référence. De façon surprenante, les glycoclusters hexavalents **37**, **39** et **41** n'ont pas été à l'origine d'une réticulation marquée de la lectine. En revanche, une étude comparative impliquant ces trois dérivés a permis d'observer que l'ajout d'une longue chaîne hydrophile dans la région centrale était à l'origine d'une amélioration dans le processus de précipitation. Enfin, en compagnie du composé **47**, le dérivé divalent **35** et le glycocluster compact **33** représentent les plus mauvais candidats de cette étude. Une explication structurale pourrait permettre de rationaliser l'inefficacité du dérivé compact **33** avec une proximité trop importante des ligands engendrée par la faible longueur des bras espaceurs. Une reconnaissance multivalente de chaque épitope par plusieurs lectines pour une réticulation efficace serait peu probable.

*b) Les glycodendrimères de poly-L-lysine synthétisés par SPPS*

La série des glycodendrimères mannosylés **52**, **53**, **54**, **55**, **57**, **58** et **59** construits en phase solide à partir de la répétition de motifs L-lysine a de même été l'objet d'études similaires. Une nouvelle fois, des tendances ont pu être enregistrées. Tout d'abord, on peut constater à la lecture du graphe présenté à la Figure 78 que la plupart des conjugués analysés issus de cette famille représentent de meilleurs candidats que la levure YM de référence. Seuls les dérivés de faible valence (deux et quatre) induisent une réticulation plus faible après 10 minutes.



Les mesures sont effectuées dans du tampon PBS avec des concentrations de 0.2 mg/mL pour les glycodendrimères alors que la concentration de la Con A est établie à 1 mg/mL. Le volume total de chaque puits est de 100  $\mu$ L (50  $\mu$ L de chaque) et les plaques ont été incubées à 25 °C pendant 1 heure. La lecture de la densité optique a été faite par un lecteur microplaque à 490 nm et correspond à la moyenne de valeurs obtenues en triplicata.

**Figure 78.** Analyses turbidimétriques de la série des glycodendrimères mannosylés synthétisés en SPPS avec une concentration établie de Con A.

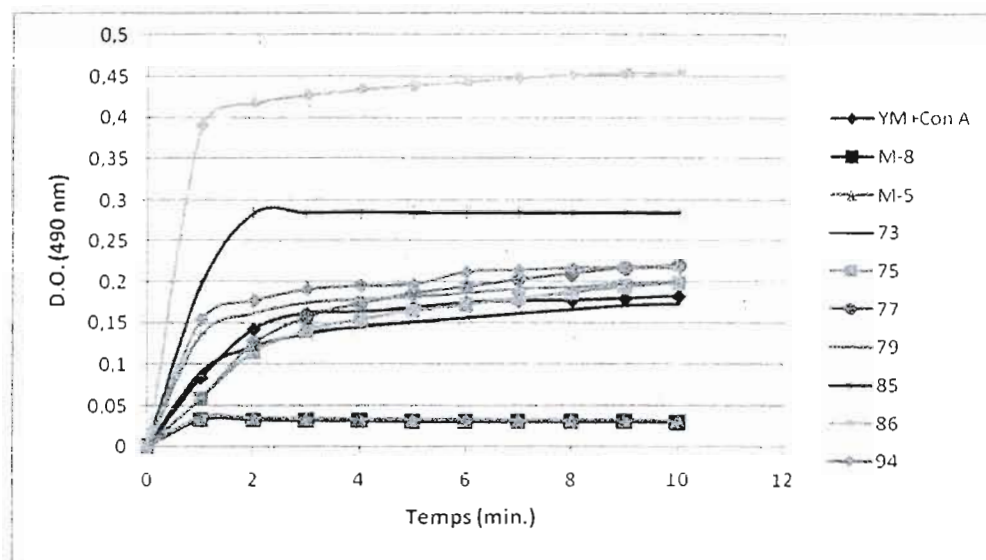
Ensuite, une tendance générale traduisant une meilleure affinité pour la Con A à mesure de l'augmentation de la valence des dérivés mannosylés peut être dégagée. En effet, si on considère les composés di-, tétra-, hexa- et hexadécavalents (52, 53, 54, et 55, respectivement) élaborés à partir de L-lysine non modifiée, on note que les valeurs de D.O. lues augmentent en fonction du nombre d'épitopes périphériques. Ensuite, il semblerait que l'ajout d'un bras espaceur sur la position  $\alpha$  des unités L-lysine soit responsable d'une amélioration de l'affinité. Ainsi, comme en témoignent les résultats obtenus par exemple pour le dérivé tétravalent 53 (D.O.  $\sim$  0.17) et son analogue «étendu» 57 (D.O.  $\sim$  0.27), l'extension opérée à la position  $\alpha$  réduirait l'encombrement stérique comme attendu et augmenterait de ce fait l'accessibilité des épitopes émanant de cette position. Une tendance identique est observée pour les composés allongés octa- (58) et hexadécavalent (59) par rapport à leurs homologues 54 et 55 avec une augmentation de D.O. de l'ordre de 0.2 unités.

D'ailleurs, le mannodendrimère **59** est responsable du phénomène de réticulation de la Con A le plus rapide et le plus intense de tous les composés synthétisés.

Si l'on compare les composés de même valence issus de la première et de la seconde famille, on peut constater que le meilleur ligand tétravalent **57** construit à partir de poly-L-lysine est plus efficace que les candidats tétravalents **45** et **49** contenant des aglycones aromatiques pour précipiter la Con A.

*c) Les glycoclusters et les glycodendrimères de poly-L-lysine synthétisés en phase homogène*

Les macromolécules mannosylées élaborées autour de dérivés du cœur trivalent tris(2-aminoéthyl)amine **65** en phase liquide ont de même montré des aptitudes intéressantes pour engager des interactions multivalentes avec la Con A. Une fois encore, la majorité des produits synthétisés appartenant à cette famille induit une réticulation plus importante que YM (Figure 79). Les dérivés monovalents **M-5** et **M-8** ont été intégrés aux tests en tant que contrôles négatifs afin de démontrer que l'action de monosaccharides n'induisait pas de phénomènes de réticulation. Tel que prévu, aucune activité n'est obtenue suite à l'utilisation de ces deux dérivés monovalents.



Les mesures sont effectuées dans du tampon PBS avec des concentrations de 0.2 mg/mL pour les macromolécules mannosylées alors que la concentration de la Con A est établie à 1 mg/mL. Le volume total de chaque puits est de 100  $\mu$ L (50  $\mu$ L de chaque) et les plaques ont été incubées à 25 °C pendant 1 heure. La lecture de la densité optique a été faite par un lecteur microplaque à 490 nm et correspond à la moyenne de valeurs obtenues en triplicata.

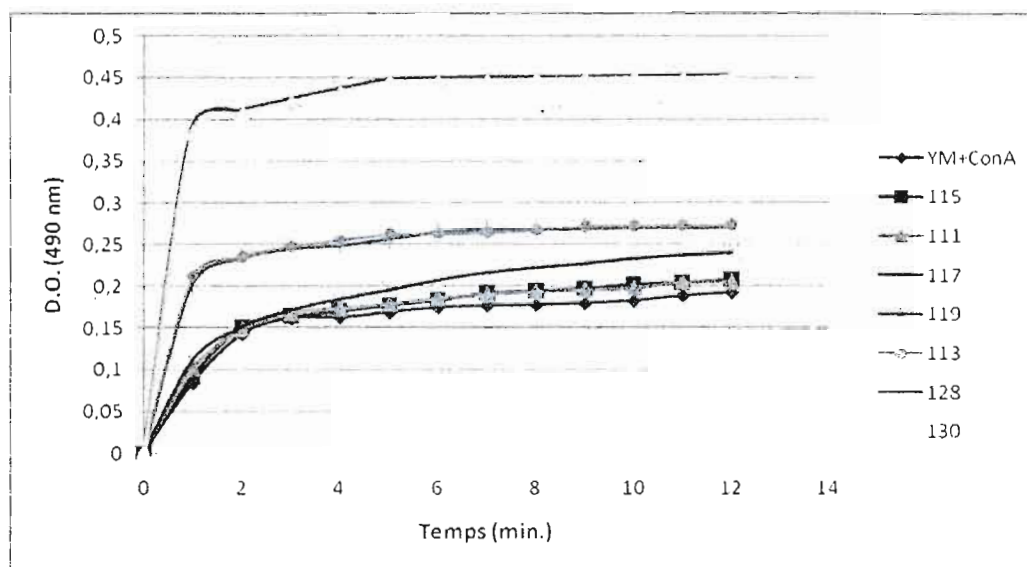
**Figure 79.** Analyses turbidimétriques des structures mannosylées de poly-L-lysine construites en phase liquide avec une concentration établie de Con A.

La meilleure activité observée est à mettre au compte du mannodendrimère **86** densément fonctionnalisé et comportant 24 épitopes avec une D.O. de 0.45 mesurée après 10 minutes. Comme précédemment, le composé de plus basse valence et compact (**73**) induit la précipitation du complexe la plus médiocre. Alors que le dérivé dodécavalent **85** s'avère efficace avec une D.O. enregistrée de 0.28 après 10 minutes d'expérience, les composés tri- (**75** et **77**) et hexavalents (**79** et **94**) présentent sensiblement la même efficacité. Ainsi, il semblerait que l'ajout d'un espaceur en position  $\alpha$  de la L-lysine induise une nouvelle fois un effet bénéfique (**94** « étendu » vs **79**), quoique beaucoup moins marqué que celui décrit précédemment chez l'autre famille. Le glycocluster trivalent **77** constitue un ligand légèrement plus efficace que son homologue plus court **75**. De plus, bien que le conjugué **79** exhibe 6 épitopes, son activité demeure de peu inférieure à celle du composé trivalent **77** qui représente en quelque sorte son homologue parfait sans les positions  $\alpha$  substituées. En dépit de cette similitude dans l'activité après 10 minutes, on peut tout de même noter que leur

comportement diffère puisque la D.O. observée après 1 minute pour 79 est quasiment trois fois supérieure à celle obtenue avec 77. Cela signifierait que la cinétique de formation des complexes insolubles est différente pour les deux composés, avec une formation plus rapide induite par la structure hexavalente 79 mais une activité supérieure dans le temps pour 77.

d) *Les glycoclusters et les glycodendrimères en série cœur aromatique*

L'effet de la valence des structures synthétisées est une nouvelle fois mis de l'avant lors de l'analyse des résultats provenant de l'étude des structures bâties autour des dérivés de l'acide trimésique (Figure 80).



Les mesures sont effectuées dans du tampon PBS avec des concentrations de 0,2 mg/mL pour les structures mannosylées alors que la concentration de la Con A est établie à 1 mg/mL. Le volume total de chaque puits est de 100  $\mu$ L (50  $\mu$ L de chaque) et les plaques ont été incubées à 25 °C pendant 1 heure. La lecture de la densité optique a été faite par un lecteur microplaque à 490 nm et correspond à la moyenne de valeurs obtenues en triplicata.

**Figure 80.** Analyses turbidimétriques des architectures multivalentes de la série aromatique avec une concentration établie de Con A.

Tous les composés de cette famille forment des complexes insolubles avec Con A de façon plus efficace que YM. Les deux dendrimères de première génération 128 et 130

contenant 27 épitopes sont responsables de la meilleure réticulation de Con A avec des valeurs de D.O. de 0.45 après 5 minutes d'expérience. Une précipitation quasi-quantitative est d'ailleurs observée après seulement 1 minute dans les deux cas. Les glycoclusters trivalents **111** et **115** contenant des bras espaceurs de longueur équivalente à un carbone près induisent les plus faibles précipitations de cette famille, alors qu'une amélioration est constatée lors de l'utilisation du dérivé hexavalent **117**. Bien que la périphérie du conjugué nonavalent **113** semble plus encombrée que celle de l'analogue **119**, leur activité est totalement similaire. À valence égale, l'efficacité des dérivés trivalents de cette série (**111** et **115**) peut être considérée comme similaire à celle des meilleurs analogues de la série précédente (**75** et **77**) avec des D.O. avoisinant les 0.2 unités, quelque soit le type d'architectures dendritiques utilisées.

La Figure 81 regroupe tous les résultats enregistrés pour les macromolécules multivalentes mannosylées synthétisées lors des tests de turbidimétrie en présence de la lectine végétale Con A. Les données sont fournies en pourcentage d'activité de réticulation en prenant la réticulation induite par le meilleur candidat **59** après 10 minutes d'expérience comme étant 100%.

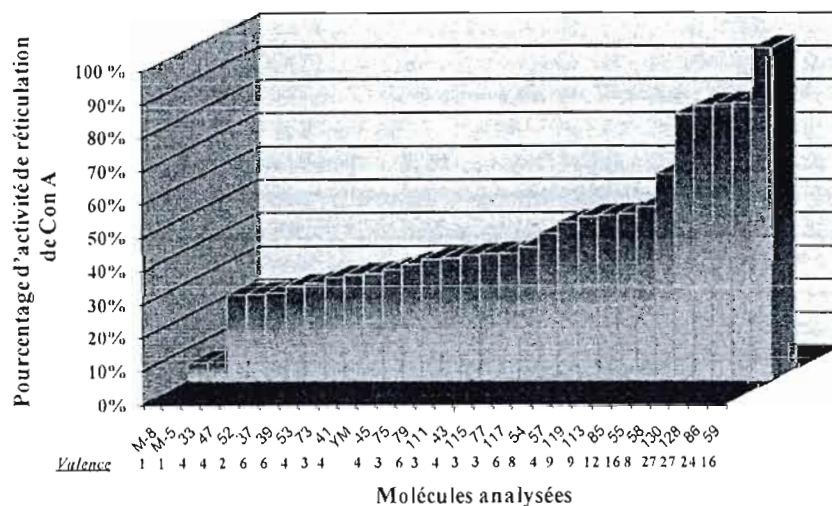


Figure 81. Graphe récapitulatif des pourcentages de réticulation de la Con A provoquée par les conjugués mannosylés synthétisés.

À la lumière des différents résultats obtenus par l'intermédiaire de l'étude préliminaire de turbidimétrie, quelques tendances peuvent être mises en évidence. Tout d'abord, une grande majorité des composés synthétisés présentent une meilleure activité que la levure YM. Ce résultat est particulièrement frappant pour les structures contenant les motifs poly-L-lysine. Dans un deuxième temps, il semblerait qu'une valence importante favorise les processus multivalents de réticulation. Néanmoins, une grande accessibilité à tous les épitopes lors des phénomènes de reconnaissance lectine-hydrates de carbone constituerait un paramètre crucial. Cette présentation serait d'ailleurs grandement favorisée par l'incorporation d'éléments espaceurs flexibles, accompagnée de l'introduction de groupements hydrophobes de type aromatique directement sur la position anomérique.

L'interprétation des résultats issus des tests biologiques que nous allons présenter dans les sections suivantes fournira des informations complémentaires nécessaires à l'obtention d'anti-adhésines mannosylées optimisées.

## 6.4 INVESTIGATIONS PAR CYTOMÉTRIE DE FLUX AVEC LES CELLULES CANCÉREUSES U87

### *6.4.1. Introduction à la cytométrie de flux*

La deuxième analyse effectuée pour nos molécules multivalentes mannosylées fait appel à la cytométrie en flux (Fluorescence-activated cell sorting ou FACS). Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec l'étudiant en maîtrise Carl Laflamme du laboratoire d'oncologie moléculaire du Pr. Borhane Annabi de l'UQÀM.

Cette méthode d'analyse est grandement utilisée en biochimie pour l'analyse de protéines spécifiques à la surface cellulaire et pour la mesure de certains métabolites et protéines intracellulaires. Le FACS est également utilisé afin de quantifier des sous-populations hétérogènes de cellules en suspension dans un liquide en analysant leur volume et leur taille. Cette technique permet ainsi d'analyser plusieurs paramètres simultanément en

mesurant l'intensité de fluorescence émise par les cellules, et d'analyser les signaux optiques ou physiques émis par une particule coupant le faisceau lumineux d'un laser (Figure 82).<sup>332</sup>

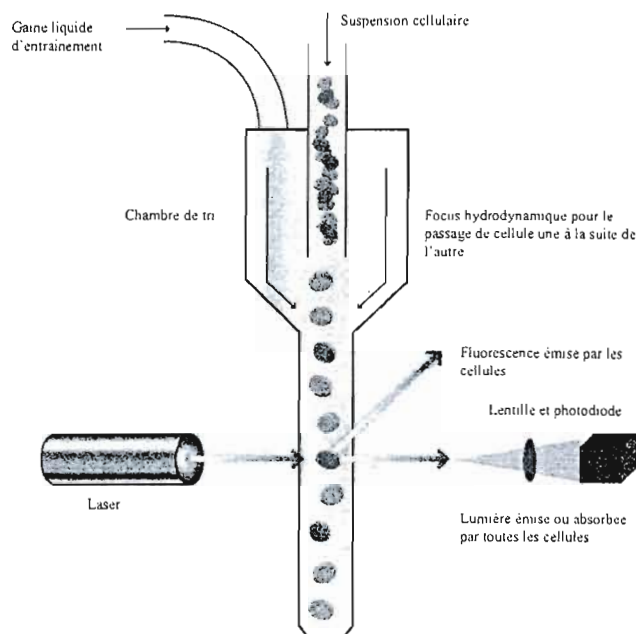


Figure 82. Représentation schématique d'un cytomètre en flux.

La lumière réémise (par diffusion ou fluorescence) intrinsèque des particules correspond aux phénomènes de diffusion lumineuse liés aux dimensions de la particule, à sa structure interne, à l'auto-fluorescence de certaines cellules ou obtenues par des marquages spécifiques de structures cellulaires. Ces signaux séparés par des filtres optiques sont collectés par des photomultiplicateurs, amplifiés, numérisés et traités à l'aide d'un logiciel informatique. Les signaux optiques recueillis ont une intensité corrélée avec les propriétés particulières. Ce procédé d'analyse individuelle (cellule par cellule) est multiparamétrique et peut s'effectuer à la vitesse de plusieurs milliers d'événements par seconde. L'ordinateur

<sup>332</sup> Herzenberg, L. A.; De Rosa, S. C.; Herzenberg, L. A. Monoclonal antibodies and the FACS: complementary tools for immunobiology and medicine *Immunol. Today* 2000, 21, 383-390.



calcule les données statistiques associées soit à la lumière diffusée, absorbée ou émise par fluorescence.<sup>333</sup>

Pour notre test assisté par FACS, nous avons utilisé des cellules gliales U87. Ces cellules sont des cellules gliales cancéreuses de la famille des glioblastomes. Les cellules U87 représentent un modèle expérimental de choix pour l'étude du cancer du cerveau et également pour l'étude des neuropathologies comme l'épilepsie, la maladie d'Alzheimer ou encore la maladie de Parkinson. De plus, l'utilisation de ce modèle expérimental présente plusieurs avantages en recherche. Effectivement, les glioblastomes se cultivent aisément dans une atmosphère humide, composée de 5% de dioxyde de carbone à 37°C, et se divisent rapidement.<sup>334,335</sup> Les présents travaux sont en fait basés sur l'importante découverte effectuée par Nakata et ses collaborateurs qui ont permis de déterminer des complexes bi-antennaires de mannose à la surface des cellules U87.<sup>336</sup> À la lumière de cette découverte structurale associée à l'expertise du laboratoire du Pr. Roy concernant les lectines spécifiques aux résidus mannoses, la Con A a été utilisée comme protéine de référence pour se lier aux cellules U87. Afin de vérifier notre hypothèse de travail, la Con A conjuguée au fluorochrome de fluorescéine isothiocyanate (Con A-FITC) a été incubée avec les cellules U87. Une étape préliminaire de standardisation s'avère nécessaire pour déterminer la concentration de Con A engendrant une émission fluorescente quantifiable et linéaire. À titre d'exemple, la Figure 83 indique un graphique-type pour une analyse semi-logarithmique de la Con A-FITC liée aux cellules U87 à différentes concentrations afin de procéder à cette standardisation. L'axe des abscisses représente l'intensité de fluorescence et celui des ordonnées indique le compte cellulaire (log). La partie gauche en noir du graphique correspond à la quantification de la fluorescence naturelle des cellules U87 en l'absence de Con A. On observe dans la section plus à droite la quantification de la fluorescence à différentes concentrations de Con A-FITC liée aux cellules U87. Cette expression a été

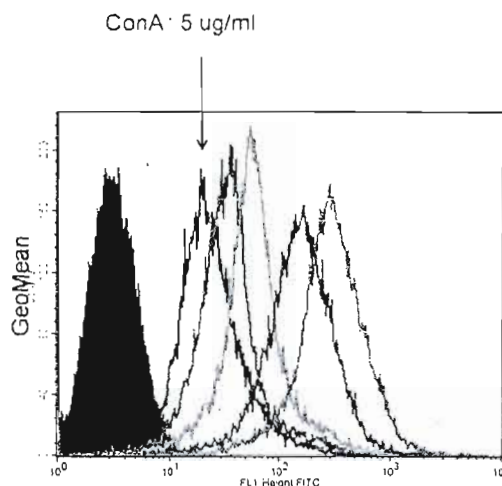
<sup>333</sup> Gane, P. Flow cytometry in immunohematology. *Transfus. Clin. Biol.* **2002**, *9*, 271-279.

<sup>334</sup> Ducray, F. Biologie des gliomes cérébraux. *Cancer Radiothérapie* **2008**, *12*, 663-668.

<sup>335</sup> Belkaid, A.; Copland, I. B.; Massillon, D.; Borhane, A. Silencing of the human microsomal glucose-6-phosphate translocase induces glioblastoma cells death: Potential new target for the anticancer curcumin. *FEBS Letters* **2006**, *580*, 3746-3752.

<sup>336</sup> Ogo, H.; Kuroyanagi, N.; Inoue, A.; Nishio, H.; Hirai, Y.; Akiyama, M.; DiMaggio, D. A.; Krause, J. E.; Nakata, Y. Human astrocytoma cells (U-87 MG) exhibit a specific substance P binding site with the characteristics of an NK-1 receptor. *J. Neurochem.* **1996**, *67*, 1813-1820.

répertoriée sur une courbe standard pour déterminer la concentration idéale pour les tests qui a été établie à 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Le principe de cette technique repose sur l'efficacité de nos molécules dendritiques à compétitionner avec la liaison Con A-FITC à la surface des U87.

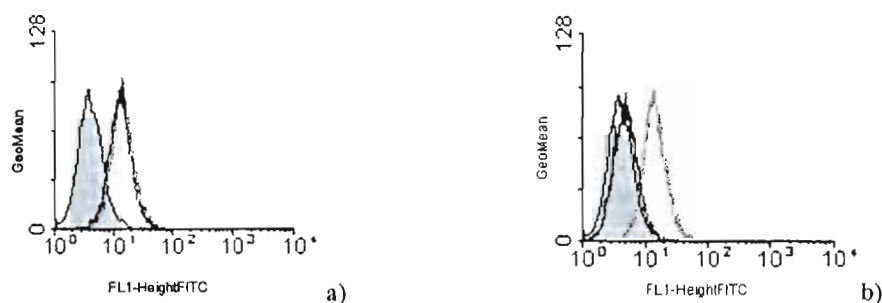


**Figure 83.** Liaison de la Con A-FITC à la surface des cellules U87. Les couleurs de noir à bleu indiquent les différentes concentrations testées: 5, 10, 20, 50 et 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . La courbe à l'extrême gauche (noir plein) représente les cellules U87 libres.

#### 6.4.2. Interprétation des résultats

Le principe de cette étude est illustré à la Figure 84. Tel que mentionné précédemment, la courbe en gris à gauche correspond à la fluorescence naturelle du total des cellules U87 seules. La courbe en vert représente celle du complexe initial Con A-U87. Enfin, la quantification de la fluorescence induite par les cellules U87 libérées par l'action d'un inhibiteur monovalent de type Me $\alpha$ Man (**M-8**) est traduite par la courbe en rouge. En fait, l'activité d'un inhibiteur est directement évaluée selon la tendance du déplacement de la courbe correspondant à la fluorescence des cellules cancéreuses libres en rouge. Pour pouvoir répertorier l'efficacité de nos composés, nous avons transformé les résultats logarithmiques de la fluorescence en pourcentage de libération des cellules cancéreuses. Plus le pourcentage est élevé, plus l'action de nos molécules est considérée comme bonne. Dans la Figure 84 a), l'action du composé **M-8** permet de libérer seulement 28 % des cellules U87, alors que

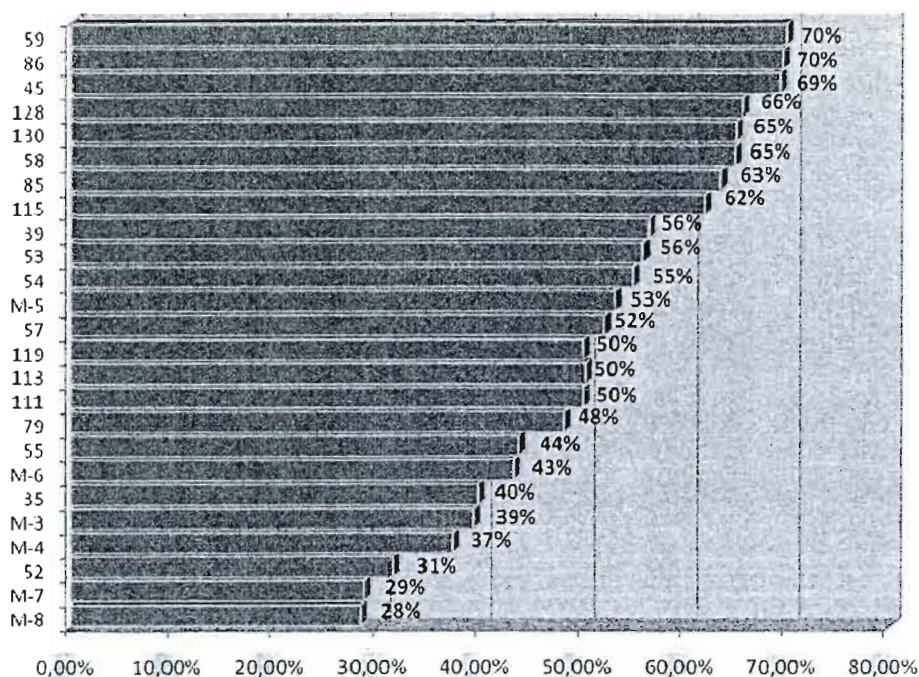
l'utilisation du mannodendrimère hexadécavalent **59** à la même concentration (50  $\mu\text{M}$ , soit 3.1  $\mu\text{M}$  par épitope) induit la libération de 70% des cellules cancéreuses. Ceci se traduit par un déplacement plus prononcé de la courbe rouge vers la gauche, donc vers la fluorescence initiale naturelle de ces cellules.



**Figure 84.** Évaluation de la fluorescence pour a) l'efficacité de **M-8** ( $\alpha$ -MeMan, 50  $\mu\text{M}$ ) et b) l'efficacité du mannodendrimère **59** (50  $\mu\text{M}$ , 16 résidus mannosides) sur le complexe Con A-FITC-U87.

Le monosaccharide **M-8** constitue le plus faible ligand déterminé lors de ce test alors qu'à l'instar des résultats obtenus en turbidimétrie, le mannodendrimère **59** représente le meilleur candidat dans cette étude.

L'ensemble des résultats logarithmiques de la fluorescence sous forme de pourcentages de libération des cellules U87 est représenté sous forme de graphique en bâtonnets à la Figure 85. Il est à noter que certains monomères (**M-3** à **M-8**) ont été intégrés dans ce test à titre comparatif afin de rendre compte des éventuels effets de multivalence.



**Figure 85.** Représentation du pourcentage de libération des cellules U87 induit par les dérivés mono- et multivalents mannosylés synthétisés. La concentration des composés a été établie à 50  $\mu$ M alors que la concentration de la Con A-FITC est établie à 5  $\mu$ g/mL.

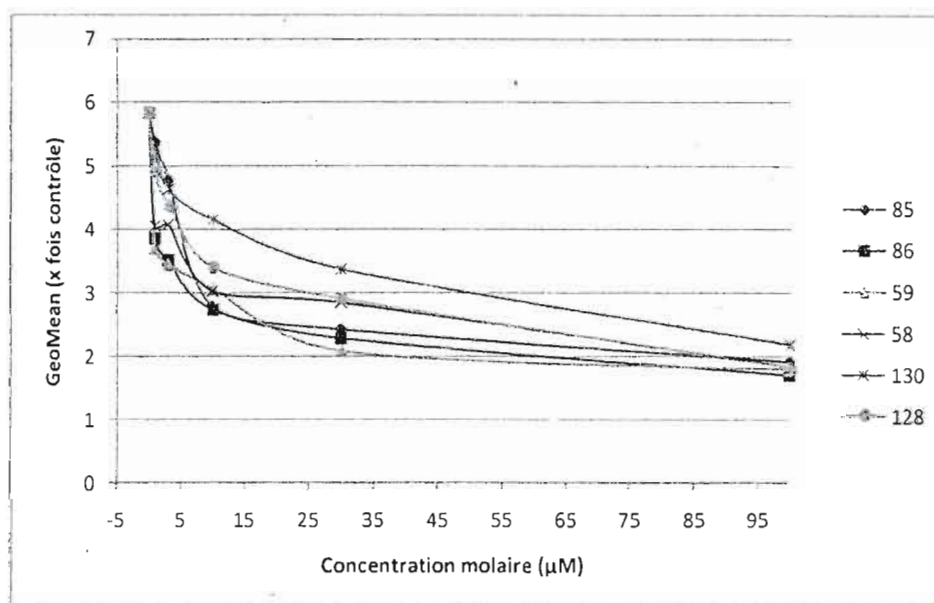
La première constatation marquante à la lecture de ces résultats provient du fait que les meilleurs candidats révélés pour leur capacité à réticuler la Con A fournissent les meilleurs pourcentages de libération des cellules cancéreuses. Ainsi, les cinq conjugués les plus performants lors de la réticulation (59, 86, 128, 130 et 58), avec des valences égales ou supérieures à 8, induisent des pourcentages de libération égaux ou supérieurs à 65%. Cette observation appuie ainsi l'idée du caractère robuste et reproductible de la combinaison des tests effectués impliquant la lectine Con A. En revanche, bien que le conjugué tétravalent 45 n'ait pas été très efficace lors des premières études (~ 40% de réticulation), son utilisation lors des essais de mesure de fluorescence par cytométrie de flux s'est avérée beaucoup plus intéressante avec 69% des cellules libérées. De façon remarquable, ce résultat est similaire à ceux observés pour les meilleurs dérivés beaucoup plus densément fonctionnalisés contenant 16 (59) et 24 (86) épitopes et construits selon une séquence multi-étapes avec répétition de motifs poly-L-lysine. Une nouvelle fois, l'accessibilité des hydrates de carbone améliorée par

l'intégration d'un espaceur sur la position  $\alpha$  des unités de L-lysine, joue un rôle déterminant dans l'activité des dérivés. Ainsi, les conjugués étendus **57**, **58** et **59** sont tous plus actifs que leurs homologues respectifs de même valence **53**, **54** et **55**. Ce résultat est d'autant plus mis en évidence par le fait que le composé glycodendritique hexadécavalent **59** représente un aussi bon candidat que le dérivé poly-L-lysine standard **86** comportant 24 épitopes mannosylés en provoquant une libération à hauteur des 70%. Le même constat peut être fait entre la molécule octavalente **58** et le dérivé dodécavalent **85** (63% de libération vs 62%). Dans la série des glycoclusters comportant le cœur aromatique de type acide trimésique, on constate que le composé trivalent **111** possède une activité identique à celles enregistrées pour les homologues nonavalents **113** et **119** avec 50% de libération. Son analogue **115**, présentant en périphérie trois motifs du type **M-6** s'avère toutefois beaucoup plus efficace avec une libération des cellules cancéreuses de l'ordre de 62%, ce qui est en adéquation avec les observations préliminaires selon lesquelles **M-6** est plus actif que **M-7** (43% vs 29%, respectivement). En revanche, cette tendance s'estompe lorsque la valence est augmentée puisque les analogues nonavalents **113** et **119**, et les glycodendrimères de première génération **128** et **130** induisent le même taux de libération de 50 et 70%, respectivement. Il semblerait donc que l'influence de la valence prenne le dessus sur celle de la nature des groupements périphériques dans ce cas particulier. De plus, bien que l'unité **M-7** représente l'un des plus mauvais candidats dans sa forme monovalente, sa multiple présentation sur des architectures branchées entraîne des résultats spectaculaires. Enfin, dans la série des monosaccharides, on peut constater que l'utilisation du dérivé aromatique **M-5** provoque 53% de libération des cellules à partir du complexe Con A-FITC-U87, ce qui représente la plus grande valeur de cette famille. Son activité est même meilleure que celle induite par certains composés multivalents synthétisés. Le phénomène d'association au sous-site assisté par l'aglycone peut être proposé pour expliquer cette amélioration, avec la participation du groupement aromatique dans les processus d'interaction. Comme mentionné auparavant dans ce mémoire et à la lumière des résultats obtenus lors de ce test, ce phénomène serait bien sûr aussi présent dans la reconnaissance des macromolécules multivalentes.

Ces résultats servent en fait de premiers éléments de comparaison d'efficacité des différents ligands analysés mais ne tiennent pas vraiment compte des véritables

concentrations en nombre « réel » des résidus mannosides. La recherche des valeurs d'  $IC_{50}$  des meilleurs candidats nous permettra de tenir compte de la valence des macromolécules et d'apporter la « correction » désirée.

La détermination des  $IC_{50}$  des meilleurs candidats associée à celle des dérivés monovalents **M-6** et **M-7**, qui constituent les motifs mannosylés répétitifs en périphérie, a pu être effectuée au moyen d'une étude impliquant différentes concentrations de ligands de 1, 3, 10, 30 et 100  $\mu\text{M}$ . L' $IC_{50}$  correspond à la concentration qui provoque 50% de libération des cellules U87 à partir du complexe Con A-FITC-U87 (Figure 86).



**Figure 86.** Graphique présentant les valeurs du taux de libération des cellules cancéreuses U87 par rapport à un contrôle en fonction des concentrations en ligands pour la détermination des  $IC_{50}$ s.

Les résultats des valeurs d' $IC_{50}$  des candidats multivalents les plus prometteurs sont répertoriés dans le Tableau V et comparés avec les valeurs obtenues pour les dérivés monovalents correspondants **M-6** et **M-7**. Ainsi, le paramètre  $\beta$ , qui représente l'amélioration observée dans le cas d'une interaction multivalente par rapport à un composé monovalent de référence, est introduit pour rendre compte de l'effet dendritique. Ce paramètre est

généralement divisé par le nombre d'épitopes présents sur le ligand (N) pour décrire le facteur d'amélioration observé par unité saccharidique ( $\beta/N$ ). Ainsi, ce facteur tient compte ou non de l'effet dendritique, dans le cas où une synergie et une coopérativité induisent une augmentation de l'activité du conjugué multivalent bien supérieure à celle résultant de la simple addition de l'affinité de chacun des épitopes ( $\beta/N \gg 1$ ).

**Tableau V.** Valeurs d' $IC_{50}$  des meilleures structures multivalentes obtenues par cytométrie de flux de la libération des cellules U87 par l'inhibition du complexe Con A-FITC-U87.

Composé	Valence (N)	$IC_{50}$ ( $\mu M$ )	$\beta^a$	$\beta/N^a$
<b>M-6</b>	1	188,0	1,0	1,0
<b>M-7</b>	1	213,2	1,0	1,0
<b>45</b>	4	2,2	96,9	24,2
<b>58</b>	8	3,9	54,7	6,8
<b>59</b>	16	0,5	426,4	26,6
<b>85</b>	12	5,1	41,8	3,5
<b>86</b>	24	0,8	266,5	11,1
<b>130</b>	27	6,8	27,6 <sup>b</sup>	1,0 <sup>b</sup>
<b>128</b>	27	7,5	28,4	1,1

<sup>a</sup> Valeurs obtenues par rapport au monosaccharide **M-7**.

<sup>b</sup> Valeurs obtenues par rapport au monosaccharide **M-6**.

En accord avec les résultats précédents, les dérivés poly-L-lysine **59** et **86** conduisent aux meilleures valeurs d' $IC_{50}$  de l'ordre du haut nanomolaire (500 nM et 800 nM, respectivement), correspondant à une augmentation de l'activité d'un facteur 410 et 262 comparée à celle de la référence monovalente **M-7**. Ceci se traduit par un facteur d'amélioration  $\beta/N$  de 26 pour la première citée et de 11 pour la seconde, indiquant que l'activité du motif glucidique répété est exponentiellement accrue lorsque celui-ci est exhibé à la périphérie de structures multivalentes. En revanche, bien que des basses valeurs d' $IC_{50}$  aient été obtenues pour les dendrimères de première génération **128** et **130** comportant 27 épitopes, on observe plutôt une activité améliorée par la seule addition des activités

individuelles de chaque épitope puisque le facteur d'amélioration est égal à 1 dans les deux cas. Aucun phénomène de synergie ou de coopérativité n'est observé dans ce cas précis.

Au sein d'une même série, il semblerait que l'augmentation de la valence permette une meilleure reconnaissance avec la lectine Con A. Par exemple, dans la série des architectures construites autour du cœur tris(2-aminoéthyl)amine, le doublement du nombre d'épitopes, passant de 12 pour **85** à 24 pour **86**, provoque une chute drastique de la valeur de l'IC<sub>50</sub> ainsi qu'une amélioration spectaculaire de l'activité individuelle de chaque épitope ( $\beta/N$  de 11 pour **86** vs 3.5 pour **85**). Cet effet est encore plus marqué pour les structures synthétisées en phase solide **58** et **59** avec une amélioration globale d'un facteur de 408 pour cette dernière par rapport au dérivé monovalent correspondant **M-7** et une efficacité individuelle accrue de 27 fois (vs 7 pour la structure octavalente **58**).

Les résultats surprenants obtenus lors de l'essai précédent pour le composé tétravalent **45** bâti autour du pentaérythritol ont de nouveau été enregistrés lors de la détermination de son IC<sub>50</sub>. En effet, en dépit de sa faible valence, une des meilleures activités a été obtenue (2,2  $\mu$ M) et le facteur d'amélioration de 24, comparable à celui observé pour le meilleur candidat **59**, témoigne d'un effet cluster dendritique très prononcé.

En conclusion, la batterie de tests effectuée par FACS a confirmé les tendances soulevées lors des essais préliminaires de turbidimétrie. Les composés de plus haute valence induisent en général les résultats les plus prometteurs pour l'affinité avec la Con A. À valences équivalentes, l'accessibilité des épitopes et la flexibilité des structures semblent jouer un rôle primordial. Enfin, la grande efficacité du conjugué tétravalent **45** pourrait être rationalisée par la présence conjuguée de bras espaceurs flexibles contenant des portions hydrophobes aromatiques et d'une présentation dans l'espace des épitopes optimale, permettant de compenser la faible valence et de provoquer des activités intéressantes.

L'objectif de la troisième série de tests basée sur des études d'inhibition d'hémagglutination d'érythrocytes, que nous allons détailler dans la prochaine section, est de vérifier si les tendances observées pour la Con A peuvent être transposées à la bactérie *E. coli* pathogène.



## 6.5 TESTS D'INHIBITION D'AGGLUTINATION D'ÉRYTHROCYTES PAR LA BACTÉRIE *E. COLI* K12

Suite aux résultats encourageants obtenus avec les cellules U87 en cytométrie de flux, les dérivés mannosylés mono- et multivalents ont été engagés dans un test *in vitro* d'inhibition d'agglutination d'érythrocytes par *E. coli*. Ce type de test donne l'opportunité de travailler directement avec la véritable FimH et constitue en ce sens une étude révélatrice qui reflète de vrais processus d'adhérence.

### 6.5.1. Introduction

Dès le début des années 1900 jusqu'à aujourd'hui, de nombreuses recherches ont bien démontré l'efficacité de cette étude pour comprendre et manipuler ces différents comportements d'adhérence, de virulence et de sérologie que la bactérie *E. coli* uropathogène pouvait engendrer.<sup>337</sup> Le test d'hémagglutination des érythrocytes par des souches de *E. coli* a pour la première fois été mis en place et utilisé par Guyot dès 1908.<sup>338</sup> De son côté, Kauffmann a découvert une quarantaine d'années plus tard une grande spécificité d'hémagglutination envers différentes souches de la bactérie.<sup>339</sup> Malgré tout, ce n'est qu'en 1979 que les recherches de l'équipe de Wilson ont permis la classification des fimbriae de type 1 de ces bactéries comme agents de reconnaissance de dérivés mannosides (« mannose-sensitive » ou MS).<sup>340</sup>

Tel qu'expliqué dans le chapitre I, l'adhésion des souches d'UPEC aux cellules uroépithéliales se fait par le domaine de reconnaissance de carbohydrate (CRD) du FimH. Cette lectine est localisée à l'extrémité du pilus de type 1 qui est exprimé sur la membrane de ces bactéries et permet de lier les oligosaccharides de mannose que l'on retrouve à la surface

<sup>337</sup> Minchew, B. H.; Jorgensen, J.; Counts, G. W.; Falkow, S. Association of hemolysin production, hemagglutination of human erythrocytes, and virulence for chicken embryos of extraintestinal *Escherichia coli* isolates. *Infect. Immun.* 1978, 20, 50-54.

<sup>338</sup> Guyot, G. Über die bakterielle Hamagglutination (Bakterio-haemo-agglutination). *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt.* 1908, 47, 640-653.

<sup>339</sup> Kauffmann, F. On haemagglutination by *Escherichia coli*. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 1948, 25, 502-508.

<sup>340</sup> Duguid, J. P., Clegg, S., Wilson, M. I. The fimbrial and non-fimbrial hemagglutinins of *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.* 1979, 12, 213-227.

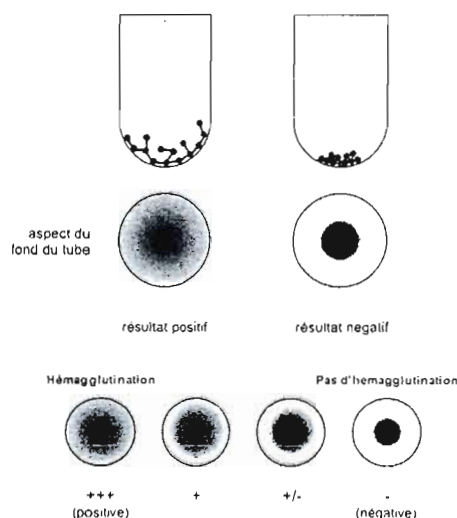
des cellules urothéliales. De ce fait, cette étude *in vitro* nous permettra d'évaluer la capacité de nos structures multivalentes mannosylées à inhiber l'adhésion des bactéries sur les érythrocytes. En effet, les membranes des érythrocytes contiennent un mélange d'oligosaccharides de mannose qui diffère en composition et en proportion selon les espèces mais qui exprime un motif répétitif de  $\text{Man}\alpha 1-2\text{Man}$ .<sup>341</sup> Donc, en présence de la bactérie *E. coli*, les érythrocytes agglutinent pour former un réseau. Cependant, l'hémagglutination peut être inhibée en présence de composés mannosylés. Ce phénomène a été observé à plusieurs reprises par plusieurs groupes de recherche, dont celui d'Old dans les années 70, qui utilisait le D-mannose et le méthyle  $\alpha$ -D-mannose comme inhibiteurs de l'hémagglutination des érythrocytes.<sup>342</sup> Des études plus récentes impliquant notre laboratoire ont confirmé cette application avec l'utilisation bénéfique de glycoclusters mannosylés comme anti-adhésines efficaces.<sup>164</sup>

Ce test est basé sur l'observation de l'agglutination (ou agrégation) des érythrocytes par les particules virales ou bactériennes, donnant lieu à la formation d'une phase gélatineuse au fond du puits, visible à l'œil nu. Les érythrocytes d'une grande variété de mammifères et d'oiseaux sont parmi les plus utilisés (poulet, porc, lapin, cobaye). Le phénomène d'agglutination prenant place dans cette étude est schématisé à la Figure 87.

---

<sup>341</sup> Duguid, J. P.; Gillies, R. R. Fimbriae and adhesive properties in dysentery bacilli. *J. Pathol. Bacteriol.* 1957, 74, 397-411.

<sup>342</sup> Old, D. C. Inhibition of the interaction between fimbrial *haemagglutinins* and erythrocytes by D-mannose and other carbohydrates. *J. Gen. Microbiol.* 1972, 71, 149-157.



**Figure 87.** Schématisation du phénomène d'agglutination.

Ce test mesure l'inhibition exercée par un ligand sur la réticulation des érythrocytes induite par une lectine. En absence d'un ligand inhibiteur, la lectine soluble (aux concentrations entre 0,1 et 0,01 mg/ml) réticule les érythrocytes, formant ainsi une matrice gélatineuse qui précipite au fond du puits (puits de gauche, résultat positif). En absence d'agglutination, les érythrocytes se retrouvent au fond du puits pour former un culot (puits de droite, résultat négatif).

En présence d'un ligand soluble, la précipitation est entièrement inhibée, et le test mesure la concentration minimale du ligand qui empêche l'hémagglutination. Ce test utilise typiquement des dilutions en série, ce qui veut dire que l'erreur est de plus ou moins un ou deux fois le facteur de dilution. Puisque le potentiel d'inhibition est généralement dépendant des variables telles que la source et l'âge des érythrocytes, les concentrations inhibitrices changent considérablement d'une expérience à l'autre. Ainsi, ce type de test d'inhibition d'hémagglutination est rapide, simple de mise en œuvre et permet d'évaluer les ligands solubles de façon comparative, donnant un ordre approximatif d'avidité.

### 6.5.2. Matériel et Résultats

Les tests d'inhibition d'hémagglutination ont été effectués à l'Institut Armand-Frappier (INRS, Laval) en collaboration avec le Dr. Charles Dozois. Les deux souches de bactérie *E. coli* proviennent de cet institut.

Du sang de cobaye (cochon d'inde) a été utilisé comme source d'érythrocytes reconnus par la plupart des souches de *E. coli*. Son utilisation fait d'ailleurs référence au test d'hémagglutination original avec la FimH proposé par le groupe de Gotschlich.<sup>343</sup> Les différentes souches utilisées pour le test ont été *E. coli* BW25113  $\Delta$ FimH et *E. coli* JWK4283. Ces deux souches sont dérivées de la souche sauvage *E. coli* K12. La souche BW25113 est un mutant pouvant exprimer uniquement la lectine FimH à sa surface et, de ce fait, possède la capacité à agglutiner les érythrocytes. Son utilisation en tant que contrôle positif a été envisagée. La souche JWK4283 est la souche mutante employée comme contrôle négatif car elle n'exprime aucune lectine d'adhésion et ne peut ainsi pas agglutiner les érythrocytes. La Figure 88 indique les résultats issus de l'utilisation du contrôle positif et négatif (les deux souches de bactérie *E. coli* K-12) lors d'un test d'hémagglutination standard en présence du sang de cobaye. Les deux premières lignes représentent l'effet de l'hémagglutination de la souche BW25113 causant la diffusion des érythrocytes dans les puits. La dernière ligne indique la souche JWK4283 n'ayant pas d'activité agglutinante avec les érythrocytes non agglutinés qui se retrouvent au centre du puits sous forme de culot.

---

<sup>343</sup> Salit, I. E.; Gotschlich, E. C. Type I Escherichia coli pili: characterization of binding to monkey kidney cells. *J. Exp. Med.* 1977, 146, 1169-1181.

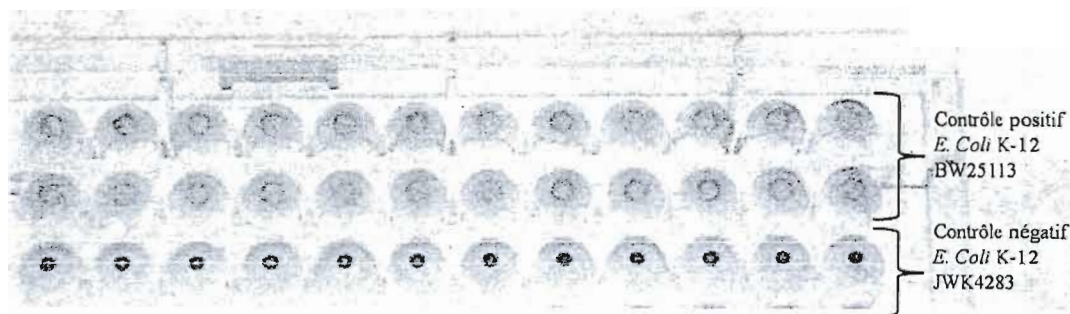
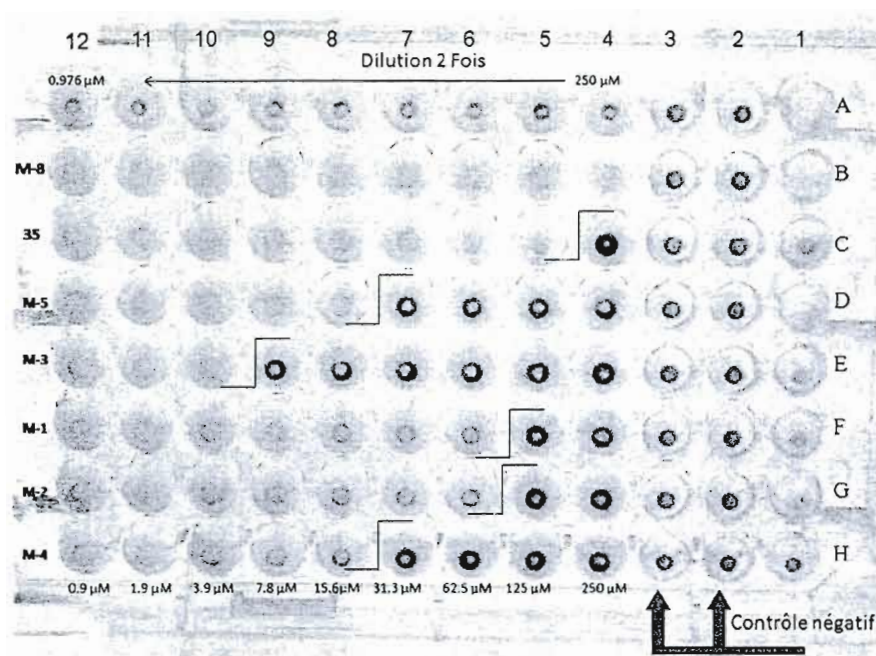


Figure 88. Tests positif et négatif de l'hémagglutination avec le sang de cobaye et les deux souches de bactéries *E. coli* K-12.

Ce test a été effectué dans des plaques à 96 puits en forme de U (BD Falcon™). Les composés testés ont été pesés précisément et dilués dans du PBS pour fournir des solutions-mères de 10 mM. Dans le premiers puits, 40  $\mu$ L de produit ont été déposés avec 40  $\mu$ L de sang et 40  $\mu$ L de bactérie pour un total de 120  $\mu$ L. Les puits suivants contiennent 20  $\mu$ L de PBS, 20  $\mu$ L de sang et 20  $\mu$ L de bactéries pour garder les concentrations en érythrocytes et en bactéries constantes. Une quantité de 60  $\mu$ L a été transférée du premiers puits vers le deuxième et ainsi de suite pour faire des dilutions de 2 en série. Après une heure à température de la pièce (22°C), les plaques ont été examinées à l'œil nu pour observer l'inhibition d'hémagglutination. Tous les essais ont été effectués en triplicata et la concentration minimale d'inhibition (MIC, «Minimum Inhibitory Concentration»), correspondant à la plus petite concentration en ligands synthétiques responsable de l'inhibition de l'agglutination totale, est directement extraite pour chaque composé.

Dans un premier temps, l'efficacité de quelques monomères (M-1 à M-5, M-8) a été analysée. La Figure 89 indique une plaque entière de 96 puits représentant les films et les culots selon la présence ou l'absence des phénomènes d'hémagglutination.

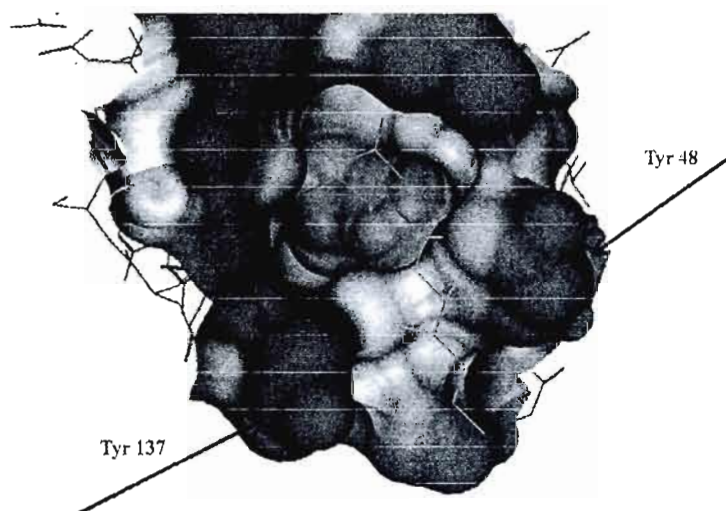


Les colonnes 2 et 3 représentent le contrôle négatif des bactéries *E. coli* JWK4283. Les concentrations en ligands ajoutés commencent à 250  $\mu\text{M}$  (colonne 4) et sont divisées par 2 (dilution en série) jusqu'à 0.976  $\mu\text{M}$  (colonne 12).

**Figure 89.** Test d'inhibition d'hémagglutination des monosaccharides sur des érythrocytes de cobaye en présence de bactéries *E. coli* BW25113.

Les mannosides déprotégés **M-1** et **M-2**, qui constituent les précurseurs des structures mannosylées multivalentes, présentent des MIC de l'ordre de 125  $\mu\text{M}$ , et s'avèrent de meilleurs inhibiteurs que le dérivé Me $\alpha$ Man (**M-8**) dont le spectre d'action n'a pu être défini précisément dans ces conditions expérimentales (MIC  $\square$  250  $\mu\text{M}$ ). De façon prévisible, les meilleurs candidats monovalents lors de ces essais ont été les dérivés mannosylés possédant des aglycones hydrophobes aliphatiques (**M-3** et **M-4**) ou aromatiques (**M-5**). De plus, il est à signaler que la valeur de MIC obtenue pour le dérivé heptyl  $\alpha$ -D-mannoside (**M-3**, 7.8  $\mu\text{M}$ ) correspond à la valeur déterminée par les investigations du groupe de Bouckaert lors de tests similaires en présence de bactérie *E. coli* UT189.<sup>162</sup> Cette similitude prouve la robustesse et le caractère reproductible de ce type de test biologique. L'étude du CRD de la bactérie étudiée en présence du ligand **M-3** permet d'expliquer la grande affinité lors des processus d'interaction. En plus des liaisons hydrogène classiques opérées par l'intermédiaire des fonctions hydroxyles libres notamment dans des régions hydrophiles, la

présence d'acides aminés se retrouvant à l'embouchure de la Fim H tels que les tyrosines 48 et 137 permet la réalisation d'interactions fortes de type hydrophobes ou par « $\pi$ -stacking» avec les aglycones aliphatiques et aromatiques des meilleurs candidats **M-3**, **M-4** et **M-5** (Figure 90).



**Figure 90.** Image travaillée avec le logiciel MOE du PDB-1KLF illustrant les surfaces hydrophiles (blanc-vert) et hydrophobes (rouge) en présence de l'heptyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside (**M-3**).

Un point intéressant concerne l'activité du monomère **M-4** (31.3  $\mu$ M), contenant une chaîne aliphatique terminée par une fonction propargyle, qui est 4 fois supérieure à celle enregistrée pour l'analogue «court» **M-1**. Cette observation appuie l'explication donnée plus haut concernant l'influence bénéfique d'une chaîne aliphatique dans ce cas précis. De plus, la fonction propargyle directement accessible pourrait mener à une présentation multivalente par l'intermédiaire de la chimie click ou de couplage organométallique de ce composé sur un échafaud dendritique.

Selon le même protocole, les MIC des glycoclusters et des glycodendrimères multivalents synthétisés ont été déterminés. Une fois encore, une étude comparative intra- et inter-classes a été effectuée, avec l'utilisation des facteurs d'amélioration en comparaison de la MIC obtenue avec Me $\alpha$ Man (**M-8**) pour rendre compte de l'effet cluster. Il est important

de remarquer que toutes les structures multivalentes synthétisées inhibent l'hémagglutination à des concentrations largement inférieures à celle de la référence.

Les composés multivalents contenant un cœur dérivé du pentaérythritol induisent une inhibition totale à des concentrations minimales intéressantes de 7.8 (**45**) et 15.6  $\mu\text{M}$  (**37**, **39**, **41** et **43**), quelque soit la valence (Tableau VI).

**Tableau VI.** Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées autour des dérivés du pentaérythritol obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par *E. coli* BW25113.

Composé	MIC ( $\mu\text{M}$ )	Valence (N)	$\beta$	$\beta/\text{N}$
<b>M-8 (Me<math>\alpha</math>Man)</b>	500	1	1	1
<i>Série pentaérythritol</i>				
<b>43</b>	15.6	4	32	8
<b>37</b>	15.6	6	32	5
<b>39</b>	15.6	6	32	5
<b>41</b>	15.6	6	32	5
<b>45</b>	7.8	4	64	16

De façon surprenante, les dérivés hexavalents **37**, **39** et **41** présentent des facteurs d'amélioration identiques (5) mais inférieurs à ceux obtenus pour le dérivé tétravalent **43**. Une nouvelle fois, le glycocluster **45** semble interagir fortement avec la lectine étudiée, avec une activité 64 fois supérieure à la référence **M-8**, correspondant à une valeur de  $\beta/\text{N}$  de 16. La tendance observée pour ce conjugué avec la Con A dans les investigations par cytométrie de flux est donc confirmée par ce test puisqu'il fait partie des meilleurs candidats en dépit de sa faible valence. Sa structure flexible incorporant des régions aromatiques autour d'un cœur trivalent semble donc constituer des paramètres structuraux primordiaux pour une reconnaissance efficace par les lectines spécifiques aux mannosides.

Dans la série des glycoclusters et des glycodendrimères synthétisés en SPPS, les structures possédant des valences supérieures à 8 présentent les MIC les plus basses, donc les meilleures activités (Tableau VII). Des MIC élevées jusqu'à 78.1  $\mu\text{M}$  ont été obtenues avec les structures di- (**52**) et tétravalentes (**53** et **57**), qu'elles soient étendues en position  $\alpha$  des

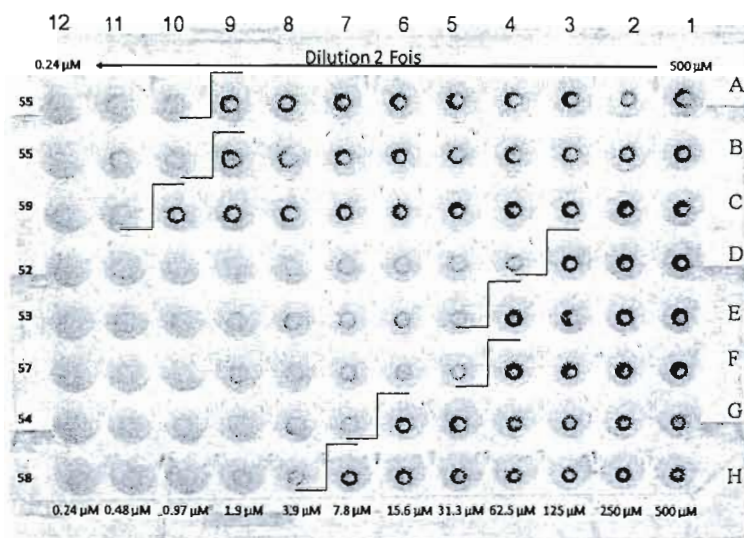


motifs L-lysine ou non. Ces faibles activités se traduisent par une faible contribution dendritique dans les processus de reconnaissance avec des valeurs de  $\beta/N$  entre 2 et 3.

**Tableau VII.** Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées en SPPS obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par *E. coli* BW25113.

Composé	MIC ( $\mu\text{M}$ )	Valence (N)	$\beta$	$\beta/N$
<b>M-8 (Me<math>\alpha</math>Man)</b>	500	1	1	1
<i>Série poly-L-lysine (SPPS)</i>				
<b>52</b>	78.1	2	6	3
<b>53</b>	62.5	4	8	2
<b>54</b>	15.6	8	32	4
<b>55</b>	2.0	16	256	16
<b>57</b>	62.5	4	8	2
<b>58</b>	7.8	8	64	8
<b>59</b>	1.0	16	512	32

En revanche, l'effet bénéfique de l'introduction de bras espaceurs flexibles se fait davantage ressentir pour les composés octa- (**54** et **58**), et hexadécavalents (**55** et **59**), avec une diminution de la MIC d'un facteur 2 dans chacun des cas. D'ailleurs, en corrélation avec les résultats obtenus lors des tests précédents, le composé **59** représente le meilleur candidat en termes de MIC (1  $\mu\text{M}$ ) et de facteur  $\beta$  (512). Dans ce cas précis, l'effet dendritique contribue à l'amélioration de l'efficacité de chacun des seize épitopes périphériques par un facteur 32 comparé à la référence **M-8**, lors des processus de reconnaissance par le CRD de la lectine étudiée. Un exemple de plaque à 96 puits utilisée pour les tests concernant cette série est illustré à la Figure 91.



Les colonnes 1 à 12 représentent les dilutions de chaque composé commençant à  $500 \mu\text{M}$  et divisées par 2 (dilutions en série) jusqu'à  $244 \text{ nM}$ . Les rangées de A à H représentent les différents ligands synthétiques testés avec l'identification de la plus petite concentration pouvant inhiber le processus d'hémagglutination.

**Figure 91.** Test d'inhibition d'hémagglutination des mannodendrimères 52, 53, 54, 55, 57, 58 et 59 sur des érythrocytes de cobaye en présence de bactéries *E. coli* BW25113.

D'une façon générale, les conjugués multivalents construits autour du cœur tris(2-aminoéthyl)amine de basse valence (inférieure à 6) ne sont pas très efficaces avec des MIC supérieures à  $60 \mu\text{M}$  et un effet dendritique peu marqué ( $\beta/N$  de 1 ou 2) (Tableau VIII).

**Tableau VIII.** Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées en phase homogène obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par *E. coli* BW25113.

Composé	MIC ( $\mu\text{M}$ )	Valence (N)	$\beta$	$\beta/N$
M-8 (Me $\alpha$ Man)	500	1	1	1
<i>Série poly-L-lysine (phase homogène)</i>				
73	78.1	3	6	2
75	78.1	3	6	2
77	78.1	3	6	2
79	62.5	6	8	1
85	3.9	12	128	11
86	1.0	24	512	21
94	62.5	6	8	1

L'introduction d'espaceurs flexibles entre le cœur et les résidus glucidiques dans les structures trivalentes n'a eu aucun effet sur la reconnaissance. Les meilleurs ligands **85** et **86** contenant respectivement 12 et 24 épitopes, provoquent l'inhibition de l'hémagglutination à des concentrations dans le bas micromolaire (4 et 1  $\mu\text{M}$ ) et le processus de reconnaissance est basé sur un fort effet dendritique. Cependant, l'accessibilité à l'intégralité des épitopes constitue une nouvelle fois un paramètre important puisque le glycodendrimère **59** synthétisé en SPPS contenant moins de résidus mannosides que **86** présente un facteur d'amélioration plus élevé (32 vs 21).

Enfin, les deux glycoclusters trivalents **111** et **115** issus de la série présentant un cœur aromatique possèdent des MIC similaires de 31.2  $\mu\text{M}$ , indépendamment de la nature du dérivé mannosylé clické, et sont globalement 16 fois plus actifs que la référence et environ 3 fois plus efficaces que leurs homologues **73**, **75** et **77** de la série poly-L-lysine (Tableau IX).

**Tableau IX.** Valeurs des concentrations minimales d'inhibition (MIC) des structures multivalentes synthétisées autour des dérivés de l'acide trimésique obtenues par l'inhibition d'agglutination des érythrocytes de cobaye par *E. coli* BW25113.

Composé	MIC ( $\mu\text{M}$ )	Valence (N)	$\beta$	$\beta/\text{N}$
M-8 (Me $\alpha$ Man)	500	1	1	1
<i>Série cœur acide trimésique</i>				
<b>111</b>	31.2	3	16	5
<b>115</b>	31.2	3	16	5
<b>117</b>	15.6	6	32	5
<b>119</b>	15.6	9	32	4
<b>113</b>	15.6	9	32	4
<b>128</b>	1.0	27	512	19
<b>130</b>	1.0	27	512	19

Au sein de cette série, la multiplication du nombre d'épitopes pour les architectures dendritiques de génération 0 n'influence pas vraiment leur efficacité puisque le dérivé hexavalent **117** inhibe l'hémagglutination à des concentrations de même ordre de grandeur que les homologues supérieurs nonavalents **113** et **119**. Au contraire, il semble que cette augmentation soit responsable d'une chute dans le facteur d'amélioration  $\beta/\text{N}$ . En revanche, de faibles concentrations minimales d'inhibition sont observées pour les glycodendrimères

**128** et **130** correspondant à une amélioration de l'activité d'un facteur 500 et une valeur de  $\beta/N$  de 19 dans les deux cas. Toutefois, malgré le plus grand nombre de ligands terminaux, cette dernière valeur n'excède pas celles extraites pour les conjugués **59** et **86**.

Bien que ce test d'inhibition d'hémagglutination basé sur une évaluation visuelle procure des valeurs chiffrées assez peu précises, les ordres de grandeur des MICs ont permis de confirmer les tendances soulevées lors des investigations biologiques précédentes. D'une façon générale, les meilleurs candidats à la reconnaissance de la lectine Con A ont induit les meilleurs résultats avec la souche de la bactérie *E. coli* pathogène étudiée. Outre le dérivé tétravalent **45**, les macromolécules de haute valence (16 à 27) relativement flexibles, entraînant une présentation symétrique et espacée des épitopes contenant un aglycone hydrophobe en position aromatique telles que **59**, **86**, **128** et **130**, semblent être des candidats prometteurs pour l'élaboration d'anti-adhésines efficaces vis-à-vis de *E. coli*.

Certaines structures multivalentes présentées dans ce mémoire ont fait l'objet d'investigations biologiques complémentaires dont la présentation est en dehors du cadre de ce travail. En bref, les composés **33**, **37** et **47** ont été engagés dans un test de résonance des plasmons de surface (ou technique Biacore) avec la lectine FimH de la bactérie *E. coli* K12.<sup>164</sup> La méthode Biacore est un test qui évalue la capacité des ligands en solution à inhiber l'attachement de la lectine à des ligands immobilisés sur une puce et donne accès à des constantes d'affinité et des données thermodynamiques. Des résultats spectaculaires ont été enregistrés. Un  $K_d$  très faible de 3 nM a été obtenu pour le dérivé hexavalent **37**, ce qui correspond à une activité 476 fois meilleure que celle de la référence  $\alpha$ -MeMan. Une différence importante a été observée pour les homologues trivalents **33** et **47** avec une meilleure efficacité du ligand issu du couplage avec le mannoside **5** (**33**) ( $K_d$  de 14 vs 53.8).

Une seconde application impliquant l'utilisation des conjugués multivalents **31**, **33**, **37**, **39**, **41** et **47** a permis d'évaluer leur potentiel à bloquer l'activité de la lectine Con A sur les cellules stromales mésenchymateuses responsables du développement tumoral.<sup>344</sup>

---

<sup>344</sup> Fortier, S.; Touaibia, M.; Lord-Dufour, S.; Galipeau, J.; Roy, R.; Annabi, B. Tetra- and hexavalent mannosides inhibit the pro-apoptotic, antiproliferative and cell surface clustering effects of Concanavalin A: Impact on MT1-MMP functions in marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Glycobiology* **2008**, *18*, 195-204.

## 6.6 CONCLUSIONS DU CHAPITRE

À partir de ces études biologiques préliminaires, nous avons pu observer efficacement l'action multivalente des différentes architectures dendritiques qui peuvent engager des interactions fortes avec deux lectines différentes spécifiques aux mannosides. La cohérence et la reproductibilité des résultats observés ont été vérifiées, soit par concordance des valeurs obtenues et issues de nos propres tests, soit par comparaison avec des travaux présentés dans la littérature. D'une façon générale, et bien que les CRDs des deux lectines étudiées soient assez différents en termes de séquence d'acides aminés, les ligands les plus efficaces pour l'une ont de même présenté une activité intéressante pour l'autre. Des effets dendritiques marqués, représentés par le facteur  $\beta/N$  qui permet de rendre compte de l'amélioration de l'avidité de chaque épitope par rapport à l'activité observée pour l'analogue sous sa forme monovalente, ont été observés pour les meilleurs candidats. Ainsi, une valence importante (testée jusqu'à 27 épitopes), la présence d'un aglycone aromatique à proximité de la position anomérique du sucre, et l'accessibilité de chacune des unités périphériques semblent constituer des paramètres importants qui sont adaptables au moyen de séquences synthétiques contrôlées. De plus, l'exemple du cluster tétravalent **45**, qui représente un des meilleurs inhibiteurs potentiels, indique que des facteurs supplémentaires entrent en ligne de compte. Le caractère flexible des bras espaceurs, la balance hydrophile/hydrophobe de la région interne des structures, ainsi que la présentation dans l'espace de chaque ligand dirigée par le cœur lui-même, semblent contribuer aux processus de reconnaissance par l'intermédiaire de phénomènes présentés dans ce travail. À la lumière de ces premiers résultats enregistrés sur quatre nouvelles familles de composés mannosylés multivalents, des investigations biologiques complémentaires doivent être menées afin de confirmer ces tendances. Des architectures optimisées et élaborées «sur mesure» en fonction des activités obtenues pourraient constituer des anti-adésines efficaces pour prévenir l'infection par la bactérie *E. coli*.

## CHAPITRE VII

### CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

Dans le but d'élaborer des agents thérapeutiques efficaces visant l'inhibition de l'adhésion bactérienne, 31 macromolécules multivalentes mannosylées finales ont été efficacement conçues. Dans ce cadre, et afin d'évaluer précisément les paramètres structuraux favorables pour un rôle optimal des anti-adhésines synthétiques, différentes architectures multivalentes, de type cluster ou dendrimère, ont été obtenues. Des stratégies de synthèse simples, expéditives, reproductibles, applicables à grande échelle (de l'ordre du gramme) et reposant sur des réactions de couplage efficaces, ont été utilisées. Ainsi, l'agencement des différents éléments constitutifs des conjugués multivalents a pu être possible de façon totalement contrôlée et avec de hauts rendements par l'intermédiaire de réactions de substitutions nucléophiles, de chimie click, de couplage peptidique ou encore de diazotransfert. D'ailleurs, l'introduction des fonctionnalités réactives désirées a pu être observée avec la même efficacité en phase homogène liquide classique ou en phase supportée (SPPS) lors de la synthèse de ligands multivalents de poly-L-lysine.

Ces structures multivalentes peuvent être réparties en trois familles construites autour de dérivés du pentaérythritol (Chapitre II), incorporant des motifs peptidiques de type poly-L-lysine obtenues en phase homogène et sur support solide (Chapitres III et IV), ou émanant d'un cœur aromatique trivalent (Chapitre V). Une grande partie de ces macromolécules a été élaborée suivant une approche divergente, basée sur la synthèse préliminaire du scaffold dendritique en multipliant de proche en proche le nombre de fonctionnalités périphériques, puis sur le couplage final des unités saccharidiques contenant la fonction complémentaire par chimie click. De plus, l'adaptation d'une stratégie, qualifiée d'accélérée et reposant sur la synthèse préalable de dendrons glycosylés a conduit à la confection de glycodendrimères de première génération densément fonctionnalisés et totalement monodisperses.

Les variations des différents éléments introduits dans la région interne de nos structures ainsi que leurs séquences d'agencement variées introduites de façon contrôlée ont été à

l'origine d'une grande diversité architecturale, appréciable pour mener une étude détaillée de leurs propriétés à lier de façon multivalente des lectines et à les inhiber efficacement. Dans ce contexte, l'étude des différents paramètres incluant l'influence de la balance hydrophile/hydrophobe des espaceurs incorporés, de la nature des groupements sur la position anomérique des épitopes, du caractère rigide/flexible des bras espaceurs, de la valence et de l'orientation dans l'espace des hydrates de carbone périphériques a pu être menée. Les investigations biologiques effectuées au sein du laboratoire de façon indépendante (turbidimétrie) ou avec l'aide de collaborations (cytométrie de flux et inhibition d'hémagglutination), ont permis de confirmer le fait que les conjugués multivalents mannosylés constituent des mimétiques réalistes des polysaccharides de mannose exprimés à la surface des cellules urothéliales. Ils représentent en ce sens un excellent modèle pour étudier et comprendre les processus d'infection par la bactérie *E. coli* aux premiers contacts avec les cellules cibles, et donc pour l'élaboration d'agents thérapeutiques optimisés de type anti-adhésines.

L'analyse des résultats issus de nos études biologiques conduites sur deux lectines, Con A et la Fim H de *E. coli* uropathogène, a contribué à la détermination de paramètres structuraux cruciaux favorisant des interactions hydrates de carbone-protéine étroites. Bien que certains résultats divergent selon les lectines étudiées, notamment autour de l'implication de l'«effet dendritique» des structures multi-génération, une valence assez importante (entre 8 et 27 épitopes) conduit généralement à des avidités intéressantes. Cependant, l'exemple de la structure tétravalente **45**, l'un des meilleurs candidats pour libérer les cellules cancéreuses U87 à partir du complexe Con A-FITC-U87 et possédant un important facteur d'amélioration dans chacun des essais biologiques, laisse penser que l'orientation des épitopes et une valence optimisée par rapport à la cible biologique entrent aussi en ligne de compte. De plus, l'accessibilité à tous les épitopes, facilitée par l'utilisation de bras espaceurs flexibles, est requise afin de bénéficier des meilleures affinités. En outre, quelque soit la nature des échafauds dendritiques utilisés, il semblerait que l'incorporation d'aglycones de type aromatique sur les mannosides exposés à la périphérie soit responsable dans ce cas précis de l'amélioration des activités par l'intermédiaire du phénomène d'«association au sous-site assisté par l'aglycone». Des valeurs d'IC<sub>50</sub> et de MIC de l'ordre du haut nanomolaire,

accompagnées de facteurs d'amélioration ( $\beta/N$ ) importants calculés en comparaison de l'activité des références monovalentes, ont été enregistrées pour les candidats les plus efficaces, traduisant l'influence bénéfique de l'effet de multivalence.

Des investigations complémentaires, tant au niveau synthétique qu'au niveau biologique, restent à être effectuées afin de confirmer les tendances observées et de caractériser précisément la nature des interactions qui régissent les processus d'infection par *E. coli* pathogène, notamment. Dans ce contexte, d'autres types d'essais biologiques tels qu'ELLA (enzyme-linked lectin assay) ou la calorimétrie isotherme à titration (ITC) devront être envisagés pour donner accès à des valeurs supplémentaires de constantes d'affinités ( $K_D$ ) et des données thermodynamiques, nécessaires à une meilleure compréhension de la nature des interactions multivalentes mises en jeu. De plus, le potentiel thérapeutique prometteur des structures synthétisées ainsi que leur toxicité pourrait être évalués *in vivo* sur des animaux infectés par des ITU. Enfin, la flexibilité de la stratégie synthétique pourrait permettre l'élaboration d'architectures multivalentes glycosylées visant d'autres cibles thérapeutiques, en jouant simplement sur la nature des unités glucidiques incorporées. Cette méthodologie a d'ailleurs été appliquée efficacement à la conception d'inhibiteurs multivalents de la lectine PA-IL de *Pseudomonas aeruginosa* avec la multiple présentation de C-galactosides.



## CHAPITRE VIII

### PARTIE EXPÉRIMENTALE

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

#### 8.1 GÉNÉRALITÉS

##### *8.1.1 Solvants*

Lorsque mentionné, les solvants sont distillés<sup>345</sup> comme indiqué ci-dessous puis conservés sur tamis moléculaire, sur hydroxyde de potassium ou sur hydrure de calcium. Le dichlorométhane est distillé sur anhydride phosphorique (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). La pyridine est distillée sur hydroxyde de potassium. Le toluène est distillé sur hydrure de calcium. Le THF est distillé sur sodium/benzophénone et l'éther sur hydrure de lithium-aluminium. Le DMF est distillé sur ninhydrine puis conservé sur tamis moléculaire. L'acétone est séchée sur sulfate de calcium. Le méthanol est distillé sur sodium métallique et conservé sur tamis moléculaire. Lors des étapes de glycosidation et de glycosylation, les solvants utilisés ont été fraîchement distillés. Les solvants employés pour la chromatographie sont de qualité ACS ou CLHP et n'ont pas été distillés avant leur utilisation. Les solvants sont évaporés sous pression réduite (évaporateur rotatif avec vide généré par un système de trompe à eau).

---

<sup>345</sup> Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. Purification of Laboratory Chemicals. **1997**, Pergamon Press Pub.

### 8.1.2 Chromatographies

L'avancement des réactions est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice (Merk 60 F<sub>254</sub>) en utilisant des systèmes d'éluants appropriés. La révélation est effectuée par irradiation sous lumière UV ( $\lambda = 254$  nm) et par trempage dans des révélateurs spécifiques: un mélange acide (acide sulfurique/méthanol/eau : 5/45/45 ; v/v/v) pour les composés glycosylés ou une solution oxydante de molybdate (préparée à partir de 25 g de molybdate d'ammonium et de 10 g de sulfate cérique dissous dans 900 ml d'eau et 100 mL d'acide sulfurique concentré), puis par chauffage progressif jusqu'à 300 °C. Les séparations par chromatographie rapide sont réalisées sous pression d'air comprimé sur colonne de gel de silice (Silice-P Flash Silica Gel, Silicycle) avec l'éluant indiqué. L'éluant utilisé pour la séparation de certains composés polaires contenant de multiples fonctions hydroxyles en périphérie (gradient A) est le suivant: acétonitile puis acétonitile/eau : 95:5 à 90:10.

### 8.1.3 Analyses physico-chimiques

#### 8.1.3.1 Généralités

Les réactions réalisées sous atmosphère inerte ont utilisé des ballons de baudruche gonflés à l'argon ou à l'azote. Les points de fusion sont mesurés sur un appareil de type Fisher Jones et ne sont pas corrigés. Les lyophilisations sont effectuées sur un appareil Freeze Mobile 24 (Virtis). Les dialyses sont effectuées à l'aide de membranes benzoylées (Avg. Flat width 9 mm, cut off  $\leq 1200$  g/mol, Sigma Aldrich). Les spectres IR ont été enregistrés sur un appareil Bomem Hartmann&Braun MB-series à transformée de Fourier et traité avec le logiciel Grams/AI. Les composés liquides ou huileux ont été analysés sous forme de film entre deux fenêtres de chlorure de sodium. Les échantillons solides ont été analysés sous forme de pastille au bromure de potassium (concentration en produit 1% massique). Les nombres d'ondes correspondant aux bandes d'absorption caractéristiques sont exprimés en  $\text{cm}^{-1}$ . Les mesures de masse nominale sont réalisées sur un instrument LC-MSD et les mesures de masses exactes par spectroscopie de masse haute résolution sont réalisées sur un

instrument LC-MSD-TOF (liquid chromatography mass spectrometry time of flight) modèle 6210 d'Agilent Technologies par le Laboratoire de Spectrométrie de Masse de l'Université de Montréal en ionisation par electrospray (ESI) et par le Laboratoire « Plateforme analytique pour molécules organiques » de l'Université du Québec à Montréal. La source utilisée sur le MS-TOF est l'electrospray en mode positif. La source utilisée sur le MS-TOF est l'electrospray en mode positif avec la condition de la source (capillaire à 4000V pour le scan ; température du gaz à 350 °C ; débit du gaz à 12 L/min ; nébuliser à 35 PSI) et avec la condition du MS (fragmenteur à 100V ; skimmer à 60V). Un volume de 1 µL est injecté en utilisant une phase mobile d'ACN/H<sub>2</sub>O 50% avec 0.1% d'acide formique.

#### 8.1.3.2 Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) proton (<sup>1</sup>H) et carbone (<sup>13</sup>C) sont enregistrés avec des appareils Varian-Gemini 2000 ou Varian-Innova AS600. Les spectres du <sup>1</sup>H sont enregistrés à une fréquence de 300 MHz ou 600 MHz et ceux du <sup>13</sup>C à 75 MHz ou 150 MHz.

Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane utilisé comme référence interne et en utilisant comme solvants ceux indiqués ; les constantes de couplages ( $J$ ) sont mesurées en Hz. La notation utilisée pour la description des spectres est la suivante : s (singulet), sl (singulet large ou br s), d (doublet), dd (doublet de doublet), m (massif ou multiplet), H<sub>arom.</sub> (protons aromatiques), C<sub>q</sub> (carbone quaternaire) et C<sub>arom.</sub> (carbone aromatique).

Pour les composés libres, les échantillons sont analysés après lyophilisation dans D<sub>2</sub>O 99.9 %. Les mesures sont effectuées dans l'eau lourde,  $\geq 99.97$  %. La référence utilisée est alors le pic résiduel de l'eau pour les spectres de protons (étalonné par l'équation  $\delta = 5.051 - 0.0111T$  où  $T$  correspond à la température au moment de l'acquisition en °C (21 °C), et

l'acétone de qualité spectrale est utilisé pour les spectres du  $^{13}\text{C}$  (référence interne : signal méthyle de l'acétone étalonné à  $\delta = 29.8$  ppm).<sup>346</sup>

Pour les composés protégés et/ou solubles dans le chloroforme, la référence utilisée est alors le signal du  $\text{CHCl}_3$  pour les spectres de protons (étalonné à  $\delta = 7.27$  ppm quelque soit la température utilisée) ou la raie centrale du signal du  $\text{CDCl}_3$  pour les spectres du  $^{13}\text{C}$  (étalonné à  $\delta = 77.0$  ppm). Les expériences bidimensionnelles homo- ou hétéronucléaires sont calibrées par analogie avec les spectres à une dimension correspondants.

L'assignation des protons est faite à l'aide de l'expérience de corrélation de déplacement chimique bidimensionnelle homonucléaire de type COSY (COrelated SpectroscopY). Ces séquences permettent de mettre en évidence les noyaux de même nature possédant entre eux un couplage scalaire plus ou moins fort. L'assignation des carbones est facilitée par des expériences de type DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) qui permet de différencier les carbones quaternaires, les carbones secondaires et les carbones liés à un nombre impair de protons (carbones primaires et tertiaires), APT (Attached Proton Test) qui permet d'identifier les carbones liés à un nombre pair et impair de protons et, la corrélation de déplacement chimique bidimensionnelle hétéronucléaire inverse de type HETCOR (Heteronuclear Chemical Shift Correlation) permettant de mettre en évidence deux noyaux de natures différentes possédant entre eux un couplage plus ou moins fort. L'anomérie en série D-mannose est déterminée par l'expérience de  $^{13}\text{C}$  non découplé de type HSQC (Heteronuclear Simple Quantum Correlation) permettant la visualisation de la multiplicité entre  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  grâce au couplage  $^1J_{\text{C1-H1}}$  et permet d'associer le carbone anomérique au proton qui lui est lié. La valeur de la constante de couplage est corrélée avec la stéréochimie de la liaison (*ca.* 170 Hz pour l'anomère  $\alpha$ ).

---

<sup>346</sup> Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

## 8.2 PROTOCOLES GÉNÉRAUX

### 8.2.1 Protocole A: Procédure générale de la réaction de chimie click 1

À une solution de coeur polyazoture (1.0 éq.) dans un mélange H<sub>2</sub>O/THF (1:1) ([coeur]=1 x 10<sup>-2</sup> mol/L), sont ajoutés le sucre propargylé **5** (1.25 éq. par fonction azoture), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0.3 éq. par fonction azoture) et l'ascorbate de sodium (0.3 éq. par fonction azoture). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à température ambiante pendant 18h. La réaction est directement diluée dans un volume d'AcOEt, puis lavée successivement avec des solutions aqueuses saturées de NH<sub>4</sub>Cl (2X) puis de NaCl. Après séchage des phases organiques sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtration et évaporation sous pression réduite, le résidu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 à 95:5, v/v).

### 8.2.2 Protocole B: Procédure générale de la réaction de chimie click 2

À une solution de coeur polypropargylé (1.0 éq.) dans un mélange H<sub>2</sub>O/THF (1:1) ([coeur] = 1 x 10<sup>-2</sup> mol/L), sont ajoutés le sucre azoture **7** (1.25 éq. par fonction propargyle), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0.3 éq. par fonction azoture) et l'ascorbate de sodium (0.3 éq. par fonction azoture). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à température ambiante pendant 18h. La réaction est directement diluée dans un volume d'AcOEt, puis lavée successivement avec des solutions aqueuses saturées de NH<sub>4</sub>Cl (2X) puis de NaCl. Après séchage des phases organiques sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtration et évaporation sous pression réduite, le résidu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 à 95:5, v/v).

### 8.2.3 Protocole C: Procédure générale de la réaction de diazotransfert

Le substrat aminé et le sulfate de cuivre (II) (1 mol % par amine du substrat) sont dissous dans la moitié de la quantité d'H<sub>2</sub>O que le volume de TfN<sub>3</sub> (conservé dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à une concentration de 0.37M) qui doit être employé pour la réaction. Du K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 mol éq. par amine du substrat) est ajouté, suivi de la solution de TfN<sub>3</sub> dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.5 éq. par amine du substrat) avec une agitation vigoureuse. Pour de meilleurs résultats, le méthanol est

ajouté doucement après le  $TfN_3$ . Le ratio de solvant  $H_2O$ :  $MeOH$ :  $CH_2Cl_2$  pour la réaction est idéalement de 1:2:2. Le mélange réactionnel est mis à réagir 18 h. à température ambiante. La réaction est évaporée avec précaution (nature explosive des azotures) jusqu'à l'apparition d'un résidu. La phase aqueuse résiduelle est soit acidifiée avec de l' $HCl$  3M jusqu'à  $pH=2$  ou basifiée avec du  $NaOH$  3 M jusqu'à  $pH=11$  (selon les fonctions présentes sur le composé désiré) puis extraite avec  $CH_2Cl_2$  (3X). La phase organique est lavée successivement avec des solutions saturées de  $NH_4Cl$  (2X) puis de  $NaCl$ . Après séchage des phases organiques sur  $Na_2SO_4$ , filtration et évaporation sous pression réduite, le résidu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice ( $CH_2Cl_2/MeOH$  98:2).

*8.2.4 Protocole D: Procédure générale de la protection d'une amine par un groupement Fmoc<sup>347</sup>*

L'acide aminé (1.0 éq.) est dissous dans une solution aqueuse de carbonate de sodium (3M) à une concentration de 0.1M à 0°C. Une solution de 9-fluorenylméthylesuccimidyle (1.5 éq., 0.5M) dans un minimum de dioxane y est ajoutée goutte à goutte sur une période de 60 min, en maintenant toujours la solution à  $pH$  9-10 (ajustement effectué en ajoutant du  $NaOH$  concentré). Le mélange est alors agité à t.p. durant 72h. La solution est ensuite diluée dans  $H_2O$  (400 mL), extraite à l'éther diéthylique, acidifiée à  $pH$  2 avec du  $HCl$  concentré, puis extraite avec de l' $AcOEt$  (3 x 150 mL), et enfin lavée avec  $H_2O$ . La phase organique est séchée avec  $Na_2SO_4$ , filtrée et concentrée. Le produit désiré est obtenu par cristallisation dans un mélange  $AcOEt$ /éther de pétrole.

*8.2.5 Protocole E: Procédure générale de la SPPS*

La résine Rink Amide (100-200 mesh, 0.54 mmol/g) est « gonflée » dans du  $CH_2Cl_2$  pendant 20 min, filtrée et conditionnée dans du DMF pendant 1h.

1. Le groupement Fmoc de la résine ou de l'acide aminé du peptide attaché sur la résine est déprotégé avec 5 mL de pipéridine/DMF 20% (v/v) (2 x 15 min).

<sup>347</sup> Atherton, E.; Sheppard, R. C. Solid phase peptide synthesis: a practical approach. IRL Press, OXFORD UNIVERSITY PRESS, Oxford, 1989.

2. Lavages consécutifs de la résine avec du DMF, du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et du méthanol (3 x 5 mL).
3. Test de Kaiser ou TNBS.
4. Couplage: la résine lavée est séchée puis mise en contact avec la solution de l'acide aminé à coupler déjà pré-activé (acide aminé (1 éq.) + agent activant, BOP (3-5 éq.), ou autres agents activateurs, voir Figure 9 du chap. III, + et une quantité catalytique de HOBt, dans du DMF distillé à 4 °C pendant 10-15 min). Après ajout de 9 équivalents de DIPEA, le mélange est agité à température ambiante pendant 1h30 (répéter deux à trois fois pour le premier couplage).
5. Lavages identiques à l'étape 2.
6. Test de Kaiser ou TNBS.
7. « Capper » les sites qui n'ont pas réagi avec une solution d'anhydride acétique/DIPEA/DMF (1:1:8), et rincer pour éliminer tout l'anhydride acétique avant de déprotéger le groupement Fmoc (procédure nécessaire ou obligatoire pour le premier couplage seulement).
8. Déprotection du groupement Fmoc comme l'étape 1.
9. Lavages.
10. Test.
11. Continuation de la synthèse (étape 4) ou réaction de diazotransfert suivie de la CuAAc (Tableau II dans le chapitre III) ou arrêt de la synthèse (clivage de peptide de la résine: Protocole G).

#### 8.2.6 Protocole F: Test de révélation au TNBS

Préparation des solutions: 1) 10% de DIPEA dans DMF; 2) 1% d'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique (TNBS) dans le DMF. La résine à tester est lavée plusieurs fois avec du DMF et re-suspendue dans du DMF (2 gouttes). Une goutte de chaque solution est ajoutée à la suspension (quelques grains de résines dans une goutte de DMF). Après 5 min à température ambiante, la résine est lavée avec du DMF pour enlever la solution rougêatre. La résine rouge (observée à l'œil ou au microscope) indique le test positif:  $-\text{NH}_2$ . ou reste transparente dans le cas contraire.

### 8.2.7 Protocole G: Clivage du lien entre le peptide et la résine<sup>348</sup>

La résine (support solide) contenant le peptide désiré est lavée avec du méthanol et bien séchée avant d'être transférée dans un tube à centrifugation. La solution de clivage (5 mL), qui dépend du type d'acides aminés du peptide, est ajoutée dans le tube contenant la résine. Le mélange est mis à réagir pendant une durée minimale de 1h (maximale de 3h). Du *tert*-butylméthyléther (15 mL) est ensuite ajouté dans la suspension. Le mélange est agité vigoureusement afin de précipiter le peptide. Le surnageant est récupéré après la centrifugation (20 min à 2000 rpm). L'ajout de *tert*-butylméthyléther et l'étape de centrifugation sont répétés trois fois consécutivement, le précipité est enfin évaporé et le résidu solubilisé dans 30 ml de DCM est lavé deux fois avec une solution de NH<sub>4</sub>Cl saturé pour enlever les dernières traces de cuivre utilisé dans les étapes de diazotransfert et de chimie click. Le peptide est finalement dé-O-acétylé par Zemplén (*Protocole H*) et dialysé contre de l'eau nanopure durant 12 heures avant d'être lyophilisé.

La composition de la solution de clivage: Solution de clivage A (pour un peptide sur une résine Rink, pour un peptide qui ne contient pas Arg(MTr) ou Trp non protégé, et pas de Cys(Trt) et Met également): 90% TFA; 10% H<sub>2</sub>O.

### 8.2.8 Protocole H: Transestérification ou dé-O-acétylation par le méthanolate de sodium ou « Zemplén »

Le composé polyacétylé est dissous dans du MeOH sec. Une quantité catalytique (généralement 0.1 équivalent) d'une solution de méthanolate de sodium dans le MeOH (0.1 M) est ajoutée, maintenant la solution à pH 9-10, et le mélange est agité à température ambiante sous atmosphère d'azote. Lorsque la déprotection est terminée (suivi par CCM), la solution est neutralisée par de la résine Amberlite IR-120 (H<sup>+</sup>), filtrée et concentrée.

---

<sup>348</sup> Strategies In Peptide Synthesis : Introduction to Cleavage techniques. 1990, Applied Biosystems, Inc.



### 8.2.9 Protocole I : Réduction d'azoture par hydrogénation catalytique

Le composé azoture est dissous dans du méthanol ou de l'éthanol (0.02 M à 0.05M), et un minimum de dichlorométhane est ajouté dans le cas où la dissolution n'est pas totale. Le milieu réactionnel est hydrogéné en présence de palladium sur charbon à 10% et d'une atmosphère d'hydrogène. Le progrès de la réaction est suivi par CCM (4h). Lorsque la déprotection est terminée, le mélange est filtré sur papier et concentré. Le composé est utilisé tel quel dans la prochaine étape.

### 8.2.10 Protocole J: Couplage peptidique en phase homogène

Le peptide acide carboxylique (1.2 éq. par amine) est préalablement activé dans un minimum de DMF distillé avec l'agent de couplage BOP (1.2 éq. par quantité de peptide) et une quantité catalytique d'HOBt pendant 30 min à 0 °C. À ce mélange est ajoutée goutte à goutte sur une période de 5 min. une solution du substrat aminé (1.0 éq.) et de DIPEA (3 éq. par amine) dans du DMF distillé ( $2 \times 10^{-1}$  M) préalablement refroidie dans un bain de glace sous atmosphère d'azote. Le mélange est laissé à réagir à température ambiante pendant 12 h. La réaction est arrêtée en versant le milieu réactionnel dans une solution de  $\text{KH}_2\text{SO}_4$  3M glacée puis extraite avec de l'AcOEt (3x). La phase organique est lavée par la suite avec une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$ , avec de l'eau et une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  100:0 à 97:3).

### 8.2.11 Protocole K: Amidation sur un chlorure d'acide

À une solution du chlorure d'acyle correspondant (1.0 éq.) dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sec ( $2 \times 10^{-1}$  M), ont été ajoutés à 0°C et sous atmosphère d'azote une solution du dérivé de l'amine ou du sel de TFA correspondant (1.5 éq. par chlorure d'acyle) et de DIPEA (3 éq. par amine). Le milieu réactionnel est agité en laissant revenir à température ambiante pendant 24 heures. La phase organique est par la suite lavée avec une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$ , avec de l'eau

et une solution aqueuse saturée de NaCl. Après séchage sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporation de la phase organique, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100:0 à 95:5).

### 8.3 PROTOCOLES BIOLOGIQUES GÉNÉRAUX

#### *8.3.1 Protocole standard de culture cellulaire*

Les cellules de glioblastomes U87 ont été obtenues chez American Type Culture Collection et cultivées dans le milieu MEM (Minimum Essential Medium) contenant 10% (v/v) de sérum fœtal bovin (FBS), 2 mM glutamine, 100 unités/ml de pénicilline et 100 µg/ml de streptomycine, à 37 °C sous atmosphère humide contenant 5 % CO<sub>2</sub> pendant 36 heures. Les cellules sont ensuite dissociées avec du tampon de dissociation (EDTA, glycérol, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) et on récupère 4 x 200 000 cellules qui sont centrifugées 5 minutes à 3500 tpm. Le surnageant est aspiré et les cellules sont lavées avec 1 ml de tampon de liaison froid, distribuées dans des tubes ependorfs de 1,5 ml à raison de 40 000 cellules par tube, puis centrifugées 5 minutes à 3500 tpm. Le surnageant est aspiré et les cellules resuspendues dans 100 µl de tampon de liaison. La Con A-FITC (5 µg/ml) est ajoutée aux cellules et incubée à 4 °C dans l'obscurité. On rajoute 1 ml de tampon de liaison et on centrifuge une dernière fois. La suspension est diluée dans 350 µl de tampon de liaison et finalement transférée dans des tubes de cytométrie contenant les différentes molécules à tester. Un cytomètre de flux Becton–Dickinson FACS Calibur a été utilisé pour la lecture des fluorescences et le traitement des données brutes a été réalisé à l'aide du logiciel Cell Quest Pro.

#### *8.3.2 Protocole général de culture des souches bactériennes*

Les deux souches de bactérie *E. coli* mutantes ont été obtenues de l'INRS-Institut Armand-Frappier de la part du professeur Charle Dozois. Les deux souches de bactéries ont été inoculées sur des pétris de gélose agar (Difco™ LB Agar ; tryptone 10 g/L, extrait de levure 5g/L, NaCl 10 g/L, agar 15 g/L) à partir de souches conservées dans le glycérol à -80 °C et incubées à 37 °C pendant 24 heures. Une seule colonie est reprise dans 5 ml de bouillon

LB Miller (tryptone 10 g/L, extrait de levure 5g/L, NaCl 10 g/L) et incubée à 37 °C pendant 24 heures avec agitation. De ce tube, 500 µL sont transférés dans un erlenmeyer contenant 50 ml de bouillon LB Miller et incubés à 37 °C pendant 48 heures sans agitation pour permettre l'expression des fimbriae. Le passage de 48 heures statiques est effectué trois fois pour permettre une expression maximale des fimbriae. La densité bactérienne a été déterminée par une courbe standard de croissance préalablement établie sur un spectrophotomètre Genesis 20 Thermospectronic à une densité optique de 600nm. La concentration bactérienne établie a été de  $2 \times 10^8$  unités formant une colonie (UFC) par ml pour une  $DO_{600nm}$  de 0.6. Pour le test, les bactéries sont diluées dans du PBS pour une concentration de  $1 \times 10^7$  UFC dans 40 µL de chaque cuvette.<sup>349</sup>

### *8.3.3 Protocole général pour la préparation des érythrocytes*

Le sang de cobaye a été obtenu de la compagnie Les Laboratoires QueBact et conservé dans une solution Alsever (20.5 g/L de glucose, 8.0 g/L tri-sodiumcitrate, 4.2 g/L NaCl et 0.55 g/L acide citrique dans de l'eau distillée). Une solution d'érythrocytes à 3% (v/v) a été faite à partir de la solution mère de sang Alsever (50%). Pour préparer une solution de 50 mL, nous avons pipeté un volume de 3mL. Les érythrocytes ont premièrement été lavés avec du PBS et centrifugés à 900 tpm à 4 °C pendant 20 minutes. Après trois lavages, les érythrocytes ont été resuspendus dans le même tampon à une concentration de 3 % (v/v) pour un volume de 50 mL.<sup>350</sup>

### *8.3.4 Protocole général pour le test d'hémagglutination*

Le test d'hémagglutination a été effectué dans des plaques à 96 puits en forme de U (BD Falcon™). Les composés testés ont été pesés et dilués dans du PBS pour fournir des solutions-mères de 10 mM. Dans les premiers puits, 40 µL de produits ont été déposés avec 40

---

<sup>349</sup> Davis, C. P.; Fader, R. C.; Avots-Avotins, A. E.; Gratzfeld, S. Expression of hemagglutination is dependent on environmental factors and bacterial concentration of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Curr. Microbiol.* **1982**, *7*, 161-164.

<sup>350</sup> Hierholzer, J. C.; Suggs, M. T. Standardized viral hemagglutination and hemagglutination-inhibition tests. II. Description and statistical evaluation. *Appl. Microbiol.* **1969**, *18*, 816-823.

$\mu\text{L}$  de sang et 40  $\mu\text{L}$  de bactérie pour un total de 120  $\mu\text{L}$ . Les puits suivants contiennent 20  $\mu\text{L}$  de PBS, 20  $\mu\text{L}$  de sang et 20  $\mu\text{L}$  de bactéries pour garder la concentration d'érythrocytes et de bactéries constante. Une quantité de 60  $\mu\text{L}$  a été transférée du premiers puits vers le deuxième et ainsi de suite pour faire des dilutions de 2 en série et permettre de garder le même volume. Après une heure à température de la pièce, les plaques ont été examinées à l'œil nu pour observer l'inhibition d'hémagglutination. Les tests pour chaque composé ont été effectués en triplicata et donnent accès à la concentration minimale d'inhibition (MIC, «Minimum Inhibitory Concentration»).

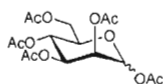
#### 8.4 MODES OPÉRATOIRES ET CARACTÉRISATIONS

##### Trifluorométhanesulfonyl azoture (2)



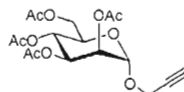
L'azoture de sodium (10.80 g, 166.12 mmol, 14 éq.) est dissous dans 27 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  distillée et 45 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Le mélange est refroidi dans un bain de glace et agité vigoureusement. L'ajout d'anhydride trifluorométhanesulfonique (3.33 g, 11.79 mmol) se fait goutte à goutte sur une période de 5 minutes. Le milieu réactionnel est mis à réagir pour 2 heures dans le bain de glace puis laissé revenir à température ambiante. La phase organique est séparée et la phase aqueuse est extraite (2 x 22.5 ml) avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Les phases organiques sont combinées et extraites 1 fois avec une solution saturée de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et utilisées sans aucune autre purification. La concentration de la solution de  $\text{TfN}_3$  est estimée à 0.37 M. (explosive lorsqu'elle n'est pas conservée dans un solvant). IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )) 2108 ( $\text{N}_3$ ), 1327, 1198, 1069, 1033, 814, 642; **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour  $\text{CF}_3\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>: 197.9561; trouvée 197.39557.

### 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acétyl-D-mannopyranose (4)



À une solution du D-mannose **3** (5.57 g, 30.00 mmol) dissous dans un mélange anhydride acétique/pyridine distillée (1:1, v/v, 60 mL) est ajoutée une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante durant la nuit. L'excès d'anhydride acétique est détruit par ajout de MeOH à 0°C, et le mélange est co-éaporé avec du toluène. Le résidu est dilué dans du dichlorométhane, puis lavé à l'eau glacée, et avec des solutions saturées de KHSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> et NaCl. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée, conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile légèrement jaune avec un rendement de 99% mélange de α/β 98:2 (11.6 g, 29.69 mmol). *R<sub>f</sub>* = 0.56 (hexane/AcOEt 1:1); pf: 64-65 °C (Litt.<sup>351</sup> 64°C, H<sub>2</sub>O) ;  $[\alpha]_D^{24} +55$  (*c*=1.0, CHCl<sub>3</sub>); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 6.07 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 1.9 Hz, *H*-1), 5.33-5.29 (m, 2H, *H*-3, *H*-4), 5.24 (dd, 1H, *J*<sub>2,3</sub> = 2.2 Hz, *H*-2), 4.27 (dd, 1H, *J*<sub>6a,6b</sub> = 4.8 Hz, *J*<sub>5,6</sub> = 12.4 Hz, *H*-6a), 4.80-4.76 (m, 2H, *H*-6b, *H*-5), 2.16, 2.153, 2.08, 2.04, 1.99 (5 x s, 15 H, COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))** δ = 170.6, 169.9, 169.7, 169.5, 168.0 (COCH<sub>3</sub>), 90.5 (*C*-1), 70.5 (*C*-5), 68.7 (*C*-3), 68.3 (*C*-2), 65.4 (*C*-4), 62.0 (*C*-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 391.1240; trouvée: 391.1238.

### Prop-2-ynyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-α-D-mannopyranoside (5)

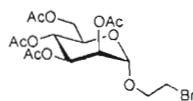


À une solution du composé **4** (2.50 g, 6.40 mmol, 1.00 éq.) dissous dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> distillé (50 mL), est ajouté goutte à goutte l'acide de Lewis BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (1.5 mL, 11.90 mmol, 1.9 éq.) à 0°C et sous atmosphère d'azote. La solution est agitée pendant 6h à température

<sup>351</sup> Valerio, S.; Iadonisi, A.; Adinolfi, M.; Ravida, A. *J. Org. Chem.*, 2007, 72, 6097-6106.

ambiante, puis de l'alcool propargylique (1.5 mL, 25.60 mmol, 4.0 éq.) est ajouté à la solution qui est laissée à cette température pendant la nuit. Le milieu réactionnel est dilué dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavé avec une solution aqueuse de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% (150 mL), à l'eau (100 mL). La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le composé propargylé **5** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 86% (2.13 g, 5.50 mmol). pf: 99-100 °C (Litt.<sup>352</sup> 99-100 °C) ;  $R_f = 0.19$  (hexane/AcOEt 2 : 1);  $[\alpha]_D^{20.7} +61$  ( $c=2.0$ , CHCl<sub>3</sub>) [Litt.<sup>353</sup>  $[\alpha]_D^{22} +61$  ( $c=2.0$ , CHCl<sub>3</sub>)]; **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 5.31$  (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.4$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz, *H*-3), 5.26 (t, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, *H*-4), 5.23 (dd, 1H,  $^3J_{1,2} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3} = 3.4$ , *H*-2), 4.99 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.7$  Hz, *H*-1), 4.24 (dd, 1H,  $J_{6a,6b} = 5.2$  Hz,  $J_{5,6} = 12.2$  Hz, *H*-6a), 4.24 (dd, 2 H,  $J_{H-1',H-2'} = 2.4$  Hz, OCH<sub>2</sub>C), 4.07 (dd, 1 H,  $J_{6a,6b} = 2.5$  Hz, *H*-6b), 4.00 (m, 1H, *H*-5), 2.44 (t, 1H,  $J_{H-1',H-2'} = 2.4$  Hz, OCH<sub>2</sub>C≡H), 2.12, 2.07, 2.01, 1.96 (4 x s, 12H, COCH<sub>3</sub>); **RMN** <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.5$ , 169.9, 169.7, 169.6 (COCH<sub>3</sub>), 96.1 (*C*-1), 77.8 (*C*-2'), 75.5 (*C*-1'), 69.2 (*C*-5), 68.9 (*C*-3), 68.8 (*C*-2), 65.9 (*C*-4), 62.2 (OCH<sub>2</sub>), 54.9 (*C*-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 409.1105 ; trouvée : 409.1100.

## 2-bromoéthyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside (**6**)



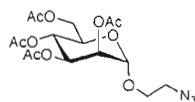
Le penta-*O*-acétyl-D-mannopyranose **4** (1.0 g, 2.56 mmol, 1.0 éq.) est dissous dans 5.0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> distillé, sous atmosphère d'azote et agitation magnétique. L'acide de Lewis BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (0.707 mL, 5.67 mmol, 2.2 équiv.) est ajouté goutte à goutte et agité pendant 6h à température ambiante. Suite à l'addition du 2-bromoéthanol (0.573 mL, 7.67 mmol, 3.0 équiv.), le mélange réactionnel est agité pendant la nuit. Suite à cette période, le mélange réactionnel est lavé avec une solution aqueuse de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% (150 mL), à l'eau (100 mL). La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le produit résiduel est ensuite purifié par

<sup>352</sup> Das, S. K.; Corazon Trono, M.; Roy, R. *Methods Enzymol.* **2003**, 362, 3-18.

<sup>353</sup> Imamura, A. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8862-8870.

chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 7 : 3) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 87% (1.01 g, 2.23 mmol). pf: 115.5 °C (Litt.<sup>354</sup> 99-100 °C);  $R_f$  = 0.45 (hexane/AcOEt 1:1);  $[\alpha]_D^{20.7}$  +37.3 ( $c=0.75$ , CHCl<sub>3</sub>) [Litt.  $[\alpha]_D^{22}$  +38 ( $c=2.0$ , CHCl<sub>3</sub>)]; IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)) 1745, 1733, 1435, 1381, , 1291 , 1230, 1137; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 5.36 (dd, 1H,  $^3J_{2,3}$  = 3.4 Hz,  $^3J_{3,4}$  = 10.0 Hz, *H*-3), 5.32 (t, 1H,  $^3J_{3,4}$  =  $^3J_{4,5}$  = 10.0 Hz, *H*-4), 5.30-28 (m, 1H, *H*-2), 4.88 (d, 1H,  $^3J_{1,2}$  = 1.7 Hz, *H*-1), 4.28 (dd, 1H,  $^3J_{6a,6b}$  = 5.2 Hz,  $^3J_{5,6}$  = 12.2 Hz, *H*-6a), 4.15-4.12 (m, 2H, *H*-5, *H*-6b), 3.94-3.90 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br), 3.53 (dd, 2 H,  $^4J_{H-1',H-2'}$  = 6.0 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br), 2.17, 2.11, 2.06 et 2.00 (4 x s, 12 H, COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 170.8, 170.3, 170.1, 170.0 (COCH<sub>3</sub>), 97.9 (C-1), 69.6 (C-2), 69.2 (C-3), 69.1 (C-5), 68.7 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br), 66.2 (C-4), 62.6 (C-6), 29.8 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br), 21.1, 21.0, 20.9, 20.9 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>BrO<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 455.0553; trouvée: 455.0542.

### 2-azidoéthyl 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside (7)



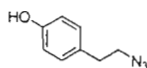
Le 2-bromoéthyl 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside **6** (1.00 g, 2.21 mmol, 1.0 éq.) est dissous dans 7.2 mL de DMF en présence d'un léger excès de NaN<sub>3</sub> (0.16 mg, 2.43 mmol, 1.1 équiv.). Le mélange réactionnel est laissé à 70° C pendant 12 h sous agitation magnétique. Après conversion complète du produit de départ, le milieu est dilué avec 85 mL d'AcOEt. La phase organique est lavée avec 50 mL d'H<sub>2</sub>O, puis avec 50 mL de NaCl sat. avant d'être séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et concentrée. Le produit brut est alors purifié par chromatographie sur gel de silice (Tol/AcOEt 7:3) pour donner le 2-azidoéthyl 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside (**7**) pur sous forme d'huile incolore (774 mg, 1.85 mmol, 84%). pf: 74-75°C<sup>355</sup>;  $R_f$  = 0.40 (hexane/AcOEt 3:2);  $[\alpha]_D^{20}$  + 50.2° ( $c$  0.75, CHCl<sub>3</sub>); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 2993, 2954, 2107(N<sub>3</sub>) 1750, 1496, 1370, 1231, 1138; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz,**

<sup>354</sup> Hayes, W.; Osborn, H. M. I.; Osborne, S. D.; Rastall, R. A.; Romagnoli, B. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7983-7996.

<sup>355</sup> Lindhorst, T. K.; Kötter, S.; Krallmann-Wenzel, U.; Ehlers, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, *1*, 823-831.

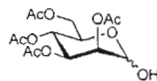
**CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm):** δ = 5.36 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 9.9 Hz, H-3), 5.29 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 9.8 Hz, H-4), 5.27 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 3.4, H-2), 4.87 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 1.6 Hz, H-1), 4.29 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 12.2 Hz, H-6a), 4.12-4.00 (m, 2H, H-5, H-6b), 3.87-3.83 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 3.67-3.64 (m, 1 H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 3.47-2.42 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 2.16, 2.10, 2.05 et 1.99 (4 x s, 12 H, COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm):** δ = 170.6, 170.0, 169.8, 169.7(COCH<sub>3</sub>), 97.7 (C-1), 69.3 (C-2), 68.8 (C-3, C-5), 67.0 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 65.9 (C-4), 62.4 (C-6), 50.3 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 20.8 20.7, 20.7, 20.6 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>:** *m/z* calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 418.1462; trouvée: 418.1524.

#### 4-(2-azidoéthyl)phenol (9)



La tyramine **8** disponible commercialement, est convertie en 4-(2-azidoéthyl)phénol (**9**) par la réaction de diazotransfert (protocole C, avec HCl pour le traitement). L'huile brute obtenue est ensuite purifiée par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 3:1) pour obtenir le 4-(2-azidoéthyl)phénol **9** pur sous forme d'huile incolore (1.462 g, 8.959 mmol, 82 %). *R<sub>f</sub>* 0.32 (hexane/AcOEt 4:1); IR (NaCl, ν (cm<sup>-1</sup>)): 3383, 3023, 2931, 2871, 2104 (N<sub>3</sub>), 1616, 1516, 1440, 1337, 1256, 1216; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm):** δ = 7.10 (m, 2 H, (CH<sub>arom-3,5</sub>)), 6.80 (m, 2 H, CH<sub>arom-2,6</sub>), 5.44 (sl, 1H, Ph-OH), 3.47 (t, 2 H, *J* = 7.1 Hz, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>) et 2.84 (t, 2 H, *J* = 7.3 Hz, Ph-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm):** δ = 154.0 (O-C<sub>arom</sub>), 130.0 (C<sub>arom</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 129.8, 115.4 (CH<sub>arom-2,3,5,6</sub>), 52.4 (CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>) et 34.1 (Ph-CH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>:** *m/z* calculée pour C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O [M + H]<sup>+</sup>: 162.0824; trouvée: 162.0787.

#### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acétyl-D-mannopyranose (10)<sup>356</sup>



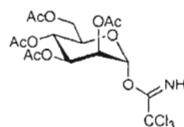
De l'acétate d'hydrazine (1.77 g, 19.22 mmol, 1.50 éq.) est ajouté à une solution, chauffée à 65 °C du composé **3** (5.00 g, 12.80 mmol) dissous dans du DMF distillé (50 mL).

<sup>356</sup> Sim, M. M.; Kondo, H.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2260-2267.



Après 20 min sous agitation à 65 °C, la réaction est stoppée par ajout d'acétate d'éthyle. Le milieu réactionnel est lavé deux fois avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtré et concentré puis co-évacué avec du toluène. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1:1) conduisant à l'hémiacétal **10** désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 85% (3.79 g, 10.88 mmol). *pf*: 110-112 °C, [Litt.<sup>357</sup>: mélanges α+β : 110-112 °C ; 125-126 °C pour β et 130-131 °C pour α]; *R<sub>f</sub>*= 0.30 pour α et β, (hexane/AcOEt 1:1);  $[\alpha]_D^{24} +60$  (*c*=1.0, CHCl<sub>3</sub>) (Litt.<sup>358</sup>  $[\alpha]_D^{22} 95$  (*c*=1.0, CHCl<sub>3</sub>) pour la forme β;  $[\alpha]_D^{22} +24.5$  (*c*=1.0, CHCl<sub>3</sub>) pour la forme α); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 5.45 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 1.1Hz, *H*-4), 5.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 3.4Hz, *H*-3), 5.19 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.5Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 8.8Hz, *H*-2), 4.67 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 7.1Hz, *H*-1β), 4.42 (dt, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6</sub> = 6.5Hz, *H*-5), 4.27 (sl, 1H, *OH*-1), 4.12 (m, 1H, *H*-6a), 3.92 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 11.5Hz, *H*-6b), 2.18-1.99 (s, COOCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 170.6, 170.4, 170.2, 170.1 (COOCH<sub>3</sub>), 95.8 (*C*-1β), 90.5 (*C*-1α), 70.9, 70.4, 68.3, 68.1, 67.2, 67.1, 66.1, 61.7, 20.7, 20.5 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 371.0948 ; trouvée : 371.0949.

### 2,2,2-Trichloroacétimidate de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-α-D-mannopyranosyle (**11**)<sup>359</sup>



À une solution du composé **10** (1.70 g, 4.88 mmol, 1.00 éq.) dissous dans du dichlorométhane distillé (30 mL) sont ajoutés du 2,2,2-trichloroacétonitrile 98% (2.5 mL, 5.00 éq.) et du DBU 98% (300 µl, 0.40 éq.) à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à 0 °C en laissant revenir à température ambiante durant 2h sous atmosphère d'azote. Le produit brut est concentré puis purifié par chromatographie sur gel de silice en conditionnant la phase stationnaire avec 1% de Et<sub>3</sub>N (hexane/AcOEt 3:1). L'imidate **11** est obtenu avec un

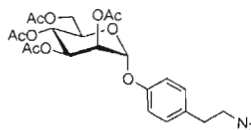
<sup>357</sup> Lacombe, J. M.; Rakotomanomana, N.; Pavia, A. A. *J. Carbohydr. Chem.* **1990**, *9*, 85-92.

<sup>358</sup> Cheng, H.; Cao, X.; Zian, M.; Fang, L.; Cai, T. B.; Ji, J. J.; Tunac, J. B.; Sun, D.; Wang, P. G., *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 645-652.

<sup>359</sup> Ross, A. J.; Sizova, O. V. and Nikolaev, A. V., *Carbohydr. Res.*, **2006**, *341*, 1954-1964.

rendement de 76% sous la forme d'une huile incolore (1.83 g, 3.70 mmol, ( $\alpha/\beta$ , 9:1)).  $R_f$  ( $\alpha$ ) = 0.65, hex/AcOEt 1:1;  $[\alpha]_D^{24} +124$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) (Litt.<sup>359</sup>  $[\alpha]_D^{22} +124$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); **RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.72$  (sl, 1H, NH), 6.60 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.6$  Hz, H-1), 5.45 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.3$  Hz,  $^3J_{3,4} = 10.0$  Hz, H-3), 5.37 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.3$  Hz,  $J_{1,2} = 1.6$  Hz, H-2), 5.34 (t, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, H-4), 4.30-4.08 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 2.18, 2.16, 2.04, 1.99 (4 x s, 12H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.2$ , 170.1, 170.0, 169.9 ( $\text{COCH}_3$ ), 160.9 ( $\text{C}=\text{NH}$ ), 93.5 (C-1), 90.4 ( $\text{CCl}_3$ ), 69.0 (C-5), 67.5 (C-3), 67.3 (C-2), 66.9 (C-4), 61.2 (C-6), 20.6, 20.6, 20.6, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ). **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_{10}\text{Cl}_3$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 514.0045; trouvée: 514.0047.

#### 4-(2-Azidoéthyl)phényl 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside(12)



L'imidate **11** (2.16 g, 4.39 mmol, 1.00 éq.) est gardé sous atmosphère d'azote et dissous dans 4.6 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  distillé. Le 4-(2-azidoéthyl)phénol (**9**) (0.946 g, 5.797 mmol, 1.3 éq.) est ajouté au mélange qui est ensuite refroidi à  $0^\circ\text{C}$ . La glycosidation de Schmidt est initiée par l'addition (goutte à goutte) de 455  $\mu\text{L}$  de  $\text{BF}_3:\text{Et}_2\text{O}$  (0.524 mg, 3.62 mmol, 0.8 éq.). Une heure plus tard, la conversion complète de l'imidate est confirmée par CCM. Le milieu réactionnel est dilué avec 20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , lavé 2 fois avec 25 mL de  $\text{NaHCO}_3$ , puis avec 25 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . La phase organique est séchée au  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentrée et le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant un mélange (hexane/AcOEt 3:1) comme éluant pour obtenir le 4-(2-azidoéthyl)phényl 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside (**12**) pur sous forme de solide blanc (1.43 g, 2.90 mmol, 66 %). pf: 126-127  $^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.60$  (hexane/AcOEt 3:2 + 1%  $\text{Et}_3\text{N}$ );  $[\alpha]_D^{20} + 66.6$  ( $c 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3027, 2931, 2872, 2102 ( $\text{N}_3$ ), 1752, 1653, 1558, 1509, 1222; **RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.15$ -7.11 (m, 2 H,  $\text{CH}_{\text{arom-3-5}}$ ), 7.04-7.00 (m, 2 H,  $\text{CH}_{\text{arom-2-6}}$ ), 5.54 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 3.6$  Hz,  $J_{3,4} = 10.2$  Hz, H-3), 5.50 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 1.9$  Hz, H-1), 5.42 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 1.9$  Hz,  $J_{2,3} = 3.6$  Hz, H-2), 5.37 (t, 1 H,  $J = 10.2$  Hz, H-4), 4.29 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 5.1$ ,  $J_{6a,6b} = 12.2$  Hz, H-6a), 4.13-4.04 (m, 2 H, H-6b et H-5), 3.47 (t, 2 H,  $J = 7.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2.84 (t, 2 H,  $J =$

7.1 Hz, Ph-CH<sub>2</sub>), 2.20, 2.05, 2.04 et 2.03 (4 x s, 12 H, COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 170.5, 169.9, 169.8, 169.7 (COCH<sub>3</sub>), 154.5 (O-C<sub>arom</sub>), 132.6 (C<sub>arom</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 129.9 (CH<sub>arom-3-5</sub>), 116.6 (CH<sub>arom-2-6</sub>), 95.8 (C-1), 69.4 (C-2), 69.1 (C-3), 68.8 (C-5), 65.9 (C-4), 62.1 (C-6), 52.5 (CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 34.5 (ArCH<sub>2</sub>), 20.8 20.7 20.6, 20.6 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 516.1594; trouvée: 516.1524.

### Coeur tétraazoture (14)



À une solution de tétrabromure de pentaérythrityle (1.0 g 2.58 mmol) dissous dans du DMF (15 ml) est ajouté de l'azoture de sodium (1.34 g, 20.64 mmol, 8 éq.). La solution est par la suite agitée à 80 °C pendant 24 h. Après avoir laissé la réaction revenir à température ambiante, de l'eau (100 ml) est ajoutée et le mélange est extrait 4 fois avec de l'AcOEt (80ml). La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, concentrée et le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant un mélange (hexane/AcOEt 3:1) comme éluant pour obtenir le composé (14) pur sous forme d'une huile jaune (548 mg, 2.32 mmol, 90 %). *R<sub>f</sub>* = 0.60 (hexane/AcOEt 3: 2); IR (NaCl, ν (cm<sup>-1</sup>)): 2971, 2852, 2112, 1464, 1424, 1208, 842; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 3.38 (s, 8 H, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 51.6 (CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 44.5 (C-CH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>N<sub>12</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 237.1073; trouvée = 237.1103.

*Attention: En raison du caractère instable et explosif des dérivés polyazotures, des précautions sont à prendre lors de la manipulation de ce type de composé !!*

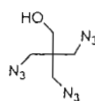
### 3-bromo-2,2-bis(bromométhyl)propan-1-ol (16)



Dans une solution de HBr:AcOH glacial 48% (120 ml 5:1 v/v) est ajouté du pentaérythritol (25.6 g 188.0 mmol) et le mélange est agité à reflux pendant 24 heures. Après les premières 24 heures, une autre quantité de HBr (100 ml) est ajoutée avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (46

ml) pour une agitation à reflux pour 24 heures. La solution est ensuite laissée à température pièce pour permettre une séparation entre les deux phases. La phase du bas est récupérée et dissoute dans du chloroforme (100 ml) puis lavée avec de l'eau (3 X 20 ml). La phase organique est séchée avec  $K_2CO_3$  et évaporée pour donner un produit brut brun qui est purifié par chromatographie sur gel de silice. L'éluant utilisé est (hexane/AcOEt 99: 1), ce qui permet d'isoler le produit pur **16** sous forme de cristaux (22.0 g, 67.68 mmol, 36 %). pf: 67-69 °C<sup>360</sup>  $R_f = 0.60$  (hexane/AcOEt 3: 2); IR (KBr,  $\nu$  ( $cm^{-1}$ )): 3342, 3247, 2957, 2942, 1461, 1462, 1287, 1237, 1225, 1180, 1060; **RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 3.55$  (d, 2 H,  $J = 1.7$  Hz,  $CH_2-OH$ ), 3.39 (s, 2 H,  $CH_2-Br$ ), 1.79 (s, 1 H, OH); **RMN  $^{13}C$  (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 62.4$  ( $CH_2-OH$ ), 44.2 ( $C-CH_2$ ), 34.4 ( $CH_2-Br$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $C_3H_9Br_3O [M + H]^+$ : 322.8182; trouvée = 322.8126

### 3-azido-2,2-bis(azidométhyl)propan-1-ol (**17**)

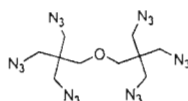


À une solution de 3-bromo-2,2-bis(bromométhyl)propan-1-ol **16** (13.20 g 40.63 mmol) dissous dans du DMF (150 ml) est ajouté du  $NaN_3$  (31.43 g, 483.50 mmol, 11.9 éq.). La solution est agitée à 80 °C pendant 24 h, le mélange est par la suite plongé dans de l'eau (1.2 L) et on extrait avec  $Et_2O$  (4 x 100ml). La phase organique est séchée avec du  $Na_2SO_4$  et évaporée pour donner un produit brut qui est purifié par chromatographie sur gel de silice. L'éluant utilisé est (hexane/AcOEt 9:1) ce qui permet d'isoler une huile jaune pure **17** (7.55 g, 35.75 mmol, 88 %).  $R_f = 0.45$  (hexane : AcOEt: 4:1); IR (NaCl,  $\nu$  ( $cm^{-1}$ )): 3425, 2939, 2103, 1453, 1290, 1047; **RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 3.56$  (d, 2H,  $J = 1.7$  Hz  $CH_2OH$ ), 3.39 (s, 2H,  $CH_2N_3$ ), 1.74 (t, 1H,  $J = 1.7$  Hz, OH); **RMN  $^{13}C$  (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 62.1$  ( $CH_2-OH$ ), 51.5 ( $CH_2-N_3$ ), 44.5 ( $C-CH_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $C_5H_9N_9O [M + H]^+$ : 212.1008; trouvée = 212.1024.

*Attention: En raison du caractère instable et explosif des dérivés polyazotures, des précautions sont à prendre lors de la manipulation de ce type de composé !!*

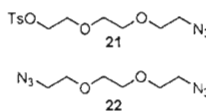
<sup>360</sup> Davis, B. G.; Khumtaveeporn, K.; Bott, R. R.; Jones, J. B. *Bioorg. Med. Chem.* 1999, 7, 2303-2311.

### Coeur hexaazoture (19)



Du  $\text{NaN}_3$  (1.32 g, 20.35 mmol, 24.0 éq.) a été ajouté à une solution d'hexatosyle de pentaérythritol **18** (conférer article p.142) (1.00 g, 0.84 mmol, 1.0 éq.) dans 20 mL de DMF et porté à reflux à 80 °C. Après une agitation de 24 heures, le mélange réactionnel est transféré dans 250 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  et extrait avec  $\text{Et}_2\text{O}$  (4 x 75mL). Les phases organiques combinées ont été séchées avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrées et concentrées. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant un mélange (hexane/ $\text{AcOEt}$  9: 1). L'hexazoture **19** a été obtenu sous la forme d'une huile incolore (248 mg, 0.61 mmol, 73 %).  $R_f = 0.32$  (hexane/ $\text{AcOEt}$ : 9:1); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 2939, 2875, 2099, 1467, 1235, 1047, 1007; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 3.35$  (s, 12H,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.33 (s, 4H,  $\text{OCH}_2$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 70.0$  ( $\text{OCH}_2$ ), 51.5 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 44.6 ( $\text{CCH}_2$ ); SMHR-IES $^+$ :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{ON}_{18}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 427.1652; trouvée: 427.1684.

### $\alpha$ azidodeoxy- $\omega$ -*o*-tosyl triéthylène glycol (21) et Bis-azido-triéthylène glycol (22)

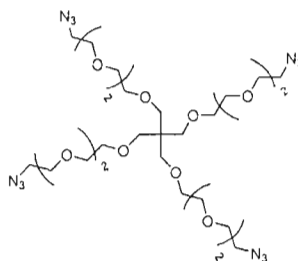


À une solution de tri(éthylène)glycol di-*p*-tosylate **20** (4.0g, 8.72 mmol) dissous dans du DMF (90 ml) est ajouté du  $\text{NaN}_3$  (623 mg, 9.59 mmol, 1.1 éq.). Le mélange est agité à température pièce pendant 20 heures. Après la réaction, on ajoute de l'eau et on extrait 4 fois avec de l' $\text{AcOEt}$ . La phase organique est séchée sur  $\text{MgSO}_4$  et évaporée pour donner un produit brut qui est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. L'éluant utilisé (hexane/ $\text{AcOEt}$  9:1) permet d'isoler les deux produits purs **21** et **22** sous forme d'huile jaune (1.03 g, 36 % pour **21** et 1.09 g, 38 % pour **22**).

**$\alpha$  azidodeoxy- $\omega$ -*o*-tosyl tri(éthylène)glycol (21)**  $R_f = 0.13$  (hexane/AcOEt, 4 : 1); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 2872, 2107, 1451, 1359, 1284, 1066,804; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.81$  (dd, 2H,  $J = 1.7$  Hz, H<sub>arom</sub>), 7.35 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz H<sub>arom</sub>), 4.17 (dd, 2H,  $J = 3.6$ ,  $J = 4.7$  Hz, TsO-CH<sub>2</sub>), 3.67(m, 8H, CH<sub>2</sub>-glycol), 3.37 (t, 2H,  $J = 5.2$  Hz, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 2.46(s, 3 H, , CH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 144.2$ , 140.3, 129.9, 127.8, 70.8, 70.6, 70.1, 69.2; 68.8, (C-glycol), 50.6 (C-N<sub>3</sub>), 21.6 (CH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S [M + H]<sup>+</sup>: 330.1124; trouvée : 330.1109.

**Bis-azido- tri(éthylène)glycol (22)**  $R_f = 0.33$  (hexane/AcOEt, 4 : 1); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 2870, 2108, 1443 1295, 1127, 811; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 3.70$  (t, 2H,  $J = 5.2$  Hz, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 3.40 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-glycol) ; **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 70.7$ , 70.1, (C-glycol), 50.7 (C-N<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 201.1100; trouvée : 201.1123.

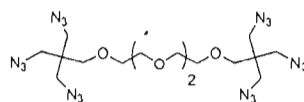
### Coeur tétraazoture allongé (23)



À une solution de pentaérythritol **15** (28.9 mg, 0.21 mmol) dissous dans du DMSO (7 mL) est ajouté le composé **21** (350 mg, 1.02 mmol, 4.8 éq.) et du KOH (191 mg, 3.40 mmol, 16 éq.). Le mélange est agité à une température de 40°C pendant 12 heures sous atmosphère d'azote. Après la réaction, on ajoute de l'eau (30 mL) et on extrait 4 fois avec du DCM. Par la suite, on lave la phase organique 2 fois avec de l'eau et du NaCl saturé. La phase organique est séchée (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) puis évaporée pour conduire à un résidu jaunâtre huileux qui est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. L'éluant utilisé (DCM/MeOH 99.5:0.05 jusqu'à 98:2) permet d'isoler une huile incolore pure (110 mg, 0.14 mmol, 68 %).  $R_f = 0.45$  (DCM/MeOH, 96 : 4); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 2875, 2107, 1451, 1270, 1116; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 3.64$  (m, 40H, CH<sub>2</sub>-glycol), 3.43 (s, 8H, CH<sub>2</sub>-C), 3.38

(t, 8H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-N}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 70.9, 70.7, 70.6, 70.6, 70.4, 70.0$ , (C-glycol), 50.6, ( $\text{CH}_2\text{-N}_3$ ), 45.5, (C- $\text{CH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{29}\text{H}_{57}\text{N}_{12}\text{O}_{12}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 745.4318; trouvée : 745.4306.

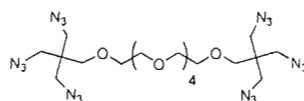
### Cœur hexaazoture (25)



À une solution de 3-azido-2,2-bis(azidométhyl) propan-1-ol (17) (506 mg, 2.40 mmol, 2.2 éq.) dissous dans du DMSO (15 mL) est ajouté du tri(éthylène)glycol di-*p*-tosylate **20** (500 mg, 1.09 mmol) et du KOH (538 mg, 9.60 mmol, 2 éq/OH.). Le mélange est agité à une température de 40°C pour 12 heures sous atmosphère d'azote. Après la réaction, on ajoute de l'eau (30 mL) et on extrait 4 fois avec du DCM (25 mL). Par la suite, on lave la phase organique 2 fois avec de l'eau et du NaCl saturé. Après séchage de la phase organique sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtration puis évaporation à sec, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 3:2, v/v), conduisant à l'hexa-azoture **25** sous la forme d'une huile blanche avec un rendement de 70% (409 mg, 0.76 mmol).  $R_f = 0.25$  (hexane/AcOEt, 9 : 1); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 2871, 2111, 1448, 1272, 1116, 1067; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 3.66\text{-}3.61$  (m, 12H,  $\text{CH}_2$ -glycol), 3.35 (4H, s, C- $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 3.34 (s, 12H,  $\text{CH}_2\text{-N}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 71.8$  (C- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$ ), 70.9, 70.6, 70.3 (C-glycol), 69.5 (C- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$ ), 51.9 (6  $\text{CH}_2\text{-N}_3$ ), 44.7 (C $\text{CH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_{18}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 537.2619; trouvée: 537.2614.

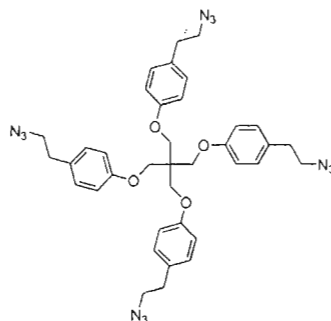
*Attention. En raison du caractère instable et explosif des dérivés polyazotures, des précautions sont à prendre lors de la manipulation de ce type de composé !!*

### Cœur hexaazoture (26)



À une solution de 3-azido-2,2-bis(azidométhyl) propan-1-ol (**17**) (85 mg, 0.40 mmol, 2.2 éq.) dissous dans du DMSO (10 mL) est ajouté du penta(éthylène)glycol di-*p*-tosylate (100 mg, 0.18 mmol) et du KOH (90 mg, 1.6 mmol, 2 éq./OH.). Le mélange est agité à une température de 40°C pour 12 heures sous atmosphère d'azote. Après la réaction, on ajoute de l'eau (30 mL) et on extrait 4 fois avec du DCM (25 mL). Par la suite, on lave la phase organique 2 fois avec de l'eau et du NaCl saturé. Après séchage de la phase organique (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtration et évaporation à sec, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 3:1 v/v), conduisant à l'hexa-azoture **26** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 85% (95 mg, 0.15 mmol).  $R_f = 0.22$  (hexane/AcOEt, 9 : 1); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 2873, 2103, 1441, 1268, 1121, 1064; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 3.64$ -3.54 (m, 20H, CH<sub>2</sub>-glycol), 3.38 (s, 4H, C-CH<sub>2</sub>-O), 3.34 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 70.8$ , 70.6, 70.3, 69.5 (C-glycol), 62.2 (C-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>), 51.6 (CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 44.5 (CCH<sub>2</sub>); SMHR-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>N<sub>18</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 625.3143; trouvée: 625.3157.

### Coeur tétraazoture (27)

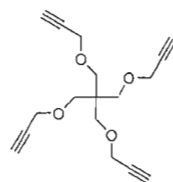


Une solution de pentaérythritol tétrabromé **13** (143 mg, 0.37 mmol) d'azido phénol **9** (300 mg, 1.84 mmol, 5.0 éq.) et de KOH (73 mg, 1.84 mmol, 5 éq.) dans du DMF (5 mL) est agitée à



une température de 120 °C pendant 18 h. Après la réaction, de l'eau (30 mL) est ajoutée et le mélange est extrait 4 fois avec du DCM (20 mL). Par la suite, on lave la phase organique 2 fois avec de l'eau et du NaCl saturé. Après séchage de la phase organique ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtration et évaporation à sec, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 9:1, v/v), conduisant au tétraazoture désiré **27** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 85% (95 mg, 0.15 mmol).  $R_f = 0.36$  (hexane/AcOEt, 4 : 1); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 2929, 2872, 2108, 1613, 1514, 1456, 1232, 844; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.14$  (d, 8H,  $\text{CH}_{\text{arom-3-5}}$ ), 6.88 (d, 8H,  $\text{CH}_{\text{arom-2-6}}$ ), 3.82 (s, 8H, C- $\text{CH}_2$ -O), 3.47 (t, 2 H,  $J = 7.1$  Hz,  $\text{CH}_2$ - $\text{N}_3$ ) et 2.84 (t, 2 H,  $J = 7.3$  Hz, Ph- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 157.4$  (O- $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 130.6 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ - $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ ), 129.7 ( $\text{CH}_{\text{arom-3-5}}$ ), 114.8 ( $\text{CH}_{\text{arom-2-6}}$ ), 66.7 (C- $\text{CH}_2$ -O), 52.6 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 34.4 (Ar $\text{CH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_4$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 717.3373; trouvée: 717.3354.

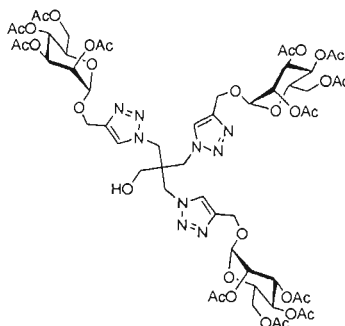
#### Coeur tétrapropargylé (**29**)



À une solution du dérivé tétraosylé **28** (200 mg, 0.27 mmol, 1.0 éq.) dissous dans du DMSO, (15 mL) est ajouté du KOH (72 mg, 1.27 mmol, 4.8 éq.) et de l'alcool propargylique (71 mg, 74  $\mu\text{L}$ , 1.27 mmol, 4.8 éq.). Le mélange est agité pendant 18 h à une température de 60 °C. Après la réaction, on ajoute de l'eau (30 mL) et on extrait 4 fois avec du DCM. Par la suite, on lave la phase organique 2 fois avec de l'eau et du NaCl saturé. La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et concentrée. Le composé **32** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 7 : 3) conduisant au composé désiré sous forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 85% (65 mg, 0.23 mmol).  $R_f = 0.4$  (hexane/AcOEt, 4 : 1); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3264, 2929, 2225, 844; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 4.35$  (d, 8H,  $J = 2.4$  Hz, O- $\text{CH}_2$ - $\text{C}\equiv\text{C}$ ), 3.38, (s, 8H, C- $\text{CH}_2$ ), 2.47 (t, 4H,  $J = 2.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ - $\text{C}\equiv\text{H}$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 77.5$  ( $\text{C}\equiv\text{C}$ -H), 74.8 ( $\text{C}\equiv\text{C}$ -H), 70.9 (C-

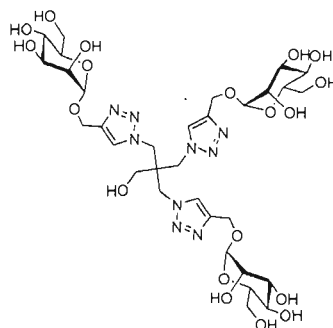
CH<sub>2</sub>), 63.4 O-CH<sub>2</sub>), 45.3 (C-CH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 289.1439 ; trouvée: 289.1421.

### Glycocluster trivalent (30)



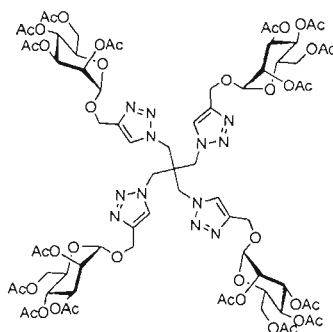
À partir du composé **17** (50 mg, 0.23 mmol) et du *Protocole A*, le composé **30** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 92% (339 mg, 0.25 mmol). *R<sub>f</sub>* = 0.15 (DCM/MeOH, 95:5); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 8.28 (s, 3H, CH=C), 5.30-5.25 (m, 6H, H-3, H-4), 5.15 (sl, 3H, H-2), 4.94 (d, 3H, *J* = 1.6 Hz, H-1), 4.83 (d, 3H, *J* = 12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.67 (d, 3H, *J* = 12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.39 (s, 8H, CH<sub>2</sub>N), 4.26 (dd, 4H, *J* = 5.22, *J* = 12.36 Hz, H-6a), 4.15-4.08 (m, 6H, H-5, H-6b), 3.60-3.55 (sl, 1H, OH), 3.10 (d, 2H, *J* = 5.7 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 2.12, 2.03, 1.98, 1.95 (4 x s, 36H, COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 170.6, 170.0, 169.85, 169.6 (COCH<sub>3</sub>), 143.2 (C=CH), 126.6 (C=CH), 96.6 (C-1), 69.5 (C-2), 68.8 (C-5), 68.7 (C-3), 66.0 (C-4), 62.3 (C-6), 60.5 (CH<sub>2</sub>O), 48.7 (CH<sub>2</sub>N), 47.1 (CCH<sub>2</sub>), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>56</sub>H<sub>75</sub>O<sub>31</sub>N<sub>9</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 1370.4647; trouvée : 1370.4658.

### Glycocluster trivalent déprotégé (31)



Le composé **30** (50 mg, 0.03 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **31** sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 93% (24 mg, 0.02 mmol).  $R_f = 0.35$  (CH<sub>3</sub>CN :H<sub>2</sub>O 7 : 3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O (22 °C), δ (ppm))**: δ = 8.24 (s, 3H, CH=C), 4.95-4.91 (m, 3H, H-1), 4.88-4.85 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>), 4.70-4.66 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>), 4.54 (s, 6H, CH<sub>2</sub>N), 3.86-3.82 (m, 6H, H-5, H-2), 3.74-3.59 (m, 15H, H-4, H-3, H-6), 3.26 (m, 2H, CH<sub>2</sub>OH); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O (22 °C), δ (ppm))**: δ = 145.0 (3 C=CH), 128.1 (3 CH=C), 100.7 (3 C-1), 74.7 (3 C-2), 72.3 (3 C-5), 71.8 (3 C-3), 68.4 (C-4), 62.6 (C-6), 61.4 (CH<sub>2</sub>OH), 60.6 (O-CH<sub>2</sub>), 51.2 (CH<sub>2</sub>N), 46.7 (CCH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>32</sub>H<sub>51</sub>O<sub>19</sub>N<sub>9</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 888.3198; trouvée: 888.3203.

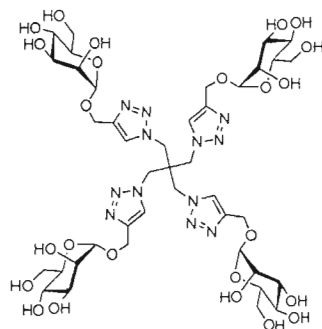
#### Glycocluster tétravalent (**32**)



À partir du composé **14** (50 mg, 0.21 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **32** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 92% (380 mg, 0.19 mmol).  $R_f = 0.21$ , (DCM/MeOH) 95 : 5 ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 8.29 (s, 4H, CH=C), 5.30-5.28 (m, 8H, H-3, H-4), 5.16 (sl, 4H, H-2), 4.98 (d, 4H,  $J = 1.6$  Hz, H-1), 4.88 (d, 4H,  $J = 12.2$  Hz, CH<sub>2</sub>O), 4.70 (d, 4H,  $J = 12.2$  Hz, CH<sub>2</sub>O), 4.46 (s, 8H, CH<sub>2</sub>N), 4.30 (dd, 4H,  $J =$

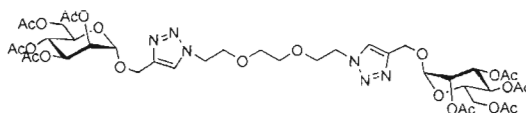
5.4 Hz,  $J=12.6$  Hz, H-6a), 4.15-4.11 (m, 8H, H-5, H-6b), 2.11, 2.08, 2.06, 1.94 (4 x s, 48H, COCH<sub>3</sub>); **RMN** <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.6, 169.9, 169.8, 169.6$  (COCH<sub>3</sub>), 142.8 (C=CH), 127.6 (C=CH), 96.7 (C-1), 69.4 (C-2), 68.9 (C-5), 68.7 (C-3), 66.0 (C-4), 62.3 (C-6), 60.3 (CH<sub>2</sub>O), 49.1 (4 CH<sub>2</sub>N), 46.7 (CCH<sub>2</sub>), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>73</sub>H<sub>96</sub>O<sub>40</sub>N<sub>12</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 1781.5125; trouvée: 1781.5120.

### Glycluster tétravalent déprotégé (33)



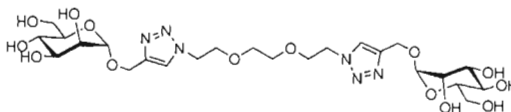
Le composé **32** (100 mg, 0.06 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **33** sous forme de solide blanc avec un rendement de 90% (56 mg, 0.05 mmol).  $R_f = 0.30$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.91$  (s, 4H, CH=C), 4.99 (sl, 4H, H-1), 4.49-4.37 (m, 16H, CH<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>N), 3.62-3.34 (m, 24H, H-2, H-4, H-3, H-5, H-6a, H-6b); **RMN** <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 142.9$  (C=CH), 127.5 (C=CH), 99.2 (C-1), 72.7 (C-2), 70.2 (C-5), 69.6 (C-3), 66.4 (C-4), 60.6 (C-6), 59.3 (CH<sub>2</sub>O), 50.2(CH<sub>2</sub>N), 44.5 (CCH<sub>2</sub>O); **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>41</sub>H<sub>64</sub> N<sub>12</sub>O<sub>24</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 1109.4235; trouvée: 1109.4228.

### Dimère (34)



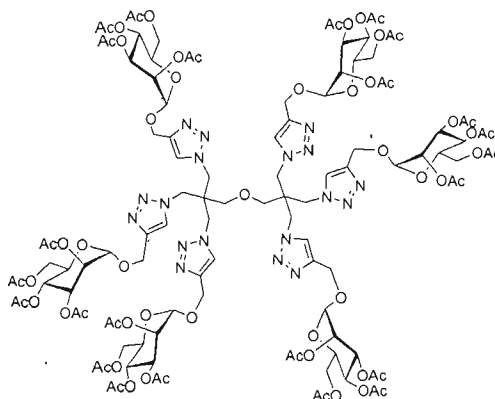
À partir du composé **22** (100 mg, 0.50 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **34** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 92% (447 mg, 0.46 mmol).  $R_f = 0.48$ , (DCM/MeOH) 95:5; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.74$  (s, 2H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 5.29-5.26 (m, 6 H, H-2, H-3, H-4), 4.98 (d, 2H,  $J = 1.65$  Hz, H-1), 4.81 (d, 2H,  $J = 12.1$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.65 (d, 2H,  $J = 12.1$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.56 (t, 4H  $J = 5.2$  Hz,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{N}$ ), 4.31 (dd, 2H,  $J = 5.2$  Hz,  $J = 12.4$  Hz, H-6b), 4.15 (d, 2H,  $J = 2.5$  Hz, H-6a), 4.14-4.11 (m, 2H, H-5), 3.87 (t, 4H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{N}$ ), 3.60 (m, 4H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{O}$ ), 2.15, 2.12, 2.04, 1.98 (4 x s, 24 H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  (22 °C),  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.7$ , 170.0, 169.9, 169.7 (CO), 143.2 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 124.1 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 96.7 (C-1), 70.4, 69.4, 69.4, 69.1, (C-2, C-3, C-4, C-5), 68.7 66.0, (C-glycol), 62.3, (C-6) 61.0, ( $\text{O-CH}_2$ ), 50.3 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, ( $\text{COCH}_3$ ). **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{40}\text{H}_{57}\text{N}_6\text{O}_{22}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 973.3525; trouvée: 973.3531.

#### Dimère déprotégé (35)



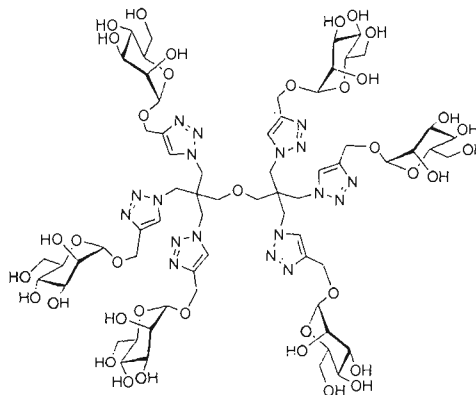
Le composé **34** (100 mg, 0.10 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **35** sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 98% (64 mg, 0.10 mmol).  $R_f = 0.40$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.89$  (s, 2H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 4.81 (d, 2H,  $J = 1.6$  Hz, H-1) 4.53 (dd, 4H,  $J = 12.1$  Hz,  $\text{O-CH}_2\text{-C}$ ), 4.43 (t, 4H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{N}$ ) 3.76 (m, 2H, H-4) 3.74 (t, 4H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{N}$ ), 3.68 (d, 2H,  $J = 1$  Hz, H-2). 3.64-3.50 (m. 10 H, H-3, H-5, H-6a, H6b,  $\text{CH}_2$  glycol), **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 143.05$  ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 125.1 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 98.9 (C-1), 74.4, 69.9, 69.4, 69.1, (C-2, 3, 4, 5), 68.2 66.1, (C-glycol) 60.4, (C-6) 59.2, ( $\text{OCH}_2\text{-C}$ ) . 49.6 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_{14}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 659.2500; trouvée: 659.2507.

#### Glycocluster hexavalent (36)



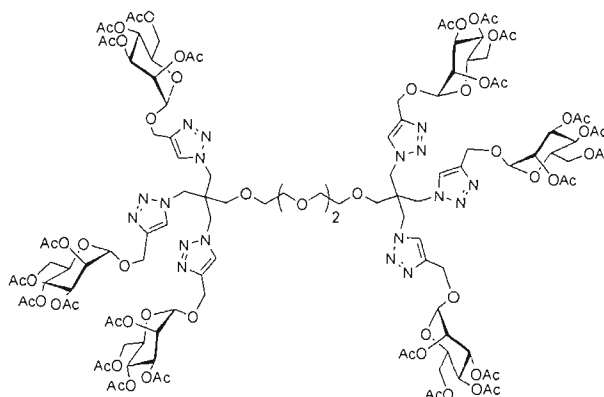
À partir du composé **19** (51 mg, 0.12 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **36** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 72% (245mg, 0.09 mmol).  $R_f = 0.35$ , (DCM/MeOH 95: 5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.39$  (s, 6H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 5.28 (m, 12H, H-3, H-4), 5.16 (m, 6H, H-2), 4.98 (d, 6H,  $J = 1.4$  Hz, H-1), 4.86 (d, 6H,  $J = 12.1$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.69 (d, 6H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.54 (s, 12H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.29 (dd, 6H,  $J = 4.9$  Hz,  $J = 12.4$  Hz, H-6b), 4.14-4.10 (m, 12H, H-5, H-6a), 3.33 (d, 2H,  $J = 10.5$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}$ ), 3.21 (d, 2H,  $J = 10.5$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}$ ), 1.94, 2.01, 2.09, 2.10 (4 x s, 72H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.6, 169.9, 169.8, 169.6$  ( $\text{COCH}_3$ ), 143.2 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 127.0 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 96.8 (C-1), 69.4 (C-2), 68.9 (C-5), 68.6 (C-3), 65.9 (C-4), 62.3 (C-6), 60.6 ( $\text{OCH}_2\text{N}$ ), 48.9 ( $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 46.3 ( $\text{CH}_2\text{CCH}_2$ ), 20.5, 20.6, 20.7, 20.7 ( $\text{COCH}_3$ ). **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{112}\text{H}_{148}\text{N}_{18}\text{O}_{61}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 2743.8930; trouvée: 2743.8937.

#### Glycocluster hexavalent déprotégé (**37**)



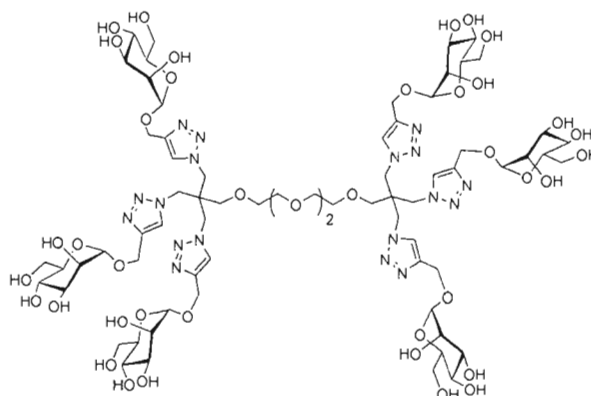
Le composé **36** (55 mg, 0.02 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **37** sous forme de solide blanc avec un rendement de 85% (29 mg, 0.02 mmol).  $R_f = 0.15$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.10 (s, 6H, CH=C), 4.82 (m, 6H, H-1), 4.58-4.54 (m, 12H, OCH<sub>2</sub>), 4.48 (sl, 12H, CH<sub>2</sub>N), 3.76-3.70 (m, 12H, H-4, H-3), 3.61-3.59 (m, 6H, H-6a), 3.51-3.49 (m, 12H, H-5, H-6b), 3.26 (sl, 4H, OCH<sub>2</sub>C); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 142.9 (C=CH), 126.9 (C=CH), 99.0 (C-1), 72.5 (C-2), 70.0 (C-5), 69.4 (C-3), 66.2 (C-4), 60.4 (C-6), 59.2 (OCH<sub>2</sub>N), 49.8 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 44.2 (CH<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>64</sub>H<sub>100</sub>N<sub>18</sub>O<sub>37</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 1713.6575; trouvée: 1713.6579.

#### Glycocluster hexavalent (**38**)



À partir du composé **25** (33 mg, 0.06 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **38** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 72% (126 mg., 0.04 mmol).  $R_f = 0.20$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 8.28 (s, 6H, CH=C), 5.33-5.27 (m, 12H, H-3, H-4), 5.17 (m, 6H, H-2), 4.97 (d, 6H,  $J = 1.3$  Hz, H-1), 4.85 (d, 6H,  $J = 12.1$  Hz, OCH<sub>2</sub>C=CH), 4.68 (d, 6H,  $J = 12.1$  Hz, OCH<sub>2</sub>C=CH), 4.46 (s, 12H, CH<sub>2</sub>N), 4.28 (dd, 6H,  $J = 5.2, J = 12.6$  Hz, H-6b), 4.14-4.10 (m, 12H, H-5, H-6a), 3.76-3.69 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>), 3.56-3.58 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 3.00-2.99 (m, 4H, CCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 2.10, 2.07, 2.01, 1.94 (4 x s, 72H, COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 170.6, 169.9, 169.7, 169.6 (COCH<sub>3</sub>), 143.0 (6 C=CH), 126.7 (6 C=CH), 96.6 (C-1), 70.4, 70.3, 69.9 (OCH<sub>2</sub>), 69.9 (C-2), 69.2 (C-5), 68.9 (C-3), 68.6 (OCH<sub>2</sub>), 68.1 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>C), 65.9 (C-4), 62.3 (C-6), 60.4 (OCH<sub>2</sub>C), 49.4 (CCH<sub>2</sub>N), 45.7 (CH<sub>2</sub>C), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (24 COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>118</sub>H<sub>160</sub>O<sub>64</sub>N<sub>18</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 2853.9897; trouvée: 2853.9901.

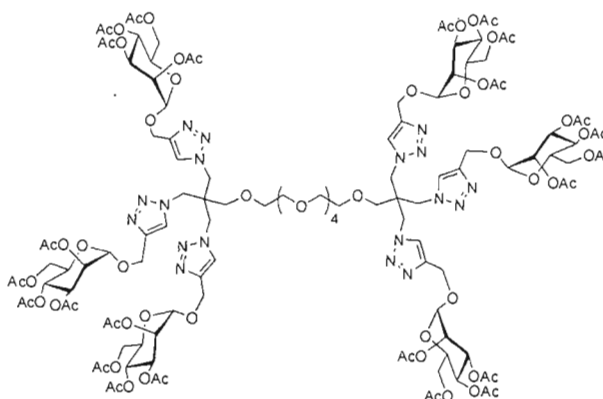
### Glycocluster hexavalent déprotégé (39)



Le composé **38** (110 mg, 0.04 mmol) a été dé-O-acétylé suivant le *Protocole H* pour conduire au cluster **39** sous forme de solide blanc avec un rendement de 95% (70 mg, 0.04 mmol).  $R_f = 0.18$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.08$  (6H, s,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 4.84 (sl, 6H, H-1), 4.56 (m, 12H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.42 (sl, 12H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.79-3.72 (m, 12H, H-4, H-3), 3.64-3.53 (m, 36H, C-2, C-5, H-6a, H-6b,  $\text{CH}_2$ -glycol), 3.33 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{OCH}_2$ ), 3.01 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{OCH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 142.9$  (6  $\text{C}=\text{CH}$ ), 126.8 (6  $\text{C}=\text{CH}$ ), 98.9 (C-1), 72.6 (C-2), 70.0 (C-5), 69.5 (C-3), 66.3 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 60.5 (C-4), 59.13 (C-6), 50.0 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 44.1 ( $\text{CH}_2\text{CCH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{70}\text{H}_{112}\text{O}_{40}\text{N}_{18}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 1867.7181; trouvée: 1867.7173.

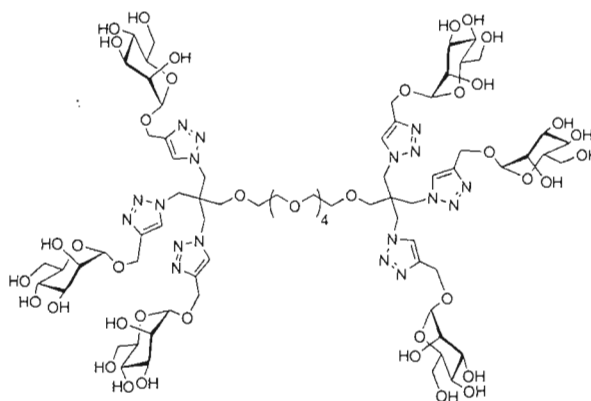
### Glycocluster hexavalent déprotégé (40)





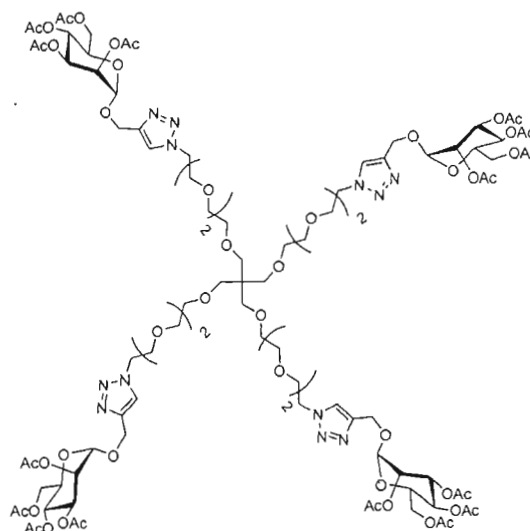
À partir du composé **26** (50 mg, 0.08 mmol) et du *Protocole A*, le composé **40** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 75% (177 mg, 0.06 mmol).  $R_f = 0.20$ , (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.30$  (s, 6H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 5.33-5.28 (m, 12H, H-3, H-4), 5.20 (m, 6H, H-2), 5.00 (d, 6H,  $J = 1.6$  Hz, H-1), 4.88 (6H, dd,  $J = 12.3$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.72 (dd, 6H,  $J = 12.3$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.41 (s, 12H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.32 (dd, 6H,  $J = 5.2, 12.4$  Hz, H-6a), 4.17-4.13 (m, 22H, H-6b, H-5,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.38-3.34 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{OCH}_2$ ), 3.11-3.09 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{OCH}_2$ ), 2.14, 2.13, 2.06, 1.99 (4 x s, 72H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.7, 170.1, 169.9, 169.7$  ( $\text{COCH}_3$ ), 143.3 (6  $\text{C}=\text{CH}$ ), 126.6 (6  $\text{C}=\text{CH}$ ), 96.7 (C-1), 69.5 ( $\text{OCH}_2$ , C-2), 68.940 ( $\text{OCH}_2$ , C-5), 68.7 (C-3), 66.1 (C-4), 62.4 (C-6), 60.6 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 48.6 ( $\text{CCH}_2\text{N}$ ), 47.2 ( $\text{OCH}_2\text{C}$ ), 29.6, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{122}\text{H}_{168}\text{O}_{66}\text{N}_{18}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 2942.0421; trouvée: 2942.0527.

#### Glycocluster hexavalent déprotégé (**41**)



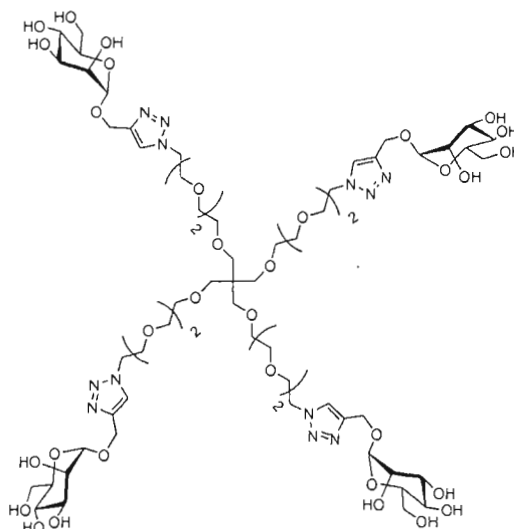
Le composé **40** (100 mg, 0.03 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **41** sous forme de solide blanc avec un rendement de 92% (60 mg, 0.03 mmol).  $R_f = 0.21$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.23$  (6H, s,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 4.95 (sl, 6H, H-1), 4.83-4.69 (m, 12H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.59 (s, 12H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.94-3.93 (m, 6H, H-4), 3.92-3.65 (m, 46H, C-2, C-3, C-5, H-6a, H-6b,  $\text{CH}_2$ -glycol), 3.38-3.34 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{OCH}_2$ ) 3.05 (m, 4H,  $\text{CCH}_2\text{OCH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 142.8$  ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 126.9 ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 98.9 (C-1), 72.5, (C-2) 70.0 (C-5), 69.5 (C-3), 66.2 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 60.5 (C-4), 59.1 (C-6), 49.6 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 44.7 ( $\text{CCH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{74}\text{H}_{120}\text{O}_{42}\text{N}_{18}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 1955.7705; trouvée: 1955.7712.

#### Glycocluster tétravalent (42)



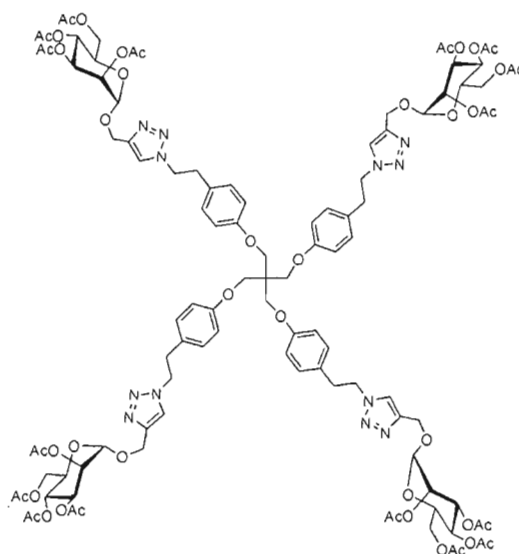
À partir du composé **26** (40 mg, 0.05 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **42** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 92% (110 mg, 0.04 mmol).  $R_f = 0.18$ , (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.75$  (s, 4H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 5.28-5.26 (m, 8H, H-3, H-4), 5.20-5.19 (m, 4H, H-2), 4.94 (d, 4H,  $J = 1.6$  Hz, H-1), 4.80 (d, 4H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.65 (d, 4H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.53 (t, 8H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ) 4.27 (dd, 4H,  $J = 5.2$ ,  $J = 12.4$  Hz, H-6a), 4.10-4.03 (m, 8H, H6b, H-5), 3.86 (t, 8H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.61-3.50 (m, 40 H,  $\text{CH}_2$ -glycol), 3.39 (s, 8H,  $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 2.12, 2.09, 2.00, 1.94 (s, 48H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.6$ , 169.9, 169.8, 169.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 143.2 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 124.1 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 96.7 (C-1), 70.9, 70.5, 70.4, 70.2, 69.9 ( $\text{CH}_2$ glycol), 69.3 (C-2), 69.2 (C-5), 69.0(C-3), 68.5 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 65.9 (C-4), 62.2 (C-6), 60.7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 50.2 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 45.5 ( $\text{CCH}_2$ ), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{97}\text{H}_{144}\text{O}_{32}\text{N}_{12}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 2331.8952; trouvée: 2331.9008.

#### Glycluster tétravalent déprotégé (**43**)



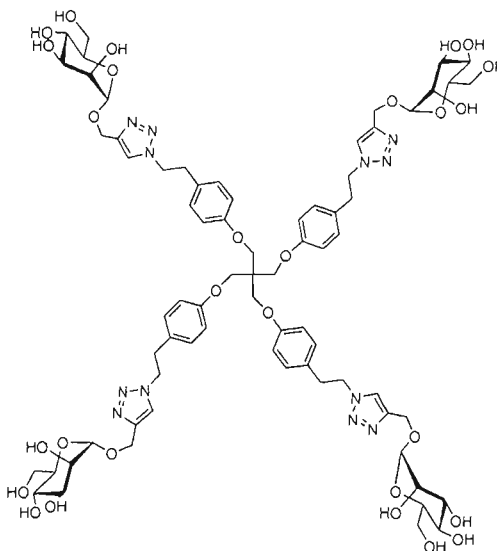
Le composé **42** (70 mg, 0.03 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **43** sous forme de solide blanc avec un rendement de 90% (49 mg, 0.03 mmol).  $R_f = 0.28$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.97$  (s, 4H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 4.82 (s, 4H, H-1) 4.70-4.69 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.55 (d, 4H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.49 (t, 8H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.82 (t, 8H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.78-3.56 (m, 24H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6a, H-6b), 3.53-3.43 (m, 40H,  $\text{CH}_2\text{glycol}$ ), 3.28 (s, 8H,  $\text{CCH}_2$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 143.2$  ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 124.1 (4  $\text{CH}=\text{C}$ ), 99.8 (C-1), 72.5 (C-2), 70.1 (C-5), 70.0 (C-3), 69.5, 69.2, 69.1, 68.3 ( $\text{CH}_2\text{glycol}$ ), 66.2 (C-4), 60.4 (C-6), 59.2 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 49.6 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 44.6 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ); SMHR-IES $^+$ :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{65}\text{H}_{112}\text{O}_{36}\text{N}_{12}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 1659.7170; trouvée: 1659.7190.

#### Glycocluster tétravalent (44)



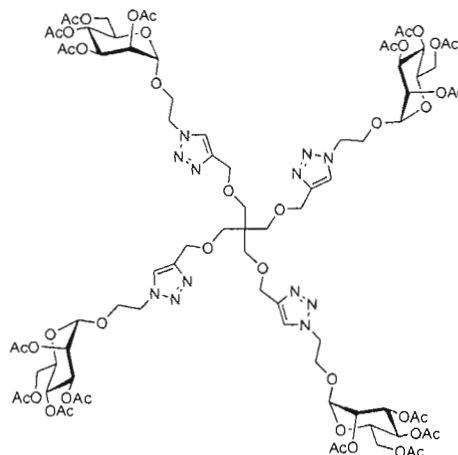
À partir du composé **27** (100 mg, 0.14 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **44** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 92% (291 mg, 0.13 mmol).  $R_f = 0.25$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.44$  (s, 4H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 7.08-7.05 (m, 8 H,  $H_{\text{arom-3-5}}$ ), 6.87-6.84 (m, 8 H,  $H_{\text{arom-2-6}}$ ), 5.31-5.27 (m, 8H, H-3, H-4), 5.22-5.20 (m, 4H, H-2), 4.94 (d, 4H,  $J = 1.6$  Hz, H-1), 4.88-4.62 (m, 8H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.54 (t, 8H,  $J = 7.1$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ) 4.28 (dd, 4H,  $J = 5.2$ ,  $J = 12.4$  Hz, H-6a), 4.15-4.05 (m, 16H, H6b, H-5,  $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 3.16 (t, 8H,  $J = 7.1$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.20, 2.05, 2.04 et 2.03 (4 x s, 12 H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.6$ , 170.0, 169.8, 169.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 157.2 ( $\text{OC}_{\text{arom}}$ ), 143.2 ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 129.8 ( $\text{CH}_{\text{arom-3-5}}$ ), 123.0 (4  $\text{CH}=\text{C}$ ), 114.9 ( $\text{CH}_{\text{arom-2-6}}$ ), 96.7 (C-1), 69.3 (C-2), 69.0 (C-3), 68.6 (C-5), 66.0 (C-4), 62.4 (C-6), 60.8 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 60.4 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ) 51.7 ( $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 43.6 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 35.1 ( $\text{ArCH}_2$ ), 20.9 20.8 20.6, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{105}\text{H}_{128}\text{N}_{12}\text{O}_{44}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 2261.8226; trouvée: 2261.8207.

#### Glycocluster tétravalent déprotégé (45)



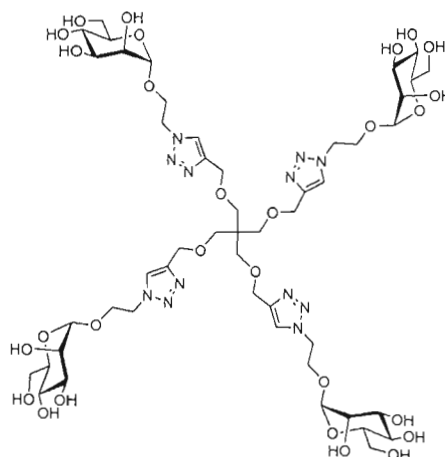
Le composé **44** (150 mg, 0.06 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **45** sous forme de solide blanc avec un rendement de 93% (96 mg, 0.06 mmol).  $R_f = 0.30$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.95$  (s, 4H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 4.78 (s, 4H, H-1) 4.73-4.69 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.59 (d, 4H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.25 8H, (t, 8H,  $J = 6.0$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.02 (s, 8H,  $\text{CCH}_2\text{Ph}$ ), 3.71-3.51 (m, 24H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6a, H-6b), 2.91 (t, 8H,  $J = 7.1$  Hz,  $\text{ArCH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 154.0$  ( $\text{OC}_{\text{arom}}$ ), 143.4 ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 129.3 ( $\text{CH}_{\text{arom-3-5}}$ ), 123.0 ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 115.5 ( $\text{CH}_{\text{arom-2-6}}$ ), 95.2 (C-1), 71.3 (C-2), 70.5 (C-3), 69.2 (C-5), 66.2 (C-4), 62.4 (C-6), 61.4 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ) 60.7, ( $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 60.4 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 44.2 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 34.2 ( $\text{ArCH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{73}\text{H}_{96}\text{N}_{12}\text{O}_{28}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 1589.6535; trouvée: 1589.6568.

#### Glycocluster tétravalent (46)



À partir du composé **29** (20 mg, 0.07 mmol) et selon le *Protocole B*, le composé **46** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 89% (120 mg, 0.06 mmol).  $R_f = 0.16$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.72$  (s, 4H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 5.29-5.19 (m, 12H, H-2, H-3, H-4), 4.81 (d, 4H,  $J = 1.4$  Hz, H-1), 4.61 (sl, 8H,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 4.56 (sl, 8H,  $\text{CH}=\text{CCH}_2$ ), 4.20 (dd, 4H,  $J = 4.9$  Hz,  $J = 12.3$  Hz, H-6a), 4.14-4.09 (4H, m,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 4.02 (dd, 4H,  $J = 2.4$  Hz,  $J = 12.3$  Hz, H-6b), 3.92-3.89 (m, 8H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.61 (sl, 4H, H-5), 3.47 (s, 8H,  $\text{CCH}_2$ ); 2.12, 2.08, 2.02, 1.97 (s, 48H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.5$ , 169.9, 169.8, 169.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 145.4 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 123.7 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 97.4 (C-1), 69.1 (C-2), 68.4 (C-5), 68.8 (C-3, C-4), 66.2 ( $\text{CH}=\text{CCH}_2$ ), 65.6 ( $\text{OCH}_2$ ), 64.7 ( $\text{CH}_2\text{C}$ ), 62.1 (C-6), 49.4 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 45.1 ( $\text{CCH}_2$ ), 20.76, 20.67, 20.63, 20.60 (16  $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{81}\text{H}_{112}\text{O}_{44}\text{N}_{12} [\text{M} + \text{Na}]^+$ : 1979.6793; trouvée: 1979.6623.

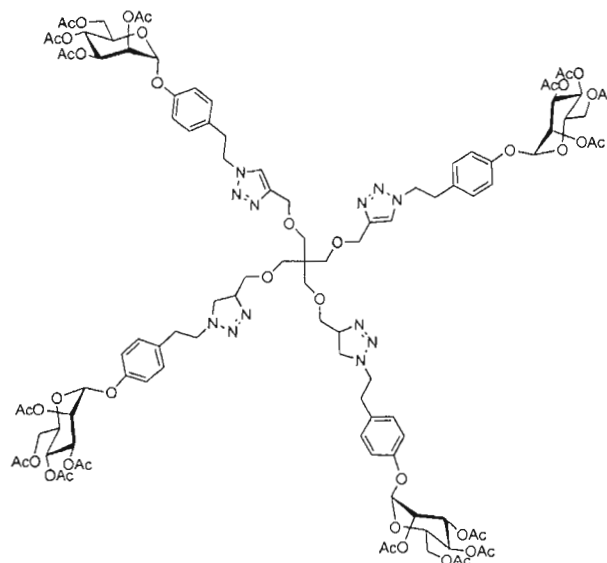
#### Glycocluster tétravalent (47)



Le composé **46** (150 mg, 0.06 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **47** sous forme de solide blanc avec un rendement de 98% (96 mg, 0.06 mmol).  $R_f = 0.18$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.88$  (s, 4H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 4.60 (sl, 4H, H-1), 4.52-4.50 (m, 8H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.38 (s, 8H,  $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{O}$ ), 3.97-3.94 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.79-3.75 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.72-3.71 (m, 4H, H-2), 3.63-3.42 (m, 16H, H-3, H-4, H-6a, H-6b), 3.26 (s, 8H,  $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 2.95-2.91 (m, 4H, H-5); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 143.8$  ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 124.9 ( $\text{CH}=\text{C}$ ), 99.1 (C-1), 72.3 (C-2), 70.0 (C-3), 69.5 (C-5), 67.5 ( $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{O}$ ), 65.9 (C-4), 65.0 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 63.0 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 60.2 (C-6), 49.6 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 44.1 ( $\text{CCH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{49}\text{H}_{80}\text{O}_{28}\text{N}_{12}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 1285.5283; trouvée: 1285.5138.

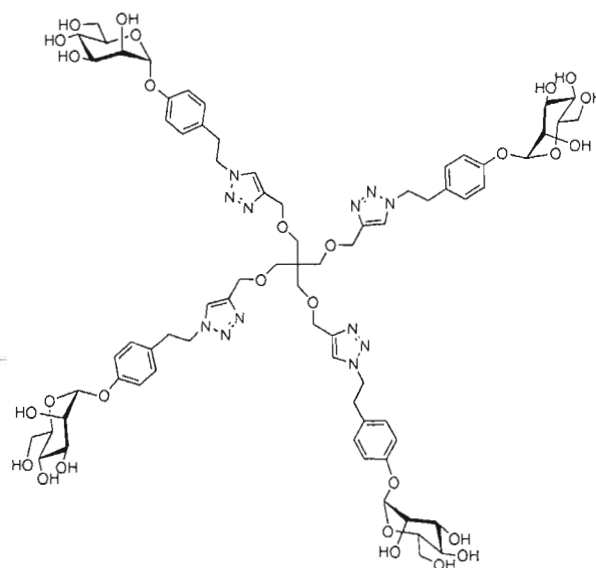
#### Glycocluster tétravalent (**48**)





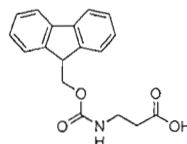
Le composé **48** a été obtenu à partir du composé **29** (15 mg, 0.05 mmol) et selon le *Protocole B* mais avec l'utilisation du mannoside **12**. Ce cluster est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 89% (103 mg, 0.04 mmol).  $R_f = 0.29$  (DCM/MeOH 95:5; **RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.64$  (sl, 4H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 7.11 (d, 8H,  $J = 8.2$  Hz,  $H_{\text{arom-3-5}}$ ), 7.01 (8H, d,  $J = 8.2$  Hz,  $H_{\text{arom-2-6}}$ ), 5.54 (dd, 4H,  $J = 3.4$  Hz,  $J = 10.0$  Hz, H-3), 5.49 (d, 4H,  $J = 1.4$  Hz, H-1), 5.42 (dd, 4H,  $J = 1.4$  Hz,  $J = 3.3$  Hz, H-2), 5.37 (t, 4H,  $J = 10.0$  Hz, H-4), 4.65 (t, 8H,  $J = 7.3$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ), 4.60 (s, 8H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.28 (dd, 4H,  $J = 5.1$  Hz,  $J = 12.2$  Hz, H-6a), 4.11 (dd, 4H,  $J = 4.4$  Hz,  $J = 11.5$  Hz, H-6b), 4.12-4.02 (m, 4H, H-5), 3.41 (s, 8H,  $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_4$ ), 3.19 (t, 8H,  $J = 7.3$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 2.19, 2.05, 2.04, 2.03 (4 x s, 48H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.4$ , 169.9, 169.9, 169.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 154.7 ( $\text{O}-C_{\text{arom}}$ ), 144.5 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 131.4 ( $C_{\text{arom-CH}_2-\text{CH}_2}$ ), 129.9 ( $\text{CH}_{\text{arom-3-5}}$ ), 123.4 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 116.8 ( $\text{CH}_{\text{arom-2-6}}$ ), 95.8 (C-1), 69.3 (C-2), 69.1 (C-3), 69.0 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 68.8 (C-5), 65.8 (C-4), 64.4 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 62.0 (C-6), 51.8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ), 45.1 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 35.8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ), 20.8, 20.6 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES** $^+$ :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{105}\text{H}_{128}\text{O}_{44}\text{N}_{12}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 2261.8226; trouvée: 2261.8287.

#### Glycocluster tétravalent déprotégé (**49**)



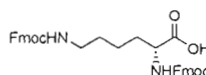
Le composé **48** (36 mg, 0.01 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **49** sous forme de solide blanc avec un rendement de 98% (24 mg, 0.01 mmol).  $R_f = 0.18$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.46$  (sl, 4H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 6.71 (sl, 16H,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.25 (d, 4H,  $J = 1.6$  Hz, H-1), 4.35 (t, 8H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.28 (s, 8H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 3.88 (dd, 4H,  $J = 1.8$  Hz,  $J = 3.4$  Hz, H-2), 3.81 (dd, 4H,  $J = 3.3$  Hz,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 3.60 (t, 4H,  $J = 9.6$  Hz, H-4), 3.60-3.49 (m, 8H, H-6a, and H-6b), 3.44 (m, 4H, H-5), 3.11 (s, 8H,  $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 2.85 (t, 8H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 153.9$  ( $\text{OC}_{\text{arom}}$ ), 143.6 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 131.2 ( $\text{C}_{\text{arom}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ ), 129.4 ( $\text{CH}_{\text{arom}-3-5}$ ), 124.3 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 116.6 ( $\text{CH}_{\text{arom}-2-6}$ ), 97.7 (C-1), 72.9 (C-2), 70.0 (C-3), 69.5 (C-5), 67.82 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 66.0 (C-4), 63.1 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 60.1 (C-6), 51.0 (4  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 44.0 ( $\text{CCH}_2\text{O}$ ), 34.4 (4  $\text{NCH}_2\text{CH}_2-\text{Ph}$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{73}\text{H}_{96}\text{O}_{28}\text{N}_{12}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 1589.6535; trouvée: 1589.6574.

### Fmoc- $\beta$ Alanine (50)



Une solution de  $\beta$ -Ala-OH (2.0 g, 15.93 mmol) est utilisée selon le *protocole J* pour obtenir le composé **50** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 99% (4.96 g, 15.77 mmol).  $R_f = 0.46$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ , 95:3:2); pf: 144-145 °C ( $\text{AcOEt}/\text{éther de pétrole}$ ) (Litt.<sup>361</sup> 144-147 °C); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 13.75$  (sl, 1H, COOH), 7.42-7.38 (m, 8H,  $H_{\text{arom}}$ ), 4.36 (m, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 3.30 (m, 2H,  $\text{NHCH}_2$ ), 2.49 ppm (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{COH}$  et DMSO- $d_6$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 172.8$  (COOH), 156.0 (COONH), 143.9, 140.7 (4 x  $C_{\text{q-arom}}$ ), 127.6, 127.0, 125.2, 120.6 (8 x  $C_{\text{arom}}$ ), 65.4 ( $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 46.8 ( $\text{NHCH}_2$ ), 36.6 ( $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 34.2 ppm ( $\text{CH}_2\text{COOH}$ ).

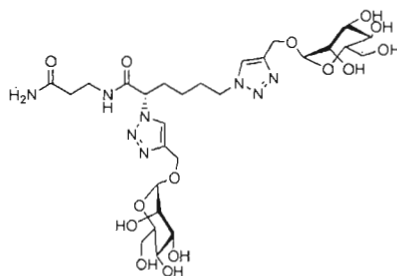
#### $N^\alpha, N^\epsilon$ -di-Fmoc-L-Lysine ou Fmoc-L-Lys(Fmoc)OH (**51**)



Le composé acide  $\alpha$ - $\epsilon$ -diaminocaproïque monohydrate (L-Lysine) (2 g, 9.13 mmol) est utilisé selon le *protocole D* pour obtenir le composé **51** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 96% (5.39 g, 8.76 mmol).  $R_f = 0.46$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$  95:3:2); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 11.75$  (sl, 1H, COOH), 7.87-7.29 (m, 16H,  $H_{\text{arom}}$ ), 4.30 (m, 4H, 2 x  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 4.22 (t, 2H,  $J_{\text{CH-CH}_2} = 6.0$  Hz, 2 x  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 3.97 (m, 1H,  $\text{NHCH}$ ), 3.02 (m, 2H,  $\text{CHCOOH}$ ), 1.71-1.22 ppm (m, 6H, 3 x  $\text{CH}_2$   $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 174.6$  (COOH), 156.0 (COONH), 143.9, 143.8, 143.8, 140.7 (8 x  $C_{\text{q-arom}}$ ), 127.6, 127.5, 127.0, 125.2, 125.1, 120.0 (16 x  $C_{\text{arom}}$ ), 65.6, 65.2 (2 x  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 53.9 ( $\text{CHCOOH}$ ), 46.8, 46.7 (2 x  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 39.5 ( $\text{CH}_2\text{NH}$   $\epsilon$  et DMSO- $d_6$ ), 30.5, 29.0 (2 x  $\text{CH}_2$   $\beta$  et  $\delta$ ), 22.92 ppm ( $\text{CH}_2$   $\gamma$ ).

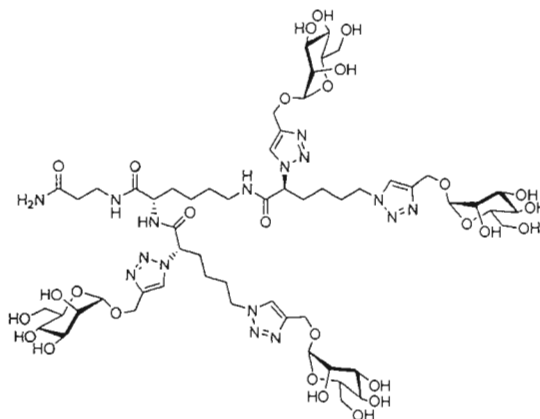
#### Glyocluster divalent G(0) (**52**)

<sup>361</sup> Carpino, L. A. and Han, G. Y. *J. Org. Chem.* 1972, 37, 3404-3409.



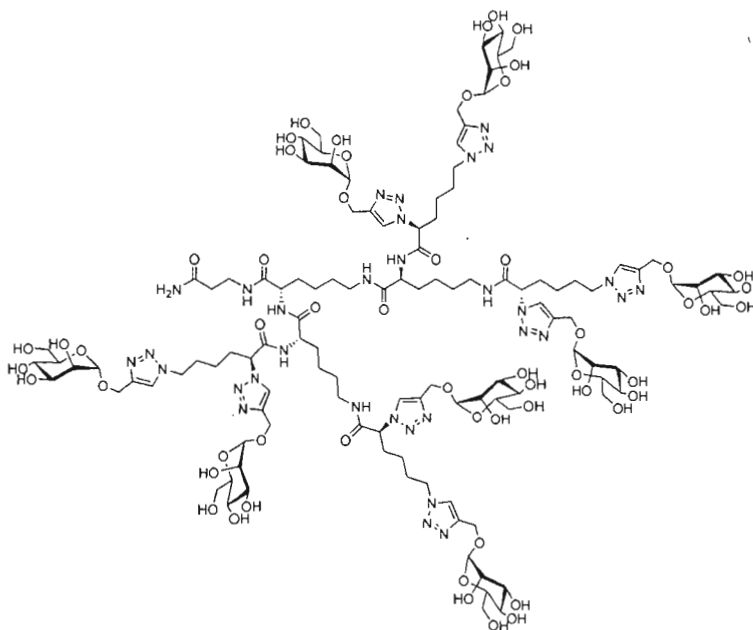
La synthèse du composé **52** est effectuée à partir de la résine Rink Amide (400 mg, 0.216 mmol) selon le *Protocole E* en utilisant le test colorimétrique du *Protocole F* (TNBS) avec le *Protocole C* pour le diazotransfert, le *Protocole A* pour la CuAAC et les *protocoles G* et *H* pour le clivage et l'isolation. Ces étapes ont conduit au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 63 % sur 9 étapes (96 mg, 0.136 mmol).  $R_f = 0.16$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.15 (s, 1H, C=CH(α)), 8.01 (s, 1H, C=CH(ε)), 5.29 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-α), 4.95 (s, 2H, H-1), 4.87-4.66 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>C=CH), 4.40 (t, 2H,  $J = 6.1$  Hz, H-ε), 3.93 (s, 2H, H-2) 3.86-3.63 (m, 10H, H-3, H-4, H-5, H-6), 3.46 (m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.45 (t, 2H,  $J = 6.2$  Hz, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.20 (dd, 2H,  $J_{\beta-\alpha} = 7.5$  Hz,  $J_{\beta-\gamma} = 15.1$  Hz, H-β), 1.92 (m, 2H, H-δ), 1.16 (m, 2H, H-γ); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 176.0, 169.2 (CO), 143.2, 143.0 (C=CH (α et ε)), 124.6, 124.0 (C=CH (α et ε)), 99.0, 98.9 (C-1, C1'), 72.5 (C-5), 70.0, (C-3). 69.5 (C-2), 66.2 (C-4), 63.0 (C-α), 60.4 (C-6), 59.2 (OCH<sub>2</sub>), 49.4 (C-ε), 35.5 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 33.8 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 30.1 (C-δ), 28.0 (C-β), 21.2 (C-γ); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>N<sub>8</sub>O<sub>14</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 704.2977; trouvée: 704.2993.

#### Glycodendrimer tetravalent de poly-L-lysine G(1) (**53**)



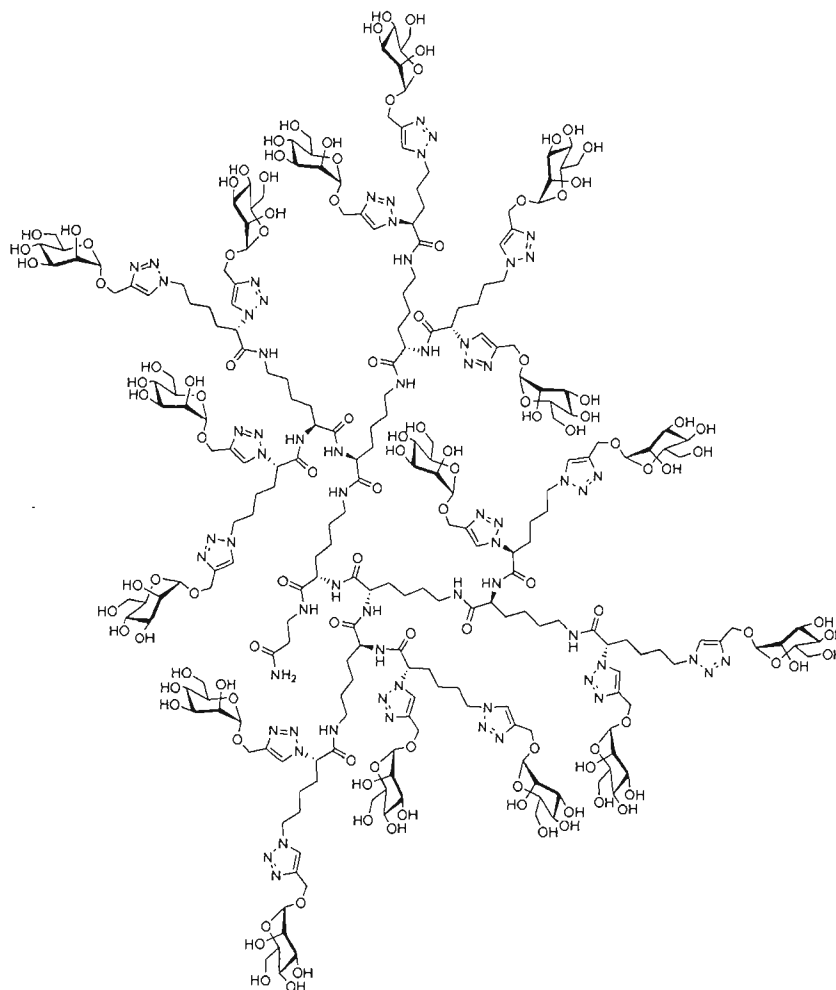
La synthèse du composé **53** est effectuée à partir de la résine Rink Amide (200 mg, 0.108 mmol) selon le *Protocole E* en utilisant le test colorimétrique du *Protocole F* (TNBS) avec le *Protocole C* pour le diazotransfert, le *Protocole A* pour la CuAAC et les *protocoles G* et *H* pour le clivage et l'isolation. Ces étapes ont conduit au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 45 % sur 11 étapes (70 mg, 0.049 mmol).  $R_f = 0.14$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7: 3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.16 (sl, 2H, C=CH(α)), 8.00 (sl, 2H, C=CH(ε)), 5.38 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H-α<sub>u</sub> - G1), 5.28 (1H, m, H-α<sub>e</sub>-G1), 4.94 (s, 4H, H-1), 4.81-4.69 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>C=CH), 4.40 (sl, 8H, H-ε-G1), 4.16 (t<sub>app</sub>, 1H, H-α-G0), 3.91-3.63 (m, 24H, H-2, H-3, H-4, H-5, H6), 3.41 (m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.19 (m, 2H, H-ε-G0), 2.46 (t<sub>app</sub>, 1H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.39 (t<sub>app</sub>, 1H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.19 (sl, 4H, H-β-G1), 1.90 (sl, 4H, H-δ-G1), 1.69 (m, 2H, H-β-G0), 1.48-1.16 (m, 8H, H-δ-G0, H-γ-G0 et G1); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 176.1, 172.9, 169.2, 169.0 (CO), 143.2, 143.0 (C=CH (α et ε)), 124.6, 123.9 (C=CH (α et ε)), 99.1, 99.0, 98.9 (C-1), 72.5 (C-5), 70.0 (C-3), 69.5 (C-2), 66.2 (C-4), 63.1 (C-α-G1), 62.7 (C-α-G1), 60.4 (C-6), 59.2 (OCH<sub>2</sub>), 53.8 53.7 (C-α-G0, conformation biaisée en équilibre), 49.4 (C-ε-G1), 38.7(C-ε-G0), 35.2 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 34.0 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 30.0, 29.5, 29.2, 28.0, 27.2, 27.1, 21.9, 21.7, 21.3 (C-β, C-δ, C-γ de G0 et G1); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>57</sub>H<sub>92</sub>N<sub>16</sub>O<sub>28</sub> [M + 2H]<sup>2+</sup>: 725.3211; trouvée: 725.3178

#### Glycodendrimère octavalent de poly-L-lysine G(2) (**54**)



La synthèse du composé **54** est effectuée à partir de la résine Rink Amide (200 mg, 0.108 mmol) selon le *Protocole E* en utilisant le test colorimétrique du *Protocole F* (TNBS) avec le *Protocole C* pour le diazotransfert, le *Protocole A* pour la CuAAC et les *protocoles G* et *H* pour le clivage et l'isolation. Ces étapes ont conduit au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 16 % sur 13 étapes (50 mg, 0.017 mmol).  $R_f = 0.11$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.16$  (sl, 4H, C=CH( $\alpha$ )), 7.98 (sl, 4H, C=CH( $\epsilon$ )), 5.37 (t<sub>app</sub>, 2H, H- $\alpha$ -G2), 5.27 (sl, 2H, H- $\alpha$ -G2), 4.93 (s, 8H, H-1), 4.83-4.64 (m, 16H, OCH<sub>2</sub>C=CH), 4.37 (sl, 8H, H- $\epsilon$ -G2), 4.13 (m, 3H, H- $\alpha$ -G1 et G0), 3.90-3.63 (m, 48H, H-2, H-3, H-4, H-5, H6), 3.47-3.35 (m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.15 (m, 6H, H- $\epsilon$ -G0, H- $\epsilon$ -G1), 2.45 (t<sub>app</sub>, 1H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.39 (t<sub>app</sub>, 1H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.21 (sl, 8H, H- $\beta$ -G2), 1.90 (sl, 8H, H- $\delta$ -G2), 1.67 (sl, 6H, H- $\beta$ -G0, H- $\beta$ -G1), 1.40-1.17 (m, 28H, H- $\delta$ -G0, G1 et G2, H- $\gamma$ -G0, G1 et G2); **RMN <sup>13</sup>C** (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 172.9, 172.6, 172.5, 168.8$  (CO), 143.4, 143.1 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 124.4, 123.8 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 99.1, 99.0 (C-1), 72.5 (C-5), 70.1 (C-3), 69.6 (C-2), 66.3 (C-4), 63.2 (C- $\alpha$ -G2), 62.8 (C- $\alpha$ -G2), 60.5 (C-6), 59.2 (OCH<sub>2</sub>), 53.7 (C- $\alpha$ -G0), 53.3 (C- $\alpha$ -G1), 49.4 (C- $\epsilon$ -G2), 38.7 (C- $\epsilon$ -G1), 38.2 (C- $\epsilon$ -G0), 35.2 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 34.0 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 30.2, 29.5, 29.2, 28.0, 27.2, 21.8, 21.7, 21.4 (C- $\beta$ , C- $\delta$ , C- $\gamma$  de G0, G1 et G2); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>117</sub>H<sub>188</sub>N<sub>32</sub>O<sub>56</sub> [M + 4H]<sup>4+</sup>: 735.3290; trouvée: 735.31218.

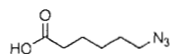
## Glycodendrimère hexadécaivalent de poly-L-lysine G(3) (55)



La synthèse du composé **55** est effectuée à partir de la résine Rink Amide (200 mg, 0.108 mmol) selon le *Protocole E* en utilisant le test colorimétrique du *Protocole F* (TNBS) avec le *Protocole C* pour le diazotransfert, le *Protocole A* pour la CuAAC et les *protocoles G* et *H* pour le clivage et l'isolation. Ces étapes ont conduit au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 15 % sur 15 étapes (95 mg, 0.016 mmol).  $R_f = 0.11$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7: 3); RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.16$  (sl, 8H,  $\text{C}=\text{CH}(\alpha)$ ), 7.97 (sl, 8H,  $\text{C}=\text{CH}(\epsilon)$ ), 5.39 (sl, 4H,  $\text{H}-\alpha_a$ -G3), 5.28 (sl, 4H,  $\text{H}-\alpha_\epsilon$ -G3), 4.93 (s,

16H, H-1), 4.80-4.67 (m, 32H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.36 (sl, 16H, H- $\epsilon$ -G3), 4.15 (sl, 7H, H- $\alpha$ -G0, G1 et G2), 3.90-3.61 (m, 72H, H-2, H-3, H-4, H-5, H6), 3.45- 3.27 (m, 2H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.15, 2.90 (m, 14H, H- $\epsilon$ -G0, H- $\epsilon$ -G1, H- $\epsilon$ -G2), 2.44 (sl, 2H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.19 (sl, 16H, H- $\beta$ -G3), 1.88-1.17 (m, 74H, H- $\beta$ -G0, H- $\beta$ -G1, H- $\beta$ -G2, H- $\delta$ -G0 à G3, H- $\gamma$ -G0 à G3); **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta$  = 173.1, 168.9 (CO), 143.2, 143.1 ( $\text{C}=\text{CH}$  ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 124.5, 123.0 ( $\text{C}=\text{CH}$  ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 99.1, 98.9 (C-1), 72.5 (C-5), 70.1 (C-3), 69.6 (C-2), 66.3 (C-4), 63.2 (C- $\alpha$ -G3), 62.7 (C- $\alpha$ -G3), 60.4 (C-6), 59.2 ( $\text{OCH}_2$ ), 53.4 (C- $\alpha$ -G2), 49.4 (C- $\epsilon$ -G3), 38.7(C- $\epsilon$ -G2), 35.2 ( $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 34.0 ( $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 30.2, 29.5, 29.2, 28.0, 27.2, 21.8, 21.7, 21.4 (C- $\beta$ , C- $\delta$ , C- $\gamma$  de G0, G1, G2 et G3); **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{236}\text{H}_{378}\text{N}_{64}\text{O}_{112}$ :  $[\text{M} + 4\text{H}]^{4+}$ : 1479.1463; trouvée: 1479.6550.

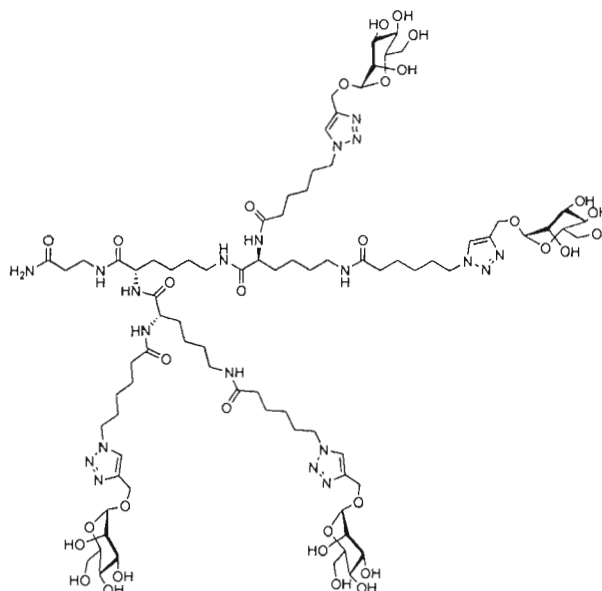
#### Acide 6-azidohexanoïque (56)



Une solution d'acide 6-azidohexanoïque **62** (3.30 g, 17.00 mmol) et d'azoture de sodium (2.20 g, 34 mmol, 2 éq.) diluée dans 60 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  est mise à réagir pendant 72h. à 25° C. Le mélange réactionnel est acidifié à pH 2 avec une solution de HCl 2 M et extrait avec AcOEt (3 X 80 ml). Les phases organiques sont alors lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrées et concentrées. Le produit **56** est obtenu sans aucune autre purification sous la forme d'une huile jaune avec un rendement quantitatif (2.67 g, 17.00 mmol).  $R_f$  = 0.51, (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3058, 2968, 2837, 2106 ( $\text{N}_3$ ), 1791; **RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta$  = 3.27 (t, 2H,  $J$  = 6.8 Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2.36 (2H, t,  $J$  = 6.8 Hz,  $\text{COCH}_2$ ), 1.70-1.56 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.47-1.36 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta$  = 179.9 (CO), 51.0 (C- $\text{N}_3$ ), 33.6 ( $\text{COCH}_2$ ) 28.3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 26.0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 24.0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 180.0743; trouvée: 180.0740.

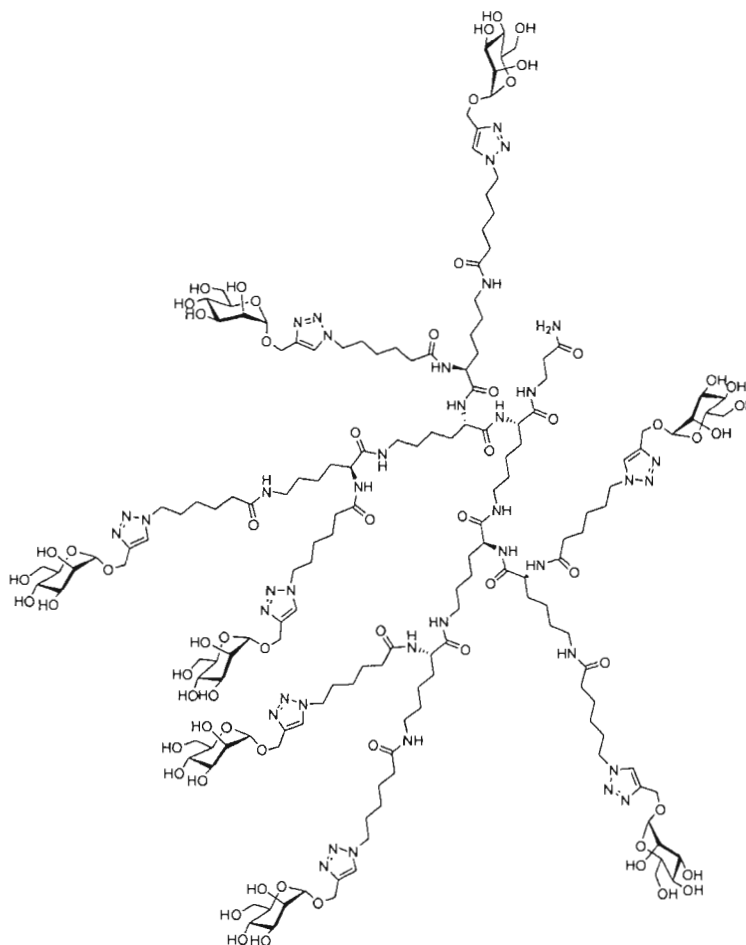
#### Glycodendrimère allongé tétravalent de poly-L-lysine G(1) (57)





La synthèse du composé **57** est effectuée à partir de la résine Rink Amide (200 mg, 0.108 mmol) selon le *Protocole E* en utilisant le test colorimétrique du *Protocole F* (TNBS) avec le *Protocole A* pour la CuAAC et les *protocoles G* et *H* pour le clivage et l'isolation. Ces étapes ont conduit au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 51 % sur 11 étapes (105 mg, 0.055 mmol).  $R_f = 0.15$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.04$  (s, 4H, C=CH), 4.95 (s, 4H, H-1), 4.83-4.66 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>C=CH), 4.40 (sl, 8H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 4.24-4.14 (m, 3H, H- $\alpha$ -G0 et H- $\alpha$ -G1), 3.91-3.63 (m, 24H, H-2, H-3, H-4, H-5, H6), 3.51-3.37 (m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.13 (sl, 6H, H- $\epsilon$ -G0 et H- $\epsilon$ -G1), 2.46 (t<sub>app</sub>, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.25, 2.17 (2 x t<sub>app</sub>, 8H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.88-1.22 (m, 42H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$  de G0 et G1, COCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>); **RMN** <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 177.4$ , 173.3, 177.1, 174.9, 174.8, 174.5 (CO), 144.2(C=CH), 125.8 (C=CH), 100.2 (C-1), 73.4 (C-5), 71.2 (C-3), 70.7 (C-2), 67.4 (C-4), 61.6 (C-6), 60.5 (OCH<sub>2</sub>), 54.8, 54.5, 54.4 (C- $\alpha$ -G0, C- $\alpha$ -G1), 50.9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 39.6 (C- $\epsilon$ -G0 et G1), 36.5 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 36.3 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 35.9, 35.3, 31.3, 29.8, 28.6, 25.9, 25.7, 25.5, 25.4, 23.3, 23.0 (C- $\beta$ , C- $\gamma$ , C- $\delta$  de G0 et G1, CO(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>N-N); **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>81</sub>H<sub>136</sub>N<sub>20</sub>O<sub>32</sub>[M + 2H]<sup>2+</sup>: 951.4887; trouvée: 951.4892.

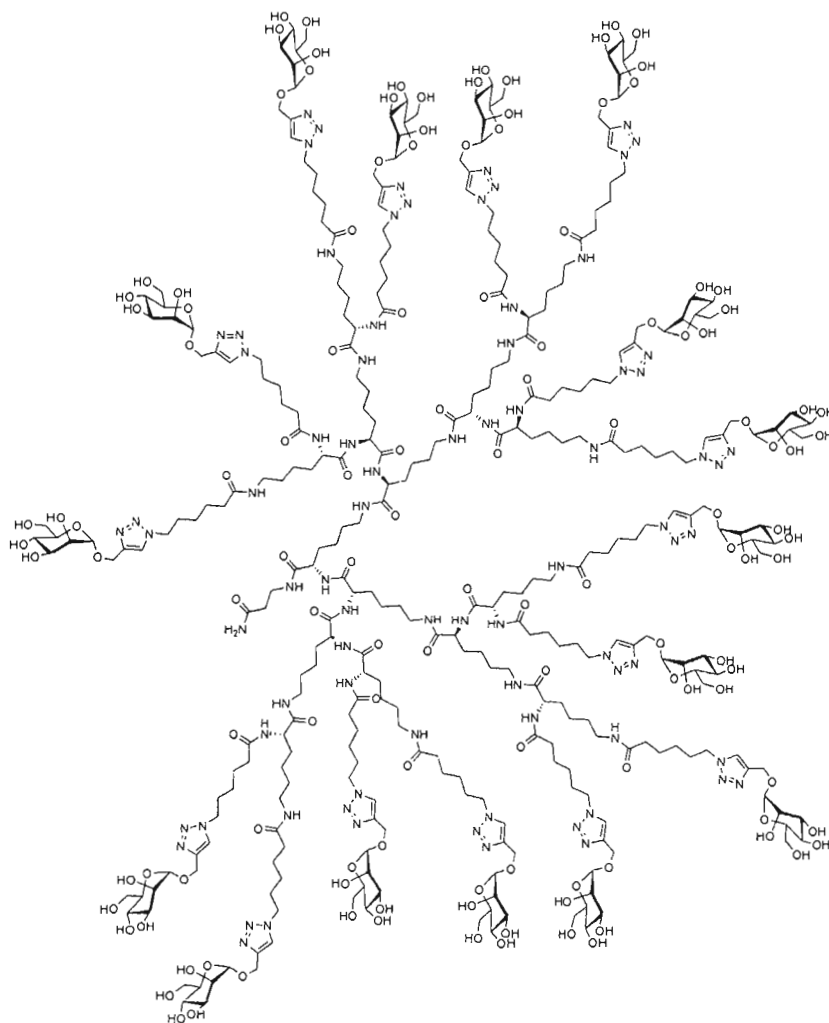
**Glycodendrimère octavalent allongé de poly-L-lysine G(2) (58)**



La synthèse du composé **58** est effectuée à partir de la résine Rink Amide (200 mg, 0.108 mmol) selon le *Protocole E* en utilisant le test colorimétrique du *Protocole F* (TNBS) avec le *Protocole A* pour la CuAAC et les *protocoles G* et *H* pour le clivage et l'isolation. Ces étapes ont conduit au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 24 % sur 13 étapes. (99 mg, 0.026 mmol).  $R_f = 0.15$  ( $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} 7 : 3$ ); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.05$  (s, 8H, C=CH), 4.96 (s, 8H, H-1), 4.86-4.67 (m, 16H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CH}$ ), 4.41 (sl, 16h,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 4.23-4.12 (m, 7H, H- $\alpha$ -G0 à G2), 3.91-3.63 (m, 48H, H-2, H-3, H-4, H-5, H6), 3.51-3.37 (m, 2H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.13 (sl, 14H, H- $\epsilon$ - G0 à G2), 2.47 ( $t_{\text{app}}$ , 2H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.26, 2.19 (2 x  $t_{\text{app}}$ , 16H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.88-1.24 (m, 90H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$  de G0 à G2,  $\text{COCH}_2(\text{CH}_2)_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 176.1, 175.7, 173.5, 173.1, 172.9$ , (CO), 143.3 (C=CH), 124.6 (C=CH), 99.0 (C-1), 72.5

(C-5), 70.0 (C-3), 69.5 (C-2), 66.2 (C-4), 60.4 (C-6), 59.3 (OCH<sub>2</sub>), 53.5, 53.2 (C-α-G0 à G2), 49.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 38.4 (C-ε-G0 à G2), 35.2 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 35.0 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 34.6, 34.0, 30.2, 28.6, 27.5, 24.7, 24.6, 24.3, 24.2, 22.1 (C-β, C-γ, C-δ de G0 à G1, CO(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>N-N); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>165</sub>H<sub>276</sub>N<sub>40</sub>O<sub>64</sub> [M + 3H]<sup>3+</sup>: 1281.6596; trouvée: 1281.6582.

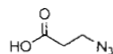
### Glycodendrimère hexadécavalent allongé de poly-L-lysine G(3) (59)



La synthèse du composé **59** est effectuée à partir de la résine Rink Amide (200 mg, 0.108 mmol) selon le *Protocole E* en utilisant le test colorimétrique du *Protocole F* (TNBS)

avec le *Protocole A* pour la CuAAC et les *protocoles G* et *H* pour le clivage et l'isolation. Ces étapes ont conduit au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 17 % sur 15 étapes (99 mg, 0.026 mmol).  $R_f = 0.15$  (CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O 7 : 3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.03 (s, 8H, C=CH), 4.94 (s, 8H, H-1), 4.87-4.64 (m, 32H, OCH<sub>2</sub>C=CH), 4.37 (sl, 32H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 4.24-4.12 (m, 15H, H-α-G0 à G3), 3.89-3.63 (m, 96H, H-2, H-3, H-4, H-5, H6), 3.49-3.36 (m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.09 (sl, 28H, H-ε- G0 à G3), 2.45 (sl, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.15, 2.23 (2 x sl, 32H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.84-1.22 (m, 186H, H-β, H- γ, H-δ de G0 à G3, COCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 176.0, 175.9, 175.7, 173.6, 173.4, (CO), 143.0 (C=CH), 124.5 (C=CH), 99.0 (C-1), 72.5 (C-5), 70.0 (C-3), 69.5 (C-2), 66.2 (C-4), 60.4 (C-6), 59.3 (OCH<sub>2</sub>), 53.5, 53.2 (C-α-G0 à G2), 49.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 38.4 (C-ε-G0 à G2), 35.0 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 34.9 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 34.6, 34.0, 30.2, 28.6, 27.5, 24.7, 24.6, 24.3, 24.2, 22.1 (C-β, C- γ, C-δ de G0 à G1, CO(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>N-N); **SM-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>333</sub>H<sub>556</sub>N<sub>80</sub>O<sub>128</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 7728.4369; trouvée: 7728.5189.

### Acide 3-azidopropanoïque (61)<sup>362</sup>

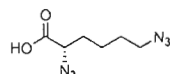


Une solution d'acide 3-bromopropionique commercial **60** (1.15 g, 7.52 mmol) et d'azoture de sodium (977.43 mg, 15.04 mmol, 2 éq.) diluée dans 50 ml d'H<sub>2</sub>O est mise à réagir pendant 24 h. à 25° C. Le mélange réactionnel est ensuite acidifié à pH 2 avec une solution de HCl 2 M et extrait avec AcOEt (3 X 75 ml). Les phases organiques sont alors lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées. Le produit **61** est obtenu sans aucune autre purification sous la forme d'une huile jaune avec un rendement quantitatif (865.48 mg, 7.52mmol).  $R_f = 0.52$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl, ν (cm<sup>-1</sup>)): 3066, 2950, 2895, 2107 (N<sub>3</sub>), 1715; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 11.77 (sl, 1H, OH), 3.58 (t, 2H,  $J = 6.4$  Hz, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 2.63 (t, 2H,  $J = 6.4$  Hz, COCH<sub>2</sub>); **RMN**

<sup>362</sup> Parrish, B.; Emrick, T. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 263-267

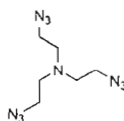
$^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 177.3$  (CO), 46.2 (C- $\text{N}_3$ ), 33.6 ( $\text{COCH}_2$ ); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_2$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 138.0274 ; trouvée: 138.0277.

**(2S)-2,6-Diazido-L-lysine (64)**



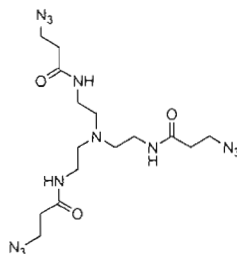
Le sel d'hydrochlorure de la L-lysine **63** (1.1 g, 5.0 mmol) est converti en azoture par la réaction de diazotransfert (*Protocole C*, traitement avec HCl). Le produit **64** est obtenu sans aucune autre purification sous la forme d'une huile jaune avec un rendement 98% (886 mg, 4.9 mmol).  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 95 : 5);  $[\alpha]_D^{20} -46.1$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3047, 2943, 2874, 2107 ( $\text{N}_3$ ), 1721; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 10.74$  (sl, 1H, OH), 3.94 (dd, 3 H,  $J = 3.0$ ,  $J = 5.2$  Hz, H- $\alpha$ ), 3.30 (t, 2H,  $J = 6.5$  Hz, H- $\epsilon$ ), 1.97-1.74 (m, 2H, H- $\beta$ ), 1.68-1.47 (m, 4H, H- $\gamma$ , H- $\delta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 176.2$ , (CO), 61.4 (C- $\alpha$ ), 50.8 (C- $\epsilon$ ), 30.6 (C- $\beta$ ), 28.1 (C- $\delta$ ), 22.7 (C- $\gamma$ ); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_2$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 199.0938; trouvée: 199.0945.

**Cœur tris(2-azidoéthyl)amine (66)**



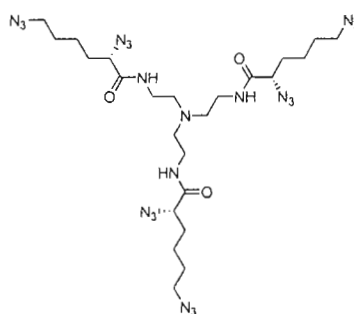
Le tris(2-aminoéthyl)amine commercial **65** (300  $\mu\text{L}$ , 305 mg, 2.08 mmol) est converti en azoture par la réaction de diazotransfert (*Protocole C*, traitement avec NaOH). Le produit **66** est obtenu sans aucune autre purification sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 93% (435 mg, 1.94 mmol).  $R_f = 0.37$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3347, 2945, 2834, 2101 ( $\text{N}_3$ ), 1453, 1290; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 3.34$  (t, 6H,  $J = 6.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2.78 (t, 6H,  $J = 6.0$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 54.1$  ( $\text{NCH}_2$ ), 49.8 (3  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_{10}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 225.1319; trouvée : 225.1316.

**Cœur triazoture (67)**



La molécule **65** (188  $\mu\text{L}$ , 184 mg, 1.26 mmol, 1.0 éq.) a été utilisée selon le *Protocole J* pour obtenir le cluster **67** sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 91% (500 mg, 1.14 mmol).  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3430, 2943, 2828, 2103 ( $\text{N}_3$ ), 1653, 1543, 1284; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.24$  (sl, 3H, NH), 3.61 (t, 6H,  $J = 6.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.27 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.58-2.48 (12H, m, N- $\text{CH}_2$ ,  $\text{COCH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.7$  (CO), 54.4 (N- $\text{CH}_2$ ), 47.3 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 37.8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 35.2 ( $\text{COCH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_{13}\text{O}_3$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 460.2252; trouvée: 460.2259.

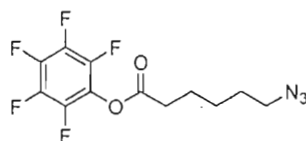
#### Coeur hexaazoture (68)



La molécule **65** (188  $\mu\text{L}$ , 184 mg, 1.26 mmol, 1.0 éq.) a été utilisée selon le *Protocole J* pour obtenir le cluster **68** sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 86% (743 mg, 1.08 mmol).  $R_f = 0.38$  (DCM/MeOH 95 : 3); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3418, 2930, 2864, 2104 ( $\text{N}_3$ ), 1666, 1532, 1211; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 6.96$  (t, 3H,  $J = 4.6$  Hz, NH), 3.99 (dd, 3H,  $J = 2.2$  Hz,  $J = 5.0$  Hz, H- $\alpha$ ), 3.39-3.25 (m, 12H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ , H- $\epsilon$ ), 2.62 (t, 6H,  $J = 6.0$  Hz, N- $\text{CH}_2$ ), 1.99-1.81 (m, 6H, H- $\beta$ ), 1.70-1.61 (m, 6H, H- $\gamma$ ), 1.56-1.46 (m, 6H, H- $\delta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 169.6$  (CO), 63.7 (C- $\alpha$ ), 54.3 (N-

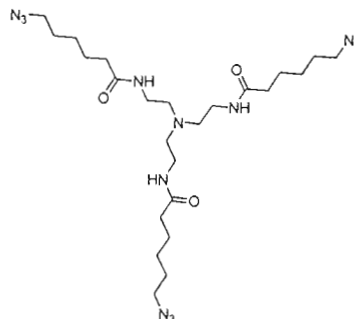
CH<sub>2</sub>), 51.1 (C-ε), 37.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 31.5 (C-β), 28.4(C-δ), 22.7 (C-γ); **SMHR-IES**<sup>+</sup>: *m/z* calculée pour C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>N<sub>22</sub>O<sub>3</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 709.3702, trouvée: 709.3707.

#### Pentafluorophényl 6-azidohexanoate (70)



À une solution du composé **69** (900 mg, 5.71 mmol, 1.0 éq.) dissous dans du DCM distillé (30 mL) sont ajoutés du pentafluorophénol (1.16 g, 6.28 mmol, 1.1 éq.) et du DCC (1.29 g, 6.28 mmol 1.1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante durant 12h. sous atmosphère d'azote. La phase organique est lavée avec 50 mL d'H<sub>2</sub>O, puis avec 50 mL de NaCl saturée, avant d'être séchée au Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et concentrée. Le produit brut est alors purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/ AcOEt 97:3) conduisant au composé **70** désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 80% (1.47 g, 4.54 mmol). *R<sub>f</sub>* = 0.34 (hexane/AcOEt 97:3); IR (NaCl, ν (cm<sup>-1</sup>)): 3436, 3025 2933, 2865, 2100 (N<sub>3</sub>), 1786, 1521; **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm)): δ = 3.32 (t, 2H, *J* = 6.0 Hz, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>) 2.70 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.87-1.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.72-1.62 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.58-1.49 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); **RMN** <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm)): δ = 169.2 (CO), 142.7, 141.1, 139.5, 137.7, 136.1 (CF), 51.1 (CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 33.0 (COCH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 25.9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 24.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); **RMN** <sup>19</sup>F (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm)): δ = -157.4 (2F), -162.5 (1F), -166.7 (2F); **SMHR-IES**<sup>+</sup>: *m/z* calculée pour C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> [M - N<sub>2</sub> + H]<sup>+</sup>: 296.0704; trouvée: 296.0704.

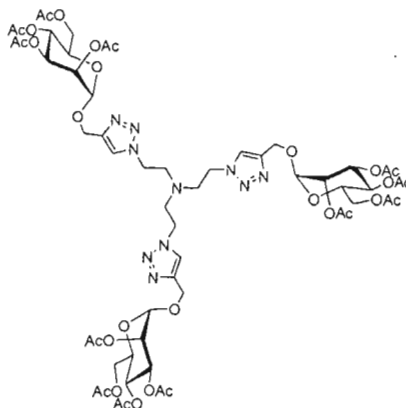
#### Coeur triazoture (71)



Une solution de tris(2-aminoethyl)amine **65** (100  $\mu$ L, 98 mg, 0.668 mmol, 1.0  $\text{eq.}$ ) et de DIPEA (700  $\mu$ L, 4.00 mmol, 2  $\text{eq.}$  par amine) dissous dans 25 mL de DCM distillé est refroidie dans un bain de glace sous atmosphère d'azote. Le composé **70** (777 mg, 2.40 mmol, 1.2  $\text{eq.}$  par amine) est ajouté directement au mélange réactionnel et laissé réagir à température ambiante pendant 12 h. La réaction est évaporée et le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 100:0 à 97:3) pour obtenir le produit **71** sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 90% (339 mg, 0.601 mmol).  $R_f = 0.42$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3445, 2937, 2860, 2096 ( $\text{N}_3$ ), 1648, 1543, 1237; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 6.84$  (t, 3H,  $J = 4.6$  Hz, NH), 3.27-3.22 (m, 12H,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.51 ( $t_{\text{app}}$ , 6H, N- $\text{CH}_2$ ), 2.19 (6H, t,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{COCH}_2$ ), 1.65-1.53 (m, 12H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.42-1.34 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 173.4$  (CO), 54.4 (N- $\text{CH}_2$ ), 51.1 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 37.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 36.0( $\text{COCH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 26.3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 25.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); **SM-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{N}_{13}\text{O}_3$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 564.38; trouvée: 564.38.

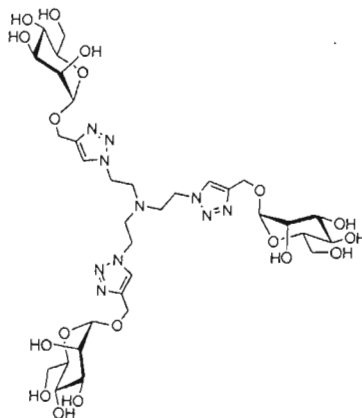
### Glycocluster trivalent (72)





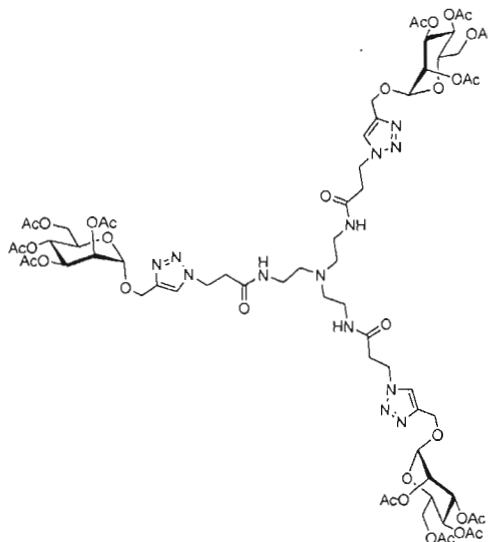
À partir du composé **66** (100 mg, 0.446 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **72** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 97% (597 mg, 0.432 mmol).  $R_f = 0.32$  (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 2948, 2862, 1664, 1286; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.47$  (s, 3 H,  $\text{C}=\text{CH}$ ) 5.33-5.17 (m, 6H, H-3,H-4), 5.18 (dd, 3H,  $J = 2.0$  Hz,  $J = 3.0$  Hz, H-2), 4.97 (dd, 3H,  $J = 1.6$  Hz, H-1), 4.82, 4.66 (2 x d, 6H,  $J = 12.2$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.29 (dd, 3H,  $J = 5.0$  Hz,  $J = 12.4$  Hz, H-6b), 4.25 (t, 6H,  $J = 6.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 4.14-4.06 (m, 6H, H-6a, H-5), 3.06 (t, 6H,  $J = 6.0$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.12, 2.11, 2.02, 1.95 (4s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.6$ , 170.0, 169.9, 169.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 143.4 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 124.1 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 96.6 (C-1), 69.4 (C-5), 68.9(C-3), 68.6 (C-2), 65.8 (C-4), 62.7 (C-6), 60.6 ( $\text{OCH}_2$ ), 54.3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 48.6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 ( $\text{COCH}_3$ ); SMHR-IES $^+$ :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{57}\text{H}_{78}\text{N}_{10}\text{O}_{30}$   $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$  : 692.2515; trouvée: 692.2524.

### Glycocluster trivalent déprotégé (73)



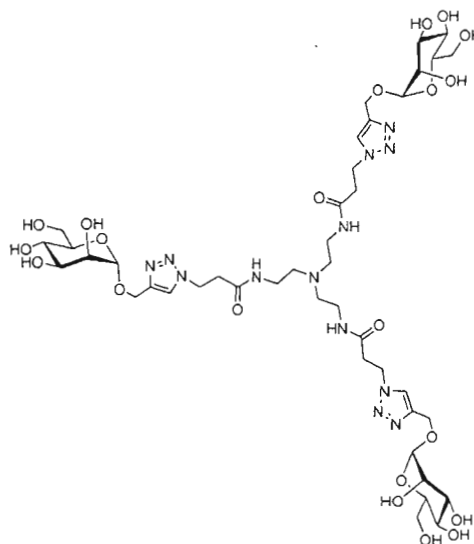
Le composé **72** (50 mg, 0.072 mmol) est dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **73** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 98% (62 mg, 0.070 mmol).).  $R_f = 0.42$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7: 3); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.12$  (s, 6H, C=CH), 4.95 (sl, 3H, H-1) 4.84-4.72 (m, 6H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.59 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 3.87 (sl, 3H, H-2), 3.84-3.65 (m, 15H, H-3, H-4, H-5, H-6), 2.45 (t, 6H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ );; **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 142.8$  (C=CH), 126.9 (C=CH), 98.9 (C-1), 72.5, (C-2) 70.0 (C-5), 69.5 (C-3), 66.2 (C-4), 60.5 (C-6), 59.1 ( $\text{OCH}_2$ ), 53.6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 47.7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ); **SM-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{33}\text{H}_{54} \text{N}_{10}\text{O}_{18}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 901.35; trouvée: 901.35.

#### Glycocluster trivalent (74)



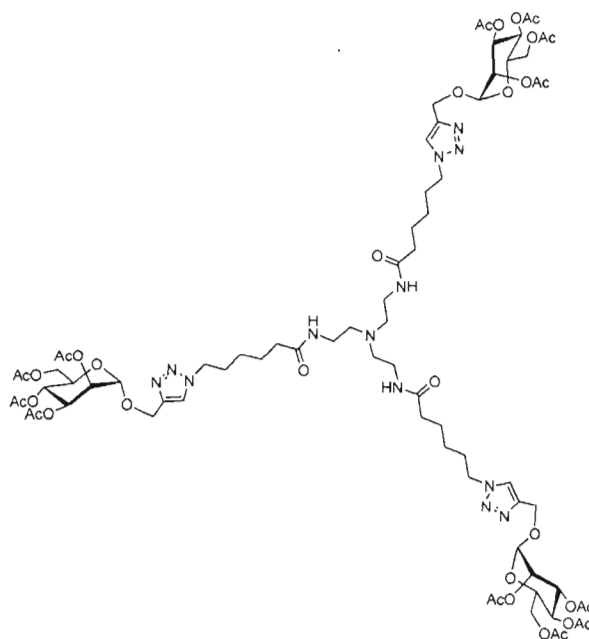
À partir du composé **67** (100 mg, 0.228 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **74** est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 92% (336 mg, 0.210 mmol).  $R_f = 0.34$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3473, 3021, 2941, 2880, 1751, 1656, 1375, 1234; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.67$  (s, 3H, C=CH), 7.16 (sl, 3H, NH), 5.23-5.09 (m, 9H, H-2, H-3, H-4), 4.86 (sl, 3H, H-1), 4.72, 4.50 (m, 12H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ,  $\text{OCH}_2$ ), 4.21 (dd, 3H,  $J = 5.0$  Hz,  $J = 12.2$  Hz, H-6b), 4.03-3.99 (m, 6H, H-5, H-6a), 3.05 (sl, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.73 (sl, 6H,  $\text{COCH}_2$ ), 2.36 (sl, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.04, 2.00, 1.93, 1.86 (4 x s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.3$ , 169.8, 169.7, 169.7, 169.3, (CO), 142.7 (C=CH), 124.2 (C=CH), 96.5 (C-1), 69.0 (C-5), 68.8 (C-3), 68.3 (C-2), 65.6 (C-4), 62.0 (C-6), 60.3 ( $\text{OCH}_2$ ), 54.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 46.0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 37.6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 35.5 ( $\text{COCH}_2$ ), 20.5, 20.4, 20.4, 20.3 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{66}\text{H}_{93}\text{N}_{13}\text{O}_{33}$  [ $\text{M} + 2\text{H}$ ] $^+$ : 1597.61; trouvée: 1597.1.

#### Glycocluster trivalent déprotégé (75)



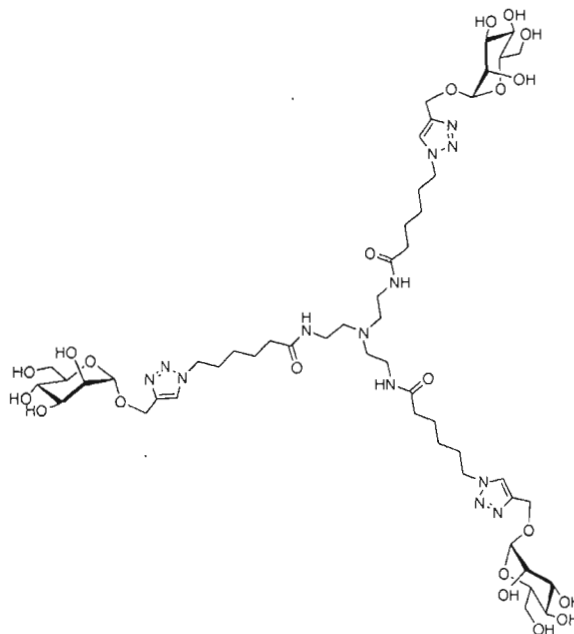
Le composé **74** (100 mg, 0.063 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **75** sous la forme de poudre blanche avec un rendement de 98% (67 mg, 0.061 mmol).).  $R_f = 0.46$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.01 (sl, 3H, C=CH), 4.92 (sl, 3H, H-1), 4.80-4.71 (m, 12H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N, OCH<sub>2</sub>), 3.90 (sl, 3H, H-2), 3.89- 3.62 (m, 15H, H-3, H-4, H-5, H-6), 3.08 (t<sub>app</sub>, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.85 (t, 6H,  $J = 5.2$  Hz, COCH<sub>2</sub>), 2.41 (t, 6H,  $J = 5.2$  Hz, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 172.6 (CO), 144.0 (C=CH), 125.9 (C=CH), 99.9 (C-1), 73.6 (C-2), 71.1 (C-5), 70.6 (C-3), 67.3 (C-4), 61.5 (C-6), 60.2 (OCH<sub>2</sub>), 52.8 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 47.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 37.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 36.5 (COCH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>42</sub>H<sub>69</sub>N<sub>13</sub>O<sub>21</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 1092.4804; trouvée: 1092.4812.

### Glycocluster trivalent (76)



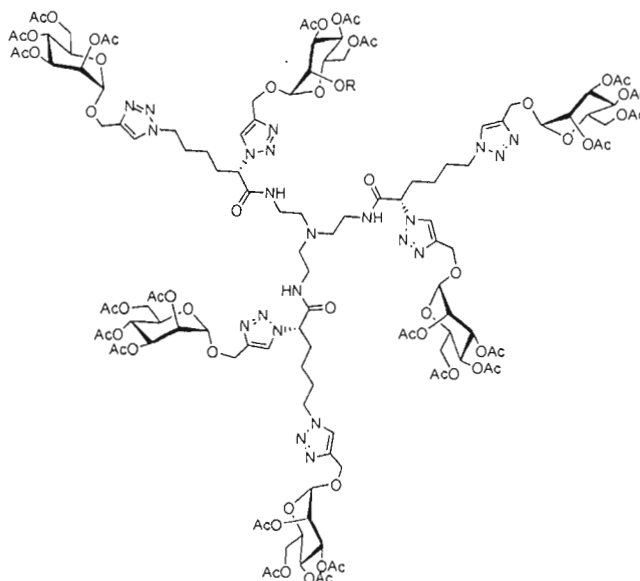
À partir du composé **71** (100 mg, 0.177 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **76** est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 93% (284 mg, 0.165 mmol).  $R_f = 0.28$  (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3450, 3020, 2944, 2885, 1749, 1650, 1217; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.62$  (s, 3H, C=CH), 6.80 (t, 3H,  $J = 4.6$  Hz, NH) 5.30-5.28 (m, 6H, H-3, H-4), 5.21 (sl, 3H, H-2), 4.95 (d, 3H,  $J = 1.4$  Hz, H-1), 4.82, 4.65 (2 x d, 6H,  $J = 12.2$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.35 (t, 6H,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 4.28 (dd, 3H,  $J = 5.4$  Hz,  $J = 12.4$  Hz, H-6b), 4.12 (d, 3H,  $J = 2.2$  Hz, H-6a), 4.07-4.06 (m, 3H, H-5), 3.22 (m, 6H,  $J = 5.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.25 (t, 6H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.19 (t, 6H,  $J = 7.2$  Hz,  $\text{COCH}_2$ ), 2.13, 2.10, 2.02, 1.96 (4 x s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.96-1.87 (6H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.69-1.61 (6H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.38-1.28 (6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 173.2, 170.6, 170.0, 169.9, 169.6$  (CO), 143.3 (C=CH), 123.0 (C=CH), 96.7 (C-1), 69.3 (C-2), 69.0 (C-5), 68.6 (C-3), 65.9 (C-4), 62.3 (C-6), 60.9 ( $\text{OCH}_2$ ), 54.3 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 50.0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 37.6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 35.8 ( $\text{COCH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 25.9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 24.8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{75}\text{H}_{111}\text{N}_{13}\text{O}_{33}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 1722.74800; trouvée: 1722.74822.

#### Glycocluster trivalent déprotégé (77)



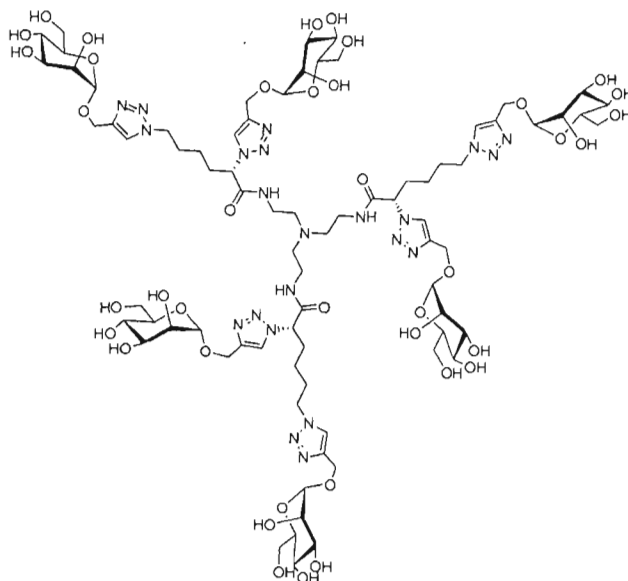
Le composé **76** (100 mg, 0.058 mmol) est dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **77** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 99% (70 mg, 0.057 mmol).  $R_f = 0.46$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 7.99 (sl, 3H, C=CH), 4.91 (sl, 3H, H-1), 4.76-4.62 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>), 4.34 (6H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 3.87 (sl, 3H, H-2), 3.83-3.61 (m, 15H, H-3, H-4, H-5, H-6), 3.18 (sl, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.56 (sl, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.15 (t, 6H,  $J = 6.0$  Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.80 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.51 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.17 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 175.7, (CO) 142.9, (C=CH), 124.9 (C=CH), 98.9 (C-1), 72.5 (C-2), 70.0 (C-5), 69.5 (C-3), 66.2 (C-4), 60.4 (C-6), 59.2 (OCH<sub>2</sub>), 51.9 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 49.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N), 36.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 35.0 (COCH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 24.6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 24.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>51</sub>H<sub>87</sub>N<sub>13</sub>O<sub>21</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 1218.6212; trouvée: 1218.6189.

**Glycocluster hexavalent (78)**



À partir du composé **68** (50 mg, 0.073 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **78** est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 92% (201 mg, 0.067 mmol).  $R_f = 0.41$  (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3465, 3018, 2960, 2872, 1749, 1668, 1565, 1217; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.05$  (s, 3H, C=CH( $\alpha$ )), 7.65 (sl, 6H, NH, C=CH( $\epsilon$ )), 5.48 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz, H- $\alpha$ ), 5.30-5.25 (m, 12H, H-3, H-4), 5.18 (d, 6H,  $J = 7.0$  Hz, H-2), 4.94 (s, 6H, H-1), 4.81, 4.61 (2 x dd, 12H,  $J = 4.7$  Hz,  $J = 12.0$  Hz,  $J = 15.0$  Hz,  $\text{OCH}_2(\alpha-\epsilon)$ ), 4.37 ( $t_{\text{app}}$ , 6H, H- $\epsilon$ ), 4.28 (dd, 6H,  $J = 3.4$  Hz,  $J = 12.0$  Hz, H-6b), 4.10 (m, 6H, H-6b, H-5), 3.24 (sl, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.97 (sl, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.50 (sl, 3H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.34 (sl, 6H, H- $\beta$ ), 2.20-1.95 (m, 9 H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ , H- $\delta$ ), 2.13, 2.10, 2.03, 1.96 (4 x s, 72H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.40 (sl, 6H, H- $\gamma$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.6$ , 170.0, 169.9, 169.6, 169.6, 168.1 (CO), 143.7, 143.3 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 123.1, 122.9 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 96.8, 96.7 (C-1), 69.4, 69.3 (C-2), 69.0 (C-5), 68.6 (C-3), 65.9 (C-4), 63.4 (C-6), 62.2 (C- $\alpha$ ), 60.1 ( $\text{OCH}_2$ ), 54.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 49.7 (C- $\epsilon$ ), 38.8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 31.6 (C- $\delta$ ), 29.6 (C- $\beta$ ), 22.5 (C- $\gamma$ ), 20.8, 20.7, 20.6 ( $\text{COCH}_3$ ); **SM-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{126}\text{H}_{174}\text{N}_{22}\text{O}_{63}$  [ $\text{M} + 2\text{H}$ ] $^{2+}$ : 1502.56; trouvée: 1502.56.

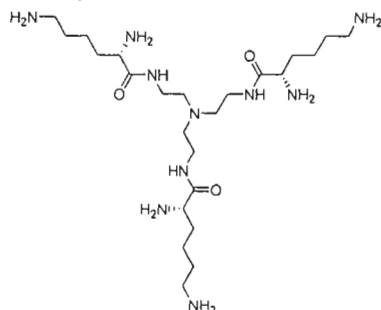
#### Glycocluster hexavalent déprotégé (79)



Le composé **78** (100 mg, 0.033 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au cluster **79** sous la forme de poudre blanche avec un rendement de 97% (64 mg, 0.032 mmol). ).  $R_f = 0.50$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.17$  (s, 3H, C=CH( $\alpha$ )), 7.97 (s, 3H, C=CH( $\epsilon$ )), 5.34 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz, H- $\alpha$ ), 4.92 (d, 6H,  $J = 4.0$  Hz, H-1), 4.80-4.58 (m, 12H, OCH<sub>2</sub>), 4.35 (sl, 6H, H- $\epsilon$ ), 3.90-3.63 (m, 36H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6), 3.15 (sl, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.52 (sl, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.18 (m, 6H, H- $\beta$ ), 1.87 (m, 6H, H- $\delta$ ), 1.14 (m, 6H, H- $\gamma$ ); **RMN <sup>13</sup>C** (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O (21 °C),  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 169.0$  (CO), 143.3, 143.0 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 124.5, 123.9 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 99.0, 98.9 (C-1) 72.5 (C-2), 70.0 (C-5), 69.5 (C-3), 66.2 (C-4), 63.0 (C-6), 60.4 (C- $\alpha$ ), 59.2 (OCH<sub>2</sub>), 52.1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 49.3 (C- $\epsilon$ ), 37.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 30.2 (C- $\delta$ ), 28.1 (C- $\beta$ ), 21.3(C- $\gamma$ ); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>78</sub>H<sub>126</sub>N<sub>22</sub>O<sub>39</sub> [M + 2H]<sup>2+</sup>: 998.4349; trouvée: 998.4342.

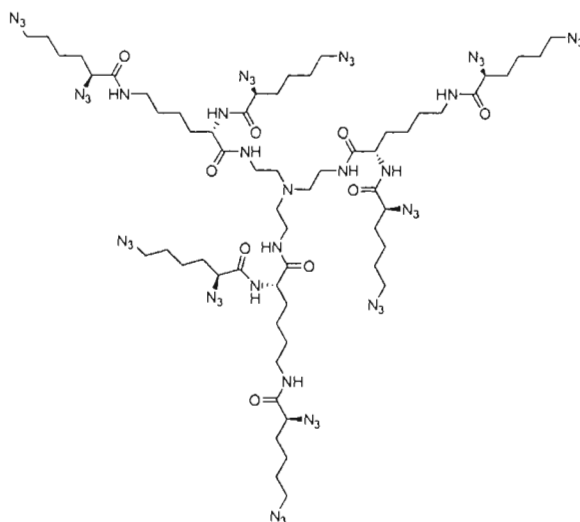


## Cœur hexaaminé (80)



Le composé **68** (100 mg, 0.146 mmol) est réduit selon le *Protocole I* pour conduire au cluster **80** sous forme d'huile incolore avec un rendement quantitatif (77 mg, 0.067 mmol).  $R_f = 0.28$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7 : 3); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3442 2960, 2872, 1649, 1577, 1216; **SMHR-IES**<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{24}\text{H}_{54}\text{N}_{10}\text{O}_3$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 531.4453; trouvée: 531.4452.

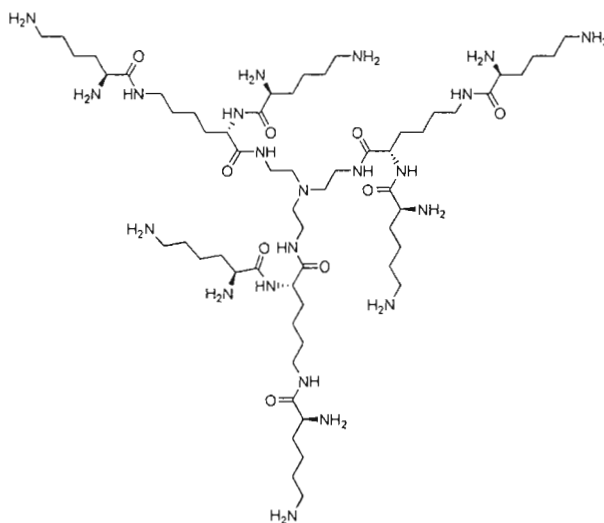
## Cœur dendritique de lysine azoture G(1) (81)



La molécule **80** (50 mg, 0.094 mmol) est utilisée selon la *Protocole J* pour obtenir le cœur dendritique **81** sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 88% (134 mg, 0.083 mmol).  $R_f = 0.57$  ( $\text{DCM}/\text{MeOH}$  95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3421, 2942, 2856, 2109 ( $\text{N}_3$ ), 1667, 1557, 1221; **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.67$  ( $t_{\text{app}}$ , 3H,

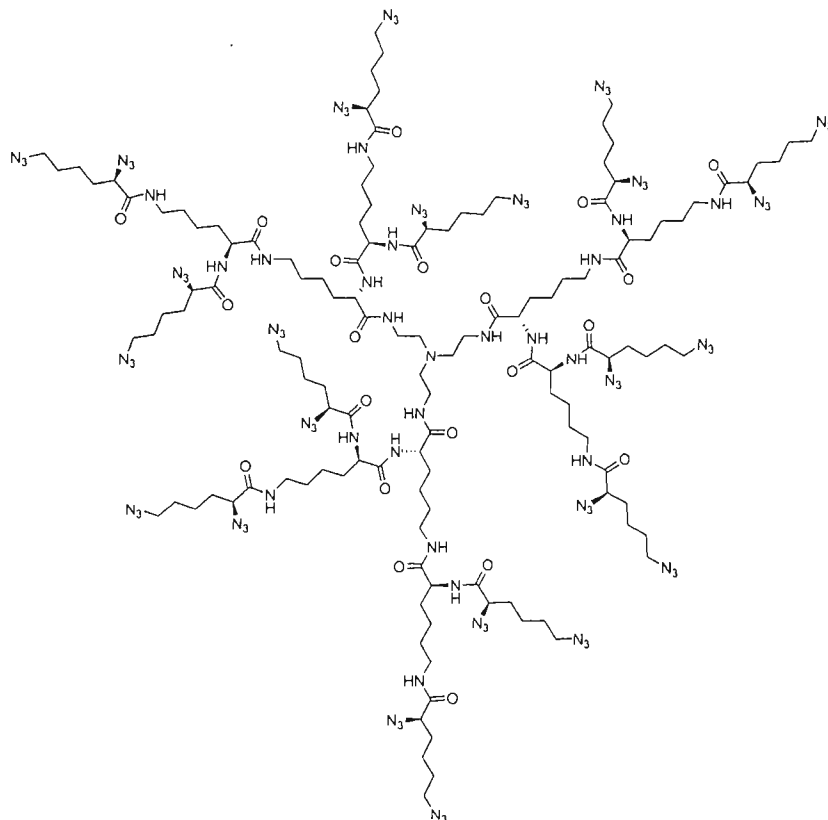
NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 7.36 (d, 3H,  $J = 8.0$  Hz, NH- $\alpha$ -G0), 6.71 (t, 3H,  $J = 6.0$  Hz, NH- $\varepsilon$ -G0), 4.55-4.51 (m, 3H, H- $\alpha$ -G0), 3.95-3.91 (m, 6H, H- $\alpha$ -G1), 3.31-3.21 (m, 21H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, H- $\varepsilon$ -G0, H- $\varepsilon$ -G1), 3.04-3.00 (m, 3H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.56-2.47 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.94-1.33 (m, 54H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$  de G0 et G1); RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 171.9, 170.1, 169.3$  (CO), 64.0 (C- $\alpha$ -G1), 63.2 (C- $\alpha$ -G0), 55.0 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 53.0 (C- $\varepsilon$ -G0), 51.0 (C- $\varepsilon$ -G1), 39.0 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31.9, 31.6, 31.5, 28.9, 28.4, 22.7, 22.5 (C- $\beta$ , C- $\gamma$ , C- $\delta$  G0 et G1); SMHR-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>60</sub>H<sub>102</sub>N<sub>46</sub>O<sub>9</sub> [M + 2H]<sup>2+</sup>: 806.4541; trouvée : 806.4540.

### Cœur dendritique dodécaaminé(82)

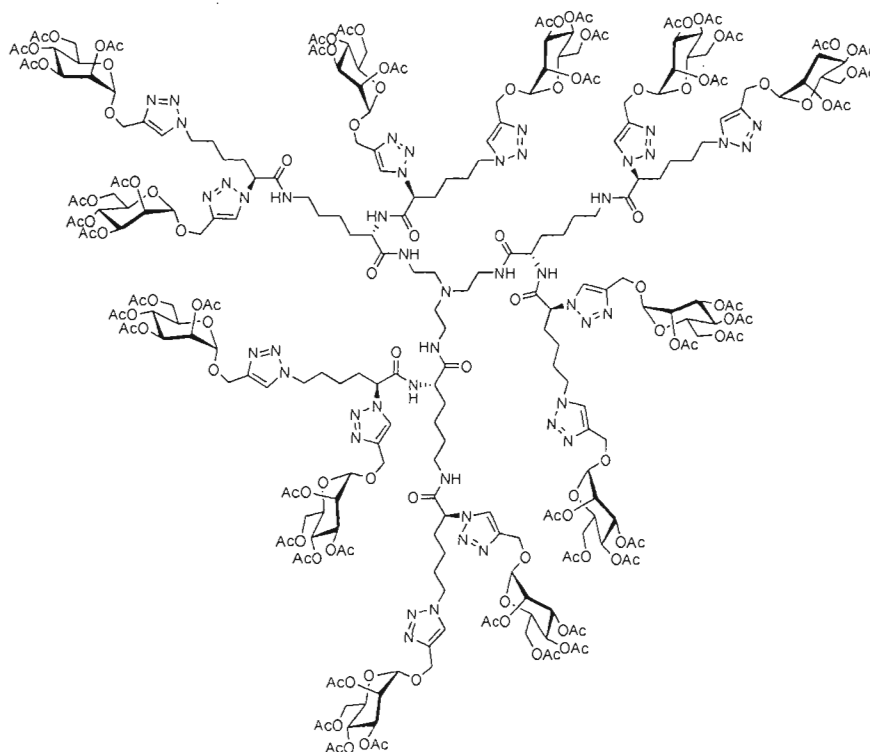


Le composé **81** (100 mg, 0.062 mmol) est réduit selon le *Protocole I* pour conduire au cœur dendritique **82** sous forme d'huile incolore avec un rendement quantitatif (80 mg, 0.062 mmol).  $R_f = 0.30$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 3442 2974, 2838, 1657, 1524, 1215; SMHR-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>60</sub>H<sub>126</sub>N<sub>22</sub>O<sub>9</sub> [M + 3H]<sup>3+</sup>: 434.0098; trouvée: 434.0108.

## Cœur polyazoture de L-lysine G(2) (83)



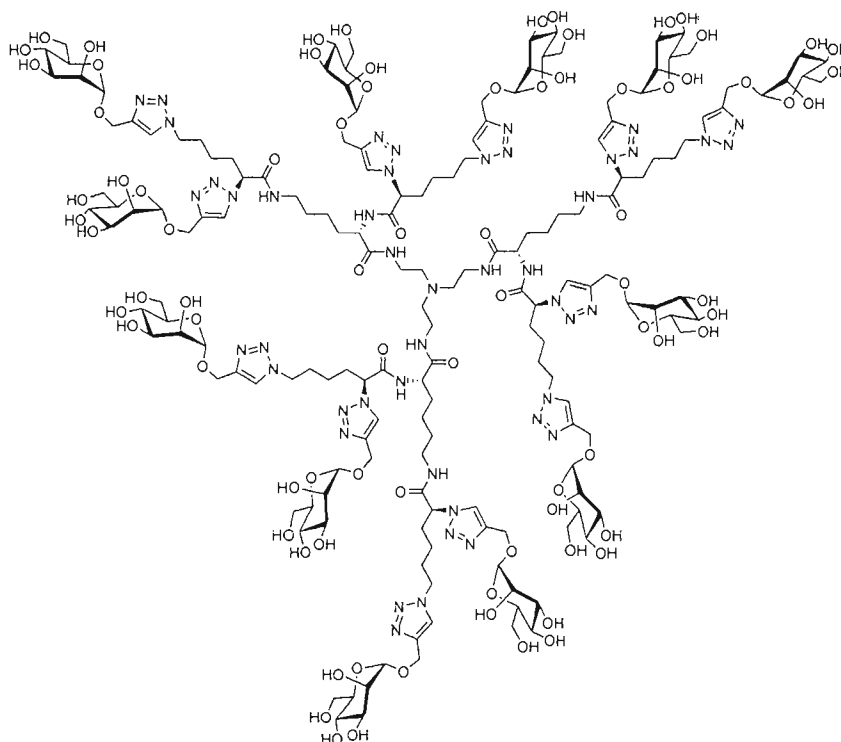
La molécule **82** (50 mg, 0.038 mmol) est utilisée selon la *Protocole J* pour obtenir le cluster **83** sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 86% (114 mg, 0.033 mmol).  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3438, 3321, 2942, 2825, 2103 ( $\text{N}_3$ ), 1652, 1542, 1266; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.27, 8.16, 7.96, 7.82$  (m, 21H, NH-G0 à G2), 4.28-4.20 (m, 9H, H- $\alpha$ -G0, H- $\alpha$ -G1), 3.79 (t, 12H,  $J = 6.6$  Hz, H- $\alpha$ -G2), 3.68-3.65 (m, 24H, H- $\epsilon$ -G2), 3.14-2.97 (m, 18H, H- $\epsilon$ -G0, H- $\epsilon$ -G1), 1.45 (m, 126H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$  de G0 à G2); RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 171.3, 171.1, 170.8; 169.5, 169.2, 169.1$  (CO), 61.3 (C- $\alpha$ -G2), 60.9 (C- $\alpha$ -G1), 53.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 52.4 (3 C- $\alpha$ -G0), 50.3 (12 C- $\epsilon$ -G2), 40.6 (C- $\epsilon$ -G1), 38.4 (C- $\beta$ -G2), 37.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 31.8(C- $\beta$ -G1), 31.4 (3 C- $\beta$ -G0), 30.4 (12 C- $\delta$ -G2), 29.0, 28.7, 28.5 (C- $\delta$  de G0 et G1), 27.7, 22.7, 22.5, 22.4 (C- $\gamma$  de G0 à G2); SMHR-IES $^+$ :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{132}\text{H}_{222}\text{N}_{94}\text{O}_{21}$   $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ : 1730.9669; trouvée: 1730.9665.

Mannodendrimère de poly-L-lysine G(1) (**84**)

À partir du composé **81** (50 mg, 0.031 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **84** est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 88% (170 mg, 0.067 mmol).  $R_f = 0.43$  (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3455, 3024, 2981, 2834, 1738, 1646, 1518, 1224; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.03, 8.01$  (2 x s, 6H, C=CH( $\alpha$ )), 7.87 (3 H, m NH- $\alpha$ ), 7.69-7.57 (m, 18H, C=CH( $\epsilon$ ), NH-G0, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 5.48 ( $t_{\text{app}}$ , 3H, H- $\alpha$ -G0), 5.41 ( $t_{\text{app}}$ , 6H, H- $\alpha$ -G1), 5.35-5.19 (36H, m, H-2, H-3, H-4), 4.98 (s, 6H, H-1 $_{\alpha}$ ), 4.95 (s, 6H, H-1 $_{\epsilon}$ ), 4.81, 4.63 (2 x m, 24H, OCH<sub>2</sub>), 4.34-4.26 (m, 24H, H- $\epsilon$ -G2, H-6b), 4.13-4.09 (m, 24H, H-6b, H-5), 3.24-3.03 (m, 12H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, H- $\epsilon$ -G0), 2.57 (sl, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.13, 2.10, 2.02, 1.96 (4 x s, 144H, COCH<sub>3</sub>), 2.13-1.11 (54H, m, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$ , de G0 et G1); RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 171.5, 170.2, 169.6, 169.5, 169.2, 168.1, 167.7$  (CO), 143.4, 143.3, 143.1 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 123.1, 122.9, 122.8, 122.6 (C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 96.6, 96.5 (C-1), 69.2 (C-5), 68.9 (C-3), 68.5 (C-2), 65.9 (C-4), 63.4, 63.0 (C- $\alpha$ -G1), 62.1 (C-6), 60.6 (OCH<sub>2</sub>), 54.1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 53.5 (C- $\alpha$ -G0), 49.5 (C- $\epsilon$ -G1), 38.9 (C- $\epsilon$ -G0),

37.9 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 32.0, 31.7, 31.4, 29.0, 28.1 (C-β, C-δ de G0 et G1), 22.4, 22.2 (C-γ de G0 et G1), 20.4, 20.3, 20.2 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>264</sub>H<sub>366</sub>N<sub>46</sub>O<sub>129</sub> [M + 3H]<sup>3+</sup>: 2082.4570; trouvée: 2082.4581.

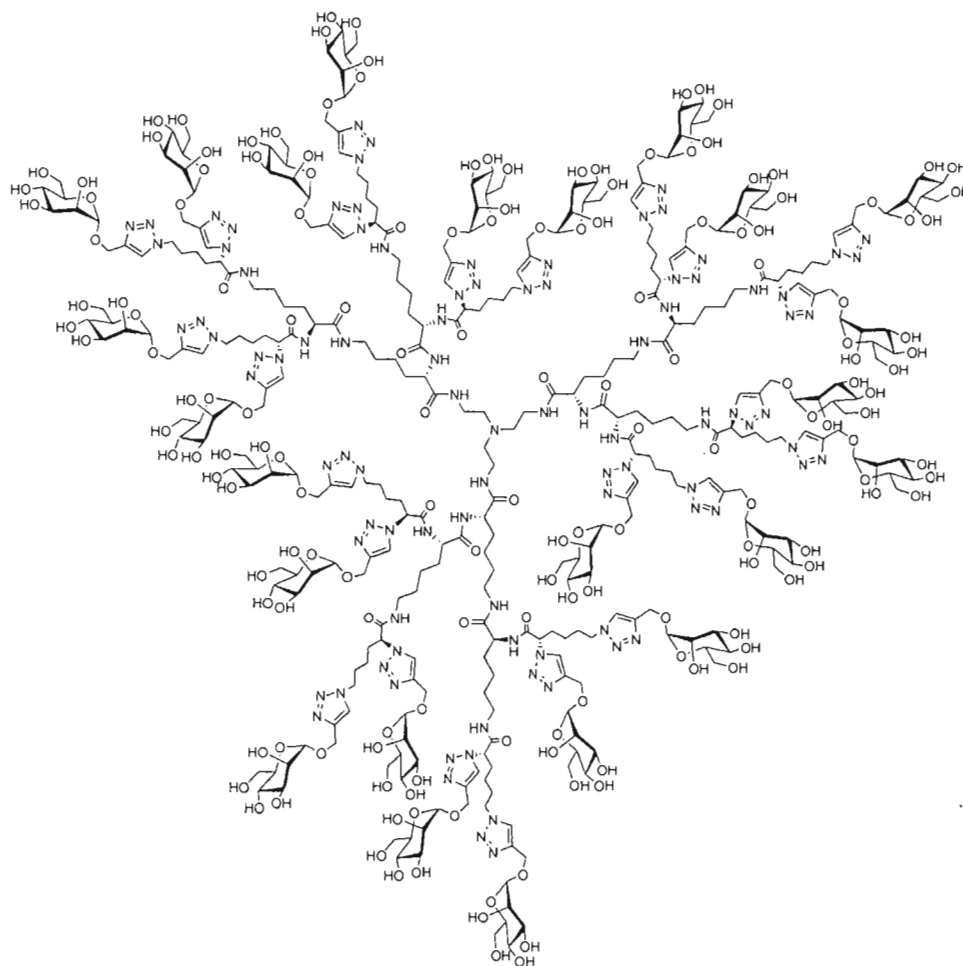
### Mannodendrimère de poly-L-lysine G(1) (85)



Le composé **84** (100 mg, 0.016 mmol) a été dé-O-acétylé selon le le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **85** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 98% (66 mg, 0.032 mmol).). *R<sub>f</sub>* = 0.50 (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.15 (s, 6H, C=CH(α)), 7.95 (s, 6H, C=CH(ε)), 5.37 (sl, 3H, H-α-G1<sub>a</sub>), 5.26 (sl., 3H, H-α-G1<sub>a</sub>), 4.92 (s, 12H, H-1), 4.80-4.61 (m, 24H, OCH<sub>2</sub>), 4.33 (sl, 12H, H-ε-G1), 4.16 (sl, 3H, H-α-G0), 3.89-3.62 (m, 72H, H-2, H-3, H4, H-5, H-6,), 3.26-3.05(m, 12H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, H-ε-G0), 2.58(m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.19 (sl, 12H, H-β-G1), 1.87 (sl, 12H, H-δ-G1), 1.60 (sl, 6H, H-γ-G0), 1.29-1.13(m, 24H, H-δ-G0, H-γ-G1); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 175.4, 175.3 (COCH<sub>3</sub>), 171.5 (CO), 146.2, 146.1, 146.0, 145.9 (C=CH (α et ε )), 127.2, 126.6

(C=CH ( $\alpha$  et  $\epsilon$ )), 101.8, 101.7 (C-1), 75.3 (C- $\alpha$ -G1), 72.9 (C-2), 72.3 (C-5), 69.1 (C-3), 65.9 (C-4), 65.5 (C- $\alpha$ -G0), 63.2 (C-6), 62.1 (OCH<sub>2</sub>), 56.3 (C- $\alpha$ -G1), 54.9 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 52.1 (C- $\epsilon$ -G1), 41.5 (C- $\epsilon$ -G0), 39.7 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 33.1, 32.8, 32.5, 30.8 29.9 (C- $\beta$ , C- $\delta$  de G0 et G1), 24.6, 24.2, 24.1 (1C- $\gamma$  de G0 et G1); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>168</sub>H<sub>270</sub>N<sub>46</sub>O<sub>81</sub> [M + 4H]<sup>4+</sup>: 1057.9678; trouvée: 1057.9640.

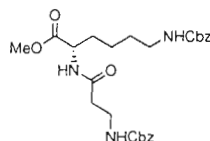
### Mannodendrimère de poly-L-lysine G(2) (86)



À partir du composé **83** (50 mg, 0.014 mmol) et selon *Protocole A*, le mannodendrimère acétylé a été obtenu sans purification. **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>540</sub>H<sub>750</sub>N<sub>94</sub>O<sub>261</sub> [M + 5H]<sup>5+</sup>: 2547.7775; trouvée: 2445.7876. Ce composé a été dé-O-acétylé

selon le *Protocole H* et dialysé pendant 6 heures contre de l'eau nanopure pour conduire au mannodendrimère **86** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 85% sur deux étapes (107 mg, 0.012 mmol).  $R_f = 0.62$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7: 3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.15 (sl, 12H, C=CH(α)), 7.95 (sl, 12H, C=CH(ε)), 5.38 (sl, 6H, H-α-G<sub>2</sub>), 5.26 (sl, 6H, H-α-G<sub>2</sub>), 4.91 (sl, 24H, H-1), 4.81-4.61 (m, 48H, OCH<sub>2</sub>), 4.33 (sl, 12H, H-ε-G<sub>2</sub>), 4.13 (sl, 3H, H-α-G<sub>0</sub>), 3.89-3.62 (m, 144H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6), 3.29-3.09 (m, 24H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH, H-ε-G<sub>0</sub> et G<sub>1</sub>), 2.58 (sl, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.14 (sl, 24H, H-β-G<sub>2</sub>), 1.86 (sl, 24H, H-δ-G<sub>2</sub>), 1.64 (sl, 18H, H-β-G<sub>0</sub> et G<sub>1</sub>), 1.48-1.15 (m, 60H, H-γ, H-δ G<sub>0</sub> à G<sub>1</sub>, H-γ-G<sub>2</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 172.4, 168.7 (CO), 143.9, 143.2, (C=CH (α et ε)), 124.4, 123.8 (C=CH (α et ε)), 99.1, 98.9 (C-1), 72.5 (C-α-G<sub>2</sub>), 70.2 (C-2), 69.6 (C-5), 66.3 (C-3), 63.2 (C-4), 62.7 (C-α-G<sub>1</sub>), 60.5 (C-6), 59.3 (OCH<sub>2</sub>), 53.6 (C-α-G<sub>2</sub>), 52.1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 49.3 (C-ε-G<sub>2</sub>), 38.7 (C-ε-G<sub>1</sub>), 36.8 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 30.3, 29.2, 28.1, 27.2 (C-β, C-δ de G<sub>0</sub> à G<sub>2</sub>), 21.9, 21.4 (C-γ de G<sub>0</sub> à G<sub>1</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>348</sub>H<sub>558</sub>N<sub>94</sub>O<sub>165</sub> [M + 4H]<sup>4+</sup>: 2175.7142; trouvée: 2175.7148.

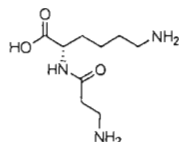
### Composé (89)



La molécule **87** (100 mg, 0.339 mmol) est utilisée selon le *Protocole J* pour obtenir le composé **89** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 86% (145 mg, 0.033 mmol).  $R_f = 0.18$  (DCM/MeOH 98 : 2); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 3424, 3318, 2938, 2872, 1687, 1427, 1542, 1266, 912; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 7.32, 7.31 (2 x s, 10H, H<sub>arom</sub>), 6.68 (d, 1H,  $J = 7.1$  Hz, NH-α), 5.68 (sl, 1H, NH-Cbz-β-ala), 5.18 (sl, 1H, NH-γ), 5.06 (s, 4H, CO-O-CH<sub>2</sub>), 4.55-4.51 (m, 1H, H-α), 3.69 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>), 3.44-3.41 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NH-β-ala), 3.11-3.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>- ), 2.42 (t, 2H,  $J = 5.2$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-β-ala), 1.82-1.32 (m, 6H, H-β, H-γ, H-δ); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 172.7, 171.4 (CO), 156.5, 156.4 (NHCO-O), 136.4 (C<sub>arom</sub>), 128.3, 128.3, 127.9, 127.8, 127.6 (C<sub>arom</sub>), 66.4 (CO-O-CH<sub>2</sub>), 52.2 (C-α), 51.8 (CH<sub>3</sub>), 40.1 (C- ), 36.9 (CH<sub>2</sub>NH-β-ala), 35.6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-β-

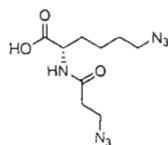
ala, 31.2 (C-β), 29.0 (C-δ), 22.1 (C-γ); **SM-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>26</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 500.23; trouvée : 500.23.

### Composé (90)



Le composé **89** (100 mg, 0.200 mmol) est dissous dans 15 mL de MeOH avec l'ajout de LiOH (19 mg, 0.800 mmol, 4 éq.) Le milieu réactionnel est agité à température pièce et l'avancement de la réaction est suivi par CCM (4h). Une fois la saponification terminée, le solvant réactionnel est évaporé et le résidu est redissous dans de l'AcOEt. Cette phase organique est lavée avec du HCl 3.0 M (2 x 50 mL), puis avec H<sub>2</sub>O. Après séchage des phases organiques sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporation à sec, le solide blanc récupéré est utilisé directement dans l'étape suivante. Ce composé est dissous dans 25 mL de méthanol distillé et le milieu réactionnel est hydrogéné en présence d'une atmosphère d'hydrogène et de palladium sur charbon à 10% catalytique avec l'ajout de 2 gouttes de HCl 10 M. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (4h). Lorsque la déprotection est terminée, le mélange est filtré sur papier et concentré, conduisant, après évaporation, au composé désiré sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 98%. (43 mg, 0.196 mmol). Le composé est utilisé tel quel dans la prochaine étape. **SM-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 218,15; trouvée : 218.21.

### Composé azoture (91)

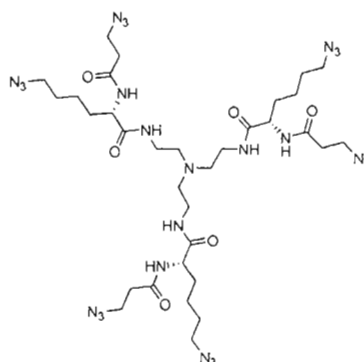


Le composé **90** (50 mg, 0.230 mmol) est converti en azoture par la réaction de diazotransfert (*Protocole C*, traitement avec HCl). Le composé **91** est purifié par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 99: 1), conduisant au composé désiré sous la



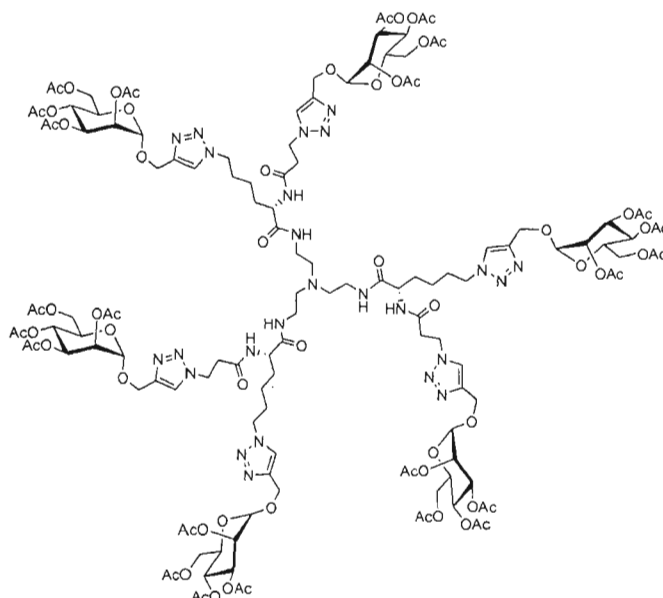
forme d'une huile incolore avec un rendement de 91% (62 mg, 0.209 mmol).  $R_f = 0.44$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3419, 3320, 2941, 2869, 2102 ( $\text{N}_3$ ), 1733, 1266, 740; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.11$  (sl, 1H, OH), 6.40 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz,  $\text{NH-}\beta\text{-ala}$ ), 4.66 (dd, 1H,  $J = 12.9$  Hz,  $J = 7.2$  Hz, H- $\alpha$ ), 3.65 (m, 2H, CO- $\text{CH}_2$ ), 3.31 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-}\square$ ), 2.52 (t, 2H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-N}_3\text{-}\beta\text{-ala}$ ), 2.03-1.42 (m, 6H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 175.4$ , 170.3 (CO), 52.1 (C- $\alpha$ ), 51.0 (C- $\square$ ), 47.2 ( $\text{CH}_2\text{-N}_3\text{-}\beta\text{-ala}$ ), 35.7 (CO- $\text{CH}_2$ ), 31.5 (C- $\beta$ ), 28.3 (C- $\delta$ ), 22.4 (C- $\gamma$ ); **SM-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_3$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 292,11; trouvée: 292.22.

#### Cluster de lysine azoture (92)



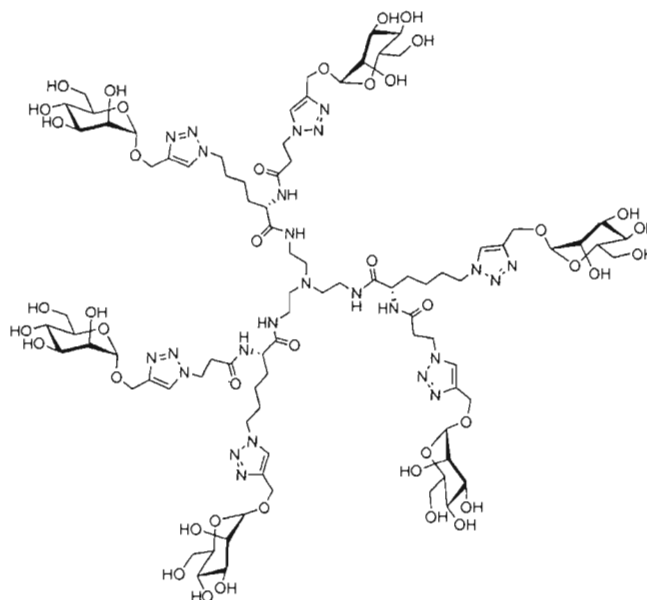
La molécule **65** (51  $\mu\text{L}$ , 50 mg, 0.342 mmol, 1.0 éq.) a été utilisée selon le *Protocole J* pour obtenir le cluster **92** sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 79% (243 mg, 0.270 mmol).  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3427, 2942, 2865, 2101 ( $\text{N}_3$ ), 1666, 1532, 1211, 753; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.1$  (sl, 3H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 8.0 (d, 3H,  $\text{NH-}\alpha$ ), 4.75 (dd, 3H,  $J = 14.8$  Hz,  $J = 7.3$  Hz, H- $\alpha$ ), 3.51 (t, 6H,  $J = 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-N}_3\text{-}\beta\text{-ala}$ ), 3.39 (sl, 3H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 3.24 (t, 6H,  $J = 6.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-}\square$ ), 2.89 (sl, 3H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 2.62-2.34 (m, 12H, N- $\text{CH}_2$  et CO- $\text{CH}_2$ ), 1.85-1.39 (m, 18H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 173.0$ , 17.4 (CO), 55.1 (C- $\alpha$ ), 52.8 (N- $\text{CH}_2$ ), 51.0 (C- $\square$ ), 47.8 ( $\text{CH}_2\text{-N}_3\text{-}\beta\text{-ala}$ ), 39.2 ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 34.7 (CO- $\text{CH}_2$ ), 32.0 (C- $\beta$ ), 28.2 (C- $\delta$ ), 22.7 (C- $\gamma$ ); **SM-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{33}\text{H}_{57}\text{N}_{25}\text{O}_6$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 900.49; trouvée : 900.40.

## Glyocluster hexavalent (93)

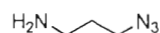


À partir du composé **92** (100 mg, 0.111 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **93** est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 91% (325 mg, 0.101 mmol).  $R_f = 0.21$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 3433, 3028, 2925, 2832, 1756, 1624, 1513, 1217; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.73$  (s, 3H, C=CH- $\beta$ -ala), 7.65 (s, 3H C=CH( $\epsilon$ )), 7.59 (sl, 3H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 7.38 (d, 3H,  $J = 9.0$  Hz,  $\text{NH-}\alpha$ ), 5.29-5.15 (m, 18H, H-2, H-3, H-4), 4.91 (d, 6H,  $J = 1.2$  Hz, H-1), 4.76, 4.59 (2 x d, 6H,  $J = 12.0$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.48 (sl, 6H,  $\text{CH}_2\text{-N-N-}\beta\text{-ala}$ ), 4.32-4.20 (m, 14H, H-6, H- $\alpha$ , H- $\epsilon$ ), 4.08-4.04 (m, 12H, H-6, H-5), 3.55 (sl, 3H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ). 3.23-3.16 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ) 2.91 (sl. 6H,  $\text{CO-CH}_2$ ), 2.49 (sl, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.12, 2.09, 2.01 1.95 (4 x s, 72H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.89-1.32 (m, 18H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ , H- $\delta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 171.9$ , 170.5, 169.9, 169.8, 169.5 (CO) 143.0 (C=CH), 123.9, 123.1 (C=CH), 96.6, 96.5 (C-1) 69.1 (C-2). 68.9 (C-5), 68.4 (C-3), 65.7 (C-4), 62.1 (C-6), 60.6 ( $\text{OCH}_2$ ), 54.4 (C- $\alpha$ ), 52.6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 49.7 (C- $\epsilon$ ), 46.0 ( $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 35.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 31.1 (C-  $\beta$ ), 29.4( $\text{CO-CH}_2$ ), 29.3. (C- $\delta$ ), 22.2 (C- $\gamma$ ), 20.7, 20.6, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{155}\text{H}_{189}\text{N}_{25}\text{O}_{66}$  [ $\text{M} + 3\text{H}$ ] $^{3+}$ : 1073.4171; trouvée: 1073.4150.

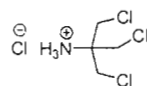
## Glycocluster hexavalent déprotégé (94)



Le composé **93** (100 mg, 0.031 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **94** sous la forme de poudre blanche avec un rendement de 97% (66 mg, 0.030 mmol).  $R_f = 0.50$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.04$  (s, 3H,  $\text{C}=\text{CHC}=\text{CH}-\beta\text{-ala}$ ), 7.98 (s, 3H,  $\text{C}=\text{CH}(\epsilon)$ ), 4.93 (s, 6H, H-1), 4.82-4.63 (m, 12H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.22 (sl, 6H,  $\text{CH}_2\text{-N-N}-\beta\text{-ala}$ ) 4.07 (sl, 3H, H- $\alpha$ ), 3.92-3.60 (m, 36H, H-2, H-3, H4, H-5, H-6), 3.15-2.92 (m, 12H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ,  $\text{CO}-\text{CH}_2$ ), 2.52 (sl, 6H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.21 (m, 6H, H- $\beta$ ), 1.84 (m, 6H, H- $\delta$ ), 1.20 (m, 6H, H- $\gamma$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  (21 °C),  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 171.4$ , 170.5, (CO). 143.3 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 124.6, 123.9 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 96.1, 95.9 (C-1), 70.2 (C-2), 69.4 (C-5), 68.5 (C-3), 66.7 (C-4), 63.1 (C-6), 61.3 ( $\text{OCH}_2$ ), 54.6 (C- $\alpha$ ), 53.7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 50.1 (C- $\epsilon$ ), 46.4 ( $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 35.4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 31.6 (C- $\beta$ ), 29.1 ( $\text{CO}-\text{CH}_2$ ), 28.8 (C- $\delta$ ), 22.0 (C- $\gamma$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{87}\text{H}_{141}\text{N}_{25}\text{O}_{42}$   $[\text{M} + 4\text{H}]^{4+}$ : 1127.4740; trouvée: 1127.4121.

3-azidopropylamine (96)<sup>363</sup>

À une solution du sel bromure de 3-bromopropylamine commercial **95** (4.0 g, 0.018 mmol) dans H<sub>2</sub>O (25 ml) est ajouté du NaN<sub>3</sub> azoture de sodium (2.37 g, 0.036 mmol, 2.0 éq.). Le mélange est agité à 80 °C pendant 15 heures. En fin de réaction, on ajoute une solution de NaOH 3M jusqu'à pH 10 et on extrait 4 fois avec de l'éther éthylique. La phase organique est séchée sur K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> et évaporée dans un bain à 10 °C (composé très volatil), ce qui permet d'isoler le produit **96** pur sous forme d'huile jaune avec un rendement de 90 % (1.64 g, 0.016 mmol).  $R_f = 0.21$  (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 3468, 3028, 2945, 2875, 2102 (N<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 3.36$  (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 2.80 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz, CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>), 1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.50 (sl, 1H, NH<sub>2</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 49.1$  (CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 39.2 (CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>), 32.3 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); SM-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 101.08; trouvée : 101.08.

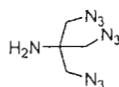
Composé (98)<sup>322</sup>

Dans un ballon tricol de 150 mL est ajouté le tris **97** (15.0 g, 123.8 mmol, 1.0 éq.) ainsi que le chlorure de thionyle (38.0 mL, 61.8 g, 519.9 mmol, 4.20 éq.). Le mélange est refroidi dans un bain de glace avec une agitation forte. De la pyridine (5.0 mL, 4.90 g, 62 mmol, 0.5 éq.) est ajoutée goutte à goutte sur une période de 10 minutes et on laisse agiter pendant 45 minutes. La réaction est ensuite agitée à reflux pendant 6 heures. Après ce temps de réaction, le ballon est placé dans un bain d'eau froide avec une forte agitation et on ajoute 6 mL d'H<sub>2</sub>O sur une période de 30 minutes. Un 25 mL d'H<sub>2</sub>O additionnel est ajouté. Pour continuer, une solution d'acide sulfurique (7 ml, 126 mmol) dans 30 mL d'H<sub>2</sub>O est ajoutée goutte à goutte

<sup>363</sup> Carboni, B.; Benalil, A.; Vaultier, M., Aliphatic Amino Azides as Key Building Blocks for Efficient Polyamine Synthese. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3736-3741.

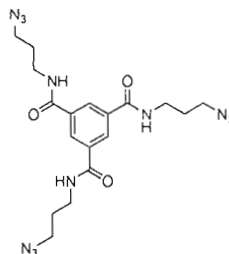
sur une période de 10 minutes et le mélange réactionnel est porté à reflux une autre fois jusqu'à ce que la formation gazeuse cesse. Le ballon est par la suite refroidi dans un bain de glace (5 °C) et le mélange réactionnel est basifié avec une solution de NaOH 3M jusqu'à pH 13 pour être finalement extrait avec du DCM (5x 150 mL). La phase organique est séchée au Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, concentrée et le produit brut est redissous dans 100 mL d'éther éthylique. Une solution de HCl 2M est ajoutée doucement avec une agitation lente pour faire cristalliser le produit hors de la solution. Le solide est enfin filtré et lavé avec une grande quantité d'éther diéthylique. Les traces de solvant sont éliminées par évaporation sous vide pour obtenir sous forme de solide blanchâtre le composé **98** avec un rendement de 73% (19.2 g, 90.4 mmol).  $R_f = 0.25$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 3442, 3022, 2916, 2828, 754; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 9.26$  (sl, 2H, NH), 4.04 (s, 6H, CH<sub>2</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 59.0$  (CH<sub>2</sub>), 44.3 (C<sub>q</sub>); SM-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>3</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 177.98; trouvée : 177.98.

#### Tris(azidométhyl)aminométhane (99)



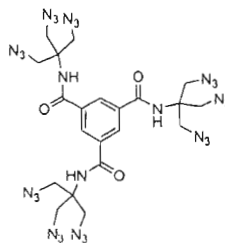
À une solution du composé **98** (4.0 g, 18.7 mmol) dissous dans H<sub>2</sub>O (30 ml) est ajouté du NaN<sub>3</sub> (7.3 g, 9.59 mmol, 6.0 éq.). Le mélange est agité à 80 °C pendant 15 heures. Après la réaction, on ajoute une solution de NaOH (1M) jusqu'à pH 10 et on extrait 4 fois avec AcOEt (4 X 40 mL). Les phases organiques sont séchées sur K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, filtrées et évaporées à sec pour conduire à un résidu jaunâtre qui est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. L'éluant utilisé (hexane/AcOEt 9:1) permet d'isoler le produit **99** pur sous forme d'huile jaune 61% (2.2 mg, 11.4 mmol).  $R_f = 0.35$  (DCM/MeOH 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 3600, 2103 (N<sub>3</sub>) RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 3.25$  (s, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.36 (sl, 2H, NH<sub>2</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 55.7$  (CH<sub>2</sub>), 55.2 (C<sub>q</sub>); SM-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>10</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 197.10 ; trouvée : 197.11.

## Cœur triazoture (101)



Le composé **100** (167 mg, 0.629 mmol, 1.0 éq.) est utilisé selon le *Protocole K* pour obtenir le cluster **101** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 87% (250 mg, 0.548 mmol). pf: 159-161 °C;  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 3022, 3012, 2887, 2107, 1732, 1422, 1282, 921; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.82$  (sl, 3H, NH), 7.33 (s, 3H CH<sub>arom</sub>), 3.48 (m, 6H, NHCH<sub>2</sub>), 3.41 (t, 6H,  $J = 6.4$  Hz, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 1.88 (m, 6H,  $J = 6.4$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 168.4$  (CO), 135.6 (C<sub>arom</sub>), 126.4 (CH<sub>arom</sub>), 49.0 (CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 37.3 (NHCH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); SMHR-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>12</sub>O<sub>3</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 457.2153; trouvée: 457.2167.

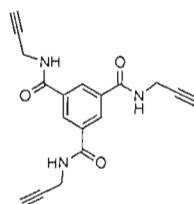
## Cœur nonaazoture (102)



Le composé **100** (167 mg, 0.629 mmol, 1.0 éq.) est utilisé selon le *Protocole K* pour obtenir le cluster **102** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 86% (402 mg, 0.540 mmol). pf: 179-181 °C;  $R_f = 0.36$  (DCM/MeOH 95: 5); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 3432, 3042, 2974, 2864, 2102, 1749, 1433, 1271, 933; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.61$  (sl, 3H, NH), 8.35 (s, 3H, CH<sub>arom</sub>), 3.79 (m, 18H, CH<sub>2</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 166.9$  (CO), 134.6 (C<sub>arom</sub>), 129.7 (CH<sub>arom</sub>), 60.2 (CH<sub>2</sub>), 50.8 (C<sub>q</sub>); SMHR-IES<sup>+</sup>:  $m/z$  calculée pour C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>30</sub>O<sub>3</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 767.2540; trouvée: 767.2533.

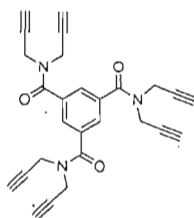
*Attention: En raison du caractère instable et explosif des dérivés polyazotures, des précautions sont à prendre lors de la manipulation de ce type de composé !!*

### Cœur tripropargylé (104)

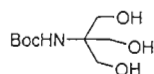


La molécule **100** (167 mg, 0.629 mmol, 1.0 éq.) est utilisée selon le *Protocole K* pour obtenir le cluster **104** sous la forme d'un solide blanchâtre avec un rendement de 43% (86 mg, 0.271 mmol). pf: 116-118 °C;  $R_f = 0.36$  (hexane/AcOEt 8:2); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 9.17$  (t, 3H,  $J = 5.4$  Hz, NH), 8.44 (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 4.09 (m, 6H,  $\text{NHCH}_2$ ), 3.16 (t, 3H,  $J = 2.4$  Hz, CCH); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 165.1$  (CO), 134.4 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.9 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 81.0 (CCH), 73.1 (CCH), 28.7 ( $\text{NHCH}_2$ ); **SM-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 322.12; trouvée : 322.12.

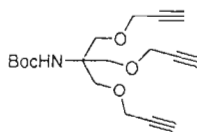
### Cœur hexapropargylé (106)



La molécule **100** (167 mg, 0.629 mmol, 1.0 éq.) est utilisée selon le *Protocole K* pour obtenir le cluster **106** sous la forme d'un solide blanchâtre avec un rendement de 82% (224 mg, 0.271 mmol). pf: 121-123 °C;  $R_f = 0.14$  (DCM/MeOH 98:2); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.81$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 4.30 (sl, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2)$ ), 2.34 (sl, 6H, CCH); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 168.7$  (CO), 135.8 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 127.6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 77.4 (CCH), 73.2 (CCH), 38.4, 34.3 ( $\text{NCH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$**  :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 436.1655; trouvée : 436.1674.

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)tris(hydroxyméthyl)aminométhane (107)**

À une solution de di-*tert*butyldicarbonate (2.35g, 10.7 mmol) dans du *t*-BuOH (10.0 mL) est ajoutée une solution de tris(hydroxyméthyl)aminométhane (1.00 g, 8.20 mmol) dans un mélange 1:1 de MeOH/*t*-BuOH (15.0 mL). Le mélange est agité à température ambiante pendant 18 heures. Le solvant est ensuite évaporé et le résidu est purifié par précipitation dans de l'AcOEt froid. Le produit final est filtré pour obtenir le composé **107** sous forme de solide blanc avec un rendement de 90% (1.64 g, 9.63 mmol 90%). **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ (ppm))**: δ = 5.71 (sl, 1H, NH), 4.37 (t, 3H, *J* = 5.7 Hz, OH), 3.45 (d, 6H, *J* = 5.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.32 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ (ppm))**: δ = 155.7, 78.5, 61.1, 60.9, 28.9.

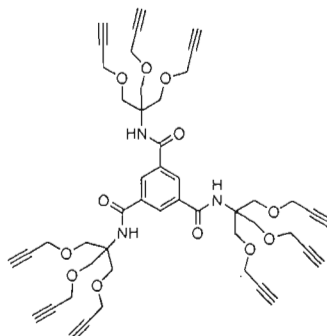
***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)tris[(propargyloxy)méthyl]aminométhane (108)**

À une solution de *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)tris(hydroxyméthyl)aminométhane **107** (500 mg, 2.26 mmol) dans du DMF sec (6.0 mL) est ajouté du bromure de propargyle (1.46 mL, 13.6 mmol). KOH finement pilé (895 mg, 13.5 mmol, 6 éq.) est ensuite ajouté à 0°C sur une période de 15 minutes. Le mélange réactionnel est par la suite agité et chauffé à 35°C sous atmosphère d'azote pendant 24 heures. De l'AcOEt (50 mL) est ajouté au mélange réactionnel qui est lavé avec de l'eau (3x30 mL) puis une solution saturée de NaCl (1x20mL). La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée. Le produit **108** est purifié par chromatographie sur gel de silice. L'éluant utilisé (gradient de hexane/AcOEt 95:5 à 90:10) permet d'isoler le produit pure **108** sous la forme d'une huile jaune avec un rendement 66% (500 mg, 14.2 mmol). *R<sub>f</sub>* = 0.58 (hexane/AcOEt 7:3); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 4.92 (sl, 1H, NH), 4.10 (d, 6H, *J* = 2.4 Hz, OCH<sub>2</sub>CCH), 3.79 (s, 6H, CqCH<sub>2</sub>O), 2.40 (t, 3H, *J* = 2.4 Hz, CCH); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ =



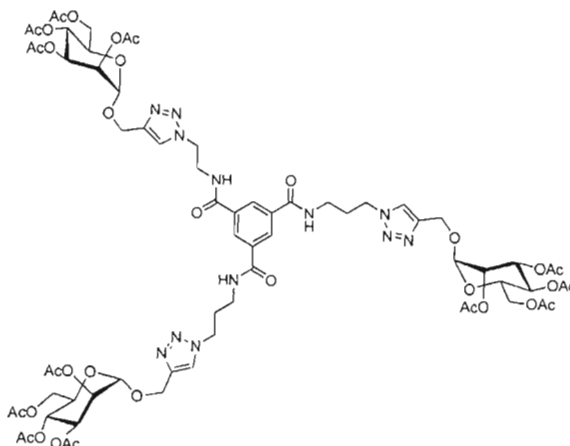
154.7, 79.6, 74.5, 68.9, 58.6, 58.0, 28.3; **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour  $C_{18}H_{25}NO_5$  [ $M + Na$ ]<sup>+</sup>: 358.1624; trouvée: 358.1631.

### Cœur nonapropargylé (109)



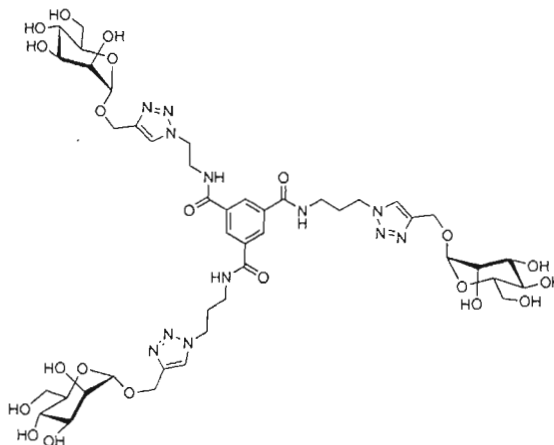
La molécule **100** (31 mg, 0.116 mmol, 1.0 éq.) est utilisée selon le *Protocole K* pour obtenir le cluster **109** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 75% (75 mg, 0.087 mmol).  $R_f = 0.80$  (hexane/AcOEt 8: 2); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ (ppm))**: δ = 8.28 (s, 3H,  $CH_{\text{arom}}$ ), 6.55 (sl, 3H, NH), 4.18 (d, 18H,  $J = 2.4$  Hz,  $CH_2CCH$ ), 3.97 (s, 18H,  $CH_2O$ ), 2.57 (t,  $J = 2.4$  Hz, 18H, CCH); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ (ppm))**: δ = 165.9 (CO), 135.8 ( $C_{\text{arom}}$ ), 128.3 ( $CH_{\text{arom}}$ ), 79.6 (CCH), 75.1 (CCH), 68.3 (CCH<sub>2</sub>O), 60.0 (NHC<sub>q</sub>), 58.7 (OCH<sub>2</sub>CC); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour  $C_{48}H_{51}N_3O_{12}$  [ $M + H$ ]<sup>+</sup>: 862.3545; trouvée : 862.3555.

## Glycocluster trivalent (110)



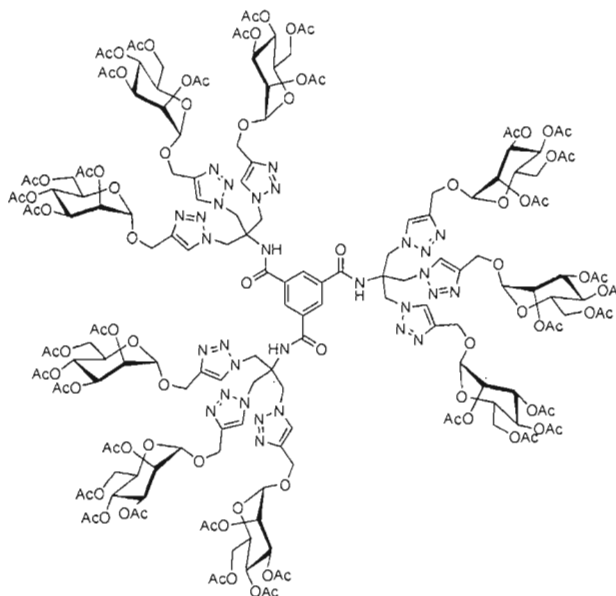
À partir du composé **101** (50 mg, 0.109 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **110** est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore avec un rendement de 79% (138 mg, 0.086 mmol).  $R_f = 0.34$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.27$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.79 (s, 3H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 7.72 (sl, 3H, NH), 5.29-5.19 (m, 9H, H-2, H-3, H-4), 4.92 (s, 3H,  $J = 1.2$  Hz, H-1), 4.77, 4.62 (2 x d, 6H,  $J = 12.0$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.60 (t, 6H,  $J = 6.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 4.27 (dd, 3H,  $J = 5.4$  Hz,  $J = 12.4$  Hz, H-6b), 4.11-4.03 (m, 6H, H-6, H-5), 3.54 (m, 6H,  $\text{NHCH}_2$ ) 2.82 (t, 2H,  $J = 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ) 2.12, 2.10, 2.02, 1.96 (4 x s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 171.0$ , 170.3, 170.2, 169.8, 166.3 (CO), 143.7 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 135.0 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.7 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 124.1 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 96.9 (C-1), 69.5 (C-2), 69.3 (C-5), 68.8 (C-3), 66.1 (C-4), 62.5 (C-6), 60.9 ( $\text{OCH}_2$ ), 48.5 ( $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 37.6 ( $\text{NHCH}_2$ ), 30.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 21.1, 20.9, 20.8 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{68}\text{H}_{88}\text{N}_{12}\text{O}_{33}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 1600.5577; trouvée: 1600.5581.

## Glycocluster déprotégé (111)



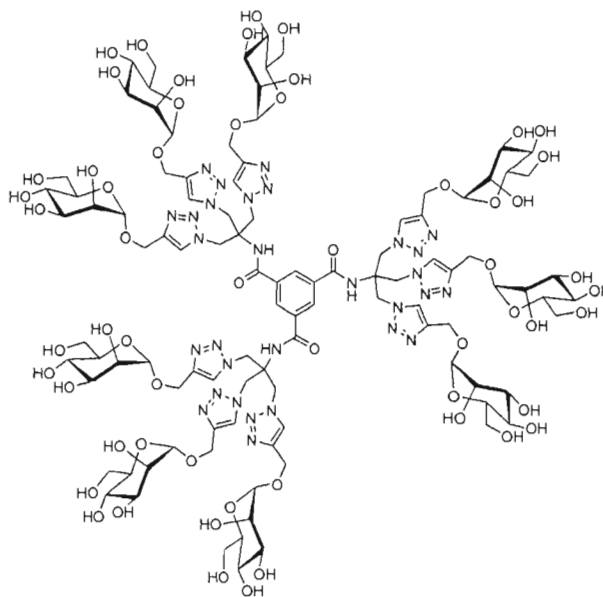
Le composé **110** (100 mg, 0.062 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **94** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 94% (64 mg, 0,059 mmol).  $R_f = 0.50$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.14$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.35 (s, 3H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 4.94-4.48 (m, 45 H, H-1,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 3.66-3.44 (m, 54H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6,  $\text{NHCH}_2$ ), 2.82 (t, 2H,  $J = 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 171.4$ , (CO), 143.7( $\text{C}=\text{CH}$ ), 135.2 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 127.6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 124.5 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 95.4 (C-1), 69.2 (C-2), 68.7 (C-5), 68.2 (C-3), 66.5 (C-4), 62.1 (C-6), 60.5 ( $\text{OCH}_2$ ), 48.8 ( $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 36.4 ( $\text{NHCH}_2$ ), 30.8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{N}_{12}\text{O}_{21}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 1097.4382; trouvée: 1097.4362.

## Glycocluster nonavalent (112)



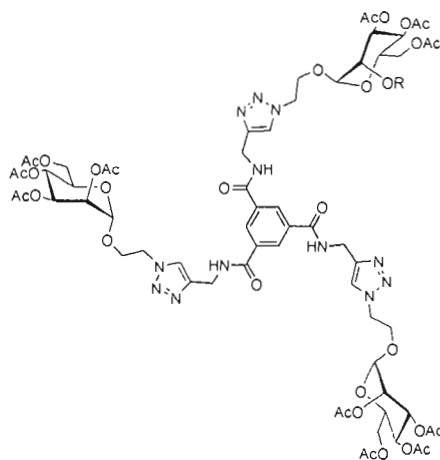
À partir du composé **102** (50 mg, 0.067 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **112** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 81% (229 mg, 0.054 mmol).  
 pf: 141-143 °C;  $R_f = 0.33$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 8.68$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.58 (s, 3H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 7.01 (sl, 3H, NH), 5.27-4.69 (m, 72H, H-1, H-2, H-3, H-4,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 4.21-3.98 (m, 27H, H-5, H-6a,b), 2.11-1.89 (m, 108H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 170.5$ , 169.6, 168.3 (CO), 143.4 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 135.5 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 132.2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 127.4 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 95.5 (C-1), 70.0 (C-2), 68.6 (C-5), 66.0 (C-3), 62.1 (C-4), 60.0 ( $\text{OCH}_2$ ), 48.6 ( $\text{C-CH}_2$ ), 20.9, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{174}\text{H}_{222}\text{N}_{30}\text{O}_{93}$   $[\text{M} + 3\text{H}]^{3+}$ : 1407.4604; trouvée: 1407.4594.

## Glycocluster nonavalent déprotégé (113)



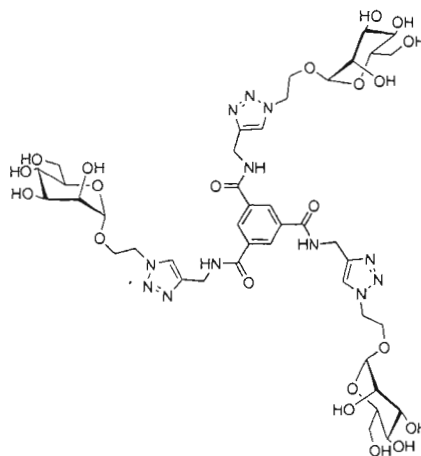
Le composé **112** (100 mg, 0.024 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **113** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 96% (62 mg, 0.023 mmol). **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta$  = 8.22 (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.87 (s, 9H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 4.92-4.54 (m, 45H, H-1,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 3.66-3.44 (m, 54H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta$  = 169.0 (CO), 143.0 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 134.9 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 129.4 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 127.3 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 99.0 (C-1), 72.6 (C-2), 70.1 (C-5), 69.6 (C-3), 66.3 (C-4), 60.6 (C- $\text{CH}_2$ ), 60.0 (C-6), 59.2 ( $\text{OCH}_2$ ), 49.1 (C- $\text{CH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{102}\text{H}_{150}\text{N}_{30}\text{O}_{57}$   $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ : 1354.49534; trouvée: 1354.49762.

## Glyocluster trivalent (114)



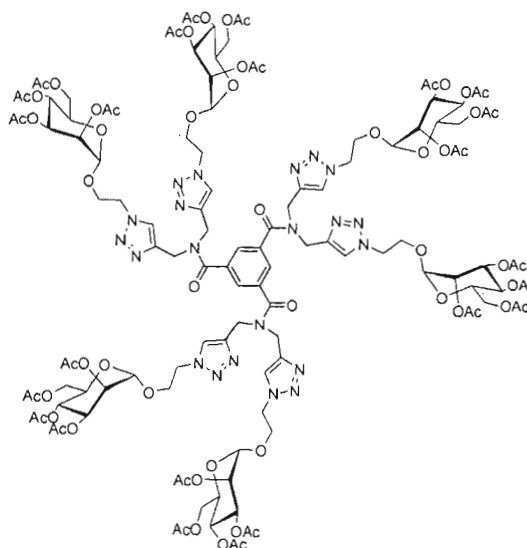
À partir du composé **104** (50 mg, 0.156 mmol) et selon le *Protocole B*, le composé **114** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 56% (137 mg, 0.054 mmol).  $R_f = 0.37$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.21$  (s, 6H, NH,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.74 (s, 3H, C=CH), 5.23-5.17 (m, 9H, H-2, H-3, H-4), 4.81 (s, 3H, H-1), 4.67-4.60 (m, 12H,  $\text{NHCH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 4.21-3.89 (m, 12H,  $\text{OCH}_2$ , H-6), 3.62-3.60 (m, 3H, H-5), 2.10, 2.07, 2.03, 1.95 (4 x s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.7$ , 170.1, 170.0, 169.6, 165.9 (CO), 145.0 (C=CH), 134.5 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.5 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 123.4 (C=CH), 97.3 (C-1), 69.1 (C-2), 68.9 (C-5), 68.8 (C-3), 66.0 (C-4), 65.6 (C-6), 62.2 ( $\text{OCH}_2$ ), 49.6 ( $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 35.5 (NHCH), 20.8, 20.7, 20.6 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{66}\text{H}_{84}\text{N}_{12}\text{O}_{33}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 1595.5156 ; trouvée: 1595.5151.

## Glycocluster trivalent déprotégé (115)



Le composé **112** (100 mg, 0.063 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **115** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 94% (62 mg, 0.023 mmol). **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 8.15 (s, 3H, CH<sub>arom</sub>), 7.89 (s, 3H, C=CH), 4.70 (sl, 3H, H-1), 3.93-3.89 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-N-N), 3.75-3.72 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-N-N), 3.69-3.67 (m, 3H, H-2), 3.51-3.38 (m, 18H, H-3, H-4, H-6 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2.98-2.97 (m, 3H, H-5); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm))**: δ = 168.4 (CO), 144.6 (C=CH), 134.5 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (CH<sub>arom</sub>), 124.7 (C=CH), 99.5 (C-1), 72.8 (C-2), 70.5 (C-5), 69.9 (C-3), 66.4 (C-4), 65.5 (OCH<sub>2</sub>), 60.7 (C-6), 50.1 (CH<sub>2</sub>-N-N), 35.1 (NH-CH<sub>2</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**: *m/z* calculée pour C<sub>42</sub>H<sub>60</sub>N<sub>12</sub>O<sub>21</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 1091.3887; trouvée: 1091.3888.

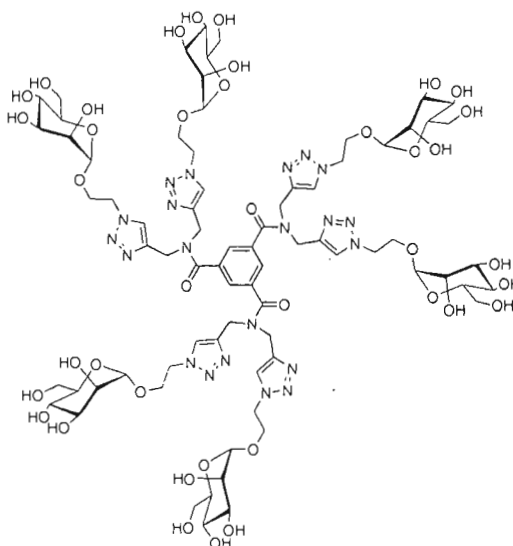
## Glyocluster hexavalent (116)



À partir du composé **106** (50 mg, 0.115 mmol) et selon le *Protocole B*, le composé **116** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 97% (327 mg, 0.111 mmol).  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.00$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.95, 7.88 (2 x s, 6H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 5.26-5.17 (m, 24H, H-2, H-3, H-4), 4.85 (s, 6H, H-1), 4.79-4.55 (m, 36H,  $\text{NCH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{N-N}$ ), 4.26-3.96 (m, 24H,  $\text{OCH}_2$ , H-6), 3.77, 3.6960 (2 x sl, 6H, H-5), 2.10, 2.09, 2.02, 1.94 (4 x s, 72H, ( $\text{COCH}_3$ )) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.5$ , 169.8, 169.6 (CO), 143.5, 142.8 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 136.3 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 127.8 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 124.3 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 97.5 (C-1), 69.0 (C-2), 68.8 (C-5), 66.2 (C-3), 65.5 (C-4), 62.1 (C-6), 49.4 ( $\text{OCH}_2$ ), 43.8 ( $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 39.7 ( $\text{NCH}_2$ ), 20.7, 20.6, 20.6, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{123}\text{H}_{159}\text{N}_{21}\text{O}_{63}$  [ $\text{M} + 2\text{Na}$ ] $^{2+}$ : 1470.0014; trouvée: 1470.0023.

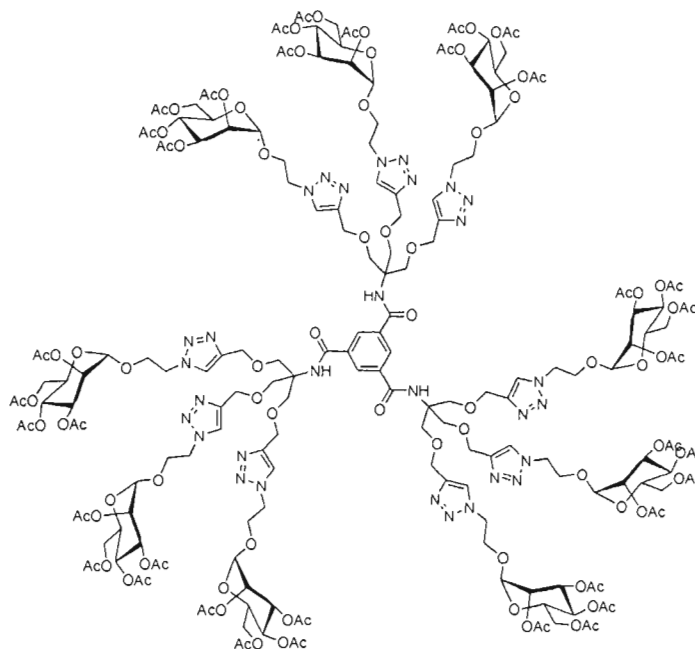


## Glycocluster hexavalent déprotégé (117)



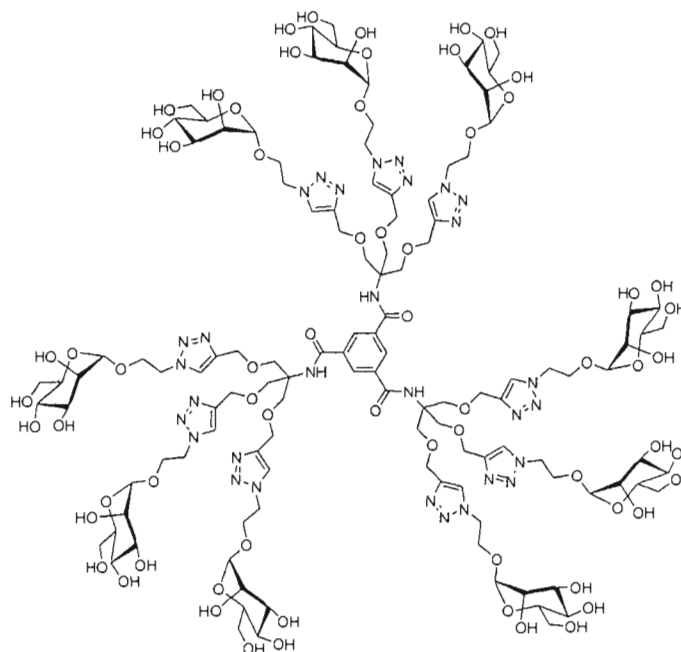
Le composé **116** (100 mg, 0.034 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **117** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 92% (60 mg, 0.023 mmol). **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 7.89 (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.79, 7.72 (2 x s, 6H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 4.74-4.47 (sl, 15H, H-1, N- $\text{CH}_2$ ), 3.93 (m, 6,  $\text{CH}_2\text{N-N}$ ) 3.78-3.68 (m, 12H,  $\text{CH}_2\text{N-N}$ , H-2), 3.59-3.37 (m, 36H, H-3, H-4, H-6  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.98-2.97 (sl, 6H, H-5); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 171.6 (CO), 143.0 142.6 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 135.9 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 127.1 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 125.4 125.1 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 99.6 (C-1), 72.9 (C-2), 70.5 (C-5), 69.9 (C-3), 65.4 (C-4), 60.8 ( $\text{OCH}_2$ ), 50.2 ( $\text{CH}_2\text{-N-N}$ ), 45.0 41.0 ( $\text{NH-CH}_2$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{75}\text{H}_{111}\text{N}_{21}\text{O}_{39}$   $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ : 965.8746; trouvée: 965.8762.

## Glycocluster nonavalent (118)

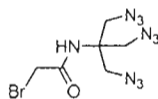


À partir du composé **109** (50 mg, 0.058 mmol) et selon le *Protocole B*, le composé **118** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 73% (194 mg, 0.042 mmol).  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.21$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.71 (s, 12H,  $\text{C}=\text{CH}$ , NH), 5.24-5.12 (m, 27H, H-2, H-3, H-4), 4.76 (s, 9H, H-1), 4.56 (sl, 18H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{C}$ ), 4.15-3.87 (m, 72H,  $\text{CH}_2\text{N}-\text{N}$ ,  $\text{CCH}_2\text{O}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ , H-6), 3.58 (sl, 9H, H-5), 2.04, 2.00, 1.95, 1.89 (4 x s, 108H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.7$ , 170.0, 169.8 (CO), 148.4, 145.0 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 134.7 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.5 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 124.1 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 97.6 (C-1), 69.3, 69.0, 68.9, 66.4, 65.8, 64.7, 62.3, 60.7, 49.7, 29.8, 20.9, 20.8, 20.8 ( $\text{COCH}_3$ ); **SM-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{192}\text{H}_{258}\text{N}_{30}\text{O}_{102}$   $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ : 2308.80; trouvée : 2308.79.

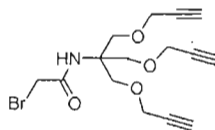
## Glycocluster nonavalent déprotégé (119)



Le composé **118** (100 mg, 0.022 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **119** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 82% (55 mg, 0.018 mmol). **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 7.91$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.89 (s, 9H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 4.73-4.44 (m, 45H, H-1,  $\text{CH}_2\text{N-N}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.92 (m, 18H,  $\text{CCH}_2\text{O}$ ) 3.74-3.41 (m, 63H, H-2, H-3, H-4, H-6,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{C}$ ), 2.89 (m, 9H, H-5); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm)):  $\delta = 167.9$  (CO), 143.6 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 134.7 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.2 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 125.0 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 99.1 (C-1), 72.3, 70.2, 69.4, 66.8, 65.9, 65.0, 63.1, 60.3, 60.2, 49.6, 29.8; **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{120}\text{H}_{186}\text{N}_{30}\text{O}_{66}$   $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ : 1552.6132; trouvée: 1552.6112.

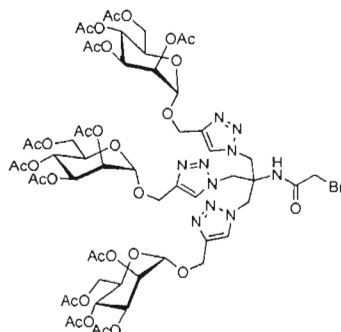
**Composé (121)**

À partir du composé chlorure de bromoacétyle commercial **120** (200 mg, 1.27 mmol, 1.2 équ.) et du dérivé aminé **99** (208 mg, 1.06 mmol, 1.0 équ.) selon le *Protocole K*, le composé **121** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 87% (350 mg, 1.11 mmol). **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 6.62 (sl, 1H, NH), 4.03 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -Br), 3.74 (s, 6H,  $\text{CH}_2$ - $\text{N}_3$ ), **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 166.5, (CO), 59.4, 51.1, 42.4; **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{BrN}_3\text{O}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 317.0206; trouvée: 317.0217.

**Composé (122)**

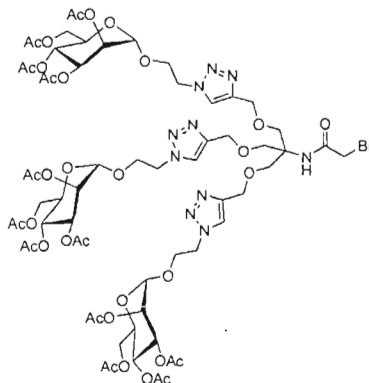
À une solution du composé **108** (300 mg, 0.894 mmol) dans du DCM (5 mL) refroidi à 0°C est ajouté l'acide trifluoacétique (1.43 mL, 19.25 mmol) sur une période de 30 minutes. Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 heures. Le mélange est par la suite concentré sous pression réduite avec des portions de toluène (3 X 10 mL) pour former l'azéotrope. Le résidu obtenu est utilisé sans aucune autre purification dans la prochaine étape. Ce composé intermédiaire est redissous dans du DCM sec (1.5 mL) et la solution est une nouvelle fois refroidie à 0°C. La prochaine étape fait intervenir le *protocole K* avec le chlorure de bromoacétyl **120** (169 mg, 1.07 mmol) pour conduire au composé **122** sous forme de solide blanchâtre avec un rendement de 62% sur deux étapes (197 mg, 0.554 mmol). pf: 35-38 °C ;  $R_f$  = 0.52 (Hexanes/AcOEt 7:3); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 6.82 (sl, 1H, NH), 4.15 (d, 6H,  $J$  = 2.4 Hz,  $\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 3.96 (s, 2H,  $\text{BrCH}_2$ ), 3.85 (s, 6H,  $\text{C}_q\text{CH}_2\text{O}$ ), 2.45 (t, 3H,  $J$  = 2.4 Hz,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 165.7 (CO), 79.3, 74.8, 68.1, 59.5, 58.6, 42.8; **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{BrNO}_4$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 356.0491; trouvée: 356.0501.

### Dendron bromé trivalent (123)



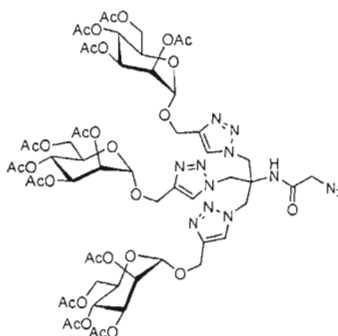
À partir du composé **121** (100 mg, 0.315 mmol) et selon le *Protocole A*, le composé **123** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 83% (387 mg, 0.261 mmol).  $R_f = 0.45$  (DCM/MeOH 95:5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.08$  (sl, 3H, C=CH), 7.36 (s, 1H, NH), 5.27-5.25 (m, 6H, H-3, H-4), 5.12 (s, 3H, H-2), 4.93 (s, 3H, H-1), 4.86-4.80 (m, 9H,  $\text{C}_q\text{CH}_2$ ,  $\text{OCH}_2$ ), 4.65 (d,  $J = 12.2$  Hz 3H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.25 (dd,  $J = 12.3$  Hz,  $J = 5.1$  Hz, 3H, H-6), 4.11-3.99 (m, 8H, H-5, H-6,  $\text{BrCH}_2$ ), 2.08, 2.06, 1.99, 1.92 (4 x s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.5$ , 170.0, 169.7, 169.5, 168.4 (CO), 143.4 (C=CH), 126.2 (C=CH), 99.9 (C-1), 69.4, 69.2, 68.8, 68.7, 65.9, 62.3, 60.6, 59.5, 49.1, 42.5, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{57}\text{H}_{75}\text{BrN}_{10}\text{O}_{31}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 1475.3892; trouvée: 1475.3855.

### Dendron bromé trivalent (124)



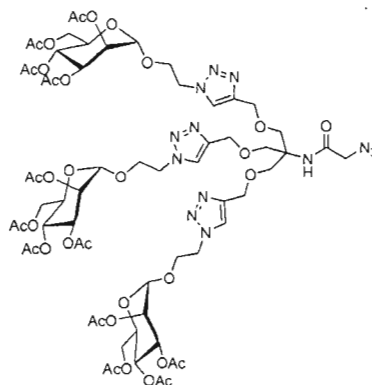
À partir du composé **122** (100 mg, 0.280 mmol) et selon le *Protocole B*, le composé **124** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 94% (424 mg, 0.263 mmol).  $R_f = 0.45$  (DCM/MeOH 95: 5); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.68$  (sl, 3H, C=CH), 6.89 (s, 1H, NH), 5.23-5.18 (m, 8H, H-2, H-3, H-4), 4.80 (s, 3H, H-1), 4.79-4.58 (m, 12H, ,  $\text{OCH}_2\text{C-C}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 4.22-3.77 (m, 8H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ , H-6,  $\text{BrCH}_2$ ), 3.76-3.58 (m, 6H,  $\text{C}_q\text{CH}_2$ ), 2.12, 2.07, 2.02, 1.97 (4 x s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.5, 170.0, 169.7, 169.5, 168.4$  (CO), 143.4 (C=CH), 126.2 (C=CH), 99.9 (C-1), 69.4, 69.2, 68.8, 68.7, 65.9, 62.3, 60.6, 59.5, 49.1, 42.5, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ) ; **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{63}\text{H}_{87}\text{BrN}_{10}\text{O}_{34}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 1607.46423; trouvée: 1607.46204.

## Dendron azoture trivalent (125)



À une solution du dendron **123** (300 mg, 0.203 mmol) dissous dans le DMF (4 mL) est ajouté l'azoture de sodium (20 mg, 0.304 mmol, 1.5 éq.). Le mélange est agité à température ambiante pendant 24 heures. En fin de réaction, on verse le mélange dans de l'eau (40 mL) et on extrait 4 fois avec de l'AcOEt. Par la suite, on lave la phase organique 2 fois avec de l'eau et du NaCl saturé. La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et évaporée pour donner un résidu huileux qui est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. L'éluant utilisé (DCM/MeOH 97:3) permet d'isoler un solide blanc pur avec un rendement de 95 % (277 mg, 0.193 mmol).  $R_f = 0.44$  (DCM/MeOH, 95:5); IR (NaCl,  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )): 2962, 2875, 2107 ( $\text{N}_3$ ), 1745, 1464, 1270, 1116; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 8.10$  (sl, 3H, C=CH), 7.13 (s, 1H, NH), 5.27-5.23 (m, 6H, H-3, H-4), 5.10 (sl, 3H, H-2), 4.92 (d, 3H,  $J = 1.3$  Hz, H-1), 4.83 (d,  $J = 12.2$  Hz 3H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.78 (sl, 6H,  $\text{C}_q\text{CH}_2$ ). 4.66 (d,  $J = 12.2$  Hz 3H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.25 (dd,  $J = 12.3$  Hz,  $J = 5.1$  Hz, 3H, H-6), 4.10-4.03 (m, 6H, H-5, H-6), 3.91 (s, 2H,  $\text{N}_3\text{CH}_2$ ) 2.07, 2.06, 1.99, 1.92 (4 x s, 36H,  $\text{COCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.5, 170.0, 169.7, 169.5, 168.4$  (CO), 143.4 (C=CH), 126.2 (C=CH), 99.9 (C-1), 69.4, 69.2, 68.8, 68.7, 65.9, 62.3, 60.6, 59.5, 49.1, 42.5, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ); **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{57}\text{H}_{75}\text{N}_{13}\text{O}_{31}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 1438.4764; trouvée: 1438.4792.

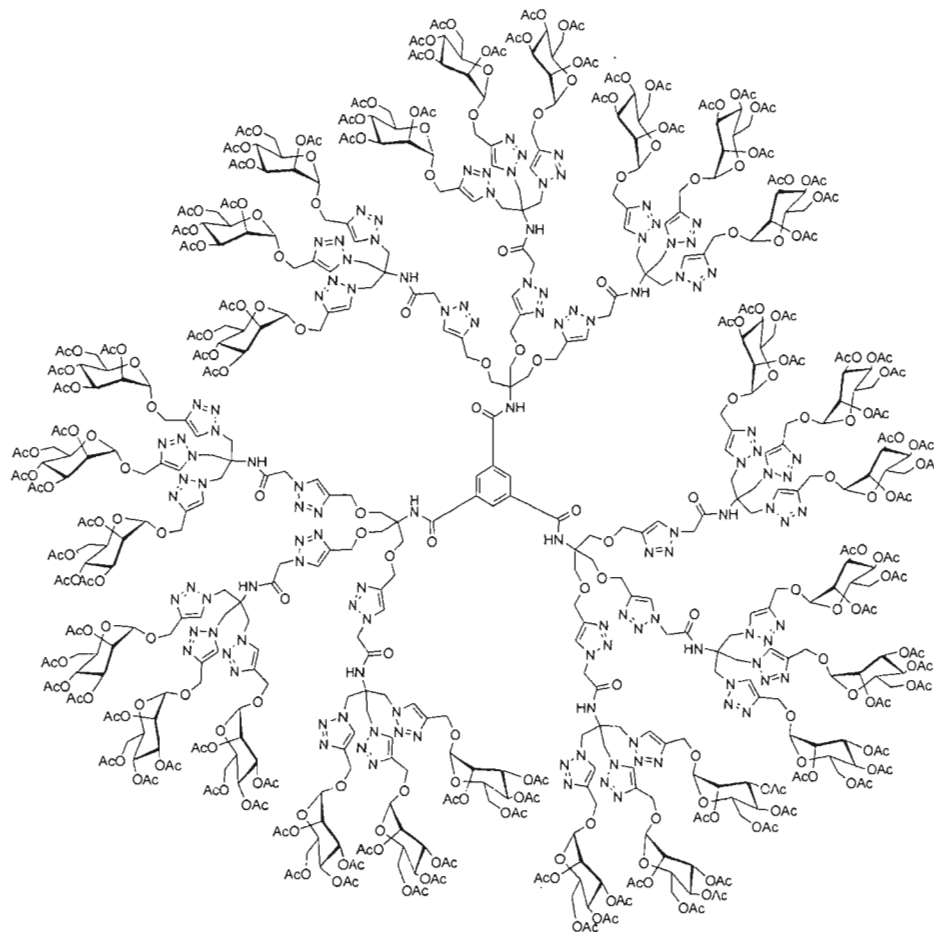
## Dendron azoture trivalent (126)



À une solution du dendron **124** (300 mg, 0.186 mmol) dissous dans le DMF (4 mL) est ajouté l'azoture de sodium (18 mg, 0.279 mmol, 1.5 éq.) et le mélange est agité à température ambiante pendant 24 heures. En fin de réaction, on verse le mélange dans de l'eau (40 mL) et on extrait 4 fois avec de l'AcOEt. Par la suite, on lave la phase organique 2 fois avec de l'eau et une solution aqueuse de NaCl saturé. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporée pour donner un résidu huileux qui est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. L'éluant utilisé (DCM/MeOH 97:3) permet d'isoler le produit désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 97 % (284 mg, 0.180 mmol).  $R_f = 0.44$  (DCM/MeOH, 95 : 5); IR (NaCl,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 2934, 2838, 2107 (N<sub>3</sub>), 1734, 1559, 1218, 1044; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.68$  (sl, 3H, C=CH), 6.69 (s, 1H, NH), 5.23-5.18 (m, 8H, H-2, H-3, H-4), 4.80 (s, 3H, H-1), 4.79-4.58 (m, 12H, OCH<sub>2</sub>C-C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.22-3.77 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, H-6, BrCH<sub>2</sub>), 3.76-3.58 (m, 6H, C<sub>q</sub>CH<sub>2</sub>), 2.12, 2.07, 2.02, 1.97 (4 x s, 36H. COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 170.5, 170.0, 169.7, 169.5, 168.4$  (CO), 143.4 (C=CH), 126.2 (C=CH), 99.9 (C-1), 69.4, 69.2, 68.8, 68.7, 65.9, 62.3, 60.6, 59.5, 49.1, 42.5, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 (COCH<sub>3</sub>); **SMHR-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>63</sub>H<sub>87</sub>N<sub>13</sub>O<sub>34</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 1592.5371; trouvée: 1592.5366.



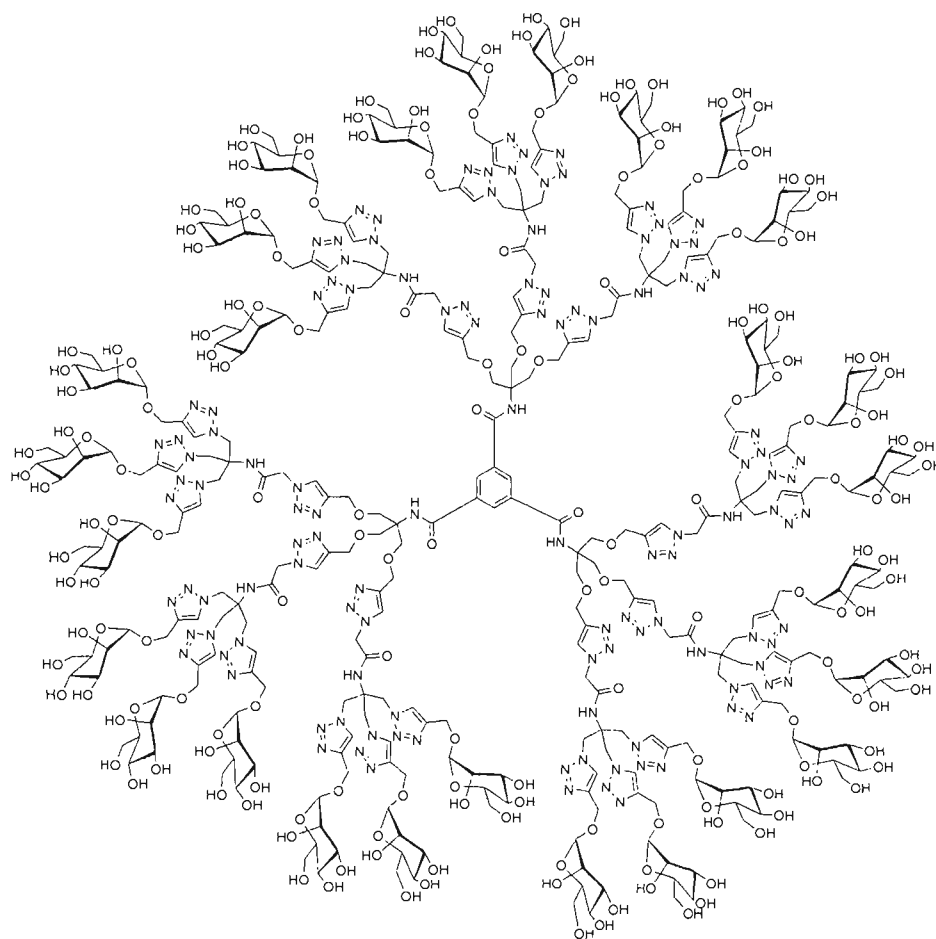
## Mannodendrimère G(1) (127)



Le cœur nonapropargylé **109** (7.4 mg, 0.008 mmol) ainsi que le dendron azote **125** (139 mg, 0.096 mmol, 11.25 éq.) sont dissous dans 1.5 mL de THF. À cette solution est ajouté 1.5 mL d'H<sub>2</sub>O nanopure puis du CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (6.0 mg, 0.023 mmol, 2.7 éq.) et de l'ascorbate de sodium (5 mg, 0.023 mmol, 2.7 éq.). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à 50°C durant 3 heures puis à température ambiante pendant 72 heures supplémentaires. La réaction est diluée dans 10 mL d'AcOEt, puis lavée successivement avec des solutions aqueuses saturées de NH<sub>4</sub>Cl (2 X 5 mL) et de NaCl. Après séchage sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtration et évaporation des phases organiques, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 à 95:5, v/v) conduisant au composé **128** désiré sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 76% (90 mg, 0.006 mmol).  $R_f = 0.52$  (DCM/MeOH 90:10); RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm)): δ = 8.24 (sl, 27H, C=CH(G1)), 8.0 (sl, 9H,

C=CH(G0)), 7.25 (sl, 12H, NH), 5.37-4.60 (m, 180H, H1, H-2, H-3, H4, OCH<sub>2</sub>-C=C G(1), CO-CH<sub>2</sub>-N-N, OCH<sub>2</sub>-C=C G(0)), 4.37-3.85 (m, 153H, H-5, H-6, C-CH<sub>2</sub>-O, C-CH<sub>2</sub>-N-N), 2.13, 2.10, 2.02, 1.96 (4 x s, 324H, COCH<sub>3</sub>); **RMN** <sup>13</sup>C (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm)): δ = 170.6, 169.9, 169.5 (CO), 168.0, 166.6 (CO-NH), 144.8 (C=CH G0), 142.8(C=CH G1), 135.6 (C<sub>arom</sub>), 128.8 (CH<sub>arom</sub>), 127.0 (C=CH G1), 125.1(C=CH G0), 96.6 (C-1), 77.3, 69.2, 69.0, 68.6, 65.7, 64.5, 62.2, 60.8, 60.2, 60.1, 52.3, 48.9, 20.7, 20.7, 20.6 (COCH<sub>3</sub>); **SM-IES**<sup>+</sup>: *m/z* calculée pour C<sub>361</sub>H<sub>726</sub>N<sub>120</sub>O<sub>291</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 13806.39; trouvée: 13806.34.

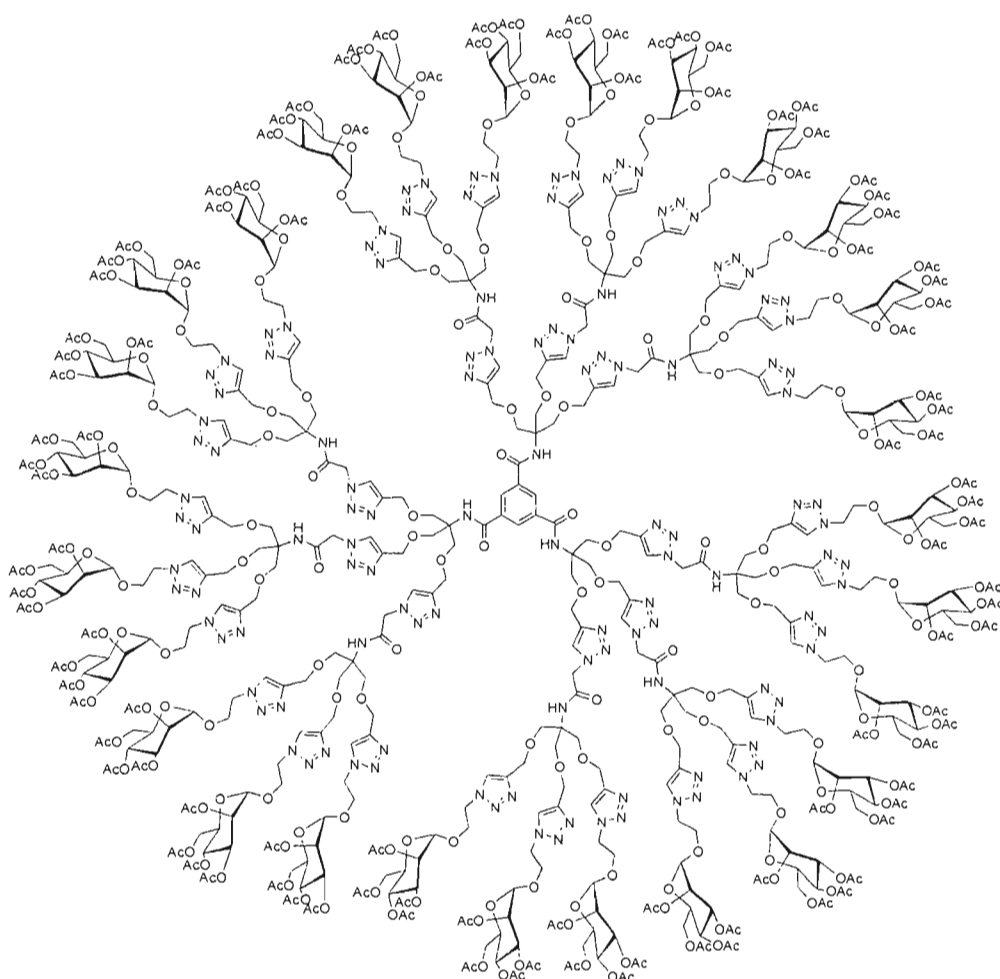
### Mannodendrimère déprotégé G(1) (128)



Le composé **127** (75 mg, 0.005 mmol) a été dé-O-acétylé selon le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **128** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 88% (44 mg, 0.004 mmol). *R<sub>f</sub>* = 0.43 (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 7:3); **RMN** <sup>1</sup>H (600 MHz, D<sub>2</sub>O, δ (ppm)): δ

= 8.07 (s, 3H,  $NH_{\text{arom}}$ ), 8.00 (sl, 36H,  $C=CH(G1)$ ,  $NH$ ), 7.88 (sl, 9H,  $C=CH(G0)$ ), 4.95 (sl, 27H, H-1), 4.75-4.48 (m, 90H,  $OCH_2-C=C(G1)$ ,  $CO-CH_2-N-N$ ,  $OCH_2-C=C(G0)$ ), 3.72-3.45 (m, 234H, H-2, H-3, H4, H-5, H-6,  $C-CH_2-O$ ,  $C-CH_2-N-N$ ); **RMN  $^{13}C$  (150 MHz,  $D_2O$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta$  = 167.5 (CO), 143.6( $C=CH(G0)$ ), 142.6( $C=CH(G1)$ ), 134.6 ( $C_{\text{arom}}$ ), 128.3 ( $CH_{\text{arom}}$ ), 126.5 ( $C=CH(G1)$ ), 125.6 ( $C=CH(G0)$ ), 98.6 (C-1), 72.2, 69.8, 69.2, 67.2, 66.0, 63.0, 60.2, 59.2, 58.8, 51.5, 48.5; **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $C_{345}H_{510}N_{120}O_{183}$  [ $M + 4H$ ] $^{4+}$ : 2317.3672; trouvée: 2317.3617.

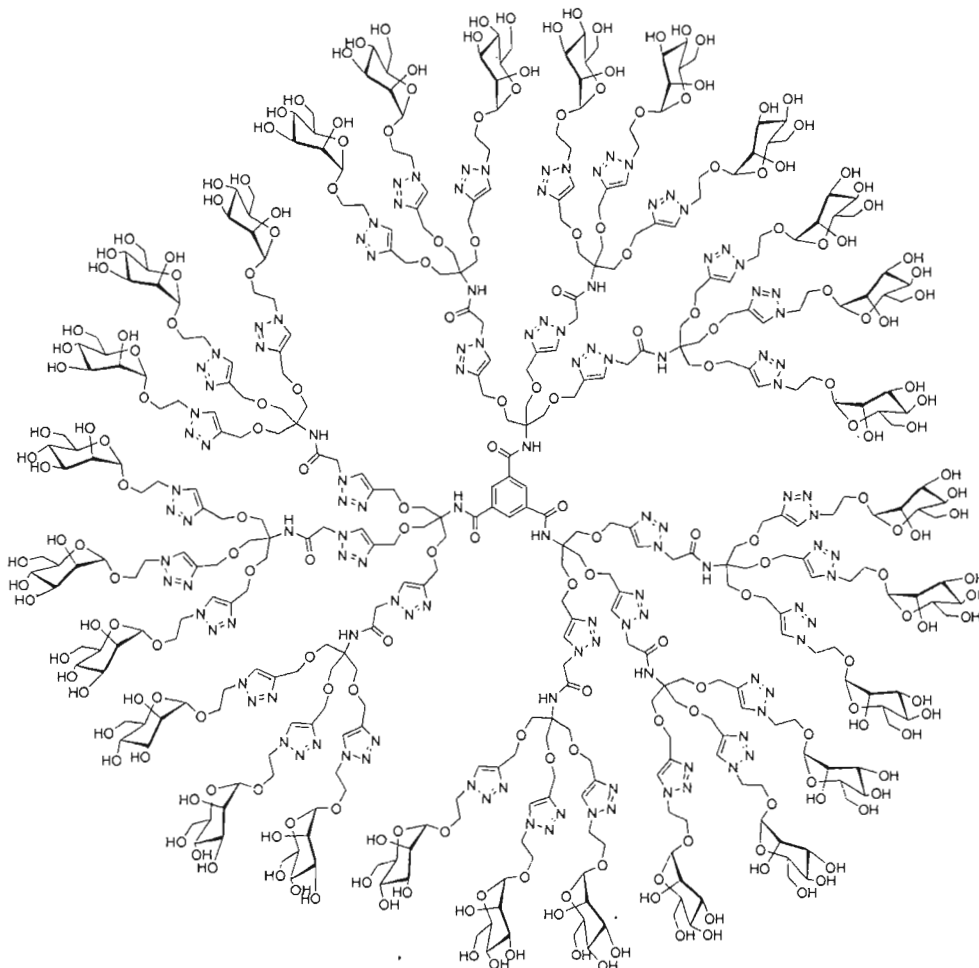
### Mannodendrimère G(1) (129)



Le cœur nonapropargylé **109** (7.4 mg, 0.008 mmol) ainsi que le dendron azoture **126** (152 mg, 0.096 mmol, 11.25 éq.) sont dissous dans 1.5 mL de THF. À cette solution est

ajouté 1.5 mL d'H<sub>2</sub>O nanopure puis du CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (6.0 mg, 0.023 mmol, 2.7 éq.) et de l'ascorbate de sodium (5 mg, 0.023 mmol, 2.7 éq.). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à 50°C durant 3 heures puis à température ambiante pendant 72 heures supplémentaires. La réaction est diluée dans 10 mL d'AcOEt, puis lavée successivement avec des solutions aqueuses saturées de NH<sub>4</sub>Cl (2 X 5 mL) et de NaCl. Après séchage sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtration et évaporation des phases organiques, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 à 95:5, v/v) conduisant au composé **129** désiré sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 63% (81 mg, 0.005 mmol).  $R_f = 0.50$  (DCM/MeOH 90:10); **RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 7.71-7.67 (m, 30H, C=CH-G1, CH<sub>arom</sub>), 7.24-7.20 (m, 21H, C=CH-G0, NH), 5.15-5.11 (m, 72H, COCH<sub>2</sub>N-N, H-3, H-4), 4.98 (s, 27H, H-2), 4.74 (s, 27H, H-1), 4.54-4.45 (m, 136H, OCH<sub>2</sub>-C=CG0, OCH<sub>2</sub>C=CG1, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-N) 4.12-3.57 (m, 153H, C<sub>q</sub>CH<sub>2</sub>, H-5, H-6), 2.02, 1.99, 1.93, 1.88 (4 x s 324H, COCH<sub>3</sub>); **RMN <sup>13</sup>C (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ (ppm))**: δ = 170.5, 169.9, 169.8, 169.6 (CO), 168.5, 165.4 (CO-NH), 144.7 (C=CH G1), 144.5 (C=CH G0), 135.5 (C<sub>arom</sub>), 128.2 (CH<sub>arom</sub>), 124.9 (C=CH G0), 123.9 (C=CH G1) 97.4 (C-1), 69.0, 68.9, 68.7, 68.4, 66.2, 65.7, 64.4, 62.1, 60.4, 49.5, 29.6, 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 (COCH<sub>3</sub>) 167.5, 143.6, 142.6, 134.6, 128.3, 126.5, 125.6 (C=CH G0); **SM-IES<sup>+</sup>**:  $m/z$  calculée pour C<sub>615</sub>H<sub>834</sub>N<sub>120</sub>O<sub>318</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 14995.81; trouvée: 14995.87.

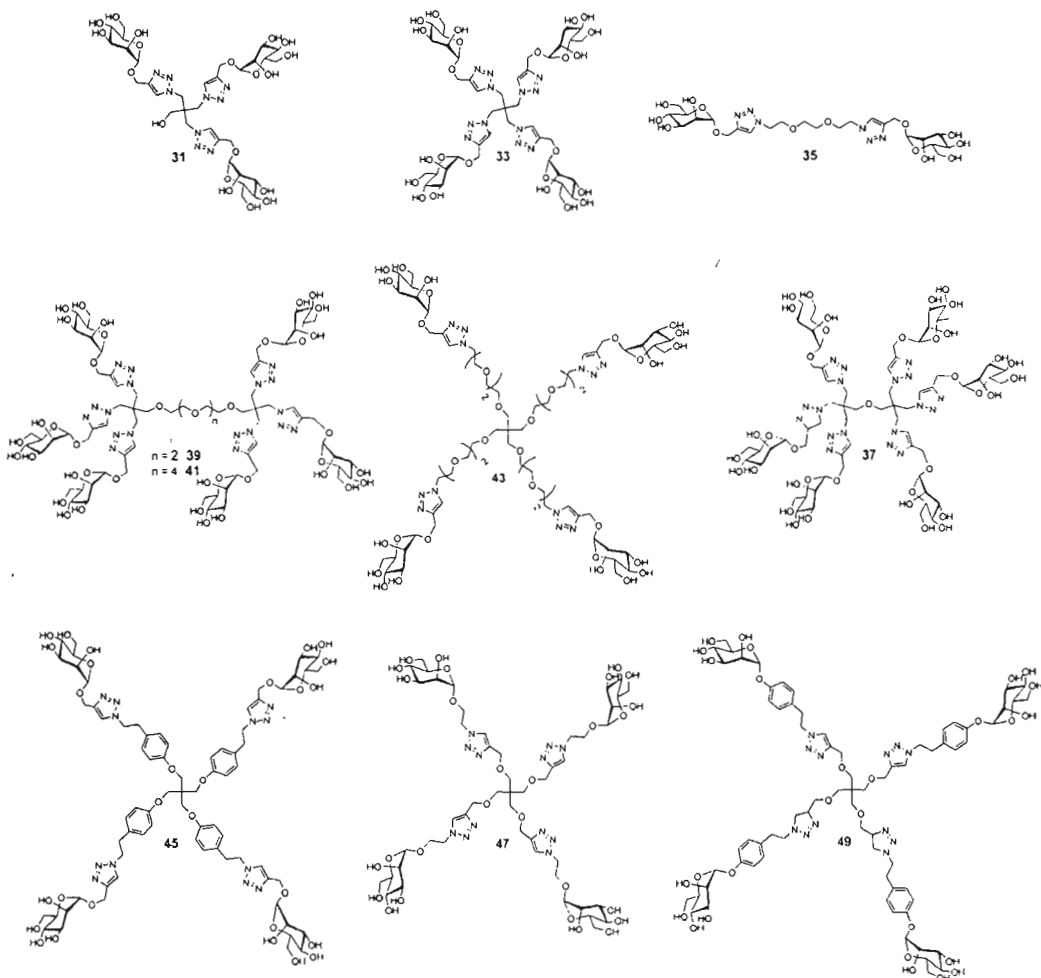
## Mannodendrimère G1(130)



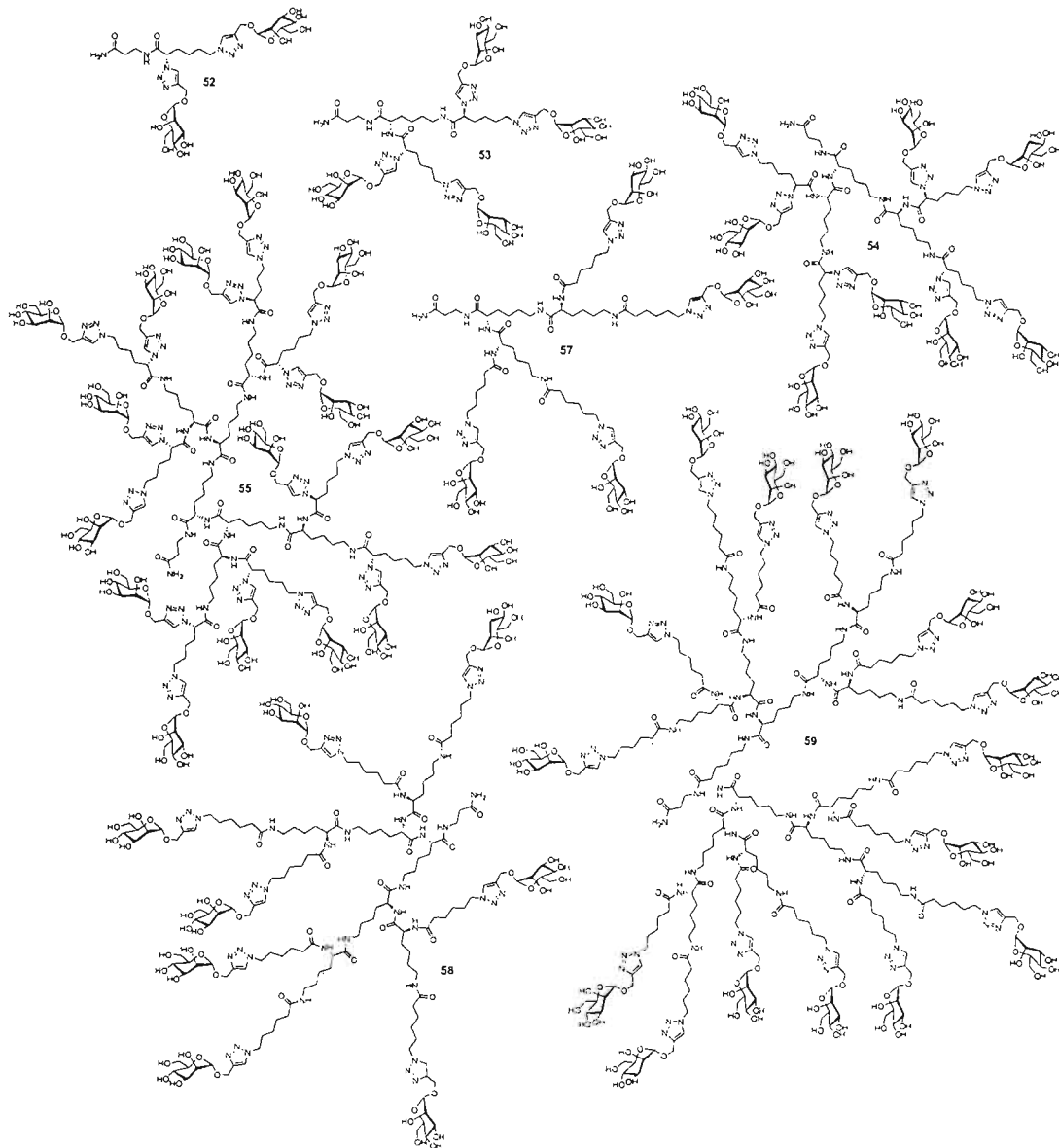
Le composé **129** (75 mg, 0.005 mmol) a été dé-O-acétylé avec le *Protocole H* pour conduire au mannodendrimère **130** sous forme de poudre blanche avec un rendement de 84% (44 mg, 0.004 mmol).  $R_f = 0.43$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  7:3); **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 7.91$  (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 7.82-780 (m, 36H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 4.99 (s, 24H, H-1), 4.63-4.36 (m, 126H,  $\text{OCH}_2\text{-C}=\text{CG}0$ ,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{CG}1$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$  N-N,  $\text{COCH}_2\text{N-N}$ ), 3.88 (sl, 18H,  $\text{C}_q\text{CH}_2$ ), 3.70-3.67 (m, 54H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.55-3.43 (m, 162H, H-2 H-3, H-4, H6), 2.89 (sl, 27H, H-5); **RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm))**:  $\delta = 166.0$  (CO), 143.3, 143.2 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 135.8 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.6 ( $\text{CH}_{\text{arom}}$ ), 125.6, 124.6 ( $\text{C}=\text{CH}$ ), 98.8 (C-1), 72.0, 69.7, 69.1, 66.5, 65.6, 64.6, 62.7, 59.9, 59.6, 51.6, 49.3; **SMHR-IES $^+$** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{343}\text{H}_{510}\text{N}_{120}\text{O}_{183}$  [ $\text{M} + 7\text{H}$ ] $^{7+}$ : 1494.6002; trouvée: 1494.5951.

## ANNEXES

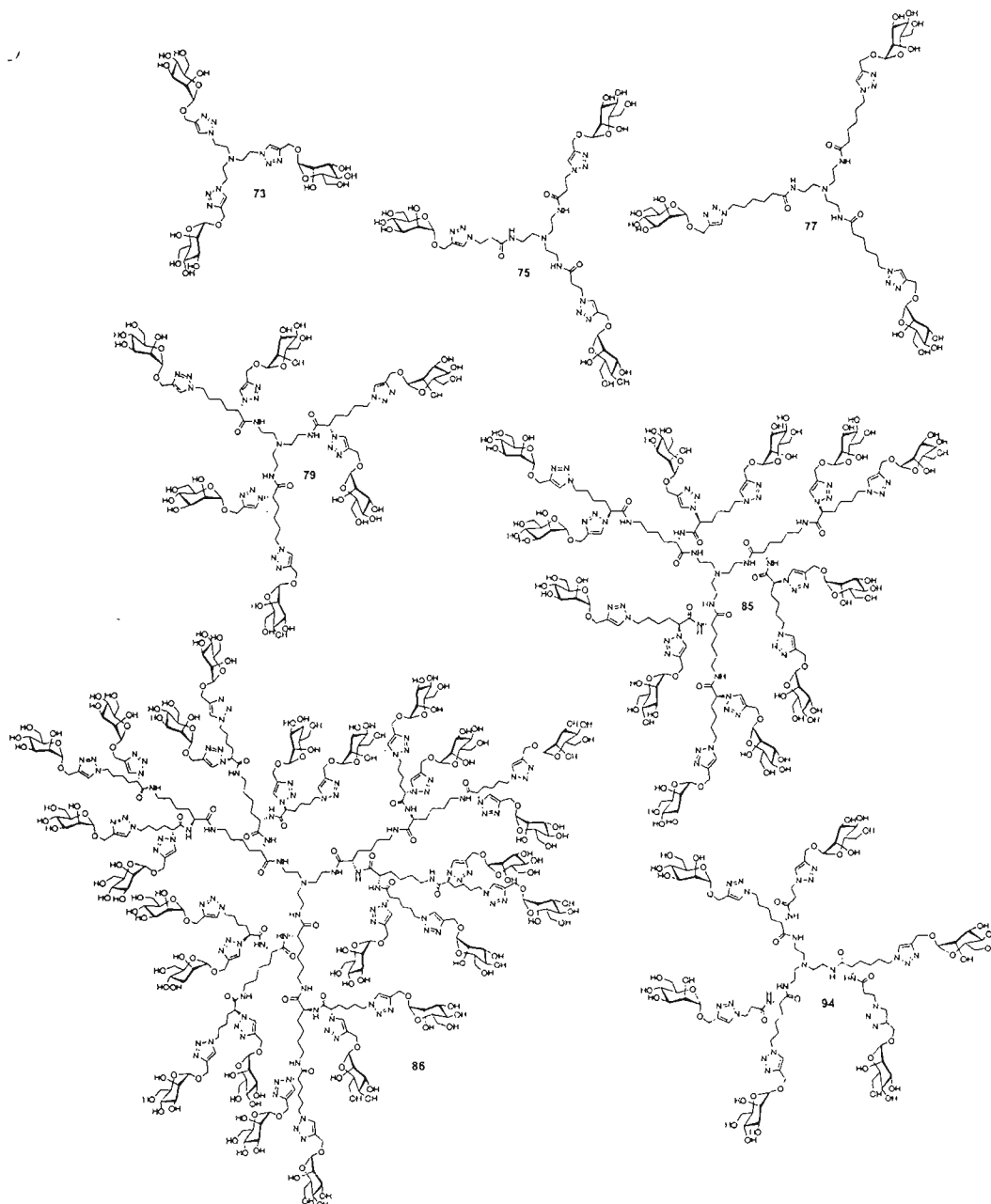
### Structures multivalentes mannosylées construites autour de dérivés du pentaérythritol (Chapitre II)



Structures multivalentes poly-L-lysine mannosylées synthétisées en SPPS  
(Chapitre III)

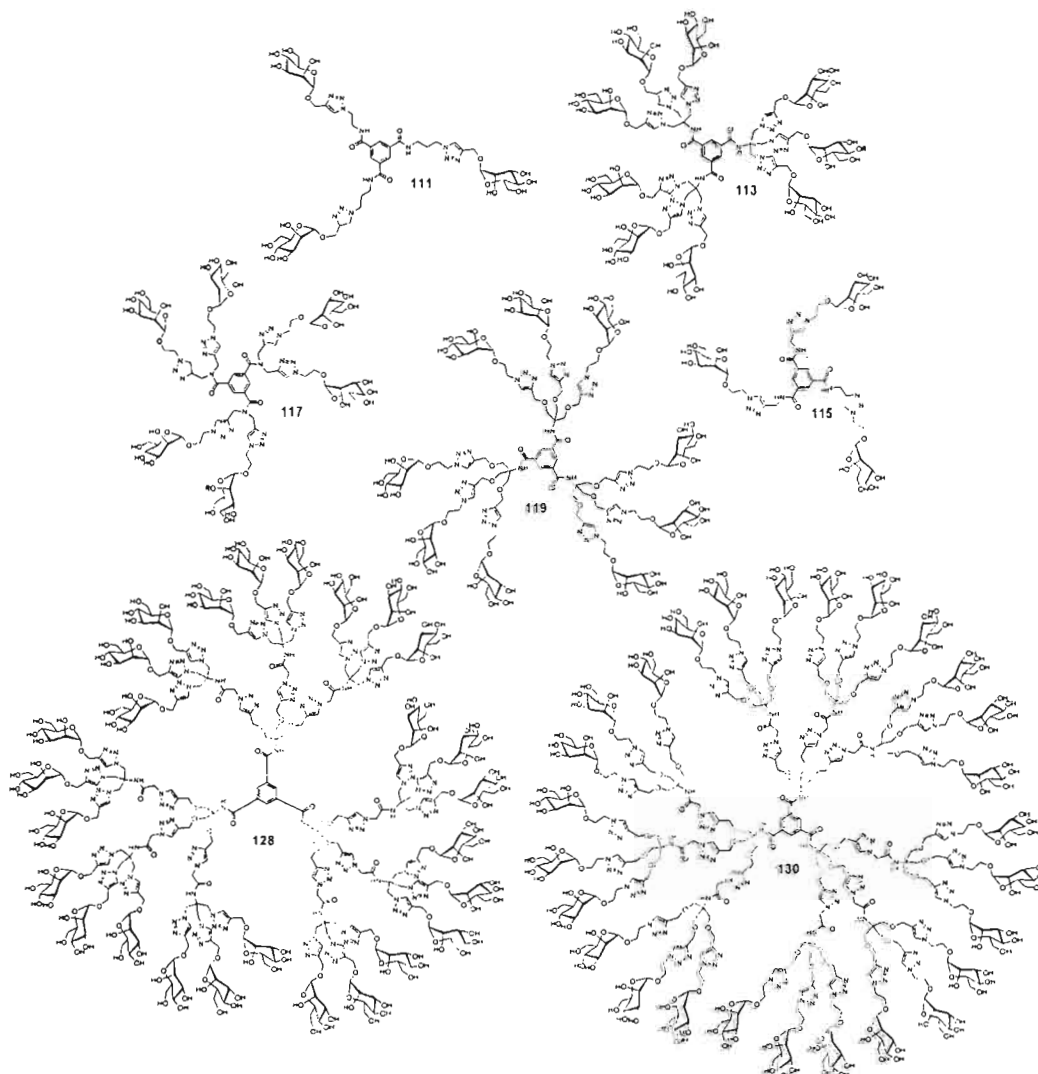


Structures multivalentes poly-L-lysine mannosylées synthétisées en phase homogène  
(Chapitre IV)





Structures multivalentes mannosylées synthétisées autour du cœur trimésique  
(Chapitre V)



Structures mannosylées monovalentes utilisées pour les tests biologiques  
(Chapitre VI)

