



**HAL**  
open science

# Synthèse et étude physico-chimique de nouveaux tensioactifs utilisables pour la cristallisation 2D sur film lipidique et l'étude des protéines membranaires

Julien Dauvergne

► **To cite this version:**

Julien Dauvergne. Synthèse et étude physico-chimique de nouveaux tensioactifs utilisables pour la cristallisation 2D sur film lipidique et l'étude des protéines membranaires. Autre. Université d'Avignon, 2010. Français. NNT: 2010AVIG0233 . tel-00496704

**HAL Id: tel-00496704**

**<https://theses.hal.science/tel-00496704>**

Submitted on 1 Jul 2010

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Académie d'Aix-Marseille  
Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

# THESE

présentée à l'Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse  
pour obtenir le diplôme de **DOCTORAT**

SPECIALITE : CHIMIE ORGANIQUE

Ecole Doctorale 250 « Sciences chimiques »  
Laboratoire de Chimie Bio-Organique et des Systèmes Moléculaires Vectoriels (EA 932)

**Synthèse et étude physico-chimique de nouveaux tensioactifs  
utilisables pour la cristallisation 2D sur film lipidique et l'étude  
des protéines membranaires.**

par

**DAUVERGNE Julien**

soutenue le 19 mai 2010 devant le jury composé de :

Chantal LARPENT	Professeur, Université de Versailles, ECHO	Rapporteur
Jean MARTINEZ	Directeur de recherche CNRS, Université de Montpellier 2, IBMM	Rapporteur
Françoise BONNETE	Chargée de recherche CNRS, CINAM Université de la Méditerranée	Examineur
Jean-Jacques BENATTAR	Ingénieur CEA Saclay, DSM-DRECAM	Examineur
Ange POLIDORI	Professeur, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse	Co-Directeur de Thèse
Bernard PUCCI	Professeur, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse	Directeur de Thèse

*À mes parents,*

*à Olivia d'être à mes côtés, pour son amour et son  
soutien de tous les jours,*

# REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Chimie Bio-Organique et des Systèmes moléculaires vectoriels de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse dirigé par le Professeur Bernard PUCCI.

Tout d'abord, je tiens à remercier très sincèrement les membres du jury :

Madame Chantal LARPENT, Professeur à l'université de Versailles, Monsieur Jean MARTINEZ, Directeur de recherche CNRS de l'IBMM à l'université de Montpellier 2, Françoise BONNETE, Chargée de recherche au CINAM-CNRS à l'université de la Méditerranée, Jean-Jacques Benattar, ingénieur au CEA Saclay de m'avoir fait l'honneur de juger mon travail.

Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude à Monsieur le professeur Bernard PUCCI de m'avoir donné l'opportunité de faire cette thèse dans son laboratoire et d'y avoir acquis une formation pluridisciplinaire solide sur ce sujet passionnant dédié à l'étude des protéines membranaires. Je le remercie également de m'avoir fait partager sa longue expérience dans ce domaine et son savoir scientifique. Je lui suis reconnaissant aussi pour sa disponibilité et ses précieux conseils durant mes trois années de thèse.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur Ange POLIDORI de m'avoir encadré durant ces trois années de thèse. Je le remercie particulièrement pour toute l'étendue de son savoir qu'il a su me transmettre durant cette période ainsi que d'avoir initié un nouveau projet durant ma thèse. Je lui suis reconnaissant de son soutien et de sa présence dans les moments difficiles. Je le remercie également pour son investissement et ses précieux conseils lors de la rédaction de ce manuscrit.

Je souhaite également remercier Catherine Vénien-Bryan du laboratoire de Biophysique Moléculaire à l'Université d'Oxford pour sa collaboration et l'intérêt qu'elle a porté à ce travail pour les essais de cristallisation 2D et les analyses par microscopie électronique.

Je tiens à remercier également :

Madame Christine CONTINO-PEPIN, pour sa gentillesse et son attention touchante qu'elle m'a faite lorsque je me suis blessé au doigt durant ma première année.

Monsieur Grégory DURAND, pour son écoute et ses encouragements dans les moments difficiles mais surtout pour sa bonne humeur et les discussions agréables que j'ai pu partager avec lui.

Madame Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER, pour son aide et ses conseils sur les appareils de la salle analytique, sa gentillesse, sans oublier évidemment ses bons gâteaux.

Monsieur Frédéric LEGRAND, un post-doctorant de passage devenu un pote, pour son amitié, sa sympathie et ses encouragements, sans qui ce manuscrit n'existerait peut être pas.

Mademoiselle Audrey PARAT, une voisine de paillasse agréable et délirante, pour sa joie de vivre, ses conseils et son amitié.

Monsieur Simon RAYNAL, un technicien fort sympathique (quoiqu'un peu raleur!), pour son ouverture d'esprit et les matchs de tennis joués ensemble.

Monsieur Shivaji SHARMA, un grand homme très attachant, pour sa gentillesse et sa disponibilité mais aussi pour m'avoir fait progresser mon anglais.

Madame Carole MATHE et Monsieur Guillaume CUOCO, les chimistes de l'équipe de l'art, pour leur sympathie et leur gentillesse.

Fanny CHOTEAU et Cindy PATINOTE, les pipelettes du labo, pour les moments sympas partagés avec elles.

Enfin, je remercie l'ensemble du personnel du LCBOSMV (anciens et présents) et toutes les personnes que j'ai pu oublier pour les bons moments passés avec eux.

Bien sur, je n'oublie pas ma famille, mon frère et mes parents, de leur soutien mais aussi Olivia d'être toujours là et de m'avoir supporté!

# ABREVIATIONS UTILISEES

PGCR :	Protéine G Couplé à un Récepteur
CMC :	Concentration Micellaire Critique
PEG :	PolyEthylène Glycol
CCS :	Concentration Critique de Solubilisation
SDS :	Sodium DodécylSulfate
OG :	OctylGlucoside
DDM :	DoDécylMaltoside
RMN :	Résonnance Magnétique Nucléaire
THAM :	TrisHydroxyméthyl AminoMéthane
CHAPS :	3-[(3-CHolAmidopropyl)dimethylammonio]-1-PropaneSulfonate
CHAPSO :	3-[(3-CHolAmidopropyl)dimethylammonio]-2-hydrOxy-1-PropaneSulfonate
MET :	Microscopie Electronique à Transmission
Cryo-MET :	CryoMicroscopie Electronique à Transmission
DNP :	2,4-DiNitroPhényle
PE :	PhosphatidylEthanolamine
PC :	PhosphatidylCholine
ARN :	Acide RiboNucléique
ADN :	Acide DésoxyriboNucléique
ATP :	Adénosine TriPhosphate
IMAC :	Chromatographie d'Immobilisation par Affinité Métallique
NTA :	acide NitriloTriAcétique
EDTA :	acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
THF :	TétraHydroFurane
TBAI :	Tetra- <i>n</i> -ButylAmmonium Iodide
CDI :	CarboDiImidazole
Glu :	acide Glutamique
Lys :	Lysine
Z ou Cbz :	Carbo <u>b</u> enzylo <u>x</u> y
Ts :	Tosyl
TEA :	TriEthylAmine
TBAB :	Tetra- <i>n</i> -ButylAmmonium Bromide
TA :	Température Ambiante
AIBN :	2,2'-AzodIisoButyroNitrile
AIVN :	2,2'-Azobis-(2,4-dIméthyl)-ValéroNitrile
Nu :	Nucléophile
DMF :	DiMéthylFormamide
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
DCC :	N,N'-DicyClohexyl-Carbodiimide
HOBt :	1-HydrOxy-Benzotriazole
DIEA :	N,N-DiIsopropylEthylAmine
Boc :	<i>tert</i> -Butylo <u>x</u> y <u>c</u> arbonyl
Bn :	Benzyl
TFA :	acide TriFluoroAcétique
DABCO :	1,4-DiAzaBiCyclo[2,2,2]Octane
DBU :	1,8-DiazaBicyclo-[5.4.0]-Undéc-7-ène
DMAP :	N,N-DiMéthylAminoPyridine

ppm :	partie par million
TRIS :	Tris(hydroxyméthyl)aminométhane
COSY :	COrelated SpectroscopY
DEPT :	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO :	DiMéthylSulfOxide
HMQC :	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
ESI :	Ionisation par ElectroSpray
HRMS :	Spectrométrie de Masse Haute Résolution
AAS :	Spéctoscopie d'Absorption Atomique
SUR :	Sulphonylurea Receptor
TCEP :	TriChloroEthanol-1-Phosphate
DOPC :	DiOleoyl-sn-glycero-3-PhosphoCholine
HEB :	HexaEthylBenzène
SE <sub>Ar</sub> :	Substitution Electrophile Aromatique
SN <sub>2</sub> :	Substitution Nucléophile de type 2
SN <sub>Ar</sub> :	Substitution Nucléophile Aromatique
AL :	Acide de Lewis
APTS :	Acide Para-ToluèneSulfonique
NMP :	N-Méthyl-2-Pyrrolidinone
HMPT :	HexaMéthylPhosphoramide
DMI :	1,3-DiMéthyl-2-Imidazolidinone
HMPA :	HéxaMéthylPhosphorotriAmine
Tf :	Triflate
Ac :	Acétyl
dppe :	1,2- bis-(diphénylphosphino)-éthane
dppp :	1,3-bis-(diphénylphosphino)-propane
dppf :	1,1'-bis-(diphénylphosphino)-ferrocène
TBDMS :	<i>tert</i> -ButylDiMéthylSilyl
TMS :	TriMéthylSilyl
MM :	Masse Molaire
R <sub>f</sub> :	Rapport frontal
T <sub>éb</sub> :	Température d'ébullition
P <sub>f</sub> :	Point de fusion
DEAD :	DiEthyl AzoDicarboxylate
Ms :	Mésyl
EEDQ :	N-(Ethoxycarbonyl)-2-Ethoxy- 1,2-DihydroQuinoline
Tr :	Tryl
CuAAC :	Cycloaddition 1,3-dipolaire entre un Azoture et un Alcyne catalysée par Cu(I)
DLS :	Dynamic Light Scattering
CLHP :	Chromatographie Liquide Haute Performance
CAC :	Concentration d'Agrégation Critique
UV :	Ultra-Violet
SANS :	Small Angle Neutron Scattering
SAXS :	Small Angle X-ray Scattering
HTAC :	Télomère du THAM à chaîne carbonée
HFTAC :	Télomère du THAM à chaîne fluorée
Lac :	Lactobionamide
Malt :	Maltoside

# SOMMAIRE

## ***Chapitre 1 : Introduction Générale..... 1***

I. Introduction.....	2
II. La membrane cellulaire .....	3
A. Les lipides.....	4
B. Les protéines membranaires .....	6
III. Les détergents membranaires .....	9
A. Généralités.....	9
B. Différentes classes de tensioactifs .....	12
IV. Extraction et manipulation <i>in vitro</i> des protéines membranaires.....	14
A. Interactions détergent-lipide.....	14
B. Interactions détergent-protéine .....	16
C. Inactivation des protéines membranaires par les détergents .....	17
D. Maintien des protéines membranaires en solution aqueuse .....	18
1. Retrait et échange des détergents .....	19
2. Reconstitution d'un modèle membranaire autour de la protéine .....	19
V. Nouvelles alternatives aux détergents usuels .....	21
VI. Cristallisation des protéines membranaires.....	28
VII. Cristallisation 2D de protéines isolées dans des micelles de détergent.....	30
VIII. Objectif de la thèse .....	32

## ***Chapitre 2 : Synthèse d'un lipide hémifluoré et étude de cristallisation 2D de la protéine membranaire SUR1 sur un film lipidique..... 34***

I. La Cristallisation 2D sur un film lipidique fonctionnalisé.....	35
A. Principe et vue d'ensemble de la technique pour les protéines solubles.....	35
B. Différentes approches utilisées pour concentrer et orienter les protéines à la surface du film lipidique .....	37
1. Adsorption électrostatique.....	37
2. Interactions spécifiques ligand-protéine.....	38
3. Interactions d'un ligand métallique avec une séquence polyhistidine .....	39
C. Lipides NTA existants utilisés pour la cristallisation 2D sur film lipidique .....	41
D. Cristallisation 2D des protéines membranaires sur film lipidique .....	45
1. Limitations expérimentales de la technique de cristallisation 2D des protéines membranaires solubilisées en détergent.....	45
2. Reconstitution des protéines dans une bicouche lipidique.....	49
3. Travaux et résultats antérieurs sur la cristallisation 2D des protéines membranaires sur film lipidique .....	49
II. Objectif du travail .....	50
III. Synthèse du lipide hémifluoré.....	53
A. Analyse rétrosynthétique .....	53
B. Préparation du synthon A .....	55
C. Préparation du synthon B .....	57
D. Condensation des synthons A et B .....	67
E. Caractérisation du lipide hémifluoré PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> .....	70
IV. Etude de cristallisation 2D sur un film de PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> .....	73
V. Conclusion.....	82

### **Chapitre 3 : Synthèse d'une nouvelle classe de tripodes amphiphiles faciaux** 84

I. Introduction.....	85
A. Les premières générations d'amphiphiles « linéaires ».....	85
B. Les amphiphiles faciaux .....	87
1. Les amphiphiles faciaux dérivés de l'acide cholique.....	88
2. Les amphiphiles faciaux non stéroïdiens .....	90
3. Les amphiphiles faciaux en forme de pince .....	91
4. Les architectures portant plusieurs motifs d'amphiphiles faciaux .....	92
5. Les dendrimères possédant une amphiphilie faciale .....	94
6. Les amphiphiles faciaux basés sur des molécules hôtes utilisées en chimie supramoléculaire .....	95
II. Objectif du travail .....	96
III. Synthèse des tripodes amphiphiles faciaux .....	99
A. Stratégie de synthèse basée sur le phloroglucinol .....	99
1. Alkylation du phloroglucinol .....	101
2. Alkylation de Friedel-Crafts.....	103
3. Addition conjuguée sur un composé carbonyle $\alpha,\beta$ -insaturé.....	104
4. Réaction de diméthylaminométhylation.....	111
5. Réaction de halométhylation .....	114
6. Réarrangement de dérivés du phloroglucinol.....	119
a. Réarrangement de Fries .....	119
b. Réarrangement de Claisen.....	122
7. Réaction de dérivés organométalliques du phloroglucinol .....	125
B. Stratégie de synthèse basée sur des précurseurs aromatiques polyhalogénés .....	129
1. Réaction de substitution nucléophile aromatique.....	130
2. Couplage de Sonogashira sur des dérivés aromatiques polyhalogénés.....	134
C. Stratégie de synthèse basée sur le mésitylène .....	142
1. Préparation du précurseur clé et introduction des chaînes alkyles hydrophobes par $SN_{Ar}$ .....	142
2. Introduction des têtes polaires et création de la ségrégation faciale sur le noyau aromatique .....	147
a. Essais de fonctionnalisation à partir du triol 36 .....	147
b. L'intérêt inattendu d'une simple réaction de méthylation .....	150
c. Préparation des dérivés tripodes faciaux de type tricarboxylate .....	152
d. Préparation de tripodes amphiphiles faciaux dérivés de résidus TRIS .....	157
e. Synthèse des composés tripodes amphiphiles faciaux à têtes glycosylés .....	160
i) Réaction de « click chemistry » .....	160
ii) Préparation du premier tripode amphiphile facial constitué de trois résidus glucosidiques .....	164
iii) Préparation des glycodendrimères amphiphiles faciaux .....	167
iv) Deuxième série de tripodes amphiphiles faciaux .....	176
IV. Conclusion .....	177

### **Chapitre 4 : Etude physico-chimique du comportement en solution aqueuse des tripodes amphiphiles faciaux.....** 183

I. Etude préliminaire de solubilisation des tripodes amphiphiles faciaux.....	184
II. Propriétés physico-chimiques.....	185
A. Notion de surface et définition de la tension superficielle .....	185

B. Adsorption d'un tensioactif à la surface d'un liquide.....	187
C. Phénomène de micellisation .....	189
1. Définition .....	189
2. Les facteurs influençant la CMC.....	190
D. Détermination de la CMC des tensioactifs.....	191
1. Méthodes existantes .....	191
2. Principe de la méthode de Wilhelmy .....	192
3. Procédure des mesures de tension superficielle des tripodes amphiphiles faciaux	194
4. Interprétations des résultats .....	195
III. Mesures du coefficient de partition Log $k'W$ .....	203
A. Définition.....	203
B. Principe de la méthode de détermination par HPLC .....	204
C. Procédure et interprétation des résultats .....	204
IV. Mesures de la taille des auto-assemblages en solution aqueuse .....	208
A. Principe de la technique .....	208
B. Fluctuations de l'intensité diffusée et diffusion quasi-élastique de la lumière (DQEL)	
.....	209
1. Macromolécules monodispersées sans interactions en solution .....	210
2. Macromolécules polydispersées sans interactions en solution .....	211
3. Macromolécules polydispersées avec interactions en solution .....	212
C. Procédure et interprétation des résultats .....	214
V. Essais de préparation de liposomes .....	220
VI. Conclusion .....	224
 <i>Partie expérimentale</i> .....	 <b>227</b>
 <i>Annexes</i> .....	 <b>299</b>

# *Chapitre 1 : Introduction Générale*

## **I. Introduction**

Depuis les débuts de la pharmacologie, différentes approches ou stratégies ont évolué pour devenir au cours du siècle dernier de plus en plus rationnelles dans les processus de recherche d'un médicament. Ces dernières peuvent être classées en deux catégories :

- Les criblages à hauts débits où l'automatisation des tâches via l'utilisation de robots et de logiciels de traitement de données permettent de tester et d'analyser une importante quantité de composés chimiques (chimiothèques) sur une ou plusieurs cibles d'intérêt (ciblothèques). Lorsqu'une molécule active ("lead compound") est découverte, des bibliothèques de structures analogues appartenant à la même famille sont ensuite synthétisées et testées afin de déterminer leur capacité à améliorer l'effet thérapeutique et à minimiser les effets secondaires. Ces molécules devront ensuite subir des tests de toxicité et de suivi métabolique en phase préclinique avant d'être proposées comme "candidats médicaments" pour les phases ultérieures de développement clinique.
- La chimie combinatoire qui à l'inverse des techniques antérieures consistant à tester des composés chimiques préalablement purifiés et identifiés, va elle directement mesurer l'effet d'un mélange synthétique d'un très grand nombre de composés chimiques sur l'activité biologique et en cas d'observation de l'effet souhaité, un processus de déconvolution permettra alors de remonter à la structure de la molécule responsable de cette activité.

De nos jours, on utilise des méthodes plus rationnelles qui reposent sur une série d'étapes logiques où l'on procède d'abord à la validation de la cible établie en faisant le lien entre la pathologie étudiée et la cible moléculaire correspondante, qui est ensuite déterminée de manière précise dans les banques de données de la littérature ou grâce à des études génomique, transcriptomique et/ou protéomique.

Suivant les données collectées, la connaissance ou non de la structure du récepteur ciblé, les choix seront adaptés pour comprendre les mécanismes d'actions et ainsi concevoir un ligand théoriquement plus sélectif de la cible, tout ceci évitant une perte de temps précieuse et permettant de grandes économies d'argent.

Cette méthode s'appuie sur de nombreuses disciplines intimement interconnectées telles que la chimie, la biochimie, la biologie, la génomique, la bio- et la chemoinformatique, la modélisation moléculaire,...

L'activité biologique de la majorité des médicaments résulte de leur interaction avec des macromolécules. Les cibles les plus importantes des médicaments sont les récepteurs membranaires des médiateurs (45%), les enzymes (28%), les canaux ioniques (5%) et les récepteurs nucléaires (2%). On voit qu'à peu près la moitié des cibles actuelles sont des protéines membranaires, et notamment les récepteurs couplés aux protéines G (PGCR). Pourtant actuellement, parmi les 60 000 structures de macromolécules biologiques répertoriées dans la banque de données des protéines, moins de 2% sont des protéines membranaires<sup>1</sup>.

L'élucidation de la structure tridimensionnelle des protéines membranaires constitue un défi majeur. La connaissance de la structure tertiaire de ces macromolécules aurait un impact considérable sur notre capacité à concevoir de nouveaux agents thérapeutiques visant les protéines membranaires sachant que leurs dérèglements entraînent souvent de nombreux syndromes pathologiques. Comme leur nom l'indique, ces protéines sont confinées dans les membranes biologiques.

## **II. La membrane cellulaire**

La membrane cellulaire est un assemblage de molécules formant un double feuillet de 5 à 10 nm d'épaisseur qui sépare la cellule de son environnement et délimite le cytoplasme cellulaire, ainsi que les organites à l'intérieur (mitochondries, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi,...). Elle contribue donc de manière essentielle à la protection, à la croissance, au développement, à l'organisation et la compartimentation du contenu cellulaire.

La membrane est formée d'un ensemble complexe de lipides, de protéines et de polysaccharides maintenus entre eux par des interactions faibles non covalentes (Figure 1-1). Elle constitue une barrière sélective régulant les échanges de matière entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule : échange de nutriments, de gaz, d'ions, de métabolites,... Les constituants principaux de cette membrane sont les lipides, des molécules amphiphiles capables de s'auto-organiser en bicouche, avec leurs têtes hydrophiles au contact de l'eau et leurs chaînes hydrophobes compactées au sein de la membrane.

---

<sup>1</sup> <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.

En plus de son rôle de barrière hydrophobe à la majorité des substrats dissous dans le milieu aqueux environnant (cytosol ou liquides extracellulaires), la membrane sert également de support à de nombreuses protéines (canaux ioniques, aquaporines, PGCR,...) pouvant porter des marqueurs spécifiques (antigènes,...), dont le rôle va être de réguler les échanges transmembranaires et/ou de filtrer l'information biologique grâce à la reconnaissance de signaux chimiques (neurotransmetteur, hormone, sucre, protéine,...).

Cette reconnaissance enclenche un mécanisme de signalisation cellulaire aboutissant à une réaction de la cellule afin de répondre aux indications de l'environnement extérieur. La composition de la membrane, notamment la nature des lipides et celle des protéines membranaires, reste variable d'une cellule à une autre et se répartit de manière asymétrique au sein de la bicouche lipidique.

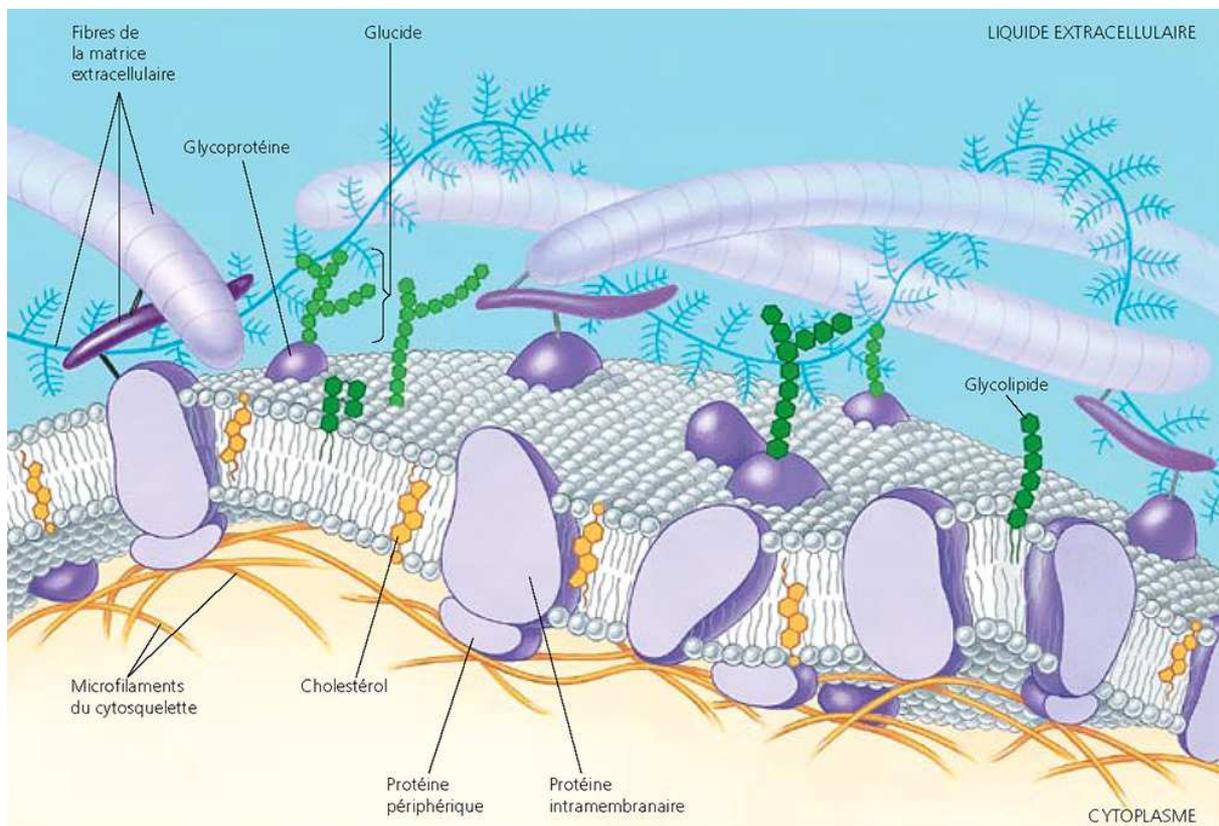
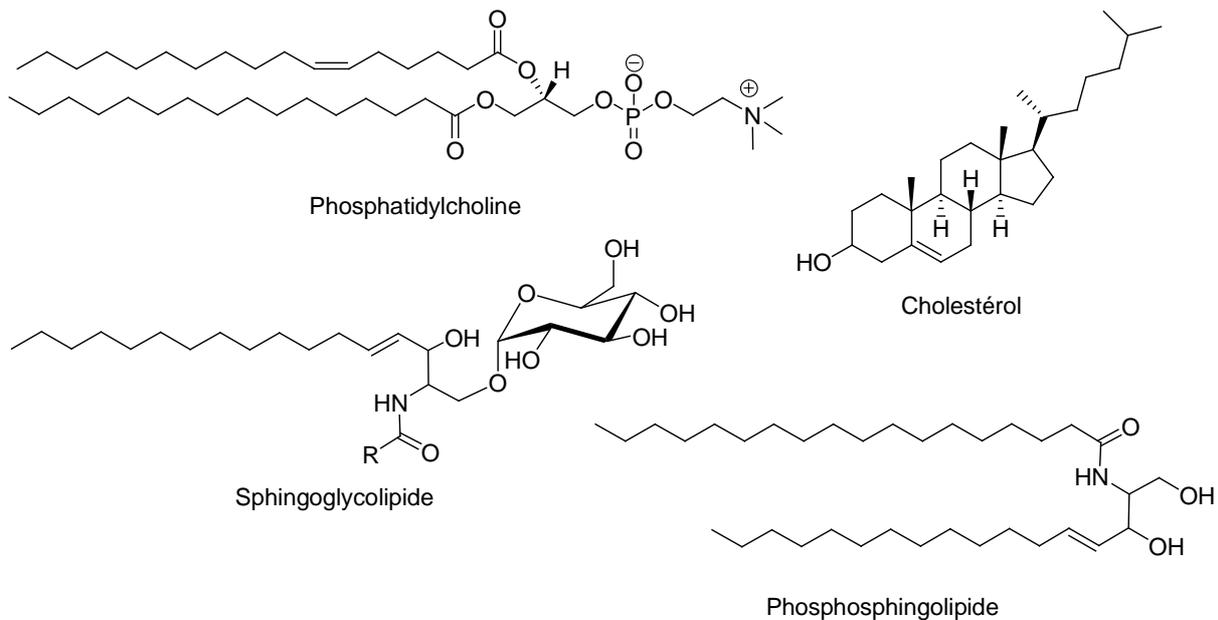


Figure 1-1 : Représentation schématique de la découpe d'une membrane cellulaire.

## A. Les lipides

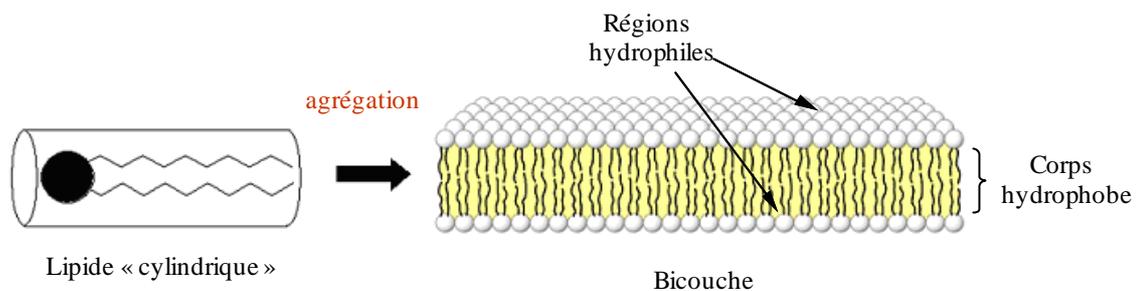
Les lipides représentent à peu près 50% de la masse totale des membranes. Les trois principaux types de lipides rencontrés sont : les phospholipides, le cholestérol et les glycolipides (Figure 1-2). Ce sont des molécules amphiphiles possédant à la fois une partie

hydrophile polaire et une partie hydrophobe apolaire. Les phospholipides sont des esters d'acides gras du glycérol avec un groupement phosphoester reliant la partie polaire à la partie hydrophobe composée de deux chaînes aliphatiques. Selon la nature des deux parties polaires et apolaires, il existe une grande variété de phospholipides dont les plus courants sont les phosphatidylcholines, les sphingomyélines et les phosphatidylsérines.



**Figure 1-3 :** Exemples de différents lipides constituant la membrane cellulaire.

Ces lipides présentent généralement une très faible solubilité dans l'eau et leur caractère amphiphile les conduit à s'auto-associer spontanément dans les milieux aqueux pour former des bicouches, forme supramoléculaire la plus stable compte tenu des aires respectives (comparable) de la partie polaire et des deux queues hydrophobes. Pour cela, les chaînes hydrophobes sont dirigées vers l'intérieur de la bicouche tandis que les têtes hydrophiles sont orientées vers les milieux extra- et intracellulaires aqueux (Figure 1-3).



**Figure 1-5 :** Agrégation des lipides en bicouche dans un milieu aqueux.

Cette bicouche est divisée en deux régions : le corps hydrophobe et la région comportant les têtes hydrophiles. Il est à noter que la membrane est dans un état dynamique, les constituants de la membrane sont en effet, en perpétuel mouvement. Pour cela, chaque compartiment hydrophile et hydrophobe a des propriétés uniques qui affectent différemment la cohésion des constituants dans la bicouche. La région hydrophile composée de têtes polaires chargées, induit des forces coulombiennes avec les molécules d'eau environnantes et les domaines hydrophiles extra membranaires des protéines afin de stabiliser la bicouche. De même afin de limiter l'organisation du milieu aqueux, donc des molécules d'eau, autour des chaînes hydrophobes solubilisées, phénomène qui contribuerait à diminuer l'entropie globale du système, les chaînes hydrophobes s'autoassocient par effet hydrophobe et donnent lieu à la formation de cette barrière hydrophobe, soluble en milieu aqueux grâce à l'hydratation des têtes polaires<sup>2</sup>.

Toutes ces interactions non covalentes de faible énergie expliquent la fluidité acquise par la membrane, ce qui fait d'elle un corps parfaitement déformable dans les trois directions de l'espace dans lesquelles les lipides peuvent exécuter des mouvements de diffusion latérale, de rotation et de « flip-flop » (échanges de lipides entre les feuillets inférieur et supérieur de la bicouche). La fluidité est également conditionnée par la température qui accélère les mouvements, la quantité de cholestérol et la nature des phospholipides. En effet, la rigidité du cholestérol dû à son noyau tétracyclique hydrophobe diminue la fluidité et augmente la stabilité mécanique de la membrane. Cette fluidité permet aux protéines constitutives de la membrane de se déplacer librement par rotation et diffusion latérale. En raison de sa nature hydrophobe, la bicouche lipidique constitue une barrière à la diffusion des ions ou des molécules polaires qui ne peuvent la traverser qu'au niveau de certaines protéines spécifiques (canaux, pompes, transporteurs,...).

## **B. Les protéines membranaires**

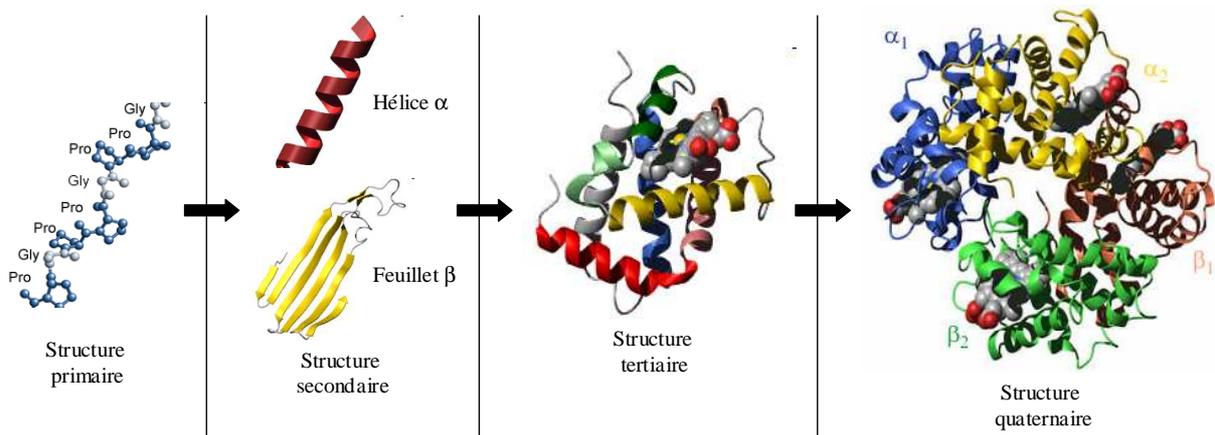
Les protéines sont des macromolécules représentant 50 à 70% de la masse de la membrane cellulaire. Par définition, une protéine est un polymère constitué d'acides aminés naturels reliés entre eux par des liaisons peptidiques (liaison amide).

L'enchaînement de ces résidus forme une séquence bien définie de la protéine qui correspond à sa structure primaire. Certains tronçons de cette séquence peuvent s'agencer et se replier en établissant des liaisons hydrogène intramoléculaires entre les parties CO et NH

---

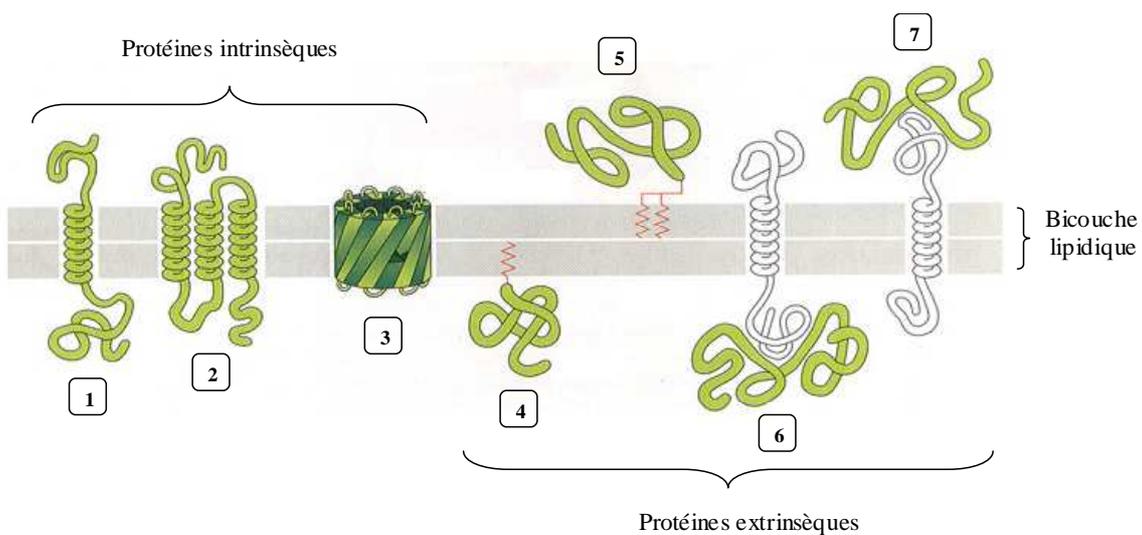
<sup>2</sup> White S.H., Ladokhin A.S., Jayasinghe S. and Hristova K., *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 32395–32398 ; White S.H. and Wimley W.C., *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **1999**, 28, 319-365.

des fonctions amide afin de former la structure secondaire de la protéine (hélice  $\alpha$ , feuillet  $\beta$ ). La structure tertiaire de la protéine est établie par l'agencement des structures secondaires et des zones amorphes dans l'espace pour lui donner une forme géométrique particulière. Les interactions entre deux ou plusieurs chaînes de structures tertiaires de protéines sont responsables de la formation de la structure quaternaire (Figure 1-4).



**Figure 1-7 :** Classification des différentes structures constitutives d'une protéine.

Selon la nature de leur structure et leur mode d'interaction avec la membrane, les protéines membranaires sont appelées extrinsèques (ou périphériques) ou intrinsèques (transmembranaires ou intégrales) en fonction des différents modes d'association avec la bicouche lipidique (Figure 1-5).



**Figure 1-9 :** Différents types de protéines membranaires selon sa structure et son association avec la membrane.

Les protéines extrinsèques correspondent aux protéines associées en surface à la bicouche lipidique sans la traverser, soit par liaison covalente avec des lipides membranaires situés dans la monocouche externe de la membrane (exemples 4 et 5), soit par des liaisons faibles (interactions électrostatiques ou liaisons hydrogène) avec les extrémités hydrophiles des phospholipides ou de protéines intégrées à la membrane (exemples 6 et 7). Ces protéines peuvent facilement être détachées de la membrane par extraction en utilisant des conditions opératoires modérées avec des solutions à force ionique et pH modulables.

Les protéines intrinsèques sont des molécules amphiphiles comportant des régions hydrophiles et hydrophobes qui traversent une ou plusieurs fois la membrane (exemples 1 à 3). Les régions hydrophobes sont majoritairement constituées d'acides aminés portant des chaînes latérales de nature hydrophobe (leucine, valine,...) qui sont repliées sous la forme d'hélices  $\alpha$  et de tonneaux  $\beta$ . Ces structures secondaires ont les parties hydrophobes de leurs acides aminés orientées vers l'extérieur de l'hélice, et se contractent par des interactions hydrophobes avec les chaînes aliphatiques des acides gras de phospholipides.

Le séquençage complet des génomes de différents organismes indique qu'environ 25 à 30% des gènes codent pour l'expression de protéines membranaires<sup>3</sup>. Ce nombre très important reflète l'importance de cette classe de protéine, ainsi que la diversité des fonctions assurées. Les protéines membranaires participent à un grand nombre de processus essentiels de la vie cellulaire tels que les échanges transmembranaires d'ions, de solutés et de signaux métaboliques, la transduction de signaux extracellulaires, l'association des cellules en tissus, la multi-résistance aux drogues.

Cependant, contrairement à leurs homologues solubles, leurs fonctions sont encore mal connues en raison du manque d'information structurale qui est un obstacle certain à l'établissement d'un lien structure-fonction à l'échelle moléculaire. On voit bien que la membrane cellulaire est un système trop complexe, hétérogène et dynamique et qu'il constitue donc une gêne indéniable à l'étude des protéines *in vivo* dans leur environnement natif par le biais des techniques de biophysique actuelles utilisées dans la caractérisation structurale (spectroscopie RMN, diffraction des rayons X,...).

Pour étudier et caractériser les protéines membranaires, il est donc nécessaire dans un premier temps de les extraire de leur environnement membranaire, mais surtout de les maintenir sous leur forme native fonctionnelle et soluble en reconstituant un milieu d'accueil

---

<sup>3</sup> D. Frishman and H.W. Mewes, *Nature Struct. Biol.*, **1997**, 4, 626-628 ; D.T. Jones, *FEBS Lett.*, **1998**, 43, 281-285 ; T.J. Stevens and I.T. Arkin, *Proteins*, **2000**, 39, 417-420.

en solution aqueuse similaire à celui de la membrane biologique<sup>4</sup>. L'extraction des protéines intrinsèques se fait à l'aide de tensioactifs nommés ici détergents membranaires, des composés capables d'isoler, de solubiliser et de manipuler les protéines membranaires.

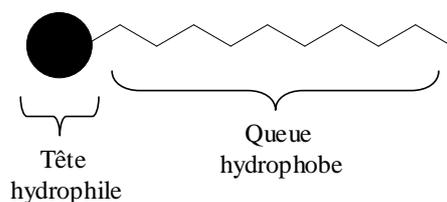
### III. Les détergents membranaires

#### A. Généralités

Les tensioactifs communément appelés détergents par les biologistes sont des composés amphiphiles comportant des domaines polaires et apolaires bien distincts présentant une solubilité marquée dans l'eau. Les tensioactifs ou « surfactants » en terme anglo-saxon sont des agents de surface capables de réduire la tension interfaciale de mélanges (ex, huile et eau) en s'adsorbant aux interfaces<sup>5</sup>.

Les tensioactifs ont une grande variété d'applications qui incluent la perméabilisation et la dissolution des membranes, la solubilisation de corps d'inclusion, ainsi que la solubilisation, la biochimie, la cristallisation et la manipulation des protéines membranaires.

La capacité d'un tensioactif à participer à une fonction spécifique dans les techniques de biologie structurale ou de biochimie est entièrement reliée à sa structure. La partie hydrophile polaire de la molécule de détergent est désignée comme « tête polaire » tandis que la partie hydrophobe apolaire est appelée « queue apolaire ». La partie hydrophobe est constituée d'une ou plusieurs chaînes carbonées aliphatiques pouvant être linéaires ou ramifiées et comportant généralement entre 8 et 18 atomes de carbone (Figure 1-6).



**Figure 1-11** : Représentation schématique d'un monomère de tensioactif.

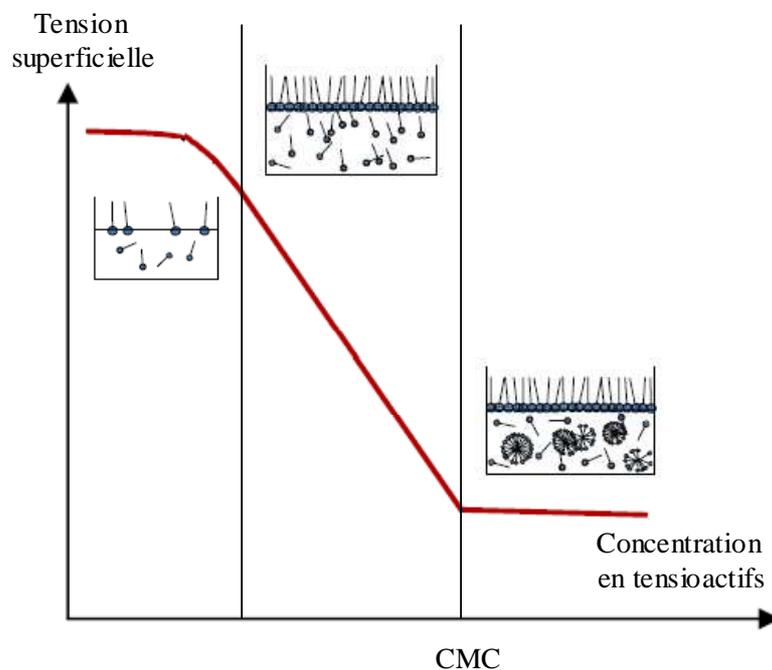
En milieu aqueux et à faible concentration, les tensioactifs s'adsorbent à l'interface air-eau d'un liquide pour former un film monomoléculaire compact et diminuent l'énergie libre interfaciale. Les molécules s'organisent à la surface de telle sorte que la tête hydrophile soit au contact de l'eau et que la chaîne hydrophobe soit orientée vers l'extérieur dans l'air. Ce

<sup>4</sup> A. Seddon, P. Curnow, P.J. Booth, *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, 1666, 105-117.

<sup>5</sup> M. Rosen, « *Surfactants and Interfacial Phenomena* », 3<sup>rd</sup> Ed., Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., **2004**.

phénomène provoque une diminution de la tension superficielle du liquide proportionnellement à la concentration en tensioactifs selon la loi de Gibbs<sup>6</sup>.

Au delà d'une concentration précise appelée concentration micellaire critique (CMC), la surface du liquide devient saturée en molécules de tensioactif et la tension superficielle du liquide reste constante. L'addition supplémentaire de tensioactifs provoque un auto-assemblage spontané des monomères en agrégats qui peuvent être divers, définis par leur taille et leur nombre d'agrégation (nombre de molécules composant l'agrégat). Quand la concentration totale de tensioactifs est supérieure à la CMC, la concentration en monomères dans la solution reste égale à la CMC (Figure 1-7).



**Figure 1-13 :** Courbe de la tension de surface en fonction de la concentration de tensioactifs en solution.

Il faut également noter que les tensioactifs constituant l'architecture supramoléculaire en solution, sont en équilibre constant avec les monomères de tensioactif libres en solution et à l'interface.

Le phénomène de micellisation est dirigé par l'effet hydrophobe. Lorsque un groupe non polaire est introduit dans une solution aqueuse, le réseau formé par les liaisons hydrogène existantes entre les molécules d'eau est perturbé et les molécules d'eau s'ordonnent entre elles autour de la partie apolaire pour combler la disparition des liaisons hydrogène. Il en résulte

<sup>6</sup> L.M. Hjelmeland, A. Chrambach, *Methods Enzymol.*, **1984**, 104, 305-318 ; T.F. Tadros, « *Surfactants* », T.F. Tadros Ed., Academic Press, New York, **1984** ; C.A. Miller, P. Neogi, « *Interfacial Phenomena* », Dekker Inc., New York, **1985**.

une perte du degré de liberté des molécules d'eau impliquées et donc une diminution défavorable de l'entropie du système. Afin de minimiser cette perturbation du système, les molécules de tensioactif auront tendance à se positionner à l'interface eau-air jusqu'à ce que l'addition de nouvelles molécules de tensioactif rompe l'équilibre entre les monomères hydratés en solution et les monomères en surface.

Au-delà d'une concentration que l'on appelle CMC ou CAC (constante d'agrégation critique), il y a une réorganisation des tensioactifs ajoutés en une pseudo phase qui est généralement (aux concentrations proches de la CMC) une micelle sphérique ou cylindrique, caractérisée par son nombre d'agrégation. Lors de l'augmentation de la concentration, les régions hydrophobes des tensioactifs se contractent et s'associent afin que seulement quelques molécules d'eau soient nécessaires pour se réarranger autour des micelles formées.

Cette association des chaînes hydrophobes au cœur de la micelle a pour conséquence une diminution de l'organisation des molécules d'eau et donc une non décroissance de l'entropie globale du système due à cette précédente organisation. Ce sont donc les effets thermodynamiques favorables de la solution aqueuse qui gouvernent l'association hydrophobe et la formation des micelles<sup>7</sup>.

La forme des agrégats donnés par les tensioactifs en milieu aqueux a été étudiée de maintes façons et une prévision de leur structure globale (micellaire, cylindrique, lamelles, micelles inverses,...) a été faite par Ninham et Israelachvili qui ont proposé un paramètre d'empilement  $P$  d'un détergent, déterminé par l'équation suivante :

$$P = V / a.l$$

$V$  : volume de la chaîne du détergent.

$l$  : longueur de la chaîne.

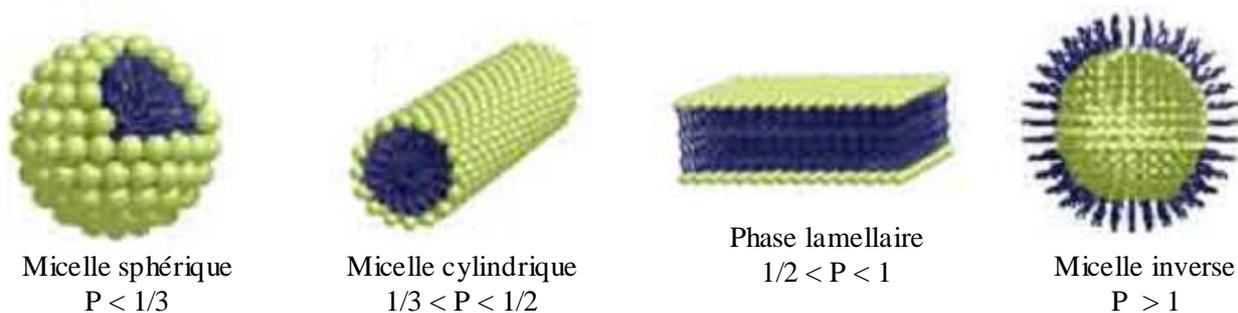
$a$  : aire de la section à l'interface.

Ce concept tient compte du rapport volumétrique entre la partie hydrophobe et la partie hydrophile d'un monomère de détergent pour lui attribuer une valeur qui prédit la forme et la taille de l'agrégat en solution aqueuse<sup>8</sup> (Figure 1-8).

---

<sup>7</sup> C. Tanford, « *The Hydrophobic Effect : Formation of Micelles and Biological Membranes* », 1<sup>st</sup> Ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, 1973.

<sup>8</sup> J.M. Neugebauer, *Methods Enzymol.*, 1990, 182, 239-253 ; J.N. Israelachvili, D.J. Mitchell and B.W. Ninham, *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, 470, 185-201.



**Figure 1-15** : Différents types d'agrégats formés par le monomère selon la valeur du paramètre d'empilement P.

Les caractéristiques des groupements hydrophiles et hydrophobes d'un détergent sont directement reliées à ses propriétés physico-chimiques (CMC, nombre d'agrégation, taille et nature de la forme géométrique des agrégats). Pour cela, il est important de choisir judicieusement le détergent approprié avant de commencer à étudier leur interaction avec les protéines membranaires, si l'on tient compte du fait que la forme de l'agrégat que va donner le tensioactif pourra affecter la stabilité de la protéine solubilisé.

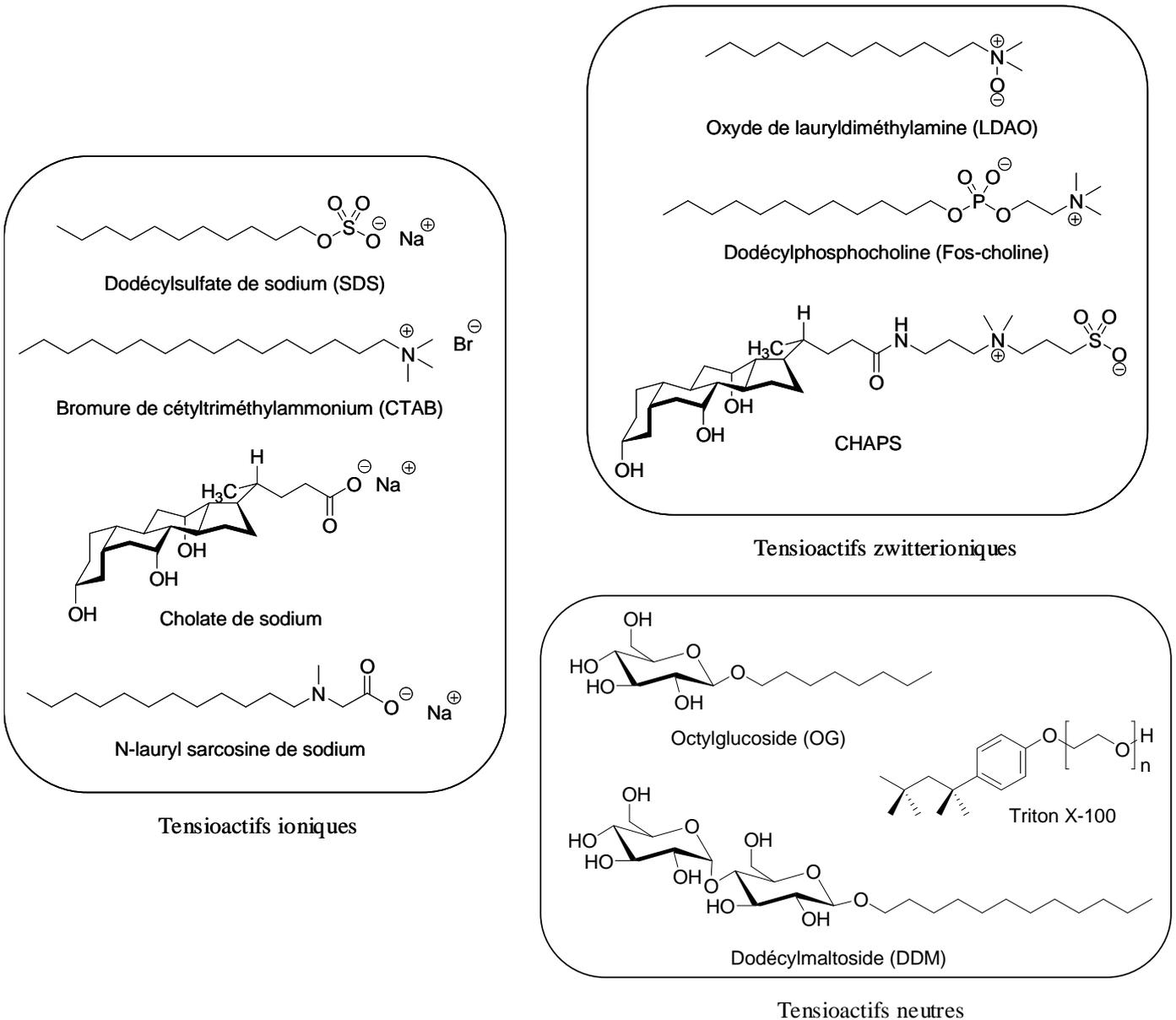
La nature de la queue hydrophobe (hydrocarbonée ou fluorocarbonée), sa longueur, son degré d'insaturation et de ramification, la présence ou non de noyaux aromatiques, affecte les propriétés chimiques des monomères de détergent et contrôle l'auto-assemblage des monomères.

De même, la nature du groupement hydrophile (neutre ou chargé, petit ou volumineux) peut fortement affecter son application à l'étude des protéines membranaires. Bien des points ont déjà été étudiés grâce à l'ensemble des structures de tensioactifs qui ont été proposés jusqu'à ce jour, mais bien d'autres restent à comprendre avant de disposer du tensioactif dit « idéal » pour extraire et/ou maintenir la protéine membranaire soluble en milieu aqueux sans dénaturation d'aucune sorte.

## **B. Différentes classes de tensioactifs**

Les tensioactifs sont classés selon la nature de leur partie hydrophile en trois grandes familles<sup>9</sup> : les tensioactifs ioniques (cationiques ou anioniques), les tensioactifs zwitterioniques (ou amphotères) et les tensioactifs neutres (Figure 1-9).

<sup>9</sup> A.M. Schwartz, J.W. Perry, J. Berch, « *Surface Active Agents and Detergents* », vol II, R. Krieger Pub. Co., New York, 1977.



**Figure 1-17 :** Structures chimiques de différentes classes de tensioactifs selon la nature de leur tête hydrophile.

Les tensioactifs ioniques sont efficaces pour extraire les protéines de la membrane. Cependant, ce sont des détergents durs qui tendent à être dénaturants en désorganisant les interactions coulombiennes intramoléculeuses de bon nombre de protéines.

Les tensioactifs anioniques possèdent une tête hydrophile contenant une charge négative. Il existe les sels d'acides carboxyliques ( $\text{RCO}_2^- \text{M}^+$ ), les alkyles sulfates ( $\text{ROSO}_3^- \text{M}^+$ ), les sulfonates ( $\text{RSO}_3^- \text{M}^+$ ) et les phosphates ( $\text{ROPO}(\text{OH})\text{O}^- \text{M}^+$ )<sup>10</sup>. Le SDS est couramment utilisé comme agent dénaturant dans les études de « unfolding-refolding » des

<sup>10</sup> W.M. Linfield, « *Anionic Surfactants* », M. Dekker Eds., 1976.

protéines membranaires<sup>11</sup>. Les sels de l'acide biliaire sont plus doux que les détergents ioniques à chaîne linéaire<sup>12</sup>.

Les tensioactifs cationiques sont caractérisés par une partie hydrophile chargée positivement. Le plus souvent ce sont des sels d'ammonium quaternaires triméthylés ou des sels de pyridinium<sup>13</sup>.

Les tensioactifs zwitterioniques contiennent à la fois une charge positive et négative dans leur partie hydrophile, ce qui les rend électriquement neutres. La plupart sont des oxydes d'amine ou des structures dipolaires s'apparentant à celle des phospholipides naturels. Ils correspondent à une famille de produits généralement non irritants et peu agressifs sur le plan biologique.

Les tensioactifs neutres, incluant les maltosides, les glucosides et les polyéthylène glycols (PEG) sont caractérisés par des têtes hydrophiles non chargées. Ce sont des détergents doux et non dénaturants car ils perturbent uniquement les interactions protéine-lipide et lipide-lipide, et sont sans effet sur les interactions coulombiennes intramoléculaires des protéines. La majorité des détergents utilisés dans la purification et la détermination structurale des protéines membranaires sont des détergents neutres<sup>14</sup>.

#### **IV. Extraction et manipulation *in vitro* des protéines membranaires**

Le processus d'extraction et d'isolement d'une protéine membranaire se déroule en trois étapes : (i) décomposition totale ou partielle de la membrane cellulaire, (ii) solubilisation des protéines dans des micelles mixtes détergent/lipide, (iii) élimination du détergent et reconstitution d'une membrane lipidique autour de la protéine.

##### **A. Interactions détergent-lipide**

L'addition de molécules de détergent est supposée désorganiser les lipides de la membrane selon deux voies possibles en fonction de la nature du détergent utilisé<sup>15</sup> :

---

<sup>11</sup> S.J. Allen, A.R. Curran, R.H. Templer, W. Meijberg, P.J. Booth, *J. Mol. Biol.*, **2004**, 342, 1279-1291 ; E.L. Compton, N. Farmer, M. Lorch, J.M. Mason, K.M. Moreton, P.J. Booth, *J. Mol. Biol.*, **2006**, 357, 325-338 ; F.W. Lau, and J.U. Bowie, *Biochemistry*, **1997**, 36, 5884-5892 ; D.E. Otzen, *J. Mol. Biol.*, **2003**, 330, 641-649 ; P. Sehgal, J.E. Mogensen, and D.E. Otzen, *Biochim. Biophys. Acta*, **2005**, 1716, 59-68.

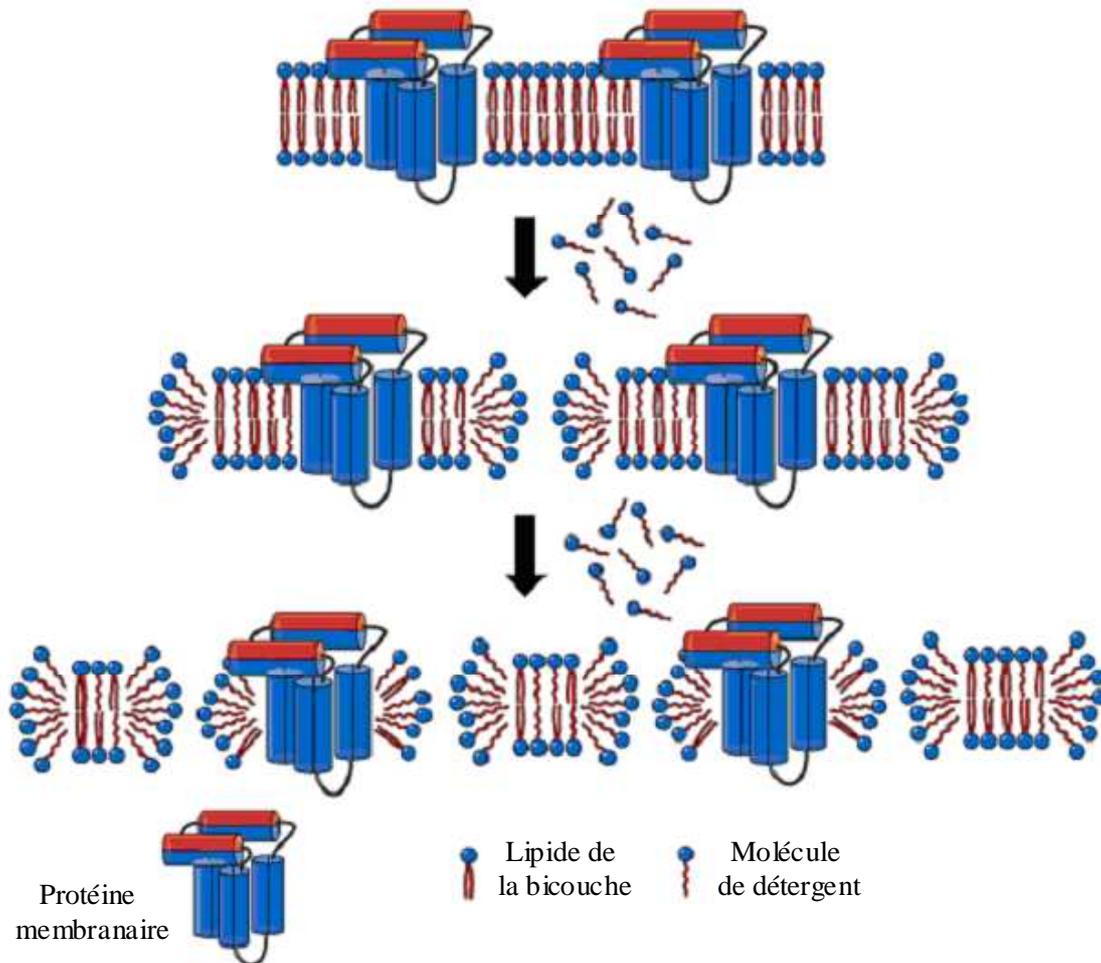
<sup>12</sup> A.M. Seddon, P. Curnow, and P.J. Booth, *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, 1666, 105-117.

<sup>13</sup> E. Jungerman, « *Cationic Surfactants* », M. Dekker Eds., New York, **1970**.

<sup>14</sup> S.B. Long, E.B. Campbell, and R. Mackinnon, *Science*, **2005**, 309, 897-903 ; S. Lund, S. Orlowski, B. de Foresta, P. Champeil, M. le Maire, J.V. Møller, *J. Biol. Chem.*, **1989**, 264, 4907-4915 ; T. VanAken, S. Foxall-VanAken, S. Castleman, and S. Ferguson-Miller, *Methods Enzymol.*, **1986**, 27-35.

<sup>15</sup> U. Kragh-Hansen, M. Le Maire, J.P. Noël, T. Gulik-Krzywicki, J.V. Moller, *Biochemistry*, **1993**, 32, 1648-1656 ; U. Kragh-Hansen, M. Le Maire, J.V. Moller, *Biophys. J.*, **1998**, 75, 2932-2946.

- Soit ils s'insèrent et se cloisonnent directement entre les lipides à l'intérieur de la membrane jusqu'à saturation avant de provoquer la déstabilisation et la fragmentation de la bicouche lipidique,
- Soit ils solubilisent les lipides constitutifs de la membrane grâce aux interactions coopératives hydrophobes détergent-détergent des micelles de détergent et forment des micelles mixtes lipide-détergent.



**Figure 1-19 :** Décomposition de la membrane cellulaire par solubilisation des protéines membranaires et des lipides constitutifs.

Au delà de la CMC, la concentration en détergents sous forme micellaire et membranaire s'accroît pour atteindre un seuil maximal. La saturation de la bicouche lipidique en détergents induit une perte de cohésion de ces lipides constitutifs qui provoque la rupture de la membrane. Il s'ensuit une transition d'une phase lamellaire vers une phase micellaire comportant à la fois des micelles mixtes détergent-lipide et des micelles mixtes détergent/lipide/protéine.

L'addition supplémentaire de détergents entraîne la délipidation des protéines et la formation de micelles mixtes détergent/protéine et détergent/lipide. Des quantités plus importantes de détergents conduisent à la complète dissolution de la bicouche et la solubilisation des protéines<sup>16</sup> (Figure 1-10).

Plusieurs méthodes existent pour déterminer la concentration de détergents en solution incluant la colorimétrie<sup>17</sup>, la chromatographie sur couche mince<sup>18</sup>, des mesures de l'indice de réfraction ou de la diffusion de la lumière<sup>19</sup> et l'ultracentrifugation analytique<sup>20</sup>. Ces méthodes permettent de déterminer la concentration de détergents libres en solution, la quantité de détergents liés à la protéine ou encore la taille des complexes détergent-protéine.

Elles peuvent être utiles pour déterminer la concentration critique de solubilisation (CCS), qui correspond à la concentration minimale requise pour perturber et transformer un système membranaire en une dispersion micellaire prédominante sans provoquer de dénaturation de la protéine.

## **B. Interactions détergent-protéine**

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant l'organisation des molécules de détergent autour des parties hydrophobes transmembranaires de la protéine. Une des premières hypothèses suppose que les détergents encerclent la protéine sous la forme de micelles adoptant une structure ellipsoïdale<sup>21</sup>. Cependant, ce modèle n'est pas le plus vraisemblable en raison des contacts pouvant exister entre les têtes polaires du détergent et de la partie hydrophobe de la protéine.

Un autre modèle suppose que les détergents recouvrent la surface hydrophobe de la protéine avec une monocouche, un arrangement identique à celui des molécules de tensioactif à l'interface air-eau.

Il est dorénavant admis qu'une fois la protéine solubilisée, les molécules de détergent forment une monocouche parallèle légèrement courbée s'apparentant à un tore ellipsoïdal (« bouée de détergents) autour des domaines transmembranaires hydrophobes de la protéine<sup>22</sup> (Figure 1-11).

---

<sup>16</sup> M. Almgren, *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1508, 146-163.

<sup>17</sup> A. Urbani, and T. Warne, *Anal. Biochem.*, **2005**, 336, 117-124.

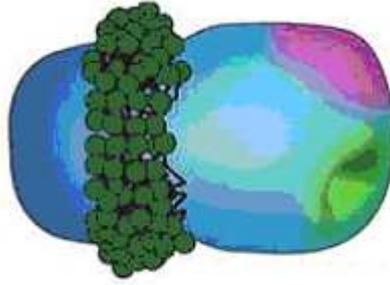
<sup>18</sup> L.R. Eriks, J.A. Mayor, and R.S. Kaplan, *Anal. Biochem.*, **2003**, 323, 234-241.

<sup>19</sup> P. Strop, and A.T. Brunger, *Protein. Sci.*, **2005**, 14, 2207-2211.

<sup>20</sup> D. Noy, J.R. Calhoun, and J.D. Lear, *Anal. Biochem.*, **2003**, 320, 185-192.

<sup>21</sup> J.A. Reynolds, and C. Tanford, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1976**, 73, 4467-4470.

<sup>22</sup> M. Le Maire, P. Champeil, and J.V. Moller, *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1508, 86-111.

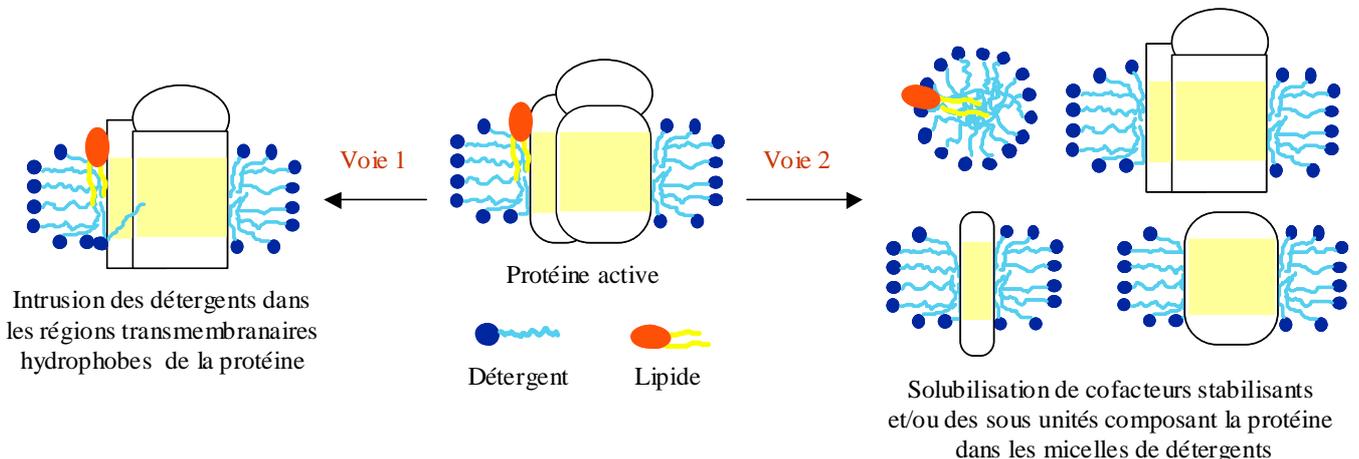


**Figure 1-21 :** Tore de détergents recouvrant les domaines transmembranaires hydrophobes de la protéine.

### **C. Inactivation des protéines membranaires par les détergents**

Les principales difficultés rencontrées lors de l'étude des protéines membranaires solubilisées par des détergents sont liées aux risques de déstabilisation et d'inactivation des protéines. Les contributions majeures de ce problème sont reliées aux propriétés dissociantes des détergents mis en jeu durant l'étape d'extraction. Les détergents ont tendance à perturber les interactions protéine-protéine et protéine-lipide qui sont parfois essentielles à la stabilité de la protéine.

Ce processus est difficilement contrôlable et peut souvent conduire à la dénaturation de la protéine ainsi qu'à la perte irréversible de sa fonction biologique selon deux mécanismes intimement reliés<sup>23</sup> (Figure 1-12).



**Figure 1-23 :** Hypothèses probables sur les causes de l'inactivation des protéines solubilisées par des détergents.

Les protéines oligomériques présentent souvent des interactions protéine-protéine entre leurs sous unités dans la région transmembranaire ainsi que des interactions

<sup>23</sup> J.U. Bowie, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2001**, 11, 397-402 ; C. Breyton, C. Tribet, J. Olive, J.P. Dubacq, J.L. Popot, *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 21892-21900.

intramoléculaires des sous-unités capitales à l'établissement de la structure tridimensionnelle de la protéine. La plupart des protéines membranaires sont extraites des membranes et la solubilisation des lipides, sous-unités et/ou cofacteurs hydrophobes à l'intérieur des micelles de détergent provoque l'instabilité de la protéine. La délipidation est l'une des causes de désactivation les plus communes.

Pour diminuer les risques de dénaturation quelques mesures simples peuvent être mises en place :

- Travailler au voisinage de la CMC du détergent, évitant ainsi un excès de micelles susceptibles de dissocier les cofacteurs protéiques,
- Limiter le volume dans lequel les lipides, cofacteurs et sous-unités diffusent, ou en augmentant leurs concentrations dans les micelles mixtes, pour déplacer l'équilibre en faveur de l'association des constituants plutôt que leurs dissociation,
- Ajouter des lipides à la protéine solubilisée. Ils aident la protéine à préserver sa structure 3D et/ou à éviter l'accès des détergents aux points sensibles de la surface transmembranaire.

Une autre approche complémentaire est de créer un environnement moins déstabilisant pour maintenir la protéine soluble et éviter son agrégation.

#### **D. Maintien des protéines membranaires en solution aqueuse**

Selon la nature (ionique, zwitterionique ou neutre) et la quantité de détergents utilisée dans la phase d'extraction, les protéines membranaires peuvent être déstabilisées ou dénaturées lorsque la durée d'exposition avec les détergents devient trop longue. Par exemple, les détergents ioniques comme le SDS sont souvent très efficaces pour solubiliser les protéines mais ils entraînent la plupart du temps leurs dénaturation tandis que les détergents neutres (OG, DDM,...) solubilisent moins bien les protéines mais sont plus aptes à les maintenir en solution aqueuse dans leur état natif<sup>24</sup>.

Pour cela, il est préférable, soit d'ôter les détergents recouvrant les domaines hydrophobes et de transférer la protéine dans un environnement qui lui est plus favorable ou encore d'échanger les détergents du complexe protéine-détergent par d'autres tensioactifs capables de stabiliser et maintenir plus efficacement la protéine en solution aqueuse.

---

<sup>24</sup> P. Raman, V. Cherezov and M. Caffrey, *Cell Mol. Life Sci.*, **2006**, 63, 36-51 ; S.H. White, M.C. Wiener, *Methods*, **2004**, 34, 364-372.

## **1. Retrait et échange des détergents**

De nombreuses méthodes existent mais le choix de la technique est la plupart du temps établi en fonction des propriétés du détergent, en particulier sa CMC et son nombre d'agrégation.

Les détergents avec une CMC élevée sont dilués au dessus de la CMC en présence du nouveau tensioactif pour que les micelles se déstructurent en monomères et puissent être facilement retirés par diffusion à travers les pores d'une membrane de dialyse au cours du temps. Ceci s'applique bien sûr uniquement lorsque le nouveau tensioactif ajouté en excès présente une CMC beaucoup plus faible que le détergent primaire.

Les détergents ayant une CMC basse sont typiquement retirés par adsorption sur des billes de polystyrène hydrophobes nanoporeuses appelées « biobeads ». Les détergents liés aux billes peuvent ensuite être retirés par filtration ou ultracentrifugation<sup>25</sup>.

La chromatographie d'exclusion moléculaire communément appelée filtration sur gel permet de séparer aisément les micelles de détergent, les complexes protéine-détergent et les protéines libres grâce à leurs différences de taille.

Les détergents peuvent aussi être retirés ou échangés par différents types de colonnes de chromatographie basées sur un principe de séparation impliquant des interactions électrostatiques. On retrouve la chromatographie échangeuse d'ions et une chromatographie particulière utilisant une résine au nickel pour fixer des protéines recombinantes fonctionnalisées par une étiquette polyhistidine appelée « His-tag »<sup>26</sup>.

Cependant, les systèmes organisés de détergents ont des difficultés à imiter la membrane native de la protéine et conduisent quand même parfois à la dénaturation de la protéine au bout d'une période prolongée. Pour cela, plusieurs systèmes mixtes lipide-détergent ont été proposés comme modèle de reconstitution des membranes autour des protéines pour pouvoir réaliser des études structurales ou encore des essais de cristallisation.

## **2. Reconstitution d'un modèle membranaire autour de la protéine**

Les protéines membranaires peuvent généralement être reconstituées dans des structures vésiculaires nommées protéoliposomes<sup>27</sup>. Ils peuvent s'obtenir de deux façons à partir d'une solution contenant les complexes détergent-protéine et les liposomes :

---

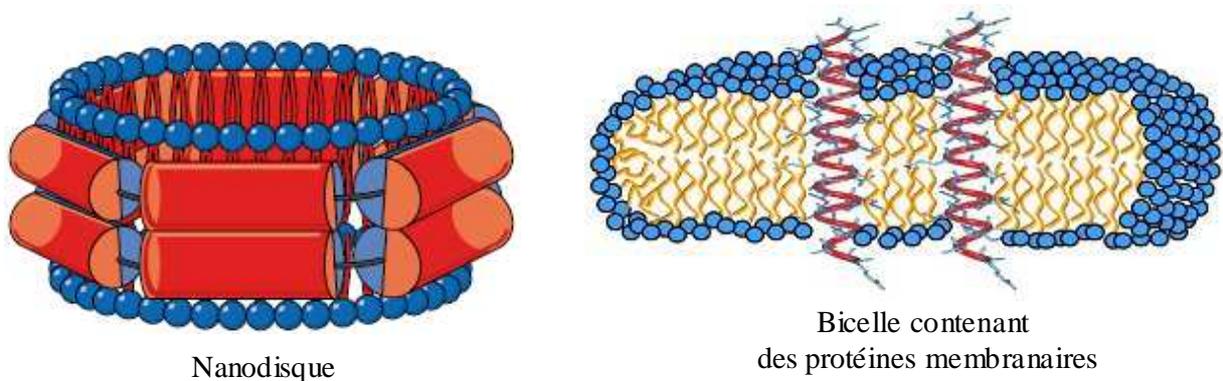
<sup>25</sup> J.L. Rigaud, G. Mosser, J.J. Lacapère, A. Olofsson, D. Levy, J.L. Ranck, *J. Struct. Biol.*, **1997**, 118, 226-235.

<sup>26</sup> A. Seddon, P. Curnow, P.J. Booth, *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, 1666, 105-117.

<sup>27</sup> A.J. Furth, *Anal. Biochem.*, **1980**, 109, 207-215 ; T. Gulik-Krzywinski, M. Seigneuret, J.L. Rigaud, *J. Biol. Chem.*, **1987**, 262, 15580-15588.

- soit en diluant la solution au dessous de la CMC du détergent pour libérer les protéines et permettre leurs transferts dans les liposomes,
- ou en additionnant un détergent supplémentaire pour augmenter la perméabilité de la bicouche des liposomes et favoriser l'insertion des protéines.

Les nanodisques sont des auto-assemblages complexes qui comportent une bicouche de phospholipides entourée par une plateforme composée de protéines membranaires répétitives d'environ 200 résidus formant une série d'hélices amphiphiles reliées entre elles<sup>28</sup> (Figure 1-13).



**Figure 1-25** : Représentation de modèles membranaires.

Ce modèle permet d'accueillir une protéine cible de taille variable et de reconstituer sa structure fonctionnelle à l'intérieur de l'environnement artificiel qui mime la membrane native de la protéine<sup>29</sup>.

Les bicelles sont des systèmes membranaires composés à la fois de lipides et de détergents qui sont devenus des outils couramment utilisés dans les applications de spectroscopie RMN en solution ou à l'état solide<sup>30</sup>, et plus récemment dans la cristallographie des protéines membranaires<sup>31</sup>. Ces assemblages de bicouches planes stabilisées présentent plusieurs avantages par rapport aux systèmes micellaires mixtes traditionnels :

<sup>28</sup> T.H. Bayburt and S.G. Sligar, *Protein Sci.*, **2003**, 12, 2476-2481 ; S.G. Sligar, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2003**, 312, 115-119.

<sup>29</sup> T.H. Bayburt and S.G. Sligar, *Protein Sci.*, **2003**, 12, 2476-2481 ; H. Duan, N.R. Civjan, S.G. Sligar and M.A. Schuler, *Arch. Biochem. Biophys.*, **2004**, 424, 141-53.

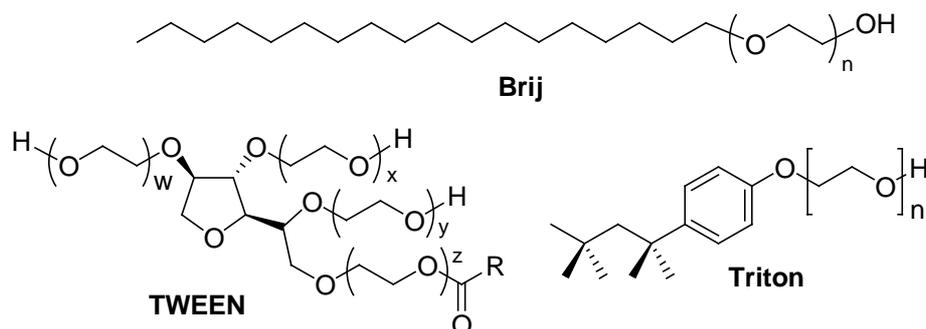
<sup>30</sup> R.S. Prosser, S.A. Hunt, J.A. DiNatale and R.R. Vold, *Biochemistry*, **2006**, 45, 8453-8465 ; S.F. Poget and M.E. Girvin, *Biochim. Biophys. Acta*, **2007**, 1768, 3098-3106 ; A.A. De Angelis and S.J. Opella, *Nat. Protoc.*, **2007**, 2, 2332-2338 ; H.M. Kim, S.C. Howell, W.D. Van Horn, Y.H. Jeon and C.R. Sanders, *Progr. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **2009**, 55, 335-360.

<sup>31</sup> S. Faham and J.U. Bowie, *J. Mol. Biol.*, **2002**, 316, 1-6 ; S. Faham, G.L. Boulting, E.A. Massey, S. Yohannan, D. Yang and J.U. Bowie, *Protein Sci.*, **2005**, 14, 836-840.

- les bicelles reconstituent un environnement plus proche des membranes natives pour l'étude structurale des protéines membranaires,
- les effets de courbure des membranes sont moins prononcés que ceux des micelles pures de détergent,
- pour les études de RMN, les tailles des bicelles sont suffisamment petites pour être alignées dans le champ magnétique,
- pour les essais de cristallisation, les bicelles sont faciles à manipuler et les cristaux produits peuvent être facilement isolés pour la diffraction des rayons X.

## V. Nouvelles alternatives aux détergents usuels

Les détergents Triton, Brij et Tween (Figure 1-14) sont couramment utilisés dans les laboratoires de biologie moléculaire, mais sont considérés comme étant chimiquement hétérogènes pour des études structurales, et les chercheurs dans ce secteur préfèrent des détergents qui se présentent sous la forme d'une espèce chimiquement bien définie.



**Figure 1-27** : Exemples de détergents commerciaux possédant une structure chimique hétérogène.

D'autres détergents souvent utilisés dans les études structurales et fonctionnelles des protéines sont les alkyles glycosides<sup>32</sup>. Les alkyles glucosides et maltosides ont permis la cristallisation d'un certain nombre de protéines membranaires<sup>33</sup> tandis que des chaînes plus longues d'alkyles glycosides comme le dodécylmaltoside, le tétradécylmaltoside ou l'hexadécylmaltoside ont permis de stabiliser divers états oligomériques de PGCRs<sup>34</sup>. Bien

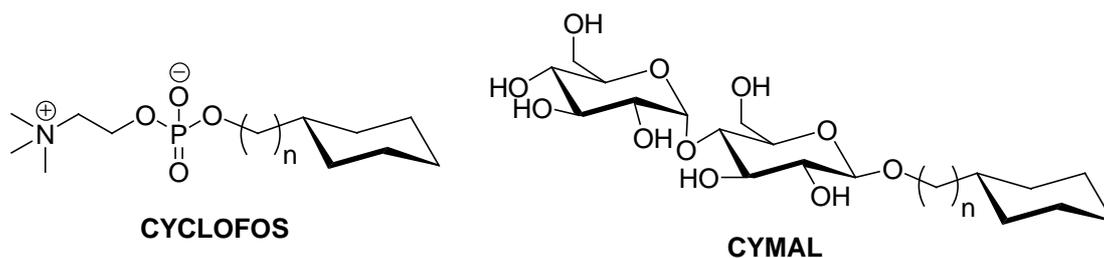
<sup>32</sup> P. Raman, V. Cherezov and M. Caffrey, *Cell Mol. Life Sci.*, **2006**, 63, 36-51 ; S.H. White, M.C. Wiener, *Methods*, **2004**, 34, 364-372.

<sup>33</sup> E. Pebay-Peyroula, R.M. Garavito, J. P. Rosenbusch, M. Zulauf and P.A. Timmins, *Structure*, **1995**, 3, 1051-1059 ; M.A. Rosenow, D. Brune and J.P. Allen, *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, **2003**, 59, 1422-1428 ; E.S. Istvan, , C.A. Hasemann, R.G. Kurumbail, K. Uyeda and J. Deisenhofer, *Protein Sci.*, **1995**, 4, 2439-2441 ; J.P. Allen, *Proteins*, **1994**, 20, 283-286.

<sup>34</sup> B. Jastrzebska, D. Fotiadis, G.F. Jang, R.E. Stenkamp, A. Engel and K. Palczewski, *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281, 11917-11922.

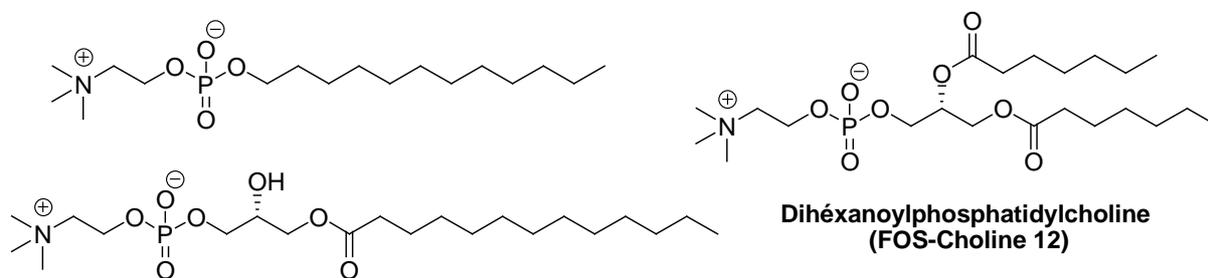
qu'ils soient considérés comme des détergents plus « doux », cela ne leur permet pas pour autant dans certains cas d'éviter le problème d'inactivation des protéines.

Pour remédier à cet inconvénient, de nouveaux détergents sont constamment en développement dans la communauté scientifique. Le principe de ces variations structurales est d'empêcher l'insertion trop intime de la partie hydrophobe du tensioactif dans le domaine transmembranaire de la protéine. Pour cela, il est utile d'introduire des chaînes ramifiées ou cycliques pour les rigidifier, des chaînes doubles très courtes ou encore des chaînes perfluorées.



**Figure 1-29** : Détergents récents portant un cycle dans leurs parties hydrophobes.

Parmi eux, on retrouve des détergents qui comportent des cycles aliphatiques dans leurs domaines hydrophobes (Figure 1-15) ou encore les lysophospholipides qui s'apparentent aux phospholipides naturels des membranes biologiques (Figure 1-16).



**Figure 1-31** : Structures de détergent similaires aux phospholipides présents dans les membranes biologiques.

Ces derniers forment des agrégats hydrosolubles capables de conserver des PGCRs fonctionnelles après extraction à l'intérieur de micelles de lysophospholipides, notamment avec la FOS-Choline 12 portant des chaînes courtes<sup>35</sup>.

Les lipopeptides appelés aussi peptitergents<sup>36</sup> sont des détergents peptidiques composés d'environ 25 résidus d'acides aminés reliés à des chaînes acyles aux extrémités du

<sup>35</sup> C. Klammt, D. Schwarz, K. Fendler, W. Haase, V. Dötsch and F. Bernhard, *FEBS J.*, **2005**, 272, 6024-6038 ; C. Klammt, D. Schwarz, F. Lohr, B. Schneider, V. Dötsch and F. Bernhard, *FEBS J.*, **2006**, 273, 4141-4153 ; A. Mandal, S. Das, T. Chakraborti, P. Kar, B. Ghosh and S. Chakraborti, *Biochim. Biophys. Acta*, **2006**, 1760, 20-31.

peptide. Le peptide forme généralement une hélice  $\alpha$  amphiphile qui est capable en solution aqueuse de contenir les queues alkyles à l'intérieur d'une micelle cylindrique rigide ayant un faible nombre d'agrégation. Leurs synthèses sont toutefois assez coûteuses en raison de leurs structures chimiques complexes.

Une autre alternative concerne l'utilisation des tensioactifs fluorés dans lesquels le laboratoire de Chimie Bio-Organique et des Systèmes Moléculaires Vectoriels (LCBOSMV) de l'université d'Avignon est spécialisé et s'est pleinement investi depuis plus de 20 ans.

La structure chimique des tensioactifs fluorés ressemble à celle des détergents classiques, mis à part que leurs queues hydrophobes portent des atomes de fluor. Cette caractéristique est d'ailleurs la raison de leur utilisation puisqu'ils ont peu d'affinité vis-à-vis des chaînes hydrocarbonées<sup>37</sup> telles que celles des lipides et les rend donc incapables de perturber la cohésion des membranes<sup>38</sup>.

Les tensioactifs fluorés sont plus doux vis à vis des protéines membranaires que les détergents classiques pour deux raisons :

- les lipides, sous-unités et cofacteurs hydrophobes des protéines ne sont pas ou peu dissous dans les micelles de tensioactif fluoré,
- les chaînes alkyles fluorées, étant plus encombrantes et plus rigides que leurs homologues hydrocarbonées sont supposées être moins intrusives donc moins propices à la déstabilisation des interactions protéine-protéine.

Les premières molécules testées étaient constituées d'une tête polaire oligomérique dérivée du Tris(hydroxyméthyl)aminométhane (THAM) et d'une chaîne hydrophobe perfluorée<sup>39</sup> (Figure 1-17).

Cette nouvelle génération de tensioactifs qui ne présentait aucun pouvoir détergent vis-à-vis des membranes cellulaires se révéla cependant apte à maintenir en solution les protéines membranaires sans aucune dénaturation<sup>40</sup>.

---

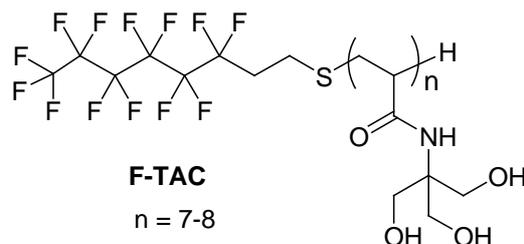
<sup>36</sup> C.E. Schafmeister, L.J.W. Miercke and R.A. Stroud, *Science*, **1993**, 262, 734-738 ; C.L. McGregor, L. Chen, N.C. Pomroy, P. Hwang, S. Go, A. Chakrabarty and G.G. Privé, *Nat. Biotechnol.*, **2003**, 21, 171-176 ; E. Kelly, G.G. Privé P.D. Tieleman, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 13446-13447 ; D.N. Ho, N.C. Pomroy, J.A. Cuesta-Seijo and G.G. Privé, *Biophysics*, **2008**, 105, 12861-12866.

<sup>37</sup> E. Kissa, « *Fluorinated surfactants: synthesis, properties, applications* », Marcel Dekker, Inc., New York, **1994** ; P. Mukerjee, *Colloid Surf. A*, **1994**, 84, 1-10 ; T.Y. Nakano, G. Sugihara, T. Nakashima and S.C. Yu, *Langmuir*, **2002**, 18, 8777-8785 ; P. Barthélémy, V. Tomao, J. Selb, Y. Chaudier and B. Pucci, *Langmuir*, **2002**, 18, 2557-2563

<sup>38</sup> S.S. Palchevskyy, Y.O. Posokhov, B. Olivier, J.L. Popot, B. Pucci and A.S. Ladokhin, *Biochemistry*, **2006**, 45, 2629-2635 ; K-H. Park, C. Berrier, F. Lebaupain, B. Pucci, J-L. Popot, A. Ghazi and F. Zito, *Biochem. J.*, **2007**, 403, 183-187.

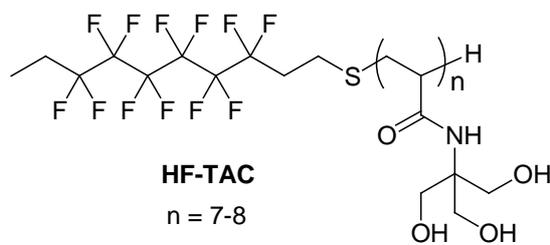
<sup>39</sup> A.A. Pavia, B. Pucci, J.G. Riess and L. Zarif, *Macromol. Chem.*, **1992**, 193, 2505-2517.

<sup>40</sup> E. Chabaud, P. Barthélémy, N. Mora, J.L. Popot and B. Pucci, *Biochimie*, **1998**, 80, 515-530.



**Figure 1-33** : Premier tensioactif fluoré synthétisé au LCBOSMV.

Compte tenu de l'intérêt présenté par cette nouvelle classe de tensioactifs, le laboratoire développa par la suite une deuxième génération de tensioactif en introduisant un segment hydrogéné à l'extrémité de la queue fluorée ceci afin d'accroître les interactions de la chaîne hydrophobe du tensioactif avec les groupements hydrophobes recouvrant la surface transmembranaire de la protéine (Figure 1-18).



**Figure 1-35** : Premier tensioactif hémifluoré synthétisé au LCBOSMV.

Une nouvelle classe de tensioactifs dite « hémifluorés »<sup>41</sup> a vu le jour et a montré des résultats très prometteurs dont la plupart des applications sont encore en cours de développement<sup>42</sup>.

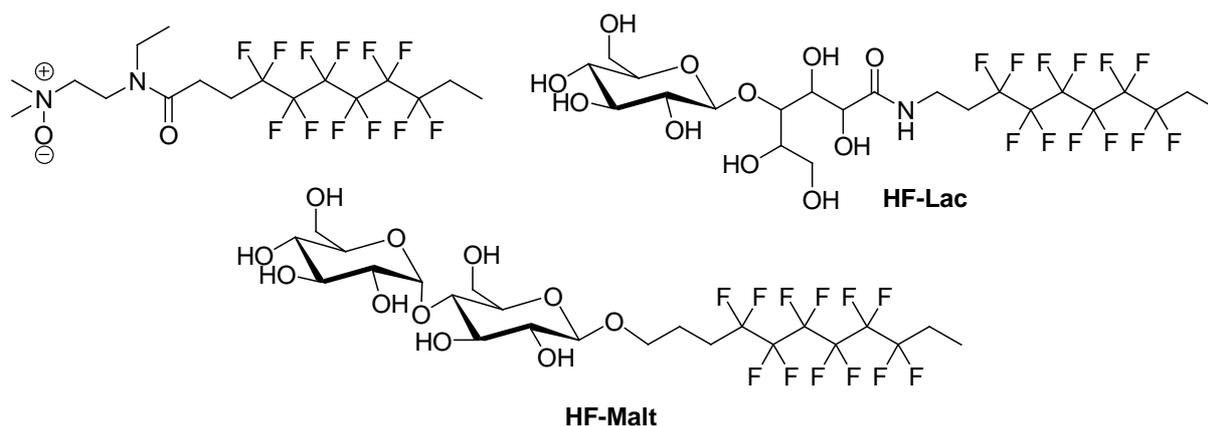
Cependant, la tête polaire oligomérique du HF-TAC synthétisée par réaction radicalaire pose un inconvénient. Elle conduit inévitablement à une polydispersité structurale de la partie polaire. La synthèse conduit donc à un mélange de molécules oligomères dont la composition peut varier d'un lot à l'autre.

Le laboratoire a donc envisagé de substituer cette tête oligomérique par des têtes polaires monodisperses tels qu'un oxyde d'amine<sup>43</sup>, des groupements saccharidiques dérivés soit du galactose<sup>44</sup>, du lactose<sup>45</sup> ou du maltose<sup>46</sup> (Figure 1-19).

<sup>41</sup> C. Breyton, E. Chabaud, Y. Chaudier, B. Pucci and J.L. Popot, *FEBS Lett.*, **2004**, 564, 312-318 ; B. Améduri, E. Chabaud, J-L. Popot and B. Pucci, *Org. Lett.*, **1999**, 1, 1689-1692 ; Y. Chaudier, P. Barthélémy and B. Pucci, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 3583-3585.

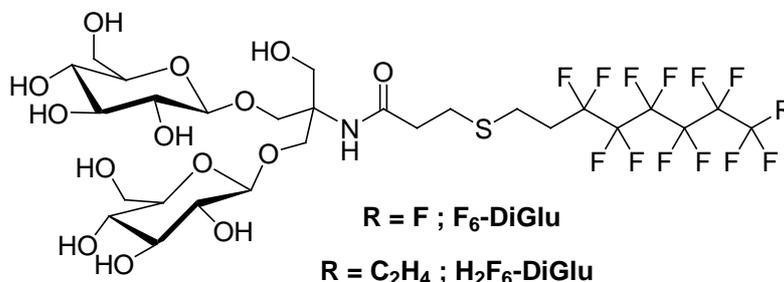
<sup>42</sup> C. Breyton, C. Tribet, J. Olive, J-P. Dubacq and J-L. Popot, *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 21892-21900.

<sup>43</sup> Y. Chaudier, F. Zito, P. Barthélémy, D. Stroebel, B. Améduri, J-L. Popot and B. Pucci, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 1587-1590.



**Figure 1-37** : Tensioactifs hémifluorés portant une tête polaire monodisperse.

Les molécules hémifluorées de dernière génération ont le volume de leur partie polaire qui peut être aisément modulée par fixation de 1, 2 ou 3 résidus glucose<sup>47</sup> (Figure 1-20).



**Figure 1-39** : Tensioactifs hémifluorés formant de petits complexes protéine-tensioactif.

Des polymères amphiphiles nommés amphipols<sup>48</sup> servant également à maintenir les protéines membranaires solubles sont en cours de développement au laboratoire. Ils possèdent un large nombre de chaînes hydrophobes qui leur permet de s'enrouler autour de la protéine et de créer de multiples points de contact avec ses régions transmembranaire (Figure 1-21).

Il en résulte un très faible taux de désorption spontanée et une très bonne affinité avec les protéines, qui favorise donc la solubilisation individuelle des protéines sous forme de petits complexes stables durant des périodes de temps prolongées.

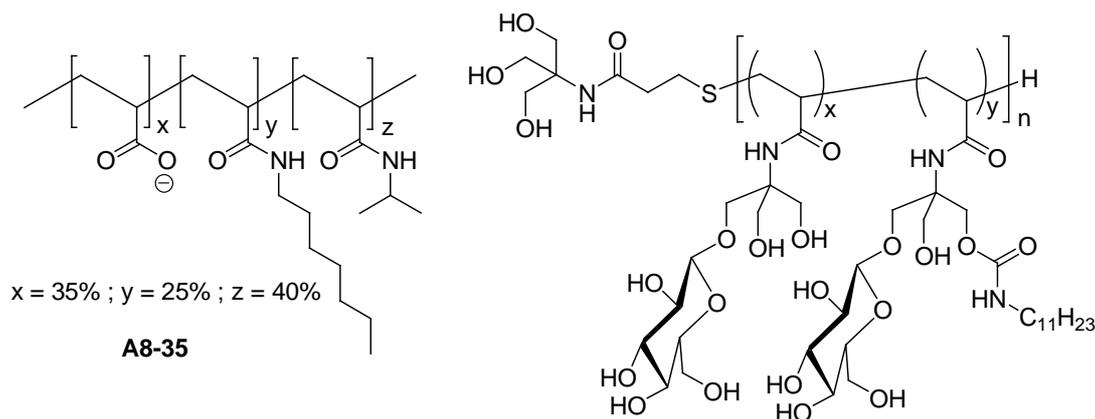
<sup>44</sup> E. Chabaud, P. Barthélémy, N. Mora, J.L. Popot and B. Pucci, *Biochimie*, **1998**, 80, 515-530.

<sup>45</sup> F. Lebaupain, A.G. Salvay, B. Olivier, G. Durand, A-S. Fabiano, N. Michel, J-L. Popot, C. Ebel, C. Breyton and B. Pucci, *Langmuir*, **2006**, 22, 8881-8890.

<sup>46</sup> A. Polidori, M. Passet, F. Lebaupain, B. Améduri, J-L. Popot, C. Breyton and B. Pucci, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, 16, 5827-5831.

<sup>47</sup> M. Abla, G. Durand and B. Pucci, *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 8142-8153.

<sup>48</sup> J-L. Popot, E.A. Berry, D. Charvolin, C. Creuzenet, C. Ebel, D.M. Engelman, M. Flötenmeyer, F. Giusti, Y. Gohon, Q. Hong, J.H. Lakey, K. Leonard, H.A. Shuman, P. Timmins, D.E. Warschawski, F. Zito, M. Zoonens, B. Pucci and C. Tribet, *Cell Mol. Life Sci.*, **2003**, 60, 1559-1574 ; C. Tribet, R. Audebert and J.L. Popot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, 15047-15050 ; P. Bazzacco, K.S. Sharma, G. Durand, F. Giusti, C. Ebel, J.L. Popot and B. Pucci, *Biomacromolecules*, **2009**, 10, 3317-3326 ; K.S. Sharma, G. Durand, F. Giusti, B. Olivier, A.-S. Fabiano, P. Bazzacco, T. Dahmane, C. Ebel, J.-L. Popot and B. Pucci, *Langmuir*, **2008**, 24, 13581-13590.



**Figure 1-41** : Exemples de structures d'amphipols.

De plus, contrairement aux détergents qui nécessitent de travailler à une concentration supérieure à leur CMC pour éviter l'agrégation de la protéine, les amphipols peuvent être utilisés à des concentrations faibles. Cela permet d'éviter la séparation de cofacteurs ou sous-unités protéiques indispensables au maintien de l'intégrité de la protéine.

Une autre famille de composés amphiphiles appelés tripodes amphiphiles<sup>49</sup> ont également été développés par l'équipe de Gellman dans le but d'atténuer la flexibilité de la partie hydrophobe des détergents soupçonnée d'être une des causes majeures des phénomènes de dénaturation des protéines solubilisées en détergents. De plus, cette caractéristique constitue souvent une barrière à la cristallisation des complexes protéine-détergent. En raison de modifications conformationnelles permanentes des molécules de détergent, les complexes ont des difficultés à se regrouper à l'intérieur du réseau cristallin.

Pour cela, une balance entre flexibilité et rigidité a été jugée nécessaire pour obtenir de meilleurs résultats par cette équipe de recherche. Un point de ramification a donc été introduit pour induire des restrictions conformationnelles partielles sur le segment hydrophobe et limiter les mouvements de torsion autour des liaisons proches du carbone quaternaire<sup>50</sup>.

Plusieurs dérivés ont ainsi été synthétisés avec une partie hydrophobe comportant trois chaînes rigides et une partie hydrophile de type oxyde d'amine ou de nature saccharidique dans laquelle le volume a été modulé en modifiant le nombre de motifs (Figure 1-22).

<sup>49</sup> S.M. Yu, D.T. McQuade, M.A. Quinn, C.P. Hackenberger, M.P. Krebs, A.S. Polans and S.H. Gellman, *Protein Sci.*, **2000**, 9, 2518-2527 ; M.J. Theisen, T.B. Potocky, D.T. McQuade, S.H. Gellman and M.L. Chiu, *Biochim. Biophys. Acta*, **2005**, 1751, 213-216 ; P.S. Chae, M.J. Wander, A.P. Bowling, P.D. Laible and S.H. Gellman, *ChemBioChem*, **2008**, 9, 1706-1709.

<sup>50</sup> R.W. Hoffmann, *Angew. Chem.*, **1992**, 104, 1147-1157; R.W. Hoffmann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, 31, 1124-1134.

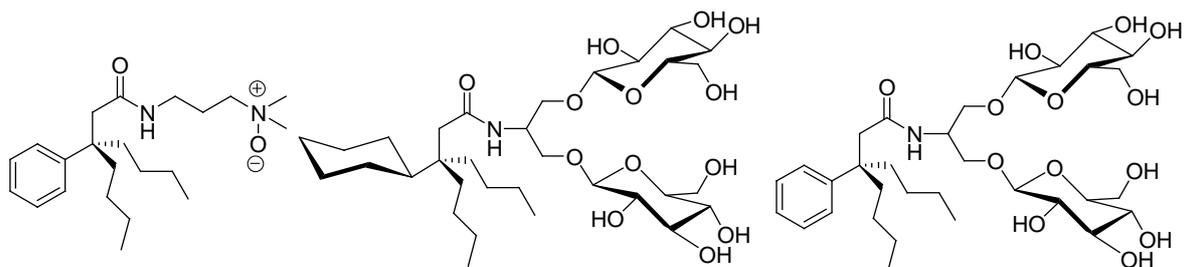


Figure 1-43 : Exemples de structures des tripodes amphiphiles.

Récemment, une nouvelle molécule basée sur le corps stéroïde de l'acide cholique manifestant une amphiphilie « faciale » a été mise au point (Figure 1-23)<sup>51</sup>.

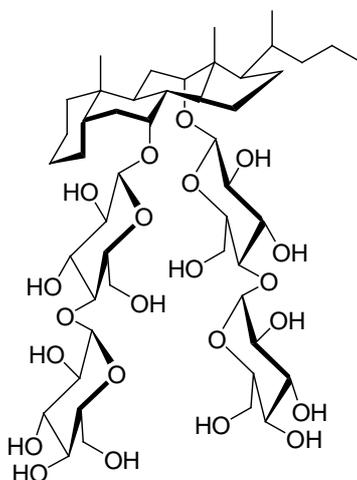


Figure 1-45 : Amphiphile faciale dérivé de l'acide cholique.

Les dérivés de l'acide cholique fonctionnalisés sur sa fonction carboxylate (CHAPS, CHAPSO,...) ont permis l'obtention de détergents qui ont ouvert de nouvelles perspectives dans l'étude des protéines membranaires<sup>52</sup>. Mais en l'absence de la fonction polaire latérale, ces dérivés avec seulement trois groupes hydroxyles apportent une faible contribution à l'amphiphilie faciale des molécules, ce qui les rend peu solubles dans l'eau.

Des résidus maltoses ont été fixés sur les groupes hydroxyles parallèles situés au centre du squelette stéroïde de manière à résoudre ces problèmes de solubilité. De cette manière, les amphiphiles sont capables de s'auto-assembler face à face en solution et de stabiliser des protéines membranaires. Ce type d'architecture comportant une amphiphilie faciale a pourtant été peu exploité et les portes restent ouvertes dans ce domaine pour concevoir de nouveaux outils dans la manipulation des protéines membranaires.

<sup>51</sup> Q. Zhang, X. Ma, A. Ward, W-X. Hong, V-P. Jaakola, R.C. Stevens, M.G.Finn and G. Chang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 7023-7025.

<sup>52</sup> L. M. Hjelmeland, *Proc.Natl. Acad. Sci.USA*, **1980**, 77, 6368-6370; L. M. Hjelmeland, *Methods Enzymol.*, **1986**, 124, 135-164.

## **VI. Cristallisation des protéines membranaires**

Actuellement, la cristallisation des protéines membranaires est toujours une pratique par tâtonnements, exigeant beaucoup de combinaisons par des tests empiriques comprenant une grande variété de paramètres expérimentaux. Cette cristallisation se révèle donc parfois très longue et la réussite peut s'avérer très hasardeuse.

Bien que la cristallisation 3D conventionnelle fournisse la majorité des structures atomiques des protéines membranaires, les chances de succès de développer des cristaux 3D dans des micelles de détergent avec une très bonne résolution restent relativement rares<sup>53</sup>. Seulement quelques centaines de protéines membranaires ont déjà été cristallisées et caractérisées structurellement, notamment par diffraction des rayons X.

Cet inconvénient est principalement relié aux difficultés de développer et maintenir un réseau cristallin à travers les interactions présentes entre les domaines hydrophiles extracellulaires des protéines, les domaines hydrophobes étant recouverts par les micelles de détergents<sup>54</sup>. Une approche avait été introduite pour remédier à ce problème en reliant des fragments d'anticorps spécifiques à la protéine pour favoriser les contacts entre les domaines hydrophiles de la protéine membranaire<sup>55</sup>.

Classiquement, les cristaux de protéine se développent à partir de solutions sursaturées de protéines. L'sursaturation est couramment induite de différentes manières :

- En ajoutant directement un précipitant volumineux de nature polymérique à la solution,
- En modifiant les conditions de la solution (pH, force ionique, température,...),
- En changeant la nature de la solution par l'ajout d'un ligand ou le retrait d'un agent de solubilisation (dialyse),
- En concentrant la solution par évaporation du milieu tampon (diffusion de vapeur).

La cristallisation nécessite que les molécules soient ordonnées et orientées correctement entre elles pour développer un réseau cristallin. Ces restrictions sont cependant difficiles à obtenir dans le cas des protéines membranaires. En effet, la dynamique interne présente au sein des protéines provoque une agitation thermique qui a pour conséquence de donner aux protéines des topologies très irrégulières, avec en surface des densités de charge

---

<sup>53</sup> C. Ostermeier and H. Michel, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1997**, 7, 697-701.

<sup>54</sup> R.M. Garavito, D. Picot and P.J. Loll, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **1995**, 28, 1-8 ; C. Ostermeier and H. Michel, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1997, 7, 697-701.

<sup>55</sup> S. Iwata, C. Ostermeier, B. Ludwig and H. Michel, *Nature*, **1995**, 376, 660-665.

réparties inégalement. Ainsi, ces propriétés et caractéristiques de surface font que les complexes protéine/détergent n'ont pas une orientation nette dans l'espace.

Par conséquent, la découverte des conditions nécessaires à la formation de cristaux de protéine bien ordonnés est souvent un procédé fastidieux et délicat où chaque variable expérimentale peut être systématiquement changée selon la méthode de cristallisation utilisée. De même, les méthodes de cristallographie par rayons X nécessitent souvent de larges quantités de protéines pures pour permettre le criblage de différentes conditions de cristallisation et mettre au point la technique de cristallisation adaptée à la protéine étudiée.

Heureusement, des méthodes de criblages à hauts débits automatisées<sup>56</sup> qui utilisent de petites quantités de protéines en solution dans une plaque multi-puits sont maintenant disponibles pour remédier au fardeau des procédures de purification et d'expression à grande échelle quand les protéines sont difficiles à obtenir.

L'approche « sparse matrix »<sup>57</sup>, une stratégie cherchant à utiliser une série limitée d'essais dans des conditions extrêmes de cristallisation permet de screener une gamme de conditions productives ou de déterminer si la protéine « veut » cristalliser. Lorsqu'un premier résultat est observé, des améliorations sont réalisées à partir des conditions initiales afin d'accroître la qualité du cristal et sa taille. L'approche « second coefficient du viriel » a également fait ses preuves pour comprendre et modéliser les potentiels interparticulaires dans la cristallisation des protéines membranaires.

Malgré tout, on voit bien que les cristaux de protéines membranaires ne sont pas faciles à obtenir. Cela est largement dû au fait que la plupart des protéines :

- révèlent des diagrammes de phases complexes<sup>58</sup>.
- sont très sensibles aux conditions de la solution (pH, force ionique et température).
- sont difficiles à obtenir sous une forme extrêmement pure en raison de leur dégradation protéolytique,
- ont un haut degré de flexibilité qui peut produire des états de repliement de la protéine en une structure tertiaire incorrecte non fonctionnelle,
- sont difficiles à concentrer dans des conditions douces,
- produisent des cristaux fragiles en raison de leur haute teneur en eau.

---

<sup>56</sup> C.F. Snook and M.C. Wiener, *J. Appl. Crystallogr.*, **2000**, 33, 344-349 ; D. Stock, O. Perisic and J. Löwe, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **2005**, 88, 311-327 ; M.L. Pusey, Z.J. Liu, W. Tempel, J. Praissman, D. Lin, B.C. Wang, J.A. Gavira and J.D. Ng, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **2005**, 88, 359-386.

<sup>57</sup> J. Jancarik and S. H. Kim, *J. Appl. Crystallogr.*, **1991**, 24, 409-411 ; B. Rupp, *Acc. Chem. Res.*, **2003**, 36, 173-181.

<sup>58</sup> A. McPherson, *Methods*, **2004**, 34, 254-265 ; N. Asherie, *Methods*, **2004**, 34, 66-71 ; N.E. Chayen, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **2005**, 88, 329-337.

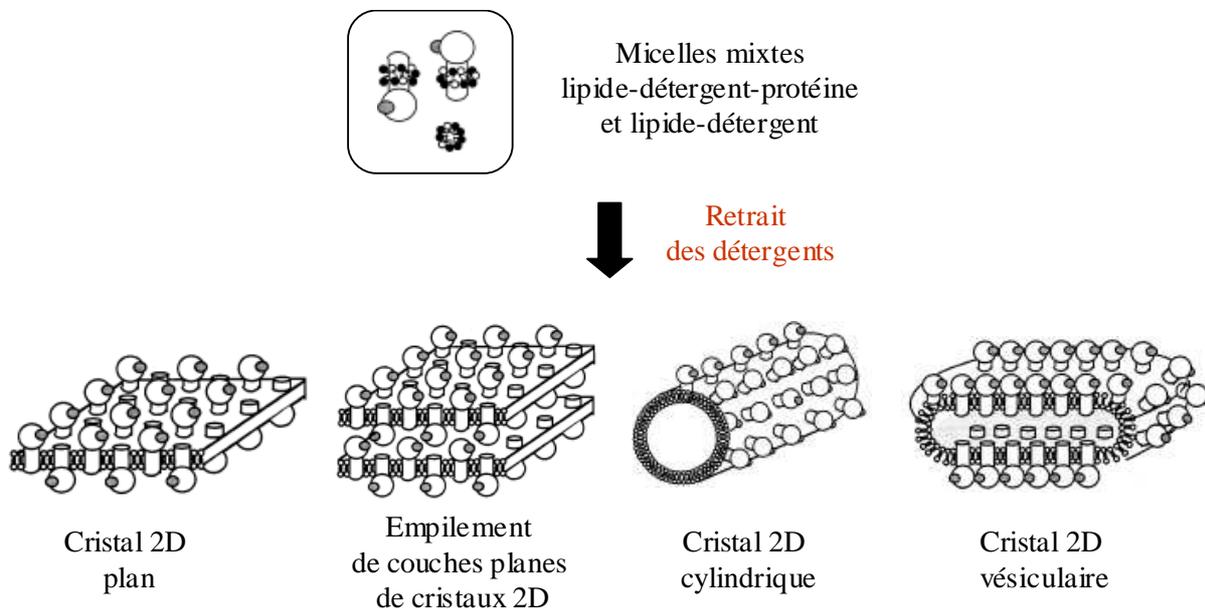
Les difficultés de cristallisation sont aussi reliées à la complexité du système qui nécessite de gérer les diagrammes de phase à la fois pour les complexes protéine-détergent et les micelles de détergents.

Nous avons vu que les orientations aléatoires des protéines dans un environnement tridimensionnel pouvaient gêner considérablement l'organisation des molécules ainsi que leur cristallisation.

Comme une alternative viable à la cristallisation 3D des protéines membranaires dans des micelles de détergent, la reconstitution de protéines membranaires à l'intérieur de membranes lipidiques pour former des cristaux maintenus dans un plan a ouvert de nouvelles voies pour résoudre des structures par cristallographie électronique.

## VII. Cristallisation 2D de protéines isolées dans des micelles de détergent

Excepté pour quelques exemples de cristaux 2D réguliers de protéines dans les membranes natives<sup>59</sup>, la stratégie la plus employée pour la cristallisation 2D est liée à une méthode générale de reconstitution des protéines membranaires par retrait du détergent<sup>60</sup>.



**Figure 1-47** : Différents types de cristaux 2D formés par la méthode de reconstitution des protéines membranaires.

<sup>59</sup> R. Henderson, J.M. Baldwin, T.A. Ceska, F. Zemlin, E. Beckmann and K.H. Downing, *J. Mol. Biol.*, **1990**, 213, 899-929 ; A. Miyazawa, Y. Fujiyoshi, M. Stowell and N. Unwin, *J. Mol. Biol.*, **1999**, 288, 765-786.

<sup>60</sup> J.L. Rigaud, B. Pitard and D. Lévy, *Biochim. Biophys. Acta*, **1995**, 1231, 223-246.

La stratégie requiert une combinaison adéquate de lipides et la protéine solubilisée dans des micelles de détergent. Le retrait des détergents de la solution contenant des micelles mixtes lipide/détergent et lipide/protéine/détergent provoque la formation progressive de bicouches lipidiques dans lesquelles les protéines s'incorporent de manière ordonnée pour cristalliser (Figure 1-24).

Dans certains cas, les architectures incorporant des cristaux 2D peuvent s'auto-assembler pour conduire à des cristaux 3D.

Les cristallisation 3D n'implique que des contacts intermoléculaires spécifiques entre les domaines hydrophiles extramembranaires tandis que des contacts intermoléculaires entre les domaines intrinsèques hydrophobes de la macromolécule interviennent lors de la cristallisation 2D de protéines incorporées dans les membranes

Outre la structure elle-même de la protéine membranaire et un large nombre de paramètres qui affectent critiqueusement la production des cristaux 2D (température, composition du milieu tampon, ratio lipide/protéine, nature des composants de la micelle), la cinétique de retrait des détergents est le critère déterminant dans le processus de reconstitution puisqu'il contrôle la transition de phase des micelles en bicouches<sup>61</sup>, l'incorporation de la protéine à l'intérieur de la bicouche<sup>62</sup> et sa cristallisation ainsi que la taille et la morphologie des objets reconstitués.

Le retrait des détergents peut se faire globalement de trois manières différentes en fonction de la CMC du détergent et va être plus ou moins rapide selon la procédure utilisée :

- La dialyse permet un retrait lent et progressif dans le temps.
- L'ajout de biobeads permet un retrait rapide sur une courte période.
- La dilution de la solution permet de rompre les micelles de détergent pour relarguer les détergents en solution sous forme de monomères. On peut noter que cette méthode ne correspond pas réellement à un moyen d'élimination des détergents.

La réussite de la cristallisation 2D va consister à choisir judicieusement le couple détergent/lipide et de combiner les stratégies de retrait des détergents pour contrôler et faire varier la vitesse d'élimination du détergent lors du processus de reconstitution. Cependant, la méthode traditionnelle de reconstitution reste limitée et pose des difficultés lors de la cristallisation 2D des protéines membranaires pour plusieurs raisons :

---

<sup>61</sup> D.D. Lasic, *J. Biochem.*, **1988**, 256, 1-11.

<sup>62</sup> W. Kuhlbrandt, *Q. Rev. Biophys.*, **1992**, 25, 1-49.

- Les protéines ne s'incorporent pas en quantité suffisante à l'intérieur des bicouches.
- Les protéines ont du mal à se rassembler et s'orienter entre elles pour former un réseau cristallin, ceci étant dû à un manque de fluidité de la bicouche qui empêche la diffusion latérale des protéines.

Depuis plusieurs années, une approche par le concept dit du modèle interfacial a été développée pour contourner ce problème en concentrant et orientant les protéines sur une interface air/eau composée d'une monocouche lipidique. Cette technique a l'avantage de fournir une grande surface d'adsorption à l'interface air/eau, par l'intermédiaire d'une grande variété de lipides pour apporter les interactions spécifiques nécessaires à la fixation des protéines. Le désavantage de cette approche est que les cristaux de protéines développés à l'interface 2D sont seulement constitués d'une seule épaisseur de molécules.

Bien que les cristaux 2D obtenus soient de moyennes résolutions (4-8 Å), ils permettent quand même de révéler la structure secondaire de différentes protéines membranaires encore inconnues par cristallisation 3D et d'analyser les similarités structurales à l'intérieur des familles de protéines<sup>64</sup>.

### **VIII. Objectif de la thèse**

Dans cette optique, mon travail de thèse a consisté à mettre au point de nouveaux outils pratiques à la cristallisation des protéines membranaires. Pour cela, nous avons orienté notre travail vers deux voies complémentaires d'étude des protéines membranaires :

- La conception d'un lipide hémifluoré composé d'un ligand spécifique chélaté à un ion métallique Ni<sup>2+</sup>, ceci dans le but de cristalliser en deux dimensions une protéine membranaire grâce au concept du modèle interfacial.

Nous nous appliquerons à démontrer que cette technique d'étude connue depuis une quinzaine d'années, facile à mettre en œuvre dans l'étude des protéines solubles, pose un certain nombre de problèmes pratiques quand on la transpose à des modèles de protéines transmembranaires et que la résolution de ces problèmes passe

---

<sup>63</sup> R. Henderson, J.M. Baldwin, T.A. Ceska, F. Zemlin, E. Beckmann and K.H. Downing, *J. Mol. Biol.*, **1990**, 213, 899-929 ; W. Kühlbrandt, D.N. Wang and Y. Fujiyoshi, *Nature*, **1994**, 367, 614-621 ; K. Murata, K. Mitsuoka, T. Hirai, T. Walz, P. Agre, J.B. Heymann, A. Engel and Y. Fujiyoshi, *Nature*, **2000**, 407, 599-605.

<sup>64</sup> H. Stahlberg, T. Braun, B. de Groot, A. Philipsen, M. Borgnia, P. Agre, W. Kühlbrandt and A. Engel, *J. Struct. Biol.*, **2000**, 132,133-142.

par la conception de films lipidiques interfaciaux hémifluorés assez complexes à synthétiser

Dans le chapitre suivant, j'introduirai donc la notion de cristallisation 2D en faisant un historique de la technique et de son évolution jusqu'à nos jours. Je présenterai également la synthèse qui a été développée et mise au point pour aboutir au lipide hémifluoré chélaté à un ion nickel  $\text{Ni}^{2+}$ . Ensuite, je décrirai les résultats qui ont été obtenus lors des essais de cristallisation 2D en collaboration avec Catherine Vénien-Bryan au laboratoire de Biophysique Moléculaire à l'Université d'Oxford.

- La conception de nouveaux agents amphiphiles « faciaux » exhibant un noyau central de type aromatique susceptibles de maintenir en solution les protéines membranaires et d'initier leur cristallisation 3D.

Dans un troisième chapitre, j'introduirai donc la notion d'amphiphilie « faciale » et décrirai les types d'architectures existants dans la littérature qui se réfèrent à cette appellation. Je justifierai les choix qui ont été retenus pour concevoir ces agents amphiphiles faciaux. Ceci m'amènera à détailler la longue route nous ayant permis de mener à bien la synthèse de ces structures. Nous verrons donc en détail toutes les stratégies qui ont été envisagées et commenterons dans certains cas les étapes clés de la synthèse.

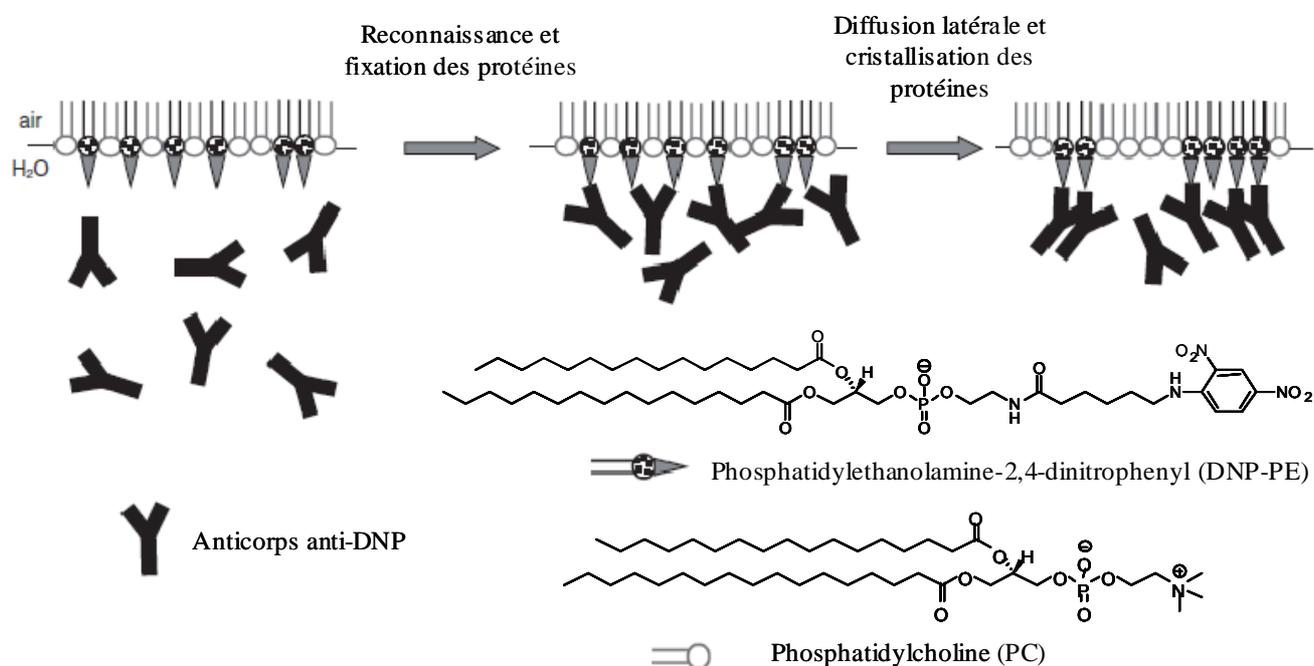
Dans un quatrième chapitre, nous verrons toutes les techniques qui ont été utilisées pour étudier les propriétés physico-chimiques et le comportement de ces composés en solution aqueuse.

*Chapitre 2 : Synthèse d'un lipide  
hémifluoré et étude de cristallisation  
2D de la protéine membranaire SUR1  
sur un film lipidique*

## I. La Cristallisation 2D sur un film lipidique fonctionnalisé

### A. Principe et vue d'ensemble de la technique pour les protéines solubles

Le principe de la méthode de cristallisation 2D des protéines solubles sur un film lipidique, initialement développée par le groupe de Kornberg<sup>1</sup>, est basé sur les interactions spécifiques entre une protéine soluble et un ligand lipidique situé dans un film plan à l'interface air-eau<sup>2</sup>. Lors de sa découverte, le groupe avait utilisé des interactions spécifiques antigène-anticorps à l'interface air-eau pour fixer des protéines solubles IgG anti-DNP sur une monocouche mixte de lipides DNP-PE/PC (1:1) et promouvoir leurs cristallisation 2D (Figure 2-1).



**Figure 2-1 :** Représentation conceptuelle de la cristallisation 2D d'une protéine IgG anti-DNP sur une monocouche mixte de DNP-PE:PC (1:1).

Cette méthode a pu être appliquée à plus de 20 protéines solubles avec différents types d'interactions spécifiques conduisant, pour plusieurs d'entre elles, à une information structurale de haute résolution (3 Å)<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> E.E. Uzgiris and R.D. Kornberg, *Nature*, **1983**, 301, 125.

<sup>2</sup> R.D. Kornberg and S. Darst, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1991**, 1, 642-646 ; A. Brisson, A. Olofsson, P. Ringler, M. Schmutz and S. Stoylova, *Biol. Cell*, **1994**, 80, 221-228 ; W. Chiu, A.J. Avila-Sakar and M.F. Schmid, *Adv. Biophys.*, **1997**, 34, 161-172 ; F.J. Asturias and R.D. Kornberg, *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 6813-6816.

<sup>3</sup> K.K. Leuther, D.A. Bushnell and R.D. Kornberg, *Cell*, **1996**, 85, 773-779 ; A.J. Avila-Sakar and W. Chiu, *Biophys. J.*, **1996**, 70, 57-68.

L'étape préliminaire de la cristallisation 2D sur film lipidique consiste à étaler une solution de lipides solubilisés dans un solvant organique volatile à la surface d'une solution aqueuse. La protéine d'intérêt est présente en solution dans la sous-phase aqueuse en dessous de la monocouche et va venir se concentrer à l'interface air-eau, pouvant produire localement un enrichissement 100 fois supérieur à la concentration initiale de la protéine en solution.

La cristallisation 2D des protéines peut s'établir grâce à la résultante d'une combinaison d'effets qui va nécessiter d'accroître la concentration des protéines en surface par un moyen de reconnaissance, d'induire l'alignement des protéines et de disposer d'une fluidité suffisante du film lipidique pour permettre les interactions protéine-protéine par diffusion latérale des lipides de complexation.

Un des premiers défis dans l'approche de la technique de cristallisation interfaciale est la conception de lipides ayant une affinité spécifique d'interaction avec les protéines. Une question additionnelle de conception repose sur la création d'interfaces dynamiques et parfaitement fluides de lipides, pour conférer une mobilité latérale suffisante des protéines fixées et permettre une optimisation des contacts intermoléculaires qui autorisent un regroupement efficace à l'intérieur d'une structure cristalline<sup>4</sup>. Il a d'ailleurs été montré en utilisant la microscopie à angle de Brewster et la microscopie optique que la tension de surface appliquée pouvait influencer sur la formation des cristaux 2D selon que la monocouche de lipides soit trop ou pas assez compressée<sup>5</sup>.

D'un point de vue expérimental, la technique de cristallisation 2D offre plusieurs avantages :

- les protocoles expérimentaux sont simples à mettre en oeuvre et peu de paramètres du film influencent le processus de cristallisation,
- les cristaux 2D développés à l'interface air-eau permettent une détermination structurale relativement rapide des protéines par microscopie électronique à transmission (MET) à haute résolution après coloration négative de l'échantillon ou par cryomicroscopie (cryo-MET),
- la technique nécessite seulement de petites quantités de protéine (10-1000 µg) par rapport aux méthodes de cristallisation « classiques »<sup>6</sup>.

---

<sup>4</sup> E. Barklis, J. Mc Dermott, S. Wilkens, S. Fuller and D. H. Thompson, *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 7177-7180 ; C. Vénien-Bryan, P.F. Lenné, C. Zakri, A. Renault, A. Brisson, J.F. Legrand, B. Berge, *Biophys. J.*, **1998**, 74, 2649-2657 ; L. Lebeau, S. Nuss, P. Schultz, P. Oudet, C. Mioskowski, *Chem. Phys. Lipids*, **1999**, 103, 37-46.

<sup>5</sup> V. Vogel, W.R. Schief, W. Frey, *Supramol. Sci.*, **1997**, 4, 163-171 ; W.R. Schief, S.R. Dennis, W. Frey and V. Vogel, *Coll.Surf. A*, **2000**, 171, 75-86.

<sup>6</sup> F.J. Asturias and R.D. Kornberg, *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 6813-6816.

D'autres techniques non invasives existent également pour observer les modifications de la densité et de l'épaisseur de la couche lipidique à l'interface, pour suivre les étapes de l'adsorption et de la cristallisation des protéines. On peut citer l'épifluorescence, l'ellipsométrie, les mesures de tension de surface, la viscosimétrie ou encore la microscopie optique à angle de Brewster<sup>7</sup>.

La détermination des structures 3D de protéines peut également être obtenue par diffraction électronique en collectant une série d'images de MET autour d'un axe orthogonal au faisceau électronique incident suivi d'une analyse de reconstruction. Cependant, en raison de la gamme d'inclinaison restreinte de transmission du microscope électronique et de la dégradation subie par le cristal 2D lors des expositions répétées (« tilt series ») du faisceau électronique, cette méthode conduit souvent à des reconstitutions de structures de résolution modeste (~15 Å).

## **B. Différentes approches utilisées pour concentrer et orienter les protéines à la surface du film lipidique**

### **1. Adsorption électrostatique**

Des interactions de nature électrostatique ont pu être utilisées avec des lipides cationiques pour orienter électrostatiquement une protéine soluble, la polymérase ARN II<sup>8</sup>, qui a finalement permis la détermination d'une structure 3D de 2,8 Å grâce à des cristaux 3D développés à partir de cristaux 2D obtenus sur un film lipidique<sup>9</sup>.

Cependant, la méthode d'adsorption électrostatique n'a pas été plus largement utilisée en raison des zones multiples de sites chargés en surface des protéines, qui provoquent généralement en fonction du pH et de la force ionique de la solution une multitude d'orientations à l'interface, qui rendent difficile la cristallisation 2D des protéines par cette voie.

---

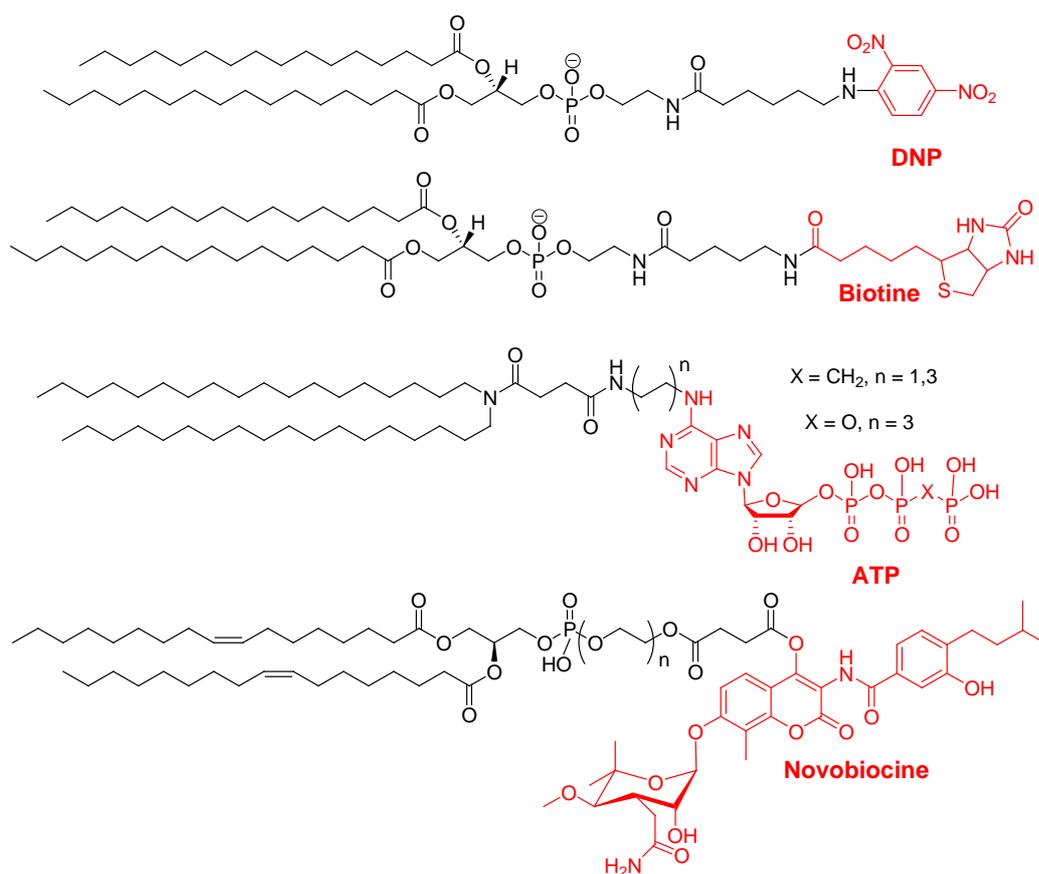
<sup>7</sup> D.R. Shneck, D.W. Pack, D.Y. Sasaki and F.H. Arnold, *Langmuir*, **1994**, 10, 2382-2388 ; W. Frey, W.R. Schief Jr., D.W. Pack, C.T. Chen, A. Chilkoti, P. Stayton, V. Vogel and F.H. Arnold, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, 4937-4941 ; C. Vénien-Bryan, P.F. Lenne, C. Zakri, A. Renault, A. Brisson, J.F. Legrand and B. Berge, *Biophys. J.*, **1998**, 74, 2649-2657 ; I.T. Dorn, K.R. Neumaier and R. Tampé, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 2753-2763.

<sup>8</sup> M. Edwards, S.A. Darst, W.J. Feaver, N.E. Thompson, R.R. Burgess and R.D. Kornberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1990**, 87, 2122-2126 ; P. Schultz, H. Célia, M. Riva, S.A. Darst, P. Colin, R. D. Kornberg, A. Sentenac and P. Oudet, *J. Mol. Biol.*, **1990**, 216, 353-362.

<sup>9</sup> P. Cramer, D.A. Bushnell and R.D. Kornberg, *Science*, **2001**, 292, 1863-1876 ; P. Cramer, D.A. Bushnell, J. Fu, A.L. Gnat, B. Maier-Davis, N.E. Thompson, R.R. Burgess, A.M. Edwards, P.R. David and R.D. Kornberg, *Science*, **2000**, 288, 640-649.

## 2. Interactions spécifiques ligand-protéine

Par la suite, différents lipides conjugués à un ligand ont été synthétisés au cas par cas pour permettre l'immobilisation spécifique de protéines solubles grâce à des interactions spécifiques ligand-protéine comme par exemple un stéroïde<sup>10</sup>, un motif biotine pour la streptavidine<sup>11</sup>, un motif novobiocine pour des gyrases d'ADN<sup>12</sup>, un motif ATP pour les protéines se liant à l'ATP<sup>13</sup>, ou encore un motif DNP pour les anticorps IgG et IgE anti-DNP<sup>14</sup> (Figure 2-2).



**Figure 2-3** : Lipides synthétiques conjugués à un ligand pour l'immobilisation et la cristallisation de protéines spécifiques.

<sup>10</sup> L. Lebeau, P. Oudet and C. Mioskowski, *Helv. Chim. Acta*, **1991**, 74, 1697–1706.

<sup>11</sup> C. Ku, S.A. Darst, R.D. Kornberg, C.R. Robertson, A.P. Gast, *Langmuir*, **1992**, 8, 2357-2360 ; J. Spinke, M. Liley, H. Guder, L. Angermaier, W. Knoll, *Langmuir*, **1993**, 9, 1821-1825 ; A.C. Ku, S.A. Darst, C.R. Robertson, A.P. Gast, R.D. Kornberg, *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 3013-3016 ; A.J. Avila-Sakar, W. Chiu, *Biophys. J.*, **1996**, 70, 57-68.

<sup>12</sup> L. Lebeau, E. Regnier, P. Schultz, J.C. Wang, C. Mioskowski and P. Oudet, *FEBS Lett.*, **1990**, 267, 38-42 ; H. Celia, L. Hoermann, P. Schultz, L. Lebeau, V. Mallouh, D.B. Wigley, J.C. Wang, C. Mioskowski, P. Oudet, *J. Mol. Biol.*, **1994**, 236, 618-628.

<sup>13</sup> L. Schmitt and R. Tampé, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 5532-5543.

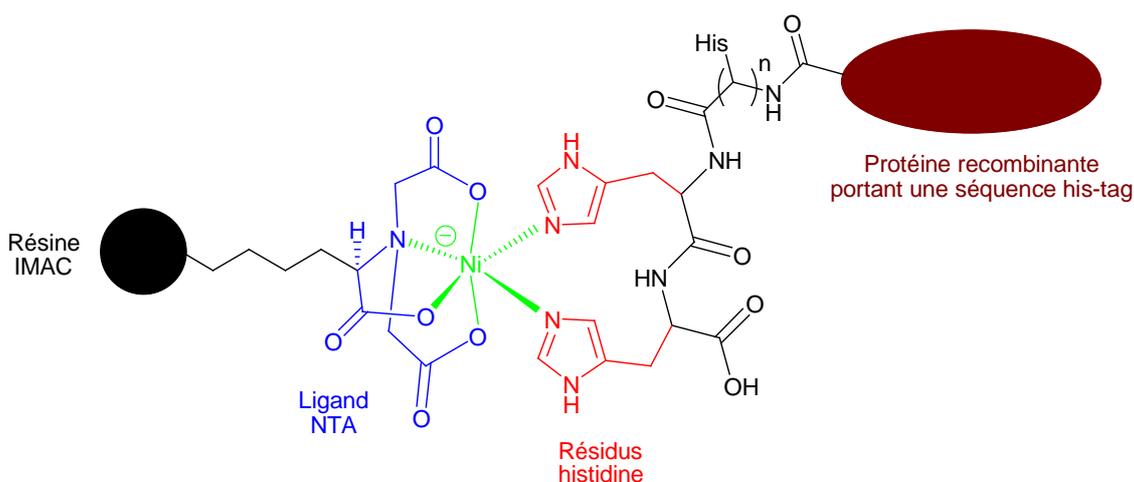
<sup>14</sup> E.E. Uzgiris, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1986**, 134, 819-826.

Cependant, cette stratégie reste limitée puisqu'elle nécessite de préparer des lipides possédant une affinité unique pour chaque nouvelle protéine étudiée. De telles synthèses peuvent s'avérer difficiles et nécessiter beaucoup de temps et d'argent. De même, les structures de protéines étudiées ne sont pas connues et il est difficile de prévoir avec certitude si les protéines disposent de sites de fixation adéquats aux ligands introduits sur les lipides. Cette situation a donc conduit les chercheurs à trouver une méthode plus générale pour promouvoir des interactions spécifiques entre les protéines et un film lipidique.

### 3. Interactions d'un ligand métallique avec une séquence polyhistidine

En 1975, le concept de chromatographie d'immobilisation par affinité métallique (IMAC)<sup>15</sup> a été introduit pour la séparation des acides nucléiques et des protéines. Cette méthode a été remaniée en introduisant le ligand classique de chélation des métaux de transition, l'acide nitrilotriacétique (NTA), en modifiant les résidus lysine d'une résine de chromatographie<sup>16</sup>.

Le NTA est un ligand tétradentate capable d'occuper quatre positions dans la sphère de coordination des métaux de transition, laissant deux positions disponibles pour des interactions avec les protéines portant les ligands appropriés à la coordination de l'ion métallique. Par exemple, l'ion  $Ni^{2+}$  ayant une configuration électronique  $4s^0 3d^8 4p^0 4d^0$  dans sa couche de valence s'hybride pour constituer six orbitales hybrides  $d^2sp^3$  de même énergie avec une géométrie identique dans une structure octaédrique lui permettant de complexer six ligands.



**Figure 2-5 :** Schématisation du complexe octaédrique d'un ligand NTA avec un métal de transition et une protéine recombinante portant une étiquette His-Tag.

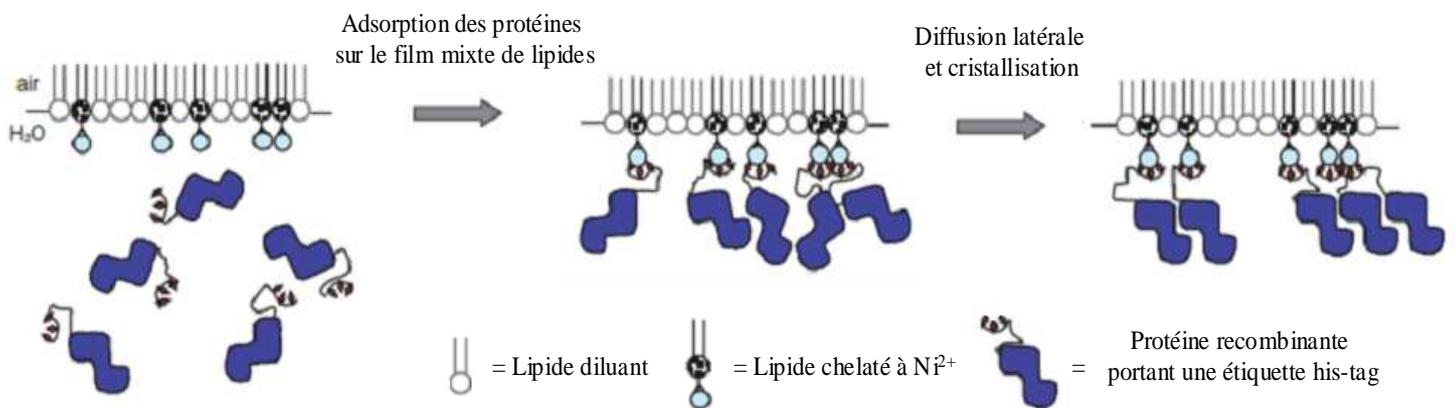
<sup>15</sup> J. Porath, J. Carlsson, I. Olsson and G. Belfrage, *Nature*, **1975**, 258, 598-599.

<sup>16</sup> E. Hochuli, H. Dobeli and A. Schaacher, *J. Chromatogr. A*, **1987**, 411, 177-184.

Etant donné que le résidu histidine est un ligand ayant une bonne affinité pour les métaux de transitions, des protéines recombinantes ont donc été conçues avec un ligand chélatant biosynthétique contenant une séquence répétitive d'au moins six résidus histidines (noté « his-tag ») située généralement à l'extrémité C- ou N-terminale de la protéine, pour être facilement purifiée sur une résine IMAC (Figure 2-3).

Des constantes d'équilibre de  $K_d \approx 10^{-7} \text{ M}^{17}$  et  $8.10^{-10}-10^{-13} \text{ M}^{18}$  ont été reportées respectivement pour les interactions his<sub>6</sub>-protéine: $M^{2+}$  et NTA: $Ni^{2+}$ . Les technologies IMAC basées sur l'utilisation de ligands NTA sont maintenant largement utilisées avec les ions  $Ni^{2+}$  (ou  $Co^{2+}$ ) pour purifier les protéines recombinantes his-tag dans les études biochimiques.

Cette avancée a donc conduit à la fusion du concept IMAC avec la cristallisation 2D sur film lipidique pour donner de nouvelles opportunités de produire des cristaux 2D en combinant les avantages des interactions spécifiques his-tag: $M^{2+}$ :NTA et les propriétés d'auto-assemblage des lipides. La localisation spécifique et invariable du motif his-tag sur la protéine recombinante est primordiale pour immobiliser et contrôler l'orientation de la protéine à l'interface, ce qui est nécessaire pour promouvoir efficacement le processus de cristallisation 2D (Figure 2-4).



**Figure 2-7 :** Représentation du concept hybride de la cristallisation 2D de protéines recombinantes induite par les interactions spécifiques his-tag : $Ni^{2+}$ :NTA-Lipide.

Il a été démontré que le processus de fixation et l'émergence en surface des protéines recombinantes his-tag sont clairement provoqués par la complexation protéine his-

<sup>17</sup> T. Dorn, K. Pawlitschko, S.C. Pettinger and R. Tampé, *Biol. Chem.*, **1998**, 379, 1151-1159 ; V. Prachayasittikul, C.I.N. Ayudhya, L. Hilterhaus, A. Hinz, T. Tantimongcolwat, H.J. Galla, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2005**, 327, 174-182.

<sup>18</sup> J. Schmitt, H. Hess and H.G. Stunnenberg, *Mol. Biol. Rep.*, **1993**, 18, 223-230 ; T. Stora, R. Hovius, Z. Dienes, M. Pachoud, H. Vogel, *Langmuir*, **1997**, 13, 5211-5214 ; D. Taresté, F. Pincet, M. Brellier, C. Mioskowski, E. Perez, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 3879-3884.

tag:Ni<sup>2+</sup>:lipide NTA<sup>19</sup>. La complexation des ions métalliques sur la monocouche lipidique affecte l'isotherme de compression d'un film lipidique qui peut être mesuré avec une balance de Langmuir<sup>20</sup>.

Des études supplémentaires ont montré que des protéines dépourvues de motifs his-tag ne se fixent pas à des monocouches de lipides-NTA complexés à des ions Ni<sup>2+</sup>.<sup>21</sup> Il est donc clair que la présence éventuelle dans l'enchaînement primaire des protéines d'un acide aminé de type histidine ne suffit pas à provoquer la complexation du nickel. La multiplication de ce motif histidine semble donc indispensable à la complexation du nickel. Des différences de cinétique de fixation des protéines aux lipides NTA peuvent également être observées en raison de la différence d'accessibilité des motifs his-tag sur la protéine recombinante.

La complexation des protéines his-tag aux lipides NTA:Ni<sup>2+</sup> peut également être contrôlée et inversée soit par addition d'un excès d'imidazole par compétition avec les résidus histidines, soit par complexation des ions métalliques avec un agent chélatant plus fort tel que l'EDTA, ou encore en abaissant le pH jusqu'à protoner les résidus histidines et les ligands NTA. Ces possibilités offrent des avantages supérieurs aux systèmes basés sur des interactions spécifiques ligand-protéine qui manquent effectivement de réversibilité.

### **C. Lipides NTA existants utilisés pour la cristallisation 2D sur film lipidique**

Les lipides NTA reportés dans la littérature rassemblent plusieurs caractéristiques communes (Figure 2-5). Ils contiennent deux domaines avec des propriétés bien distinctes : une longue queue hydrophobe souvent bicaténaire (ramifiée ou non) pour transmettre la fluidité nécessaire à la monocouche de lipides sur l'interface air-eau et le ligand tétradentate NTA hydrophile.

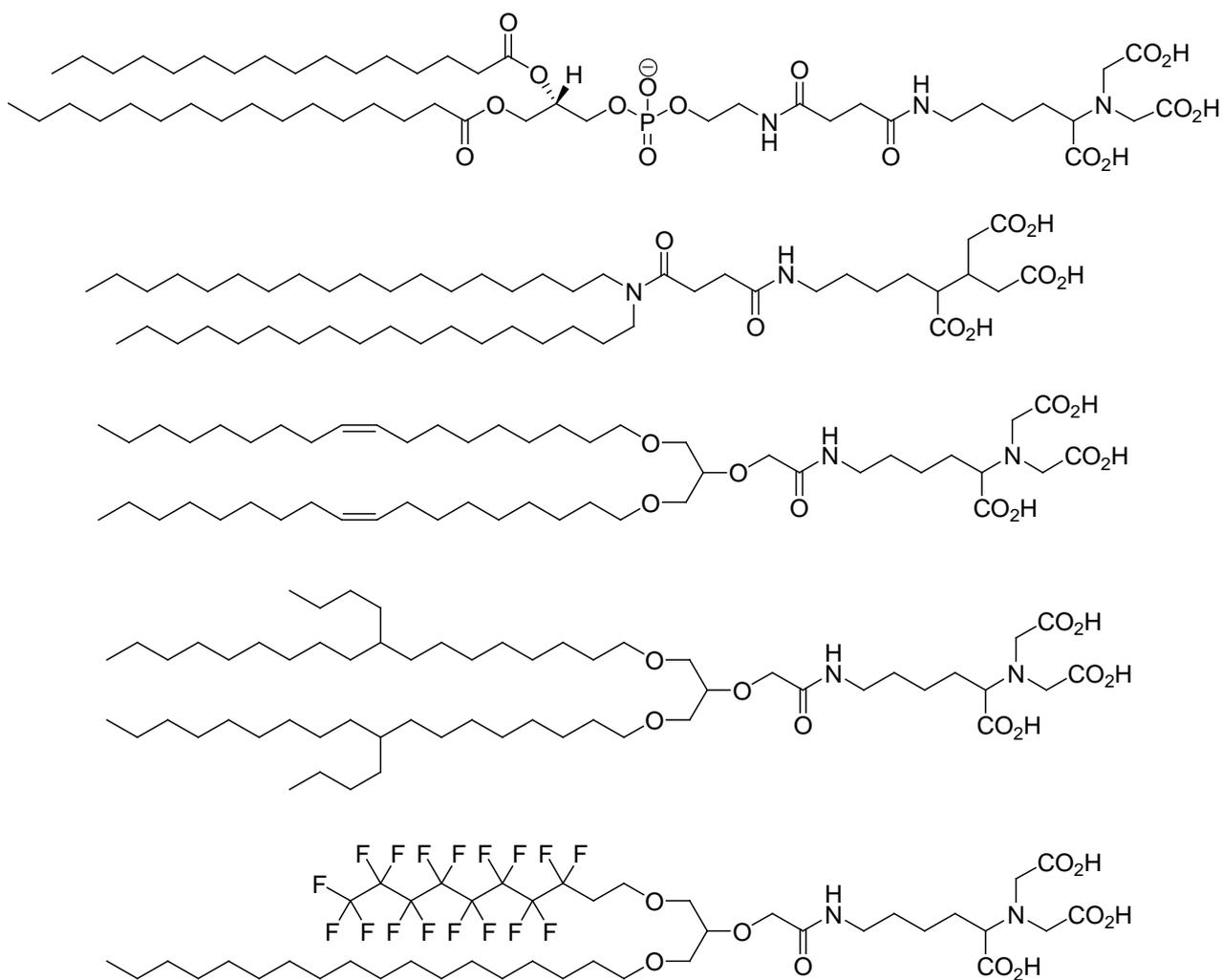
Leur synthèse est souvent dérivée du glycérol ou de dialcylamines, et utilise un court bras espaceur de type succinamide, polyéthylène glycol, pouvant comporter également une liaison phosphate pour joindre la partie NTA à la partie hydrophobe du lipide. Le motif NTA est la plupart du temps protégé par des fonctions esters lors de la synthèse pour améliorer sa solubilité dans les solvants organiques et faciliter les réactions de couplage des lipides.

---

<sup>19</sup> C. Dietrich, L. Schmitt and R. Tampé, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1995**, 92, 9014-9018.

<sup>20</sup> L. Schmitt, C. Dietrich, R. Tampé, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 8485-8491.

<sup>21</sup> S. Gritsch, K. Neumaier, L. Schmitt and R. Tampé, *Biosens. Bioelectron.*, **1995**, 10, 805-812.



**Figure 2-9 :** Lipides NTA synthétisés pour des applications d'immobilisation et de cristallisation 2D des protéines<sup>22</sup>.

Des lipides portant de multiples ligands tricarboxylates ont aussi été préparés, notamment un composé lipidique tri-NTA<sup>23</sup> ou encore un lipide original hexa-tricarboxylates<sup>24</sup> préparé à partir d'une plateforme calix-[4]-arène.

Une famille de lipides NTA non covalents<sup>25</sup> a aussi été préparée à partir de  $\beta$ -cyclodextrines modifiées amphiphiles portant des groupes décanoyle sur les positions 6'-hydroxyméthyles de l'anneau supérieur de la cyclodextrine.

<sup>22</sup> L. Schmitt, C. Dietrich and R. Tampé, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 8485-8491 ; C. Vénien-Bryan, F. Balavoine, B. Toussaint, C. Mioskowski, E.A. Hewat, B. Helme and P.M. Vignais, *J.Mol. Biol.*, **1997**, 274, 687-692 ; N. Bischler, F. Balavoine, P. Milkereit, H. Tschochner, C. Mioskowski and P. Schultz, *Biophys. J.*, **1998**, 74, 1522-1532 ; S. Courty, L. Lebeau, L. Martel, P.-F. Lenné, F. Balavoine, W. Dischert, O. Kononov, C. Mioskowski, J.-F. Legrand and C. Vénien-Bryan, *Langmuir*, **2002**, 18, 9502-9512.

<sup>23</sup> Z. Huang, J.I. Park, D.S. Watson, P. Hwang, F.C. Szoka, *Bioconjugate Chem.*, **2006**, 17, 1592-1600.

<sup>24</sup> M. Kellermann, W. Bauer, A. Hirsch, B. Schade, K. Ludwig, C. Bottcher, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 2959-2962.

De telles molécules hôtes possèdent une cavité en leur centre qui recrée un environnement apolaire et hydrophobe. Ces architectures supramoléculaires sont capables de s'étendre à l'interface air-eau et d'accueillir différentes molécules lipophiles (Figure 2-6) portant un ligand NTA en produisant une monocouche de complexes d'inclusion hôte:récepteur (Figure 2-7) aptes à immobiliser des protéines recombinantes his-tag.

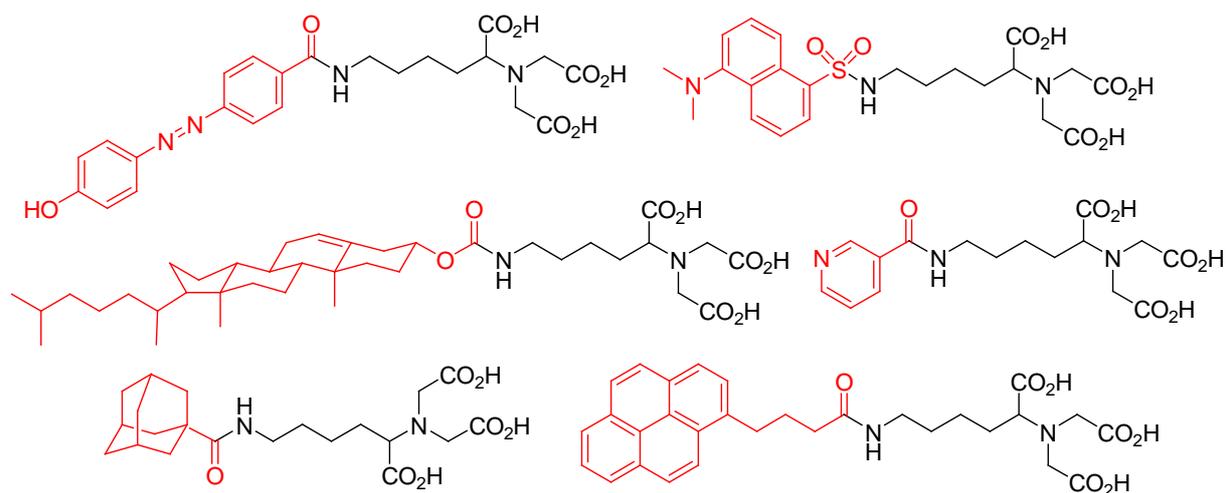


Figure 2-11 : Molécules lipophiles portant un ligand NTA.

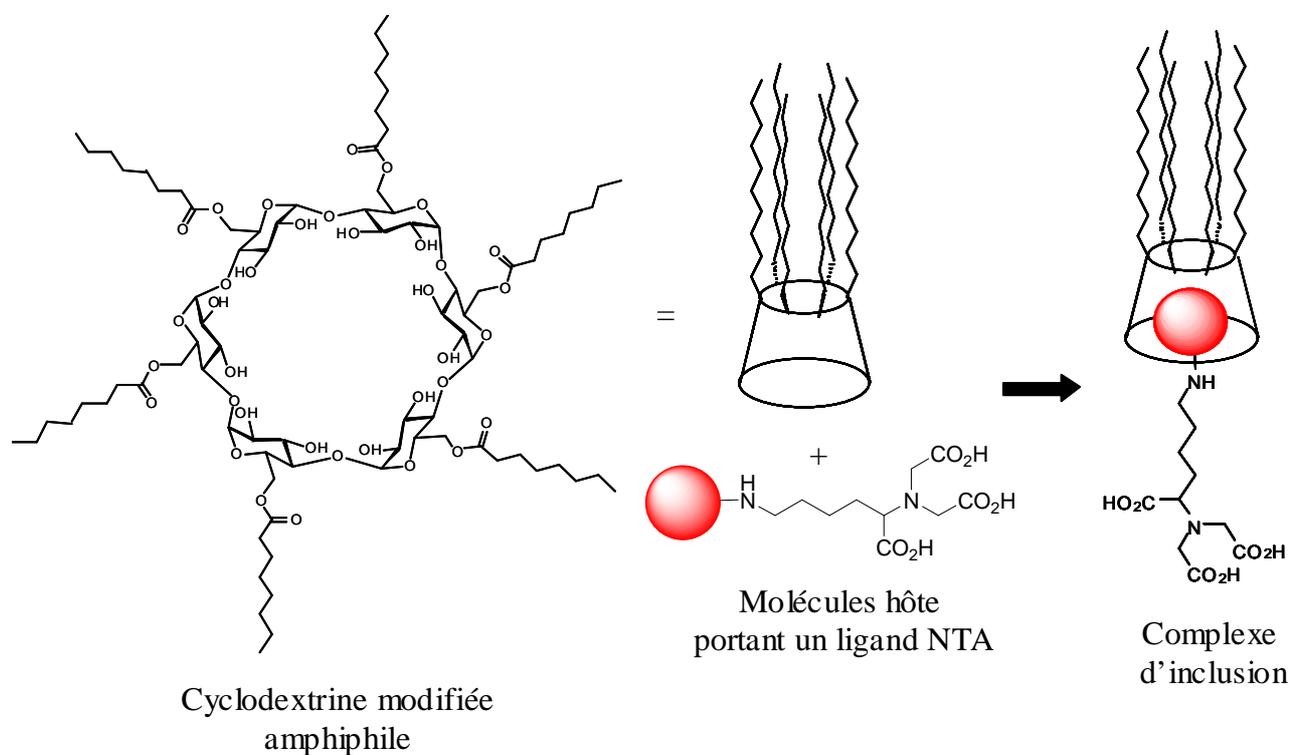
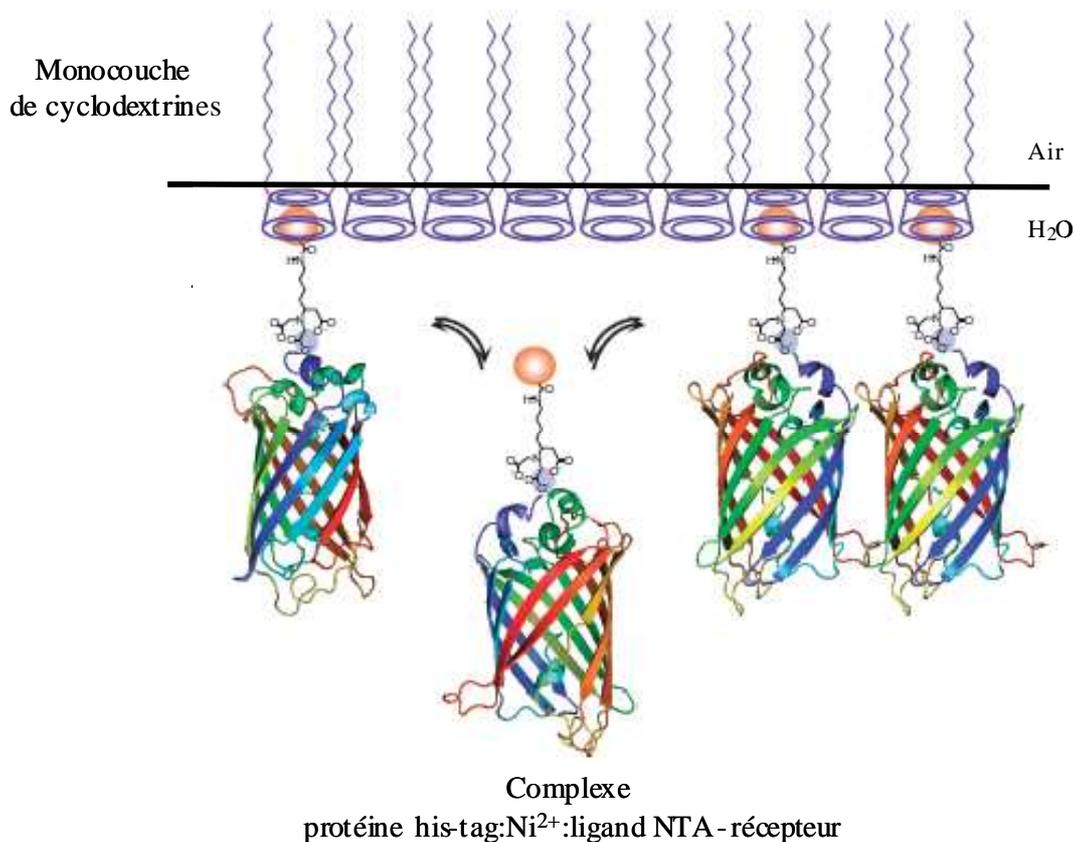


Figure 2-13 : Molécules hôtes utilisées comme complexes d'inclusion avec des  $\beta$ -cyclodextrines amphiphiles.

<sup>25</sup> M. Zhou, S. Haldar, J. Franses, J.-M. Kim and D.H. Thompson, *Supramol. Chem.*, **2005**, 17, 101-111.

Ce type de films lipidiques est utilisé dans le concept de « printboard »<sup>26</sup>. Les « printboards » moléculaires sont des monocouches de molécules hôtes amphiphiles de type cyclodextrine<sup>27</sup> ou calixarène<sup>28</sup> déposées sur un support solide (or, film silicone ou du verre) qui peuvent accueillir des molécules hôtes avec une constante d'association variable fonction de leurs interactions hydrophobes par complémentarité de taille.

Un tel modèle permet de satisfaire les conditions nécessaires à la cristallisation 2D, c'est à dire d'adsorber les protéines via des interactions faibles non covalentes, de concentrer et d'orienter les complexes protéine his-tag:Ni<sup>2+</sup>:ligand NTA-récepteur sur les sites d'ancrage disponibles à l'interface, pouvant même favoriser la propagation et la croissance du cristal en trois dimensions dans la solution (Figure 2-8).



**Figure 2-15** : Schématisation du concept « printboard » basé sur une monocouche de cyclodextrines amphiphiles.

<sup>26</sup> J. Huskens, M.A. Deij and D.N. Reinhoudt, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2002**, 41, 4467-4471.

<sup>27</sup> T. Auletta, B. Dordi, A. Mulder, A. Sartori, S. Onclin, C.M. Bruinink, M. Péter, C.A. Nijhuis, H. Beijleveld, H. Schonherr, G. J. Vancso, A. Casnati, R. Ungaro, B.J. Ravoo, J. Huskens and D.N. Reinhoudt, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2004**, 43, 369-373 ; C.M. Bruinink, C.A. Nijhuis, M. Péter, B. Dordi, O. Crespo-Biel, T. Auletta, A. Mulder, H. Schonherr, G.J. Vancso, J. Huskens and D.N. Reinhoudt, *Chem. Eur. J.*, **2005**, 11, 3988-3996 ; S. Onclin, A. Mulder, J. Huskens, B.J. Ravoo and D.N. Reinhoudt, *Langmuir*, **2004**, 20, 5460-5466.

<sup>28</sup> F. Corbellini, A. Mulder, A. Sartori, M. J. W. Ludden, A. Casnati, R. Ungaro, J. Huskens, M. Crego-Calama and D.N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 17050-17058 ; Y. Tanaka, M. Miyachi and Y. Kobuke, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1999**, 38, 504-506.

Ce système peut être optimisé facilement en ajustant la structure et le volume occupé par le récepteur-ligand NTA pour moduler la dynamique d'association du complexe et trouver les conditions adéquates à la cristallisation.

## **D. Cristallisation 2D des protéines membranaires sur film lipidique**

La technique de cristallisation 2D des protéines membranaires est similaire à celles des protéines solubles mais présente quelques variations. La faisabilité de cette approche est basée sur un modèle expérimental impliquant trois étapes (Figure 2-9) :

- la fixation de micelles ternaires détergent/protéine/lipide solubilisées à la surface du film lipidique grâce à des interactions spécifiques identiques à celles des protéines solubles,
- la reconstitution d'une bicouche lipidique autour des micelles de protéines induite par le retrait des détergents,
- la cristallisation 2D des protéines membranaires dans la bicouche reconstituée.

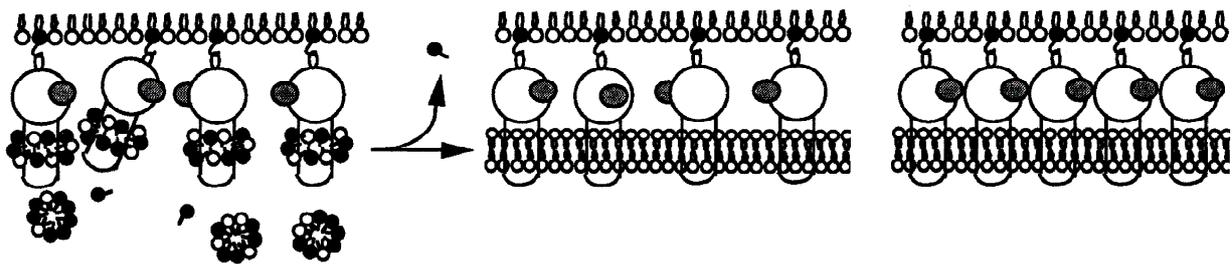


Figure 2-17 : Schématisation des étapes de cristallisation 2D des protéines membranaires.

### **1. Limitations expérimentales de la technique de cristallisation 2D des protéines membranaires solubilisées en détergent**

Cependant, l'utilisation de cette méthode de cristallisation 2D des protéines membranaires est confrontée à l'indispensable présence de détergents pour solubiliser les protéines dans la sous-phase, qui peuvent potentiellement altérer l'intégrité du film lipidique.

La principale difficulté attendue dans le développement du film lipidique pour cristalliser les protéines membranaires est donc la présence de détergents durant l'étape de fixation. Durant cette étape, les détergents doivent être à une concentration supérieure à leur CMC pour maintenir les protéines amphiphiles solubles et peuvent donc interférer voire même solubiliser les lipides constitutifs du film étendu à la surface, et donc empêcher l'étape de fixation de se réaliser.

Ce problème peut être évité<sup>29</sup> :

- en adaptant l'ordre d'addition des protéines et des lipides dans la sous-phase. La monocouche de lipides doit être formée en premier lieu en surface d'une solution tampon sans détergents, puis l'injection des protéines contenues dans des micelles de détergent à basse CMC dans la sous-phase est réalisée,
- en étalant une quantité de lipides en léger excès (10-20%) par rapport à celle nécessaire pour former une monocouche. Ceci permet un état de compression maximal des lipides à l'interface qui ralentit la pénétration des détergents dans le film lipidique.

Après fixation du complexe micelle-protéine à l'interface, le film devient stable vis-à-vis des détergents présents dans la sous-phase. Cette stabilité est attribuée à la concentration élevée de micelles de protéine à l'interface après adsorption, formant une phase visqueuse comparable à un gel qui ralentit la diffusion des détergents dans le film lipidique<sup>30</sup>.

Ce film interfacial est suffisamment stable pour être transféré sur une grille carbonée et être analysé par MET. Cependant, même avec de longues incubations, les micelles de protéine figées à la surface ne conduisent pas à la formation de réseaux cristallins.

En 1997, l'équipe de Charles Mioskowski a introduit un segment perfluoré dans la partie médiane d'un lipide de ligation fonctionnalisé par un analogue de la vitamine A. La vitamine A est un ligand spécifique des récepteurs membranaires des rétinoïdes. Cependant, ces ligands sont hydrophobes et ont tendance lors de la formation du film de lipides à s'intégrer dans la partie apolaire de la bicouche. Pour éviter ce phénomène et améliorer les interactions ligand-récepteur, cette équipe a eu l'idée d'intégrer des segments perfluorés connus pour leur lipophobie dans la partie médiane hydrophobe du lipide et donc susceptible d'inhiber l'insertion du ligand hydrocarboné<sup>31</sup>.

Les chaînes perfluoroalkyles ont des propriétés physiques différant fortement de celles des chaînes hydrocarbonées, qui sont dues notamment à l'électronégativité élevée des atomes de fluor, à leur faible polarisabilité et au volume occupé des atomes de fluor plus grand que celui des atomes d'hydrogène. En raison des distances de liaison C-F et C-H mesurant

---

<sup>29</sup> J.L. Rigaud, B. Pitard and D. Lévy, *Biochim. Biophys. Acta*, **1995**, 1231, 223-246 ; D. Lévy, A. Gulick, M. Seigneuret and J.L. Rigaud, *Biochemistry*, **1990**, 29, 9480-9488; M. Paternostre, M. Roux and J.L. Rigaud, *Biochemistry*, **1988**, 27, 2666-2676.

<sup>30</sup> P.K. Vinson, Y. Talmon and A. Walter, *Biophys. J.*, **1989**, 56, 669-681 ; S. Almog, B.J. Litman, W. Winley, J. Cohen, E.J. Wachtel, Y. Barenholz, A. Ben-Shaul and D. Lichtenberg *Biochemistry*, **1990**, 29, 4582-4592.

<sup>31</sup> P. Held, F. Lach, L. Lebeau and C. Mioskowski, *Tet. Lett.*, **1997**, 38, 1937-1940.

respectivement 28 Å et 18 Å, les volumes occupés par les groupements CF<sub>2</sub> et CF<sub>3</sub> sont de 41 Å<sup>3</sup> et 86 Å<sup>3</sup> respectivement comparés à ceux des groupes CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> faisant 26,9 Å<sup>3</sup> et 54,3 Å<sup>3</sup> respectivement<sup>32</sup>.

De ce fait et en raison de la densité électronique autour des atomes de fluor, les chaînes perfluorées adoptent une conformation hélicoïdale afin de minimiser les répulsions stériques des liaisons C-F séparées par un maillon CF<sub>2</sub> tandis que les chaînes hydrocarbonées linéaires ont une conformation en « zigzag ». Cette conformation leur permet d'exposer une plus large surface moléculaire en comparaison à celle de leurs homologues hydrocarbonés, qui de ce fait leur confère une certaine rigidité ayant pour effet de les rendre considérablement plus hydrophobes que les chaînes hydrocarbonées<sup>33</sup>.

De même, la faible polarisabilité des atomes de fluor responsable des faibles interactions de Van der Waals entre les chaînes perfluorées<sup>34</sup>, combinée à la faible tendance des chaînes perfluorées de former une conformation gauche favorisent leur regroupement et agencement en monocouches parfaitement fluides<sup>35</sup>.

En plus de leur grande hydrophobicité, les chaînes perfluorées ont également un effet lipophile prononcé d'une ampleur environ égale à un tiers de celle de l'effet hydrophobe<sup>36</sup>. La combinaison de toutes ces propriétés est à l'origine directe de la non idéalité des mélanges d'alcanes et de perfluoroalcanes, ce qui a pour effet de favoriser la séparation de phase partielle des systèmes moléculaires constitués de mélanges de tensioactifs perfluorés et hydrocarbonés<sup>37</sup>.

En 2001, la même équipe a mis à profit ces propriétés en concevant des lipides partiellement fluorés qui une fois étendus à l'interface air-eau, révèlent une haute résistance vis à vis de la solubilisation par les détergents courants hydrocarbonés. Pour cela, deux lipides hémifluorés dotés d'une tête polaire NTA ont été synthétisés dans le but de cristalliser en 2D un spectre très large de protéines membranaires (Figure 2-10)<sup>38</sup>.

---

<sup>32</sup> P. Lo Nostro and S.-W. Chen, *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 6535-6540.

<sup>33</sup> J.G. Riess, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 4113-4131.

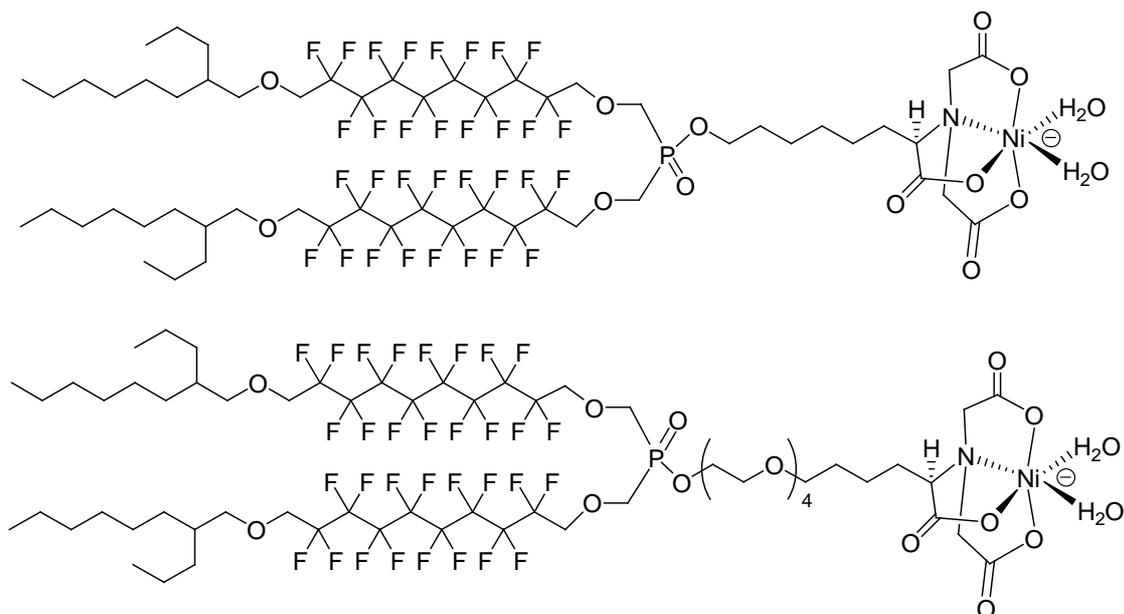
<sup>34</sup> P. Mukerjee and T. Handa, *J. Phys. Chem.*, **1981**, 85, 2298-2303.

<sup>35</sup> Barton SW, Goudot A, Bouloussa O, Rondelez F, Lin B, Novak F, A. Acero and S.A. Rice, *J. Chem. Phys.*, **1992**, 96, 1343-1351.

<sup>36</sup> B. Binks, P. Fletcher, S. Kotsev and R. Thompson, *Langmuir*, **1997**, 13, 6669-6682.

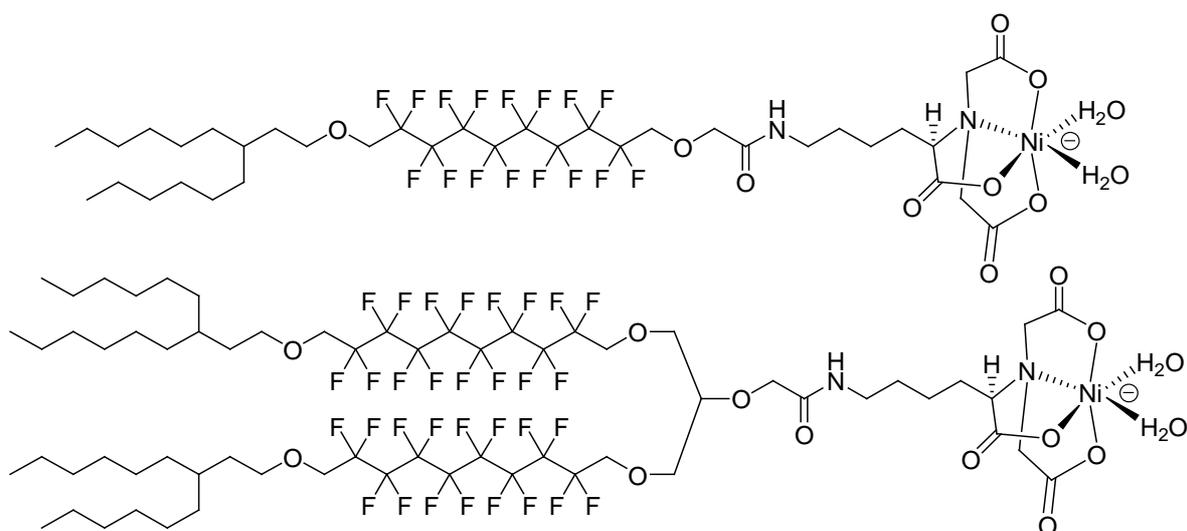
<sup>37</sup> P. Mukerjee, *Colloids Surf. A*, **1994**, 84, 1-10 ; P. Mukerjee and A.Y.S. Yang, *J. Phys. Chem.*, **1976**, 80, 1388-1390.

<sup>38</sup> L. Lebeau, F. Lach, C. Vénien-Bryan, A. Renault, J. Dietrich, T. Jahn, M.G. Palmgren, W. Kühlbrandt and C. Mioskowski, *J. Mol. Biol.*, **2001**, 308, 639-647.



**Figure 2-19 :** Lipides hémifluorés lipophiles conçus par l'équipe de Mioskowski pour empêcher la solubilisation du film lipidique avec les détergents.

Un de ces lipides porte un bras espaceur de type tétraéthylène glycol qui confère à la tête polaire un degré de liberté de mouvement plus important propice selon les auteurs, à l'établissement plus aisé du réseau cristallin. La stabilité des monocouches lipidiques a été démontrée grâce au profil de la courbe isotherme de tension de surface fonction de l'aire occupée mesurée avec une balance de Langmuir. Cependant, la synthèse de ces lipides hémifluorés n'a jamais été reportée dans la littérature. Par l'intermédiaire de ces composés, il a été possible toutefois d'obtenir des cristaux 2D d'une ATPase et de les cartographier avec une résolution atteignant 9 Å.



**Figure 2-21 :** Lipides hémifluorés reportés par l'équipe de McGearry.

En 2009, une voie de synthèse de lipides hémifluorés mimant les molécules que nous avons préparées dans le présent travail a été publiée par l'équipe de McGeary et a permis la cristallisation 2D de la protéine membranaire BmrA<sup>39</sup> (Figure 2-11).

## **2. Reconstitution des protéines dans une bicouche lipidique**

En fait, la cristallisation 2D des micelles de protéine fixées au film lipidique n'a jamais pu être observée, ceci étant probablement dû à la difficulté de créer des contacts entre les zones hydrophiles des régions extramembranaires de la protéine comme dans la méthode « batch » de cristallisation 3D.

Ainsi, pour favoriser les contacts entre protéines, les détergents sont retirés des micelles ternaires détergent/protéine/lipide par addition de biobeads pour reconstituer une bicouche lipidique autour des protéines fixées afin de la stabiliser et assurer leur cristallisation<sup>40</sup>. Bien que la reconstitution des bicouches soit indépendante de la nature des lipides ajoutés, la spécificité des lipides est cruciale pour l'étape suivante de cristallisation 2D.

## **3. Travaux et résultats antérieurs sur la cristallisation 2D des protéines membranaires sur film lipidique**

Après le retrait des détergents, plusieurs conditions favorables de cristallisation 2D ont déjà été observées notamment pour les protéines FhuA, TF0F1, bacteriorhodopsine<sup>41</sup> et Anc2.

En plus de la nature de la protéine, les paramètres critiques liés à la formation des cristaux 2D sont le ratio lipide/protéine et la nature des lipides ajoutés dans les micelles ternaires détergent/lipide/protéine. Le succès de la cristallisation va également dépendre de la température, de la viscosité et de la composition du milieu tampon.

Les cristaux 2D obtenus forment de larges régions cristallines mais les zones bien ordonnées des domaines cristallins développés sont trop petites pour extraire des informations structurales de haute résolution (inférieures à 10 Å).

Bien que la méthode de reconstitution sur film lipidique ait conduit à des améliorations dans les domaines du transfert de l'échantillon<sup>42</sup>, le problème majeur associé à

---

<sup>39</sup> W.M. Hussein, B.P. Ross, M.J. Landsberg, D. Lévy, B. Hankamer and R.P. McGeary, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 1473-1479.

<sup>40</sup> J.L. Rigaud, D. Lévy, G. Mosser and O. Lambert, *Eur.J. Biophys.*, **1998**, 27, 305-319 ; J.L. Rigaud, G. Mosser, J.J. Lacapère, A. Olofsson, D. Lévy and J.L. Ranck, *J. Struct. Biol.*, **1997**, 118, 226-235.

<sup>41</sup> D. Lévy, G. Mosser, O. Lambert, G. Moeck, D. Bald and J.L. Rigaud, *J. Struct. Biol.*, **1999**, 127, 44-52.

cette technique est relié à la difficulté du transfert de la couche interfaciale sur la grille carbonée, qui provoque souvent l'altération du réseau cristallin formé *in situ*. De même, un des facteurs limitant est le degré de liberté restreint des protéines à l'intérieur de la membrane reconstituée pour établir les contacts nécessaires à la formation du réseau cristallin.

L'utilisation de couches de lipides fonctionnalisés pour concentrer et orienter des micelles de protéine membranaire à une interface peut très bien servir d'initiation à la croissance épitaxiale de cristaux 3D de protéines membranaires, comme cela a déjà été démontré dans le cas des protéines solubles<sup>43</sup>.

De même, les larges membranes planes reconstituées dans lesquelles les protéines sont incorporées dans une orientation préférentielle et à une haute densité, sont des matières appropriées à la microscopie de force atomique (AFM)<sup>44</sup>.

## **II. Objectif du travail**

En ce qui concerne les tensioactifs fluorés, il a déjà été montré au laboratoire que l'association des tensioactifs perfluorés C<sub>6</sub>F<sub>13</sub>SOTHAM et C<sub>8</sub>F<sub>17</sub>NTA-Ni pouvait conduire à la formation de films noirs de Newton (NBFs) stables.

Un film noir est constitué d'une double couche de tensioactifs dont les parties hydrophiles se font face et les parties hydrophobes sont orientées vers l'air. Cette double couche de tensioactifs constitue la paroi des bulles de savon. Ces films emprisonnent une couche d'eau dont l'épaisseur peut varier de 10 à 500 nm. L'épaisseur de ces films correspond sensiblement à la longueur d'onde de la lumière. Celle-ci est donc diffractée lors de son passage à travers les films ce qui donne les phénomènes d'irisation observés lors de la fabrication des bulles de savon.

Lorsque l'eau contenue dans la paroi est progressivement drainée, l'épaisseur du film diminue jusqu'à atteindre des tailles (<40 nm) inférieures à la longueur d'onde de la lumière ce qui rend le film transparent. On dit alors qu'il est « noir ». Ces films peuvent être facilement formés par étirement d'une monocouche de Langmuir. Leur épaisseur et leur constitution peuvent être étudiées par réflectivité des rayons X.

Une des particularités intéressantes de ces films est qu'ils se comportent comme des réservoirs capables par l'intermédiaire de la différence de potentiel chimique entre les deux

---

<sup>42</sup> E.W. Kubalek, R.D. Kornberg, S.A. Darst, *Ultramicroscopy*, **1991**, 35, 295-304 ; F.J. Asturias and R.D. Kornberg, *J. Struct. Biol.*, **1995**, 114, 60-66.

<sup>43</sup> A.M. Edwards, S.A. Darst, S.A. Hemming, Y. Li and R.D. Kornberg, *Nat. Struct. Biol.*, **1994**, 1, 195-197.

<sup>44</sup> S. Scheuring, D. Muller, P. Ringler, J.B. Hetmann, and A. Engel, *J. Microsc.*, **1999**, 193, 28-35.

compartiments représentés par le film et la cuve de Langmuir, d'intégrer et d'organiser des nanoparticules en leur sein.

Ces organisations macroscopiques ont permis entre autres d'étudier par réflectivité des rayons X la diffusion à l'intérieur du film noir fluoré, d'une protéine transmembranaire recombinante tOmpa his-tag solubilisée en détergents. Ces films fluorés sont utilisés afin de neutraliser les effets détergents vis à vis du film noir de tensioactifs solubilisant la protéine. Le tensioactif fonctionnalisé par du nickel permet la diffusion ordonnée de la protéine solubilisée en micelle dans le film noir (Figure 2-12)<sup>45</sup>.

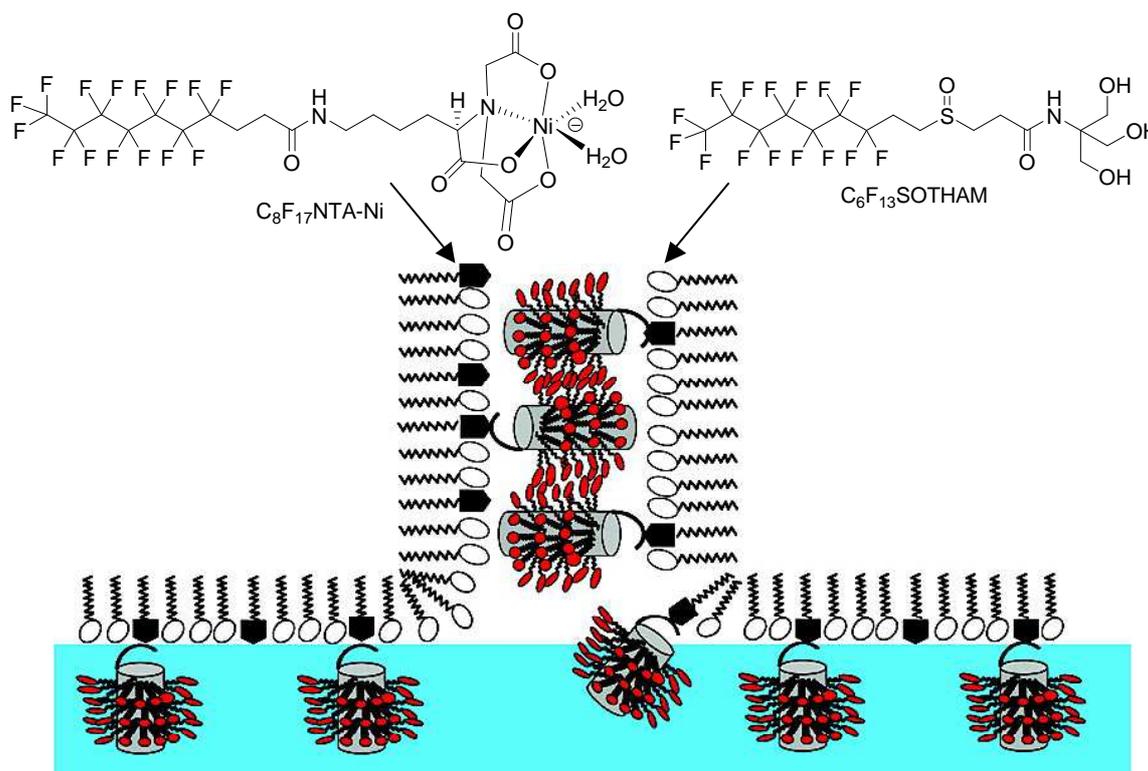


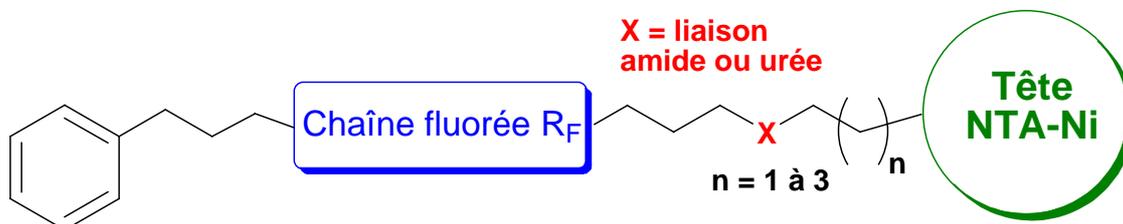
Figure 2-23 : Schématisation de la diffusion des micelles de protéine le long du film noir de Newton.

En réalisant des mesures de réflectivité des rayons X, ce système a montré qu'il était capable de stabiliser et d'organiser les micelles de protéine sous la forme d'une ou de deux monocouches de protéines au cœur du film et pouvait donc se prêter à la formation de cristaux 2D.

Il nous a donc semblé opportun d'utiliser notre expérience de fabrication de films noirs résistants aux détergents pour la mise au point de monocouches de Langmuir pefluorées capables de cristalliser des protéines en deux dimensions. En conservant la nature du système

<sup>45</sup> V. Petkova, J-J. Benattar, M. Zoonens, F. Zito, J-L. Popot, A. Polidori, S. Jasseron, and B. Pucci *Langmuir*, **2007**, 23, 4303-4309.

mixte lipidique, nous avons donc transposé l'utilisation de ces lipides perfluorés à un modèle de cristallisation 2D sur film lipidique mais pour cela, il était nécessaire de réaliser quelques modifications de la structure du lipide fluoré NTA (Figure 2-13).



**Figure 2-25 :** Représentation schématique du lipide hémifluoré conçu pour la cristallisation 2D sur film lipidique.

Le lipide doit toujours comporter une partie hydrophile constituée d'un ligand NTA pour permettre la reconnaissance moléculaire nécessaire à l'adsorption des protéines recombinantes munies de leur terminaison polyhistidine his-tag. La partie hydrophobe est constituée ici d'une chaîne hémifluorée.

L'introduction d'un noyau aromatique à l'extrémité de la queue fluorée est réalisée pour deux raisons :

- pour disposer d'une fluidité satisfaisante de la couche de lipides en évitant l'organisation et l'auto-assemblage des lipides sous la forme de cristaux liquides comme cela a déjà été montré avec des chaînes aliphatiques ramifiées<sup>46</sup>. Cette fluidité doit faciliter la diffusion latérale des complexes lipide-protéine et la formation du réseau cristallin 2D à la surface du film.
- mais également d'améliorer les conditions du transfert de l'échantillon sur la grille carbonée de microscopie. En effet, en raison de la lipophobie des chaînes perfluorées, l'adsorption du cristal 2D greffé au film de Langmuir pose le problème de son adhérence au support qui est constitué de carbone pur vaporisé sur une surface de résine de Formvar (polymère polyvinylique). Cela se traduit habituellement par le glissement de l'échantillon vers le bord de la grille lors de l'étape de drainage de l'échantillon par du papier buvard. Ce manque d'adhérence provoque également la désorganisation du cristal au moment du dépôt. L'extrémité non fluorée doit permettre d'améliorer cette adhésion en favorisant le contact avec le support carboné.

<sup>46</sup> F.M. Menger, M.G.J. Wood, S. Richardson, Q. Zhou, A.R. Elrington and J.M. Sherrod, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 6797-6803.

### III. Synthèse du lipide hémifluoré

#### A. Analyse rétrosynthétique

La clé de la synthèse repose sur une méthode sélective consistant à fonctionnaliser successivement les deux extrémités d'un synthon perfluoré pour préparer la partie hydrophobe hémifluorée. On peut remarquer que peu de méthodes efficaces ont été décrites dans la littérature pour atteindre cet objectif en raison des propriétés inhabituelles de réactivité et de stabilité des composés perfluorés qui conduisent souvent à des difficultés de manipulation, de solubilisation dans les solvants organiques usuels et de purification<sup>47</sup>.

On peut tout de même citer les travaux de l'équipe de Szlavik<sup>48</sup> qui a mis au point la synthèse du 9-iodoperfluorononanoate de méthyle grâce à la réaction de Hunsdiecker, un dérivé susceptible d'être utilisé dans la synthèse de différents composés amphiphiles hybrides.

Les conditions basiques courantes NaH/THF utilisées dans les réactions de Williamson pour fonctionnaliser le diol perfluoré 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-hexadécafluorodécane-1,10-diol conduisent à la décomposition du réactif fluoré, la formation du dérivé monoalkylé avec un faible taux de conversion<sup>49</sup> et la production du dérivé symétrique dialkylé. Cependant, ce dérivé monoalkylé a tout de même pu être préparé directement à partir du diol avec un rendement de 51% dans des conditions particulières en utilisant la sonication et un agent de catalyse par transfert de phase. La réaction ultérieure de l'alcool monoalkylé avec l'acide bromoacétique dans du NaH/THF anhydre donne l'acide carboxylique désiré avec un rendement de 69% (Schéma 1)<sup>50</sup>.

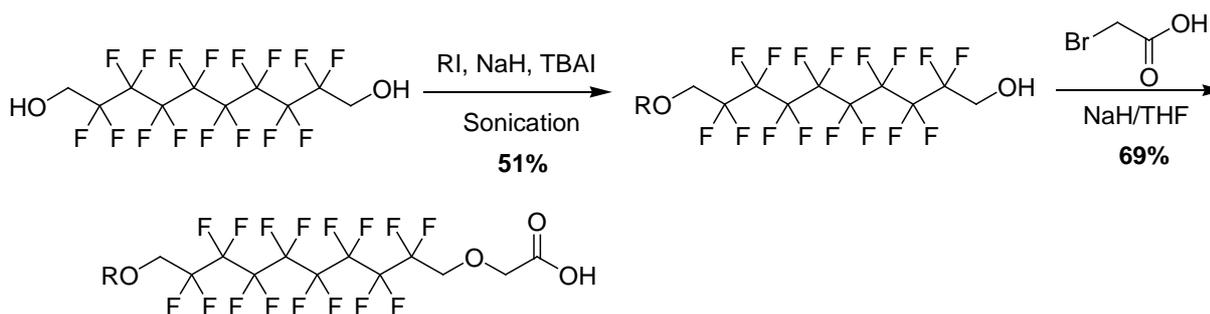


Schéma 2-1 : Conditions de synthèse de l'acide carboxylique hémifluoré.

<sup>47</sup> R. Chambers, « *Fluorine in Organic Chemistry* », Ed. Blackwell Publishing, Oxford, **2004** ; J.A. Gladysz, D.P. Curran, I.T. Horvath, Eds. « *Handbook of Fluorous Chemistry* »; Wiley-VCH, Weinheim, **2004** ; C. Gentilini, M. Boccalon, L. Pasquato, *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 330, 3308–3313.

<sup>48</sup> Z. Slavik, A. Csapai, M.P. Krafft, J.G. Riess and J. Rabai, *Tet. Lett.*, **1997**, 38, 8757–8760.

<sup>49</sup> C. Gentilini, M. Boccalon, L. Pasquato, *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 330, 3308–3313.

<sup>50</sup> W.M. Hussein, B.P. Ross, M.J. Landsberg, D. Lévy, B. Hankamer and R.P. McGeary, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 1473–1479.

Ce synthon hémifluoré s'est tout de même révélé difficile à coupler lors de l'étape finale avec l'aminotriester du ligand NTA dans des conditions classiques avec, soit un agent de couplage peptidique (8%) ou en passant par la condensation du chlorure d'acide correspondant en milieu basique (13-28%). Ce rendement de condensation entre le chlorure d'acide et l'aminotriester protégé par des groupements triméthylsilanes a pu être amélioré en utilisant une activation par des micro-ondes (62%).

A noter que l'insertion d'une liaison polaire de type éther au sein d'une chaîne hydrophobe peut également provoquer des phénomènes d'insertion d'eau à l'intérieur de la zone hydrophobe et donc déstabiliser potentiellement l'organisation des membranes.

Il nous a donc semblé plus opportun de synthétiser des analogues hémifluorés par liaison directe entre deux carbones. Pour cela, une stratégie de synthèse par addition radicalaire est la voie la plus facile à mettre en œuvre (Schéma 2-2).

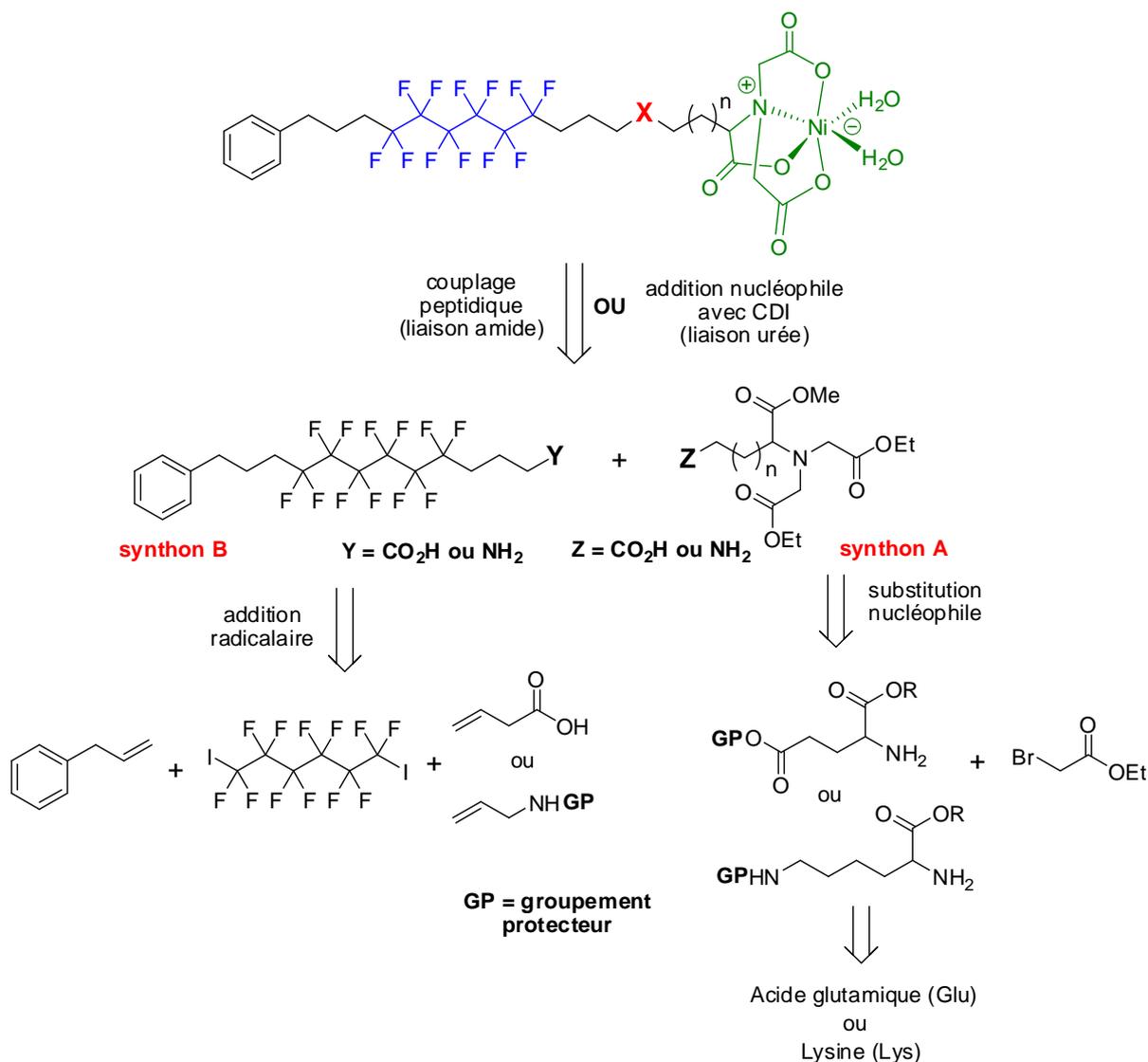


Schéma 2-2 : Analyse rétrosynthétique de la synthèse du lipide hémifluoré.

La stratégie de synthèse consiste à coupler les synthons clés A et B via une réaction de couplage peptidique « classique » ou une série d'additions nucléophiles successives de deux amines sur le carbodiimidazole (CDI) électrophile pour former une urée dissymétrique reliant les deux synthons par une fonction carbonyle, suivi d'une déprotection des fonctions esters et de la complexation du ligand NTA avec l'ion  $\text{Ni}^{2+}$ .

Le synthon A (tricarboxylique) serait obtenu par l'intermédiaire d'un acide aminé (Glu ou Lys) en réalisant une double réaction de N-alkylation sur l'acide aminé correspondant correctement protégé. Le synthon B (hémifluoré hydrophobe) serait quant à lui, préparé à partir du dérivé commercial 1,6-diiodoperfluorohexane via des additions radicalaires successives de deux composés vinyliques combinées à une étape de réduction des liaisons C-I formées.

## B. Préparation du synthon A

Plusieurs stratégies ont déjà été développées pour préparer le ligand NTA sous sa forme protégée avec des fonctions esters (Schéma 2-3).

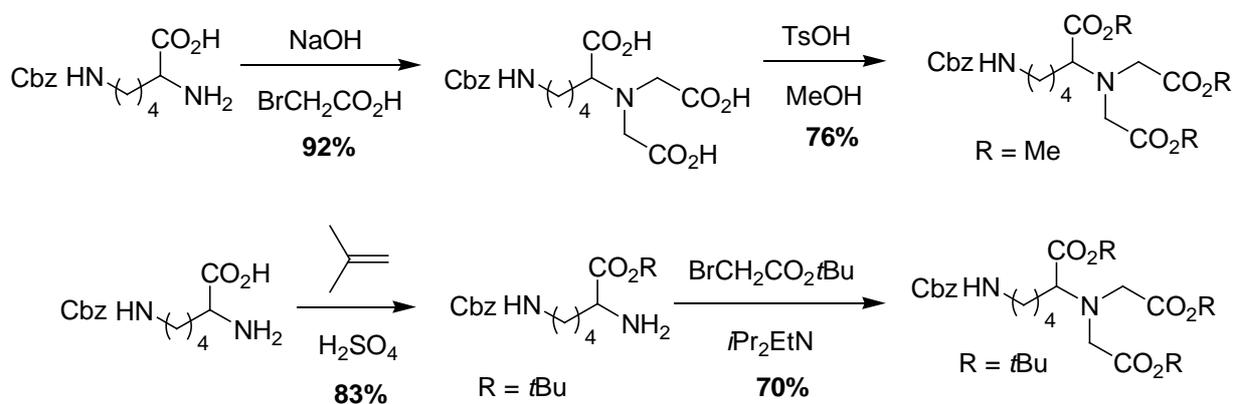


Schéma 2-3 : Voies de synthèses du ligand NTA protégé par des fonctions esters.

Cette synthèse se fait souvent en deux étapes à partir de la N-carbobenzyloxy-L-lysine soit en faisant une double N-alkylation avec l'acide bromoacétique suivi de l'estérification dans le méthanol par catalyse acide, ou l'inverse mais en faisant la N-alkylation sur du bromoacétate de *tert*-butyle par exemple.

Nous avons voulu préparer le synthon directement à partir du chlorhydrate d'ammonium de l'ester méthylique de la N-benzyloxycarbonyl-L-lysine en réalisant la double réaction de N-alkylation du bromoacétate d'éthyle, dans le but de s'affranchir de la première étape d'estérification (Schéma 2-4).

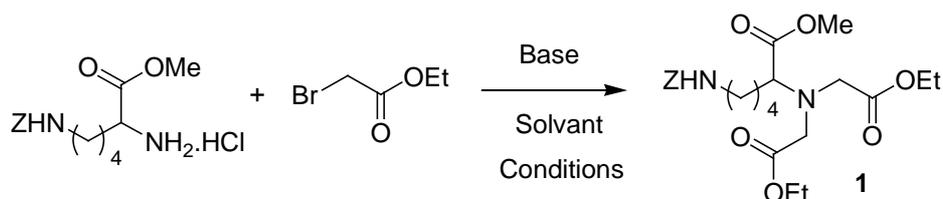


Schéma 2-4 : Schéma de synthèse de l'aminotriester protégé par une double réaction de N-alkylation.

Pour cela, nous avons essayé différentes conditions de N-alkylation pour obtenir l'aminotriester **1** avec un rendement satisfaisant (Tableau 2-1).

Essai	Bromoacétate d'éthyle	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	2 éq	Et <sub>3</sub> N, 10 éq	H <sub>2</sub> O/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (1:1)	1 éq TBAB, TA, 48 h	-
2	4,5 éq	Et <sub>3</sub> N, 6 éq	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	TA, 48 h	-
3	3 éq	MeONa, 3,5 éq	CH <sub>3</sub> CN	TA, 24 h	Produit de mono-N-alkylation 66%
4	3 éq	<i>t</i> BuOK, 3,5 éq	CH <sub>3</sub> CN	TA, 24 h	Mélange complexe
5	3 éq	MeONa, 5 éq	DMF	TA, 24 h	-
6	3 éq	MeONa, 7 éq	CH <sub>3</sub> CN	Reflux, 24 h	89%

Tableau 2-1 : Essais de N-alkylation de l'ester méthylique de la N-benzyloxycarbonyl-L-lysine.

Dans un premier temps, nous avons testé des conditions douces en milieu biphasique H<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) avec une catalyse par transfert de phase en présence du bromure de tétra-*n*-butylammonium (TBAB) et de TEA. Ces conditions n'ont donné aucune réaction du produit de départ après agitation du milieu réactionnel à température ambiante (TA) pendant 48 h. Nous avons donc tenté la réaction dans une solution homogène de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> avec de la TEA mais le résultat a été identique. Ce manque de réactivité nous a amené à utiliser des conditions plus favorables à une réaction de type S<sub>N</sub>2 en combinant une base plus forte à un solvant polaire aprotique. L'association du MeONa dans l'acétonitrile a permis de récupérer le produit de mono-N-alkylation avec un rendement de 66% après 24 h. La substitution du méthylate de sodium par le *t*BuOK n'a pas permis la bis-N-alkylation de l'amine et a conduit

plutôt à la formation d'un mélange complexe de produits. De manière surprenante, le remplacement du CH<sub>3</sub>CN par le DMF n'a apporté aucune amélioration. Finalement, l'utilisation d'un excès de MeONa (7 éq) au reflux du CH<sub>3</sub>CN a permis d'obtenir le produit souhaité avec un rendement satisfaisant de 89%.

### C. Préparation du synthon B

La préparation du synthon B est basée sur l'addition radicalaire successive de composés vinyliques sur un cœur fluorocarboné IC<sub>6</sub>F<sub>12</sub>I. Les iodures de perfluoroalkyles constituent une famille de composés qui ont été largement utilisés comme précurseurs de la synthèse des composés fluorés. Ces composés sont maintenant bien connus pour leur capacité à réagir sur des doubles liaisons pour former des liaisons CF<sub>2</sub>-C selon un processus en chaîne initié par voie radicalaire<sup>51</sup>.

Le mécanisme par lequel les iodoperfluoroalcanes réagissent avec les alcènes est comparable à celui proposé pour les composés polyhalogénés (Schéma 2-5)<sup>52</sup>.

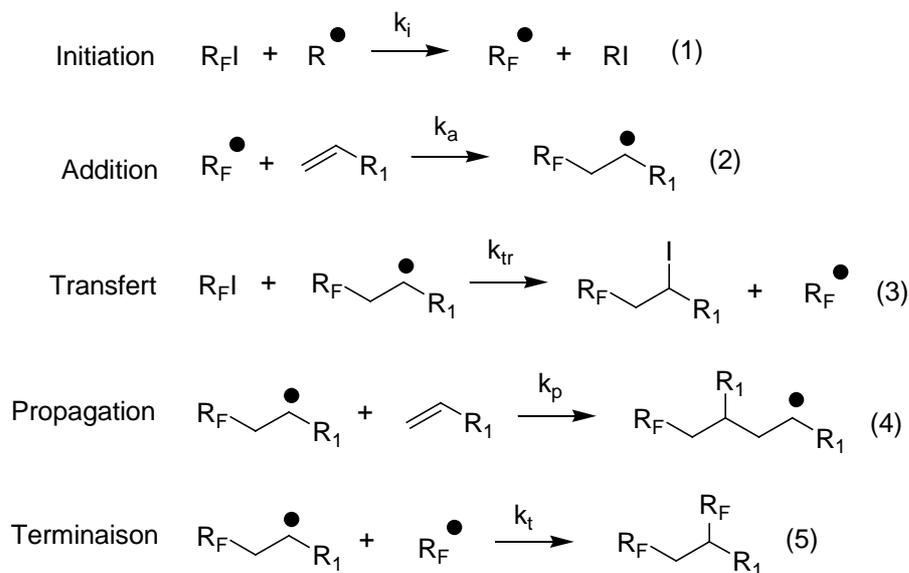


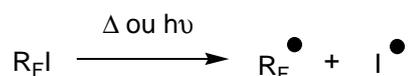
Schéma 2-5 : Mécanisme de l'addition radicalaire des iodoperfluoroalkyles sur les composés insaturés.

La première étape est la phase d'initiation qui va servir à générer un radical perfluoré R<sub>F</sub><sup>•</sup> par coupure homolytique de la liaison CF<sub>2</sub>-I. L'énergie nécessaire pour rompre la liaison peut être fournie de plusieurs façons :

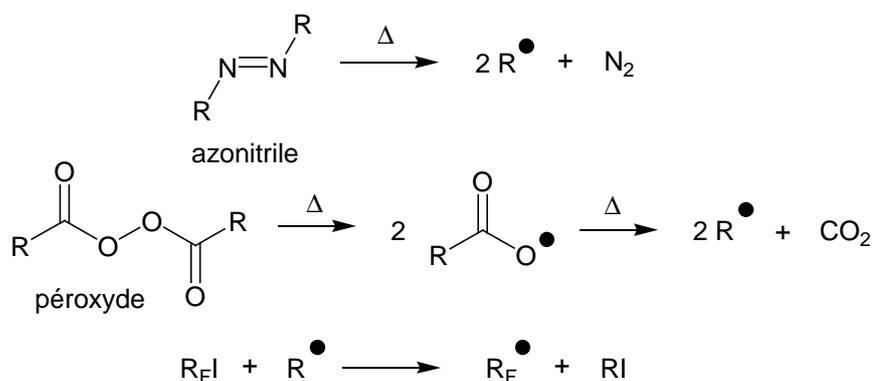
<sup>51</sup> N.O. Brace, *J. Fluorine Chem.*, **1999**, 96, 101-127 ; N.O. Brace, *J. Fluorine Chem.*, **2001**, 108, 147-175.

<sup>52</sup> M.S. Kharasch, E.V. Jensen, W.H. Urry, *Science*, **1945**, 102, 128.

- par chauffage thermique ou irradiation photochimique sous UV bien que cela nécessite des températures élevées de chauffage et des temps d'exposition prolongés de photolyse<sup>53</sup>.



- en présence d'un initiateur radicalaire tels que les azonitriles<sup>54</sup> (AIBN, AIVN), les peroxydes<sup>55</sup> ou bien le triéthylborane<sup>56</sup>. La plupart du temps, ce sont des molécules instables qui par un chauffage modéré se dissocient pour générer des radicaux libres et libérer des molécules gazeuses. Dans ces conditions, les additions s'effectuent généralement à des températures plus faibles avec une bien meilleure efficacité mais nécessitent quand même des temps de réaction relativement long pour obtenir un taux de conversion convenable.



- par réduction chimique (SET) avec un réducteur capable de transférer un électron libre pour initier le processus en chaîne.



Cette méthode est maintenant couramment utilisée pour réaliser l'addition de iodoperfluoroalkyles  $R_F I$  sur les oléfines et regroupe une grande variété de systèmes réducteurs incluant les métaux<sup>57</sup> (Fe, Mg, Zn, Cu, Sn, Ni), des complexes

<sup>53</sup> G.V.D. Tiers, *J. Org. Chem.*, **1962**, 27, 2261-2262 ; L.D. Moore, *J. Chem. Eng. Data*, **1964**, 9, 251-254 ; P. Tarrant, E.C. Stump, *J. Org. Chem.*, **1964**, 29, 1198-1202.

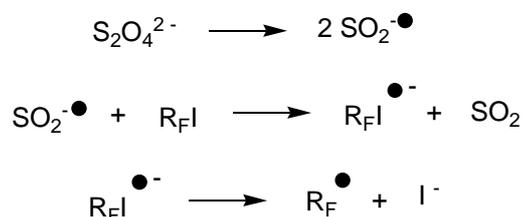
<sup>54</sup> N.O. Brace, *J. Org. Chem.*, **1962**, 27, 3033-3038 ; N.O. Brace, *J. Org. Chem.*, **1971**, 36, 1904-1909 ; M. Graupe, T. Koini, V. Wang, G. Nassif, R. Colorado, R.J. Villazana, H. Dong, Y. Miura, O. Shmakova and T.R. Lee, *J. Fluorine Chem.*, **1998**, 93, 107-115 ; D. Lahiouhel, B. Ameduri and B. Boutevin, *J. Fluorine Chem.*, **2001**, 107, 81-88.

<sup>55</sup> C.G. Overberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 2661 ; C.G. Overberg, *J. Polymer. Sci.*, **1951**, 6, 539.

<sup>56</sup> Y. Takeyama, Y. Ichinose, K. Oshima and K. Utimoto, *Tet. Lett.*, **1989**, 30, 3159-3162.

<sup>57</sup> Q.-Y. Chen, Z.-M. Qiu and Z.-Y. Yang, *J. Fluorine Chem.*, **1987**, 36, 149-161 ; B. Abou-Ghazaleh, P. Laurent, H. Blancon and A. Commeyras, *J. Fluorine Chem.*, **1994**, 68, 21-24 ; M. Kotora, M. Hajek, B. Amenduri and B. Boutevin, *J. Fluorine Chem.*, **1994**, 68, 49-56 ; M. Kuroboshi and T. Ishihara, *J. Fluorine Chem.*, **1988**, 39, 299-303 ; Q.-Y. Chen, Z.-Y. Yang and *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1986**, 498-499.

organométalliques de métaux de transitions<sup>58</sup> ou encore le couple  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4/\text{NaHCO}_3$ <sup>59</sup> qui amorce la réaction en chaîne après la dissociation du dithionite en ions radical  $\text{SO}_2^{\bullet-}$ .



L'étape 2 est l'addition régiosélective irréversible du radical  $\text{R}_{\text{F}}^{\bullet}$  sur l'extrémité de l'alcène terminal pour générer le radical secondaire intermédiaire le plus stable. Cette étape est exothermique en raison de la création d'une liaison  $\sigma$   $\text{CF}_2\text{-C}$  plus forte que la liaison  $\pi$  de l'alcène. L'étape 3 correspond au transfert réversible d'un atome d'iode sur le radical intermédiaire pour donner le dérivé iodé attendu et un second radical  $\text{R}_{\text{F}}^{\bullet}$  qui peut à son tour continuer la réaction en chaîne. En présence de monomères facilement polymérisables et/ou avec une concentration élevée d'alcène, l'étape 4 de propagation d'une chaîne polymérique peut se produire. L'étape 5 de terminaison stoppe la réaction en chaîne par l'association de radicaux.

L'addition radicalaire des iodoperfluoroalcanes sur des acides carboxylique insaturés a été utilisée pour préparer une série d'acides iodoalcanoïques  $\text{R}_{\text{F}}\text{CH}_2\text{CHI}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$  avec une chaîne perfluoroalkyle  $\text{R}_{\text{F}}$  variable comportant de 1 à 10 atomes de carbone et n un nombre entier compris entre 1 et 10. Ces dérivés ont pu être convertis en acides carboxyliques perfluorés correspondant  $\text{R}_{\text{F}}(\text{CH}_2)_{n+2}\text{CO}_2\text{H}$ <sup>60</sup>.

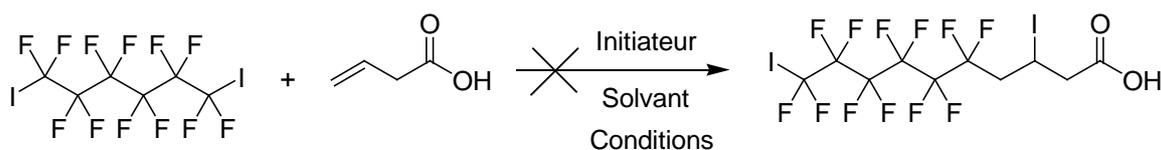
Lors de sa thèse au laboratoire, Séverine Denoyelle a réussi à monofonctionnaliser un excès de 1,8-diiodoperfluorooctane par l'acide undécénoïque avec un rendement de 70% en utilisant du Zn (en poudre) comme initiateur radicalaire au reflux du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  pendant 2h sous atmosphère d'argon<sup>61</sup>. Suivant ces travaux, nous avons voulu réaliser de la même manière la monoaddition d'un acide carboxylique insaturé plus court sur le 1,6-diiodoperfluorohexane (Schéma 2-6).

<sup>58</sup> T. Ishihara, M. Kurobashi and Y. Okada, *Chem. Lett.*, **1986**, 1895-1896 ; Q-Y. Chen, Z-Y. Yang, C-X. Zhao, Z-M. Qiu, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1988**, 563-567 ; Q-Y. Chen, Z-Y. Yang, *J. Fluorine Chem.*, **1988**, 39, 217-226 ; T. Fuchikami and I. Ojima, *Tet. Lett.*, **1984**, 25, 303-306.

<sup>59</sup> X. Li, L. Provencher and S.M. Singh, *Tet. Lett.*, **1994**, 35, 9141-9144 ; W-Y. Huang, L-Q. Hu and W-Z. Ge, *J. Fluorine Chem.*, **1989**, 43, 305-318 ; G. Rong, R. Keese, *Tet. Lett.*, **1990**, 31, 5615-5616.

<sup>60</sup> N.O. Brace, *J. Org. Chem.*, **1962**, 27, 4491.

<sup>61</sup> S. Denoyelle, A. Polidori, M. Brunelle, P.Y. Vuillaume, S. Laurent, Y. ElAzharyb and B. Pucci, *New J. Chem.*, **2006**, 30, 629-646.



**Schéma 2-6 :** Schéma de synthèse de l'addition radicalaire du dérivé diiodé  $I(CF_2)_6I$  sur l'acide buténoïque.

Le produit d'addition perfluoré peut être détecté aisément en RMN  $^1H$  par la présence d'un multiplet déblindé à  $\sim 4,6$  ppm caractéristique du CHI signifiant que l'addition du radical  $R_F^\bullet$  a eu lieu et qu'on a formé la liaison  $CF_2-C$ .

Cependant, en reproduisant ces conditions opératoires dans une solution dégazée et purgée à l'argon, nous n'avons pas observé la formation du produit attendu bien que l'alcène soit entièrement consommé durant l'expérience. Nous avons donc choisi de faire varier les conditions opératoires en changeant la nature de l'initiateur radicalaire (Tableau 2-2).

Essai	Initiateur	$I(CF_2)_6I$	Solvant	Conditions	Résultat
1	Zn dust, 6 éq	2 éq	$CH_2Cl_2$	Reflux, 2 h	Echec
2	Zn dust, 4 éq	2 éq	MeCN	TA, 4 h	-
3	Zn dust, 4 éq	2 éq	MeCN	Reflux, 14 h	Echec
4	AIBN, 0,2 éq	1,3 éq	MeCN	Reflux, 1 h	Alcène majoritaire
5	AIBN, 1,2 éq	2 éq	MeCN	24 h, reflux	Alcène majoritaire
6	$Na_2S_2O_4$ , 1 éq $NaHCO_3$ , 2,5 éq	1 éq	MeCN/ $H_2O$ (3:1)	TA, 24 h	Echec

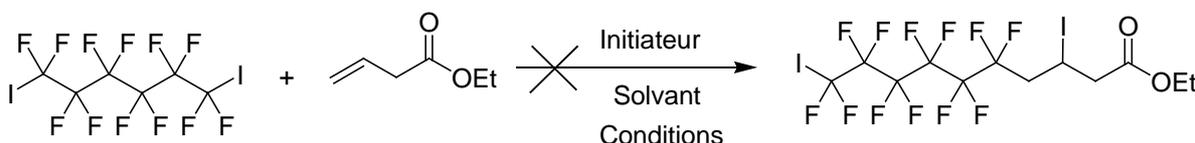
**Tableau 2-2 :** Essais d'addition radicalaire du dérivé diiodé sur l'acide buténoïque.

Dans un premier temps, nous avons conservé le Zn dust comme initiateur radicalaire et fait varier la nature du solvant. Lorsque la réaction est menée à TA dans le  $CH_3CN$ , il n'y a pas eu d'évolution marquante de la réaction lors du suivi par CCM au bout de 4 h. L'expérience a également été conduite au reflux du  $CH_3CN$  où il y a consommation de l'acide carboxylique insaturé mais on obtient dans ce cas un mélange complexe de signaux ne présentant pas celui attendu du CHI.

A ce stade, il était donc intéressant de modifier la nature de l'initiateur, ce qui nous a amené à travailler avec de l'AIBN au reflux du CH<sub>3</sub>CN. La température d'ébullition de 82°C du CH<sub>3</sub>CN, est idéale pour assurer la décomposition rapide de l'AIBN dans le milieu et la production de radicaux libres à l'étape d'initiation. Cependant, quelle que soit la quantité d'initiateur ou le temps de réaction de l'expérience, nous avons constaté un taux de conversion presque inexistant de l'alcène.

Nous avons essayé d'utiliser par la suite le couple Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/NaHCO<sub>3</sub> comme initiateur radicalaire dans les conditions décrites par l'équipe de Huang dans une solution homogène de CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (3:1)<sup>62</sup>. Après 24 h de réaction, le milieu réactionnel est acidifié avec de l'HCl 2N puis extrait avec un solvant organique, nous avons également observé que l'alcène a réagi mais le spectre du brut réactionnel est complexe et ne présente pas les signaux caractéristiques du CHI.

Lors de cette première série d'essais infructueux, nous avons constaté que l'utilisation du Zn dust provoque une réaction assez exothermique avec une consommation rapide de l'alcène tandis que l'AIBN lui, ne semble pas efficace. Nous avons supposé que la présence de la fonction acide carboxylique pouvait éventuellement influencer la réactivité du dérivé diiodé fluoré sur l'alcène, ce qui nous a amené à réaliser une série d'expériences sur l'ester éthylique (Schéma 2-7).



**Schéma 2-7** : Schéma de synthèse de l'addition radicalaire diiodé fluoré I(CF<sub>2</sub>)<sub>6</sub>I sur l'ester éthylique de l'acide buténoïque.

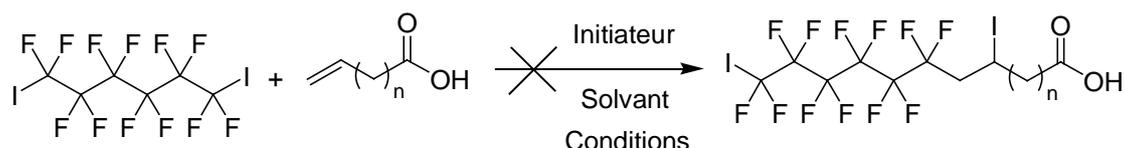
Essai	Initiateur	I(CF <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> I	Solvant	Conditions	Résultat
1	AIBN, 0,2 éq	1,5 éq	MeCN	Reflux, 2 h	Alcène majoritaire
2	AIBN, 1,2 éq	2 éq	MeCN	Reflux, 24 h	Alcène majoritaire
3	Zn dust, 6 éq	1,5 éq	MeCN	Reflux, 14 h	Echec

**Tableau 2-3** : Essais d'addition radicalaire du diiodé fluoré I(CF<sub>2</sub>)<sub>6</sub>I sur l'ester éthylique de l'acide buténoïque.

<sup>62</sup> W.-Y. Huang, *J. Fluorine Chem.*, **1992**, 58, 1.

Cependant, ces expériences nous ont amené au même constat que précédemment, le Zn dust consomme l'alcène mais ne donne pas le produit attendu et l'AIBN conduit à la récupération majoritaire de l'alcène en fin d'expérience (Tableau 2-3).

Nous avons voulu voir ensuite l'impact que pouvait avoir l'éloignement de la double liaison par rapport à la fonction carboxylique sur la réactivité de l'alcène vis à vis du diiodé perfluoré  $I(CF_2)_6I$  (Schéma 2-8 et Tableau 2-4).



**Schéma 2-8 :** Schéma de synthèse de l'addition radicalaire diiodé fluoré  $I(CF_2)_6I$  sur un acide carboxylique insaturé possédant une longueur de chaîne variable.

Essai	n	Initiateur	Solvant	Conditions	Résultat
1	0	AIBN, 1 éq	CH <sub>3</sub> CN	Reflux, 15 h	Echec
2	2	Zn dust, 5 éq	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Reflux, 2 h	Echec
3	2	AIBN, 1 éq	CH <sub>3</sub> CN	Reflux, 24 h	Alcène majoritaire

**Tableau 2-4 :** Essais d'addition radicalaire du diiodé fluoré  $I(CF_2)_6I$  sur des acides carboxyliques insaturés possédant une longueur de chaîne variable.

Lorsqu'on utilise l'acide acrylique au reflux du CH<sub>3</sub>CN en présence d'AIBN, l'alcène réagit relativement bien mais on n'observe toujours pas le signal du CHI dans le spectre RMN <sup>1</sup>H du brut réactionnel assez complexe qui peut nous laisser penser que l'acide acrylique polymérise dans ces conditions. L'ajout d'un maillon méthylène entre l'insaturation et la fonction acide carboxylique par l'utilisation de l'acide penténoïque n'a pas provoqué de changements significatifs si bien que l'on retombe sur les mêmes observations que précédemment.

Nous avons voulu également voir si l'amide intermédiaire **2** issu du couplage peptidique entre l'acide buténoïque et l'aminotriester **1** déprotégé pouvait favoriser l'addition radicalaire du radical R<sub>F</sub><sup>•</sup> sur l'insaturation (Schéma 2-9).

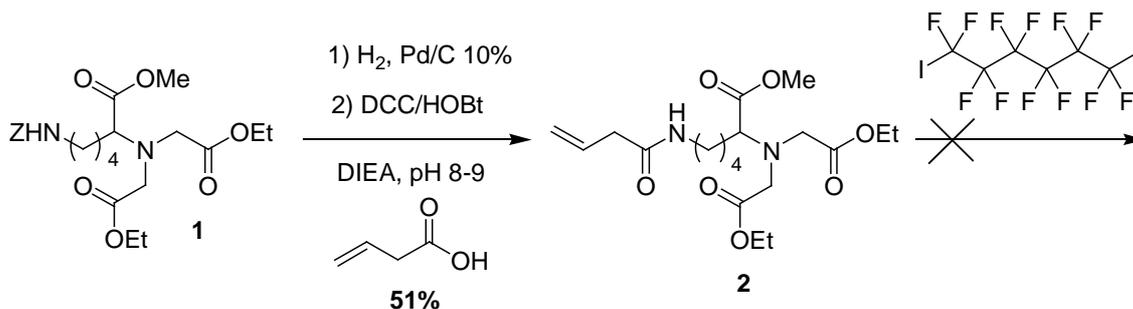


Schéma 2-9 : Schéma de synthèse conduisant à l'addition radicalaire diiodé fluoré  $I(CF_2)_6I$  sur l'amide **3**.

Malheureusement, l'utilisation d'AIBN ou même de Zn dust comme initiateur n'a apporté aucune amélioration à la réactivité du diiodé fluoré  $I(CF_2)_6I$  sur l'amide intermédiaire **2** sur des périodes prolongées au reflux du solvant.

Nous avons ensuite voulu vérifier que l'addition radicalaire de l'acide buténoïque sur l'iodoperfluorohexane conduisait bien à la formation de l'acide carboxylique perfluoré **3** correspondant pour écarter les doutes sur la faisabilité de la réaction (Schéma 2-10).

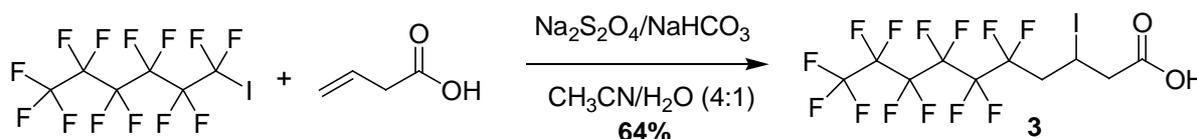


Schéma 2-10 : Schéma de synthèse de l'acide carboxylique perfluoré **3**.

Pour cela, nous avons mené l'expérience avec le couple réducteur  $Na_2S_2O_4/NaHCO_3$  comme initiateur de la réaction dans un mélange  $CH_3CN/H_2O$  (4:1). Après seulement 2 h de réaction et le traitement du milieu réactionnel, l'intermédiaire iodé perfluoré **3** a pu être isolé avec un rendement de 64% et identifié par son multiplet déblindé du CHI caractéristique (Figure 2-14).

Ce résultat démontre clairement la différence de réactivité qui existe entre les composés perfluorés monoiodé  $C_6F_{13}I$  et diiodé  $I(CF_2)_6I$ . A l'heure actuelle, aucune explication logique de cette absence de réactivité du dérivé diiodé ne peut être fournie hormis un défaut de réactivité vis-à-vis de l'alcène choisi ou une possible (mais peu probable) réaction de terminaison par couplage et polymérisation des chaînes perfluorées.

D'autre part, malgré leur neutralité électrique globale, les radicaux centrés sur le carbone présentent un caractère électrophile ou nucléophile plus ou moins prononcé en fonction des substituants présents sur la molécule. En raison du caractère fortement

électronégatif du fluor la chaîne perfluorée donne au radical centré sur le CF<sub>2</sub> un caractère fortement électrophile. Or il est admis que ce type de radicaux réagit très rapidement sur des fonctions vinyloxy substituées par des groupements donateurs d'électrons<sup>63</sup>.

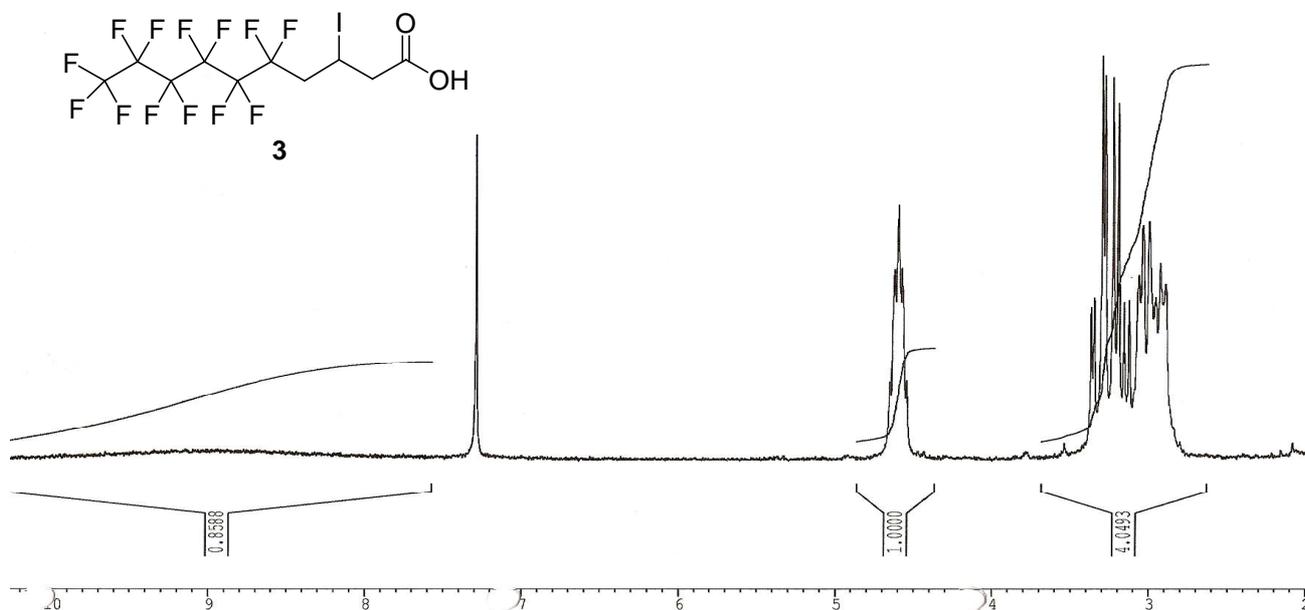


Figure 2-27 : Spectre RMN <sup>1</sup>H de l'acide carboxylique perfluoré 3.

L'acide buténoïque présente une fonction acide carboxylique très proche de la double liaison qui induit un effet inductif –I. Ceci explique la différence de réactivité observée avec l'acide undécénoïque dont la fonction acide carboxylique est bien plus éloignée de la fonction vinyloxy, qui en raison de la longueur de chaîne apporte un effet inductif +I donneur d'électrons qui exalte la réactivité de l'oléfine vis-à-vis du radical électrophile R<sub>F</sub><sup>•</sup>.

Pour cette raison, nous avons donc décidé de fonctionnaliser d'abord le dérivé diiodé fluoré par l'allylbenzène dont les propriétés électroattractrices du noyau aromatique sont moins prononcées que celles d'un acide carboxylique (Schéma 2-11 et Tableau 2-5).

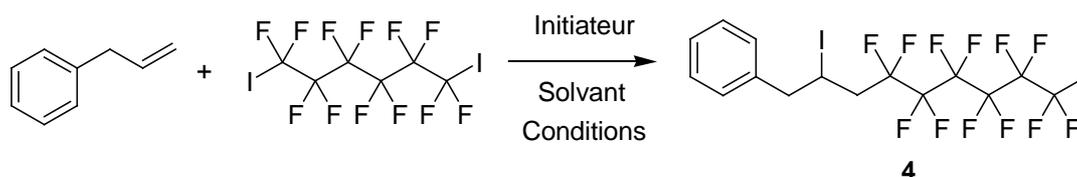


Schéma 2-11 : Schéma de synthèse du dérivé iodé hémifluoré 4.

<sup>63</sup> B. Giese, H. Horler and M. Leising, *Chem. Ber.*, **1986**, 119, 444.

Essai	Initiateur	Solvant	Conditions	Résultat
1	Zn dust, 4 éq	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Reflux, 24 h	Echec
2	AIBN, 0,2 éq/2 h	CH <sub>3</sub> CN	Reflux, 10 h	43%
3	AIBN, 0,2 éq/4 h	CH <sub>3</sub> CN	Reflux, 24 h	51%

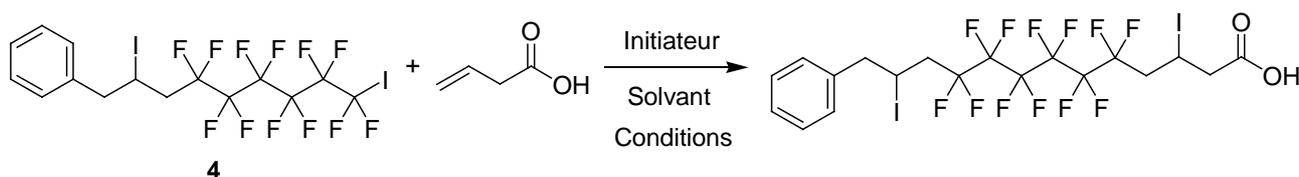
**Tableau 2-5 :** Essais d'addition radicalaire du diiodé fluoré I(CF<sub>2</sub>)<sub>6</sub>I sur l'allylbenzène.

Nous avons voulu essayer une dernière fois des conditions utilisant le Zn dust comme initiateur mais cet essai s'est encore révélé infructueux, ce qui nous a conduit à écarter de façon définitive des conditions opératoires avec cet initiateur pour des essais futurs.

D'un autre côté, l'ajout répété de petites quantités d'AIBN dans le milieu réactionnel à intervalles réguliers au reflux du CH<sub>3</sub>CN pendant 10 h a permis de former le produit de monoaddition **4** avec un rendement de 43%. La synthèse du dérivé **4** a même pu être améliorée avec un rendement moyen de 51% en écartant les intervalles d'addition de l'initiateur sur une période plus longue de réaction.

Ce résultat montre bien que l'effet mésomère –M de l'acide carboxylique sur l'acide buténoïque affecte fortement la réactivité de l'alcène en appauvrissant la double liaison en électrons et inhibe la réaction lors des essais d'additions radicalaires. Le groupement aromatique de l'allylbenzène ayant lui un effet inductif –I bien moins important que celui d'un acide carboxylique autorise l'addition du radical perfluoroalkyle R<sub>F</sub><sup>•</sup> sur l'insaturation suffisamment riche en électrons.

Malgré cette supposition, nous avons tout de même voulu effectuer des essais d'addition radicalaire supplémentaires de l'acide buténoïque avec le produit de monoaddition **4** au cas où la réactivité serait changée dans ce cas de figure (Schéma 2-12 et Tableau 2-6).



**Schéma 2-12 :** Schéma de synthèse de l'acide carboxylique hémifluoré asymétrique.

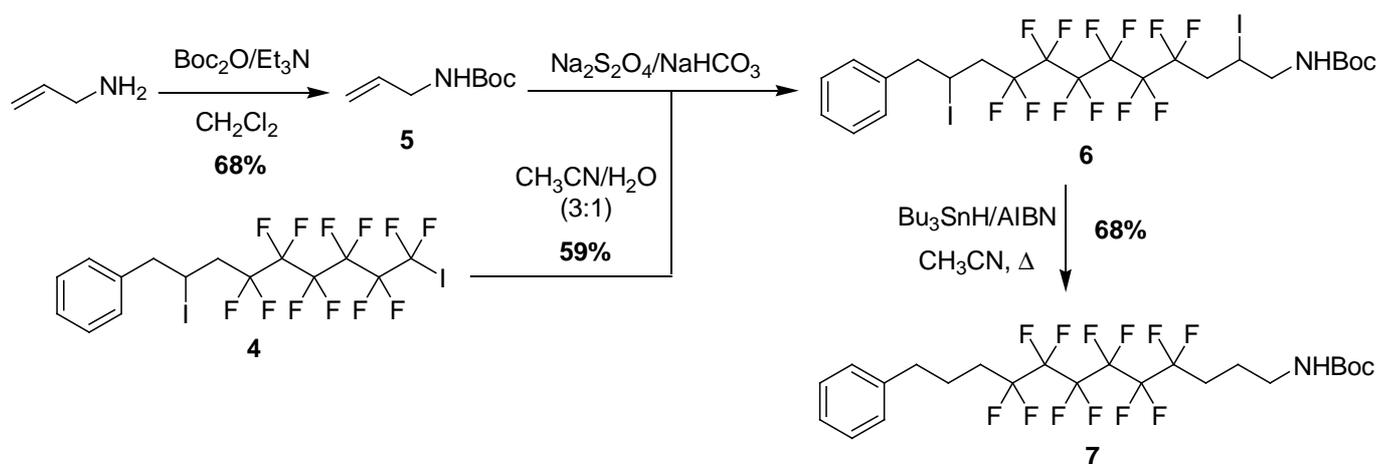
Essai	Initiateur	Solvant	Conditions	Résultat
1	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , 0,2 éq NaHCO <sub>3</sub> , 3 éq	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O (5:1)	TA, 22 h	17%
2	AIBN, 0,2 éq/2 h)	CH <sub>3</sub> CN	Reflux, 24 h,	22%
3	AIBN, 0,2 éq/8 h.	Acide buténoïque	Reflux, 4 jours	-

**Tableau 2-6** : Essais d'addition radicalaire de l'intermédiaire **4** sur l'acide buténoïque.

La réaction a été menée dans un premier temps avec le couple réducteur Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/NaHCO<sub>3</sub> pendant 22 h. Le produit souhaité a pu être isolé avec un rendement de seulement 17% en raison des difficultés de séparation par chromatographie sur colonne de silice du produit formé et de l'acide buténoïque non consommé.

Le rendement a pu être légèrement amélioré à 22% en utilisant l'AIBN au reflux du CH<sub>3</sub>CN mais nous avons été confronté au même problème de purification lié à la mauvaise réactivité de l'acide buténoïque qui se retrouve en excès en fin d'expérience. Un tel résultat semble corroborer notre hypothèse initiale incriminant le défaut de réactivité de l'alcène choisi.

Nous nous sommes donc orientés vers la synthèse d'une oléfine terminale riche en électrons apte à réagir plus efficacement avec le produit de monoaddition hémifluoré **4**. Pour cela, nous avons choisi l'allylamine qui a dans un premier temps, été protégée pour une raison de commodité de purification dans les étapes suivantes.



**Schéma 2-13** : Séquence réactionnelle conduisant à l'amine protégée hémifluorée **7**.

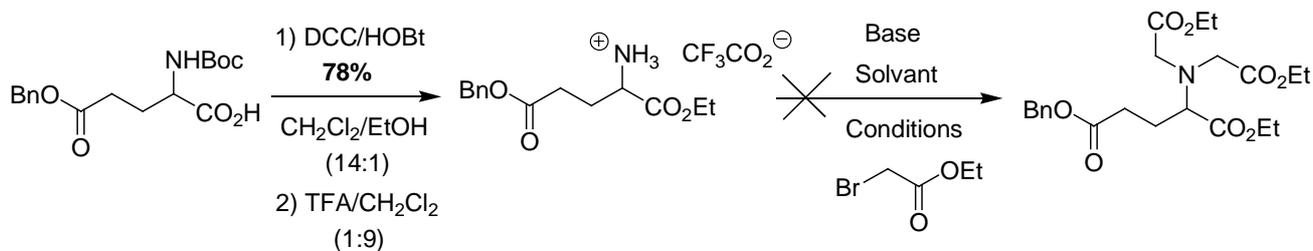
On a donc synthétisé dans des conditions classiques la Boc-allylamine **5** qui a pu être ensuite greffée sur l'intermédiaire hémifluoré **4** en présence du couple  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4/\text{NaHCO}_3$  pour donner le produit hémifluoré diiodé asymétrique **6** avec un rendement satisfaisant de 59%.

Ce résultat confirme une fois de plus l'importance des effets électrodonneurs dans les réactions de couplage radicalaire de radicaux fluorés sur les oléfines. Le produit **6** a finalement été réduit par voie radicalaire en présence d'AIBN et du réducteur  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  au reflux du  $\text{CH}_3\text{CN}$  pour donner l'amine protégée hémifluoré **7** avec un rendement de 68% (Schéma 2-13).

#### D. Condensation des synthons A et B

Pour relier le synthon **7** à la partie polaire NTA, nous avons envisagé dans un premier temps le greffage par une liaison amide. Pour cela l'utilisation de l'acide glutamique doté d'une chaîne latérale acide protégée par un ester benzylique nous a semblé appropriée.

Dans un premier temps, nous avons protégé la fonction acide principale du Boc-Glu(OBn)-OH par un ester éthylique. La protection Boc de l'amine a ensuite été traitée en milieu acide pour obtenir l'amine déprotégée sous la forme d'un sel trifluoroacétate d'ammonium. Plusieurs essais de N-alkylation de cet intermédiaire ont été réalisés pour obtenir le dérivé triester (Schéma 2-14 et Tableau 2-7).



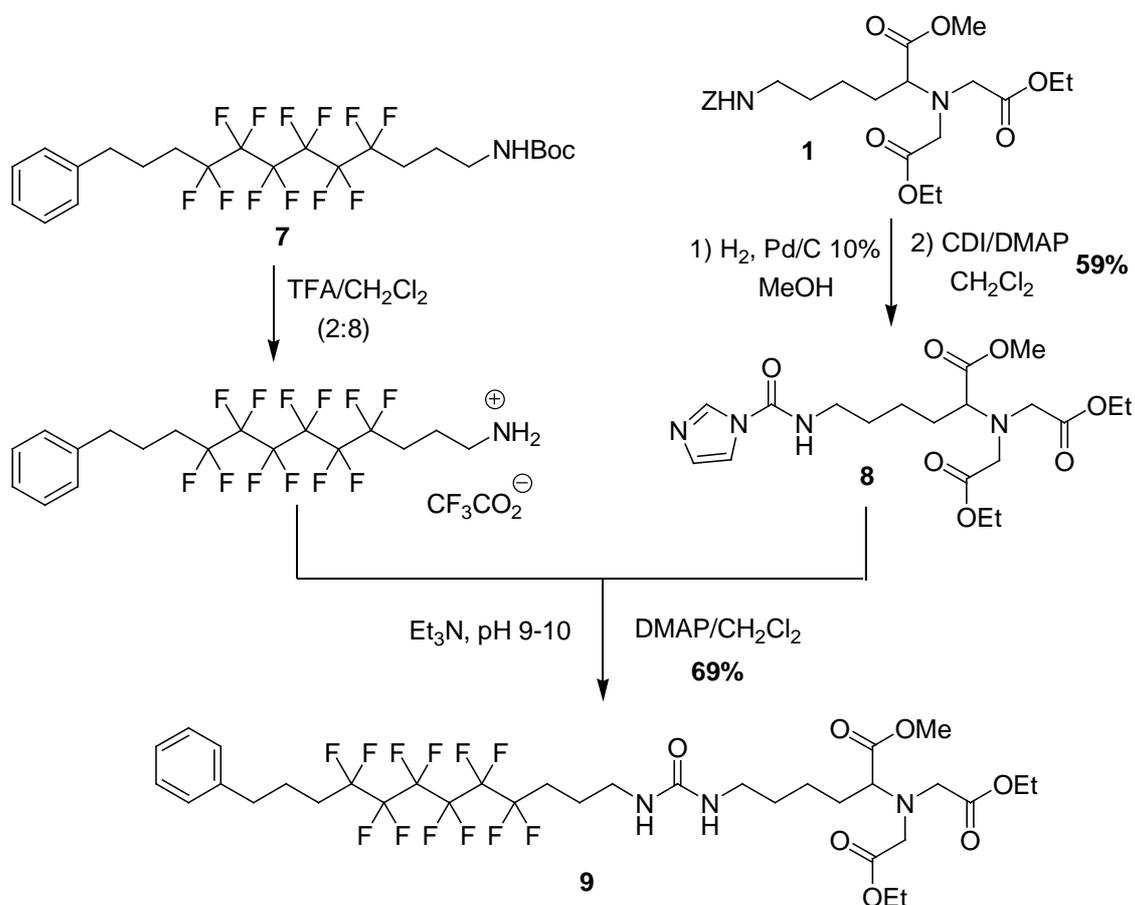
**Schéma 2-14** : Schéma de synthèse utilisé pour préparer le synthon A dérivé de l'acide glutamate.

Bien entendu, nous avons voulu reproduire les conditions utilisées avec le dérivé de la lysine mais l'expérience s'est soldée par un échec et nous n'avons récupéré aucun produit correspondant à celui attendu. Pensant que la base était trop forte ( $\text{pK}_a \sim 16$ ), nous avons voulu utilisé une gamme de bases plus ou moins forte et/ou encombrante. Dans toutes les expériences, excepté pour le DABCO, il semble que l'amine réagisse mais on obtient à chaque fois un mélange complexe dans lequel nous n'avons jamais pu obtenir le produit attendu.

Essai	Bromoacétate d'éthyle	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	5 éq	MeONa, 7 éq	CH <sub>3</sub> CN	Reflux, 24 h	Echec
2	4,5 éq	DABCO, 3,5 éq	CH <sub>3</sub> CN	Reflux 20h	-
3	3 éq	DBU, 3éq	CH <sub>3</sub> CN	Reflux 22 h	Echec
4	3 éq	<i>t</i> BuOK, 3,5 éq	CH <sub>3</sub> CN	TA, 18 h	Echec
5	3 éq	Et <sub>3</sub> N, 3,5 éq	CH <sub>3</sub> CN	TA, 18 h	Mélange complexe

**Tableau 2-7 :** Essais de N-alkylation à partir du trifluoroacétate d'ammonium intermédiaire.

Nous avons donc décidé d'associer les amines des synthons A et B préparés via une liaison urée en réalisant des additions nucléophiles séquencées des deux intermédiaires sur le CDI et le carboxyimidazole intermédiaire **8** formé pour conduire à l'urée dissymétrique hémifluorée **9** (Schéma 2-15).



**Schéma 2-15 :** Schéma de synthèse du triester hémifluoré **9** obtenu à partir des synthons A et B.

Dans un premier temps, le triester **1** est déprotégé par hydrogénolyse pour former l'amine libre intermédiaire qui est mise directement en réaction sans purification avec un excès de CDI et de la DMAP pour donner le carboxyimidazole **8** avec un rendement de 59%.

En parallèle, le dérivé hémifluoré **7** est déprotégé avec un mélange TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:8) pour former un sel de trifluoroacétate intermédiaire. Le sel est alors solubilisé dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en ajustant le pH de la solution à 9-10 avec de la TEA et l'amine est mise en réaction in situ avec le carboxyimidazole **8** en présence de DMAP pour donner le triester hémifluoré **9** avec un rendement de 69%.

Le triester **9** a été obtenu pur, et a été caractérisé en RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F, DEPT 135, COSY et HMQC (voir Annexe 1). La présence des protons aromatiques (7,1-7,4 ppm) et des protons des fonctions ester éthylique (quadruplet des CH<sub>2</sub> à 4,2 ppm et triplet des CH<sub>3</sub> à 1,3 ppm) indiquent que le couplage entre les parties polaire et apolaire est bien effectif.

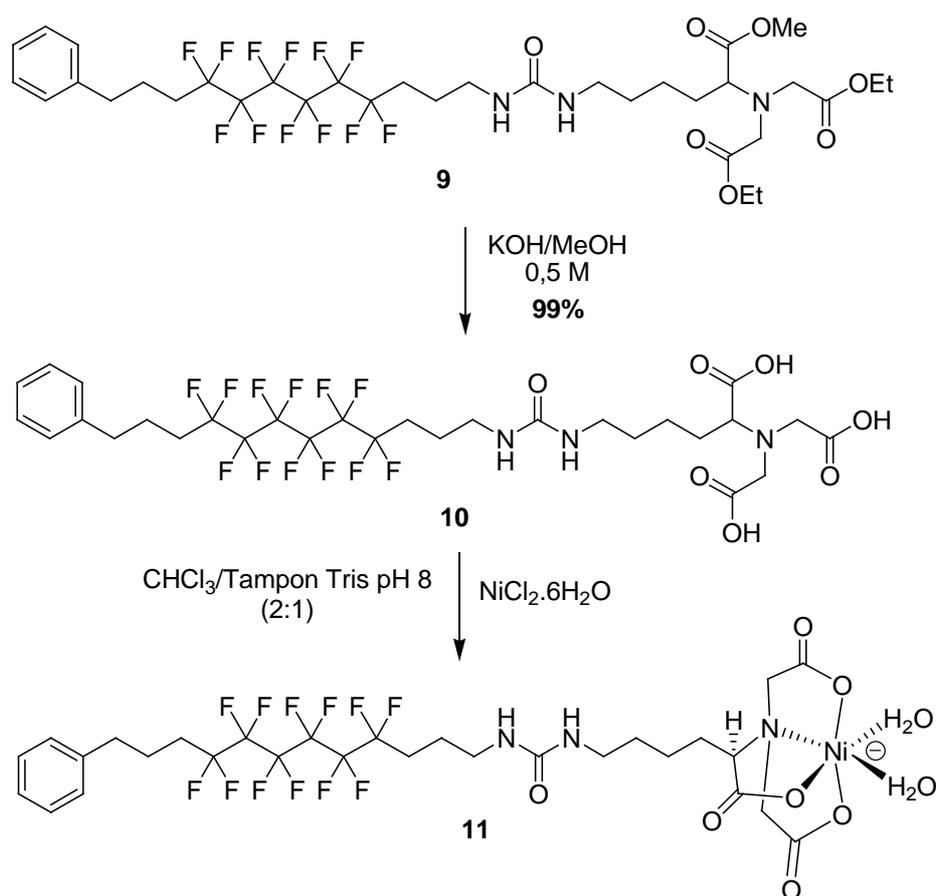


Schéma 2-16 : Schéma de synthèse du lipide hémifluoré PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> **11**.

Le triester hémifluoré **9** a ensuite été saponifié avec une solution de potasse méthanolique à 0,5 M pendant 16 h à TA. Après traitement acide avec HCl 1N et purification

par chromatographie d'exclusion de taille dans un mélange MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), on récupère le lipide hémifluoré NTA **10** avec un rendement de 99%. Nous avons pu confirmer par RMN <sup>1</sup>H du produit **10** dans le DMSO la disparition des signaux à 1,3 ppm et 3,6 ppm caractéristiques respectivement des groupements méthyles des esters éthylique et méthylique prouvant que la saponification des fonctions ester est totale.

Le ligand NTA du lipide hémifluoré **10** a ensuite été complexé à des ions Ni<sup>2+</sup> en utilisant un système biphasique CHCl<sub>3</sub>/Tampon TRIS pH 8 (2:1) en présence de sels de nickel NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O. Après seulement 1 h d'agitation, la phase organique commence à devenir légèrement verte montrant bien que la complexation des ions Ni<sup>2+</sup> sur le ligand NTA du lipide hémifluoré **10** se produit. On laisse la réaction se prolonger 24 h pour s'assurer de la fixation du Ni<sup>2+</sup> sur tous les ligands NTA disponibles. La phase organique est séparée et concentrée pour donner sans étape de purification le lipide hémifluoré fonctionnel PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> **11** sous l'aspect d'une poudre verte (Schéma 2-16).

### **E. Caractérisation du lipide hémifluoré PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>**

En raison de la présence de l'ion métallique Ni<sup>2+</sup>, le lipide hémifluoré PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> contenant plusieurs électrons non appariés est une espèce paramagnétique. De ce fait, il n'a pas été possible de caractériser précisément le PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H.

Le PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> (856 g/mol) a donc été analysé au spectropole de Marseille par spectrométrie de masse après ionisation chimique en electrospray (ESI-MS). Le spectromètre de masse Qstar Elite (Applied Biosystems SCIEX) utilisé est équipé d'une source d'ionisation à pression atmosphérique (API) assistée pneumatiquement. Le produit a été ionisé en mode electrospray positif dans les conditions suivantes : tension electrospray (ISV) = 5500 V ; tension orifice (OR) = 80 V ; Pression du gaz de nébulisation (air) = 20 psi. Le spectre de masse haute résolution a été obtenu avec un analyseur temps de vol (TOF). 4 mg de l'échantillon sont dissout dans 500 µL de dichlorométhane puis dilué au 1/10<sup>4</sup> dans une solution de méthanol à 3 mM d'acétate d'ammonium.

Cependant, l'analyse n'a donné aucun ion caractéristique de la présence du PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> mais plusieurs ions intenses ont été détectés à m/z 794, m/z 808, m/z 822 et m/z 836. Il est logique de penser que les conditions d'analyse conduisent à la décomplexation de l'ion métallique Ni<sup>2+</sup> au centre de la sphère de coordination du complexe. De cette manière, les ions m/z 794 et m/z 836 ont pu être attribués respectivement aux adduits [M-Ni-2H<sub>2</sub>O+2NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+4H<sup>+</sup>]<sup>3+</sup> et [M-Ni-2H<sub>2</sub>O+4NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+2H<sup>+</sup>]<sup>3+</sup>.

Afin de déterminer la quantité exacte de nickel complexé, nous avons décidé de les doser par spectroscopie d'absorption atomique (AAS) sur un spectromètre AAnalyst 400 avec une flamme formée par flux d'air (10 L/min) et d'acétylène (2,5 L/min).

Le principe de la spectroscopie d'absorption atomique consiste à mesurer l'absorption de la radiation électromagnétique correspondante de l'élément à doser (ici  $\lambda_{Ni} = 252$  nm) par l'échantillon à doser.

D'un point de vue pratique, la raie monochromatique d'émission de l'élément est fournie à l'aide d'une lampe à cathode creuse comportant l'élément à doser. En appliquant une différence de potentiel à l'intérieur de la lampe dans un vide poussé et en présence d'un gaz rare, les molécules gazeuses sont ionisées et bombardent la surface de la cathode creuse. Cela a pour effet d'arracher les atomes de l'élément constituant la cathode creuse qui en passant à un état excité conduisent à l'émission atomique de l'élément.

L'échantillon à analyser en solution est aspiré par un nébuliseur qui par un effet Venturi pulvérise l'échantillon en un aérosol constitué de fines gouttelettes. Après le passage dans la chambre de nébulisation, le brouillard homogène ainsi formé passe dans un brûleur puis une flamme air-acétylène ( $T = 2500^{\circ}\text{C}$ ) dans le but de transformer les fines gouttelettes en particules solides qui une fois fondues sont vaporisées puis atomisées.

La radiation électromagnétique caractéristique de l'élément passe dans le nuage de vapeur atomique de l'échantillon à doser et l'intensité d'absorption est mesurée par un détecteur relié à un amplificateur et un dispositif d'acquisition.

L'intensité de l'absorption dépend directement du nombre de particules absorbant à la raie d'émission de l'atome étudié selon la loi de Beer Lambert où l'absorbance est proportionnelle à la concentration. Pour se trouver dans la gamme de dosage où la droite d'étalonnage est quasi linéaire, il est nécessaire d'utiliser des échantillons dilués dans une gamme de concentrations généralement comprises entre  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  M.

Pour préparer la solution à doser de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>, nous avons d'abord suivi une procédure de minéralisation<sup>64</sup> pour décomposer le complexe et relarguer en solution les ions Ni<sup>2+</sup> (voir partie expérimentale).

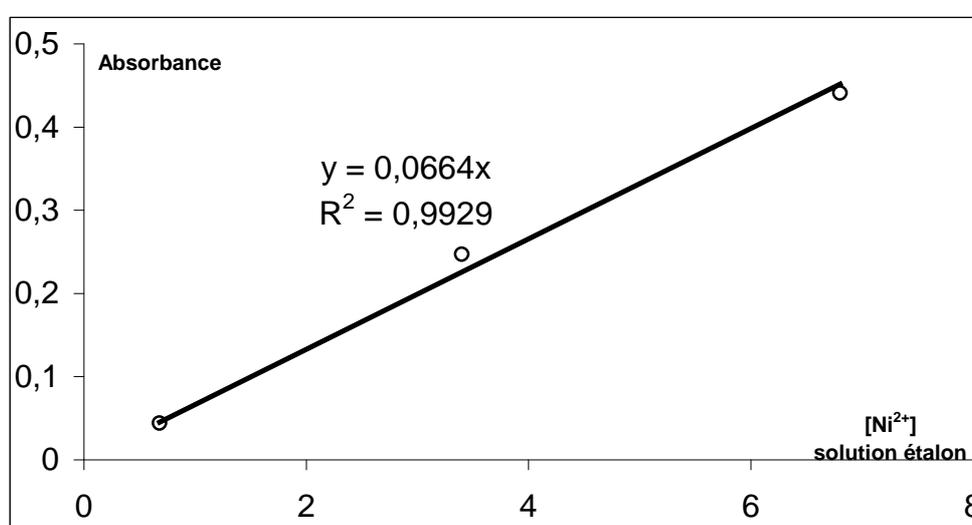
A partir d'une solution mère de concentration  $\sim 68$  mg/L préparée avec des sels de NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (MM = 237, 69 g/mol), nous avons constitué une gamme de solutions étalons pour lesquelles nous avons mesuré l'absorbance, ce qui nous a permis de tracer la courbe d'étalonnage (Tableau 2-8 et Figure 2-15).

---

<sup>64</sup> E. Montargès-Pelletier, V. Chardot, G. Echevarria, L. Michot, A. Bauer and J.L. Morel, *Phytochemistry*, **2008**, 69, 1695-1709.

	[Ni <sup>2+</sup> ] (mg/L)	Absorbance <sup>a</sup>
Solution mère	68,03	-
Solutions étalons	6,8	0,441
	3,4	0,247
	0,68	0,044

**Tableau 2-8 :** Mesure de l'absorbance des solutions étalons de Ni<sup>2+</sup>. <sup>a</sup> la valeur d'absorbance correspond à la moyenne de 3 mesures.



**Figure 2-29 :** Courbe d'étalonnage de l'absorbance fonction de la [Ni<sup>2+</sup>] établie par spectroscopie d'absorption atomique.

Nous avons ensuite passé la solution à doser de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> préparée par minéralisation sur le spectromètre qui a mesuré une valeur expérimentale d'absorbance de 0,555. En reportant cette valeur sur l'équation de la droite d'étalonnage, on calcule une concentration expérimentale de 8,36 mg/L qui correspond à un taux de complexation de 99% si l'on compare à la concentration de la solution théorique de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> préparée égale à 8,41 mg/L.

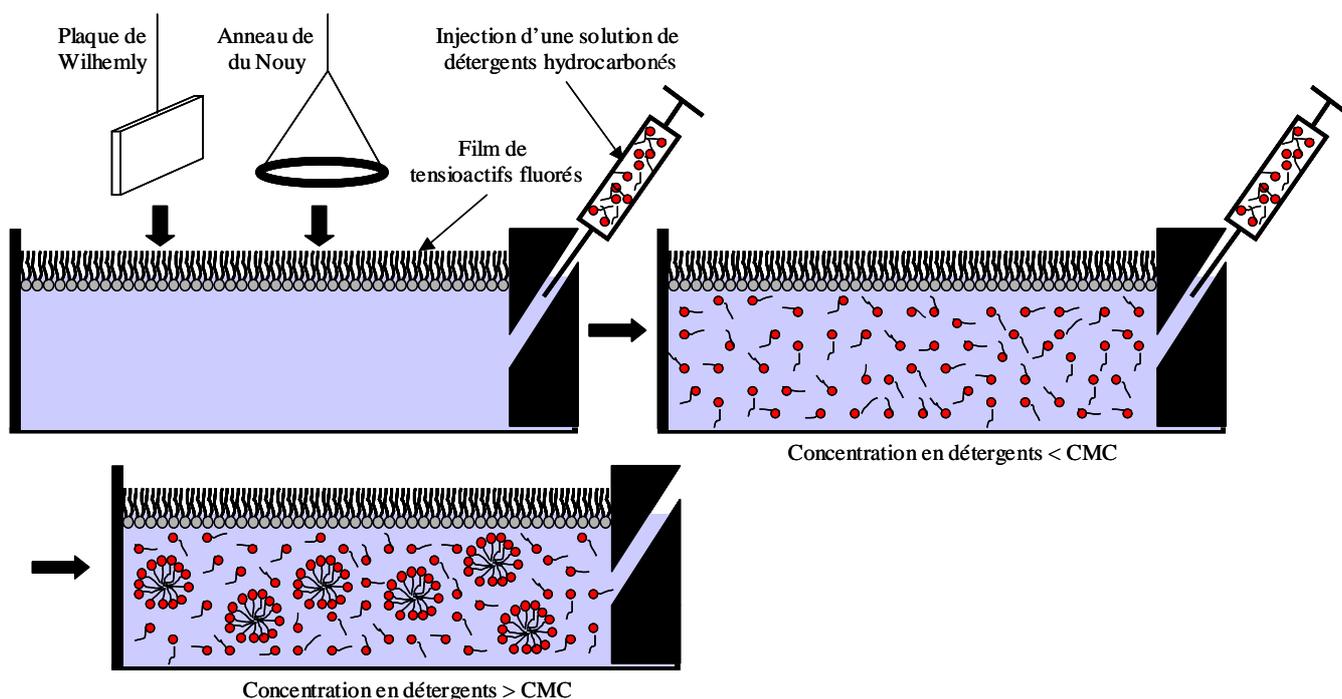
Cette analyse par AAS nous a permis de lever toute ambiguïté sur la présence et la quantité d'ions Ni<sup>2+</sup> complexée au lipide hémifluoré NTA **10**.

Par ailleurs, le PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> (6,85% de Ni) a subi une microanalyse au CNRS qui a révélé la présence de 8,83% de Nickel dans l'échantillon, ce qui confirme pleinement nos mesures d'absorption atomique. Ces résultats accréditent l'idée qu'effectivement tous les sites NTA sont bien complexés au nickel

#### IV. Etude de cristallisation 2D sur un film de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>

Avant d'envisager des études de cristallisation 2D, nous avons effectué des tests de stabilité des films de tensioactifs à l'interface air-eau des composés PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> et C<sub>6</sub>F<sub>13</sub>SOTHAM vis-à-vis de tensioactifs hydrocarbonés.

Le principe de la méthode consiste à former un film de tensioactifs fluorés à l'interface air-eau, de mesurer sa tension interfaciale au cours du temps et d'injecter dans la sous-phase un détergent hydrocarboné (Figure 2-16).



**Figure 2-31** : Principe de la technique consistant à mettre en évidence la stabilité du film de tensioactifs fluorés.

Il existe plusieurs façons de mesurer la tension superficielle d'un liquide dont les plus courantes sont la méthode de la plaque de Wilhelmy ou encore celle de l'anneau de du Nouy. Cette notion sera clairement détaillée dans le troisième chapitre de ce manuscrit mais brièvement, la technique consiste à immerger et tirer hors du liquide une plaque ou un anneau tout en mesurant la force exercée. Selon la largeur de la plaque ou le périmètre de l'anneau, la valeur ainsi obtenue peut être facilement transcrite à celle de la tension superficielle. Si il y a interaction entre le film fluoré et le détergent cela se traduit par un changement de la mesure de la tension interfaciale.

Les mesures de tension de surface ont été réalisées sur un tensiomètre Krüss K10T (Hamburg, Allemagne) équipé d'un anneau en alliage Pt/Ir. Des solutions de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>

à 18 mM dans un mélange  $\text{CHCl}_3/n\text{-Hexane}$  (1:1) et de  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{SOTHAM}$  à 50 mM dans l'eau ont été préparées. La synthèse du  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{SOTHAM}$ <sup>65</sup> qui possède une CMC de 0,37 mM a déjà été décrite dans la littérature et le produit était disponible au laboratoire.

3  $\mu\text{L}$  de la solution de  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{SOTHAM}$  ont été étendus à la surface d'une solution de 20 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  pour obtenir une concentration finale de 0,75 mM correspondant à une concentration environ 2 fois supérieure à celle de la CMC. La tension de surface mesurée est de 21,5 mN/m. Après des additions successives de DDM (CMC 0,17 mM) à des concentrations de 0,5CMC et 6CMC, aucune modification de la tension de surface n'est observée indiquant que le film constitué de tensioactifs fluorés est stable en présence de détergents.

200  $\mu\text{L}$  de la solution de  $\text{PhHFNTA-Ni}^{2+}$  (CMC 0,1 mM) sont étendus à la surface de 20 mL d'une solution tampon ( $\text{NaCl}$  250 mM, Tris 20 mM, pH 8) pour avoir une concentration finale de 0,2 mM correspondant à une concentration environ 2 fois supérieure à celle de la CMC. La tension de surface mesurée est de 33,8 mN/m. Etant donné que cette valeur est comparable à la valeur de la tension superficielle limite du DDM en solution (34,9 mN/m), l'addition de ce dernier ne devrait pas provoquer de modifications drastiques et significatives de la tension de surface même si il venait à perturber la monocouche en surface de la solution.

De ce fait, le DDM a été substitué par le  $\text{H}_{12}\text{-TAC}$ , un tensioactif télomère dérivé du TRIS ayant une CMC de 0,5 M dont les propriétés détergentes ont déjà été démontrées<sup>66</sup>. La tension de surface mesurée du  $\text{H}_{12}\text{-TAC}$  est de 39,3 mN/m lorsqu'il est étendu seul en solution à une concentration de 4CMC. Le  $\text{H}_{12}\text{-TAC}$  a donc été injecté dans la sous-phase du film de  $\text{PhHFNTA-Ni}^{2+}$  à des concentrations finales de  $\text{H}_{12}\text{-TAC}$  allant de 0,5CMC à 3CMC et nous n'avons observé aucune perturbation du film puisque la tension de surface du liquide est restée constante à une valeur de 33,8 mN/m.

Ces 2 expériences préliminaires montrent bien que les tensioactifs fluorés  $\text{PhHFNTA-Ni}^{2+}$  et  $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{SOTHAM}$  forment des films stables qui ne sont pas perturbés par la présence de détergents dans la sous-phase couramment utilisés dans la solubilisation des protéines membranaires tels que le DDM ou le  $\text{H}_{12}\text{-TAC}$ , et ceci même à des concentrations pouvant atteindre 6CMC.

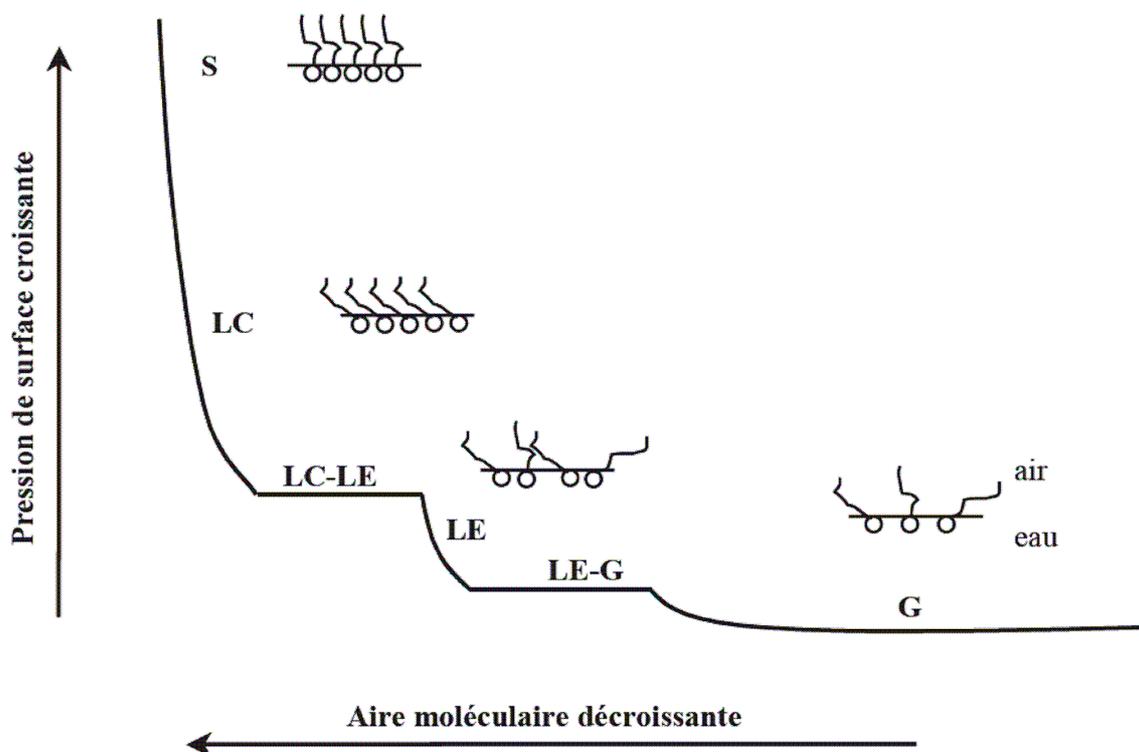
Un autre facteur important réside dans la fluidité du film constitué par la monocouche de tensioactifs. En effet, celui-ci doit rester parfaitement fluide pour faciliter la diffusion

---

<sup>65</sup> P. Barthélémy, J.C. Maurizis, J.M. Lacombe and B. Pucci, *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, 8, 1559-1562.

<sup>66</sup> B. Pucci, J.-C. Maurizis and A.A. Pavia, *Eur. Polym. J.*, **1991**, 27, 1101-1106.

latérale des tensioactifs et des protéines fixées afin de favoriser leur cristallisation. La fluidité du film peut être mesurée par une balance de Langmuir. La méthode consiste à fabriquer un film de tensioactifs sur lequel va être exercée une pression latérale. La mesure de la tension interfaciale au cours de la compression indique l'état de l'organisation du film (Figure 2-17).



**Figure 2-33** : Isotherme de compression typique d'un acide gras. En comprimant la monocouche, les molécules passent successivement d'une phase gazeuse (G), à une phase liquide expansée (LE) puis à une phase liquide condensée (LC). A plus haute compression, on atteint l'état solide (S) puis l'effondrement de la monocouche (collapse).

Dans une phase gazeuse les molécules ne sont pas organisées, tandis que dans une phase liquide expansée les tensioactifs sont organisés dans une phase qui laisse libre cours à leur diffusion latérale. C'est cette phase là qui doit être recherchée pour obtenir les meilleures chances de cristallisation d'une protéine à l'interface air-eau. L'isotherme de compression sera donc caractérisé par une montée progressive vers le collapse sans passage par des paliers de compression intermédiaires.

Pour rendre compte de la fluidité du film de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>, la mesure de l'isotherme de compression a été réalisée avec une balance de Langmuir (Nima technology Ltd Coventry, Angleterre). La cuve utilisée est constituée d'une plaque de teflon recouvrant une surface de 525 cm<sup>2</sup>.

3 µL du PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> à 18 mM dans un mélange CHCl<sub>3</sub>/*n*-Hexane (1:1) a été dispersé à l'interface à une température de 20°C. Après 15 minutes, le solvant s'évapore

naturellement et le procédé de compression du film peut débuter à une vitesse de 50 cm<sup>2</sup>/min (Figure 2-18).

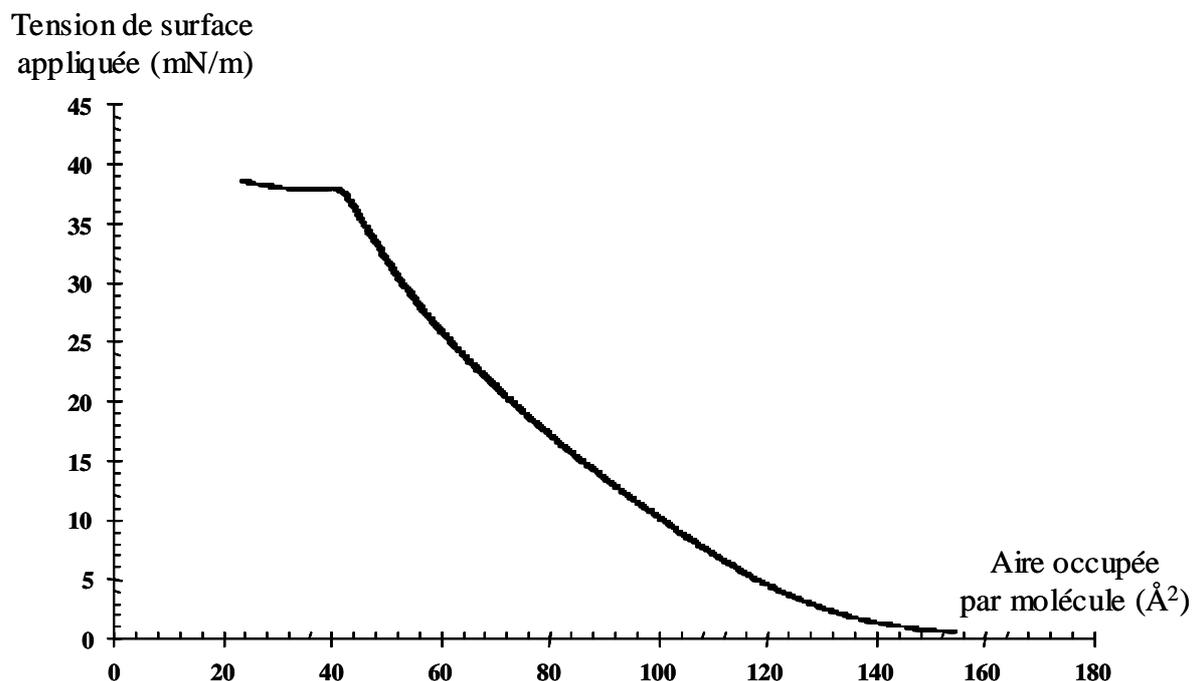


Figure 2-35 : Courbe isotherme de la tension de surface en fonction de l'aire occupée du lipide PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>.

Le graphique montre clairement qu'aucune transition de phase du film ne se produit indiquant que celui-ci se trouve dans une forme liquide expansée fluide jusqu'au collapse. Le film est stable jusqu'à une tension de surface égale à 38 mN/m où à cet état de compression maximal, l'aire occupée par les molécules de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> est de 43 Å.

Les tests réalisés en mélange avec le tensioactif de dilution, le C<sub>6</sub>F<sub>13</sub>SOTHAM n'ont pas permis de mettre en évidence de courbe d'isotherme de compression. Il semble que le film de lipides fluoré et hémifluoré ne soit pas stable.

Des essais de cristallisation 2D ont cependant été réalisés au laboratoire de Biophysique Moléculaire à l'Université d'Oxford par le Dr Catherine Vénien-Bryan.

La protéine membranaire qui a été étudiée est un récepteur de sulfonylurée SUR1 comportant 3 sous-unités transmembranaires SUR associés à une petite protéine Kir 6.2. L'association des 4 sous unités forme un canal ionique à K<sup>+</sup> essentiel à la sécrétion d'insuline dans les cellules du pancréas. Son fonctionnement est encore mal connu et sa mutation est l'une des causes principales du diabète (Figure 2-19).

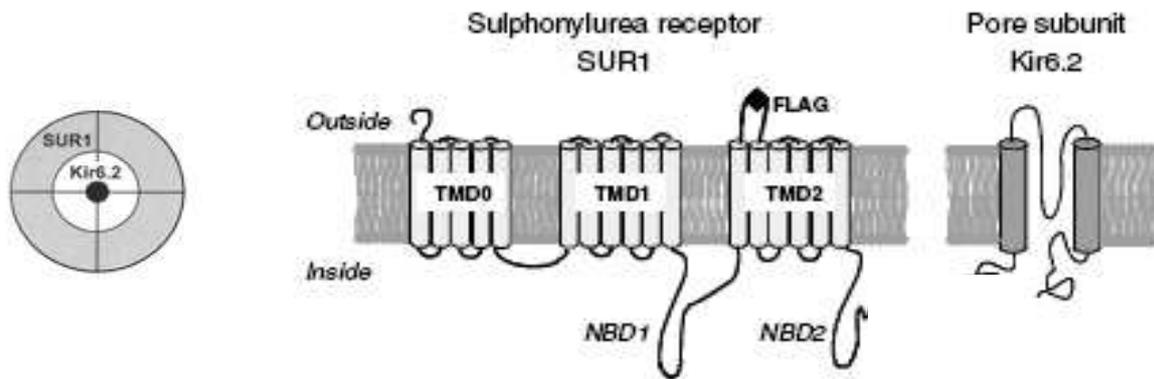


Figure 2-37 : Représentation de la protéine membranaire SUR1 et de ses 4 sous-unités qui la composent.

Les essais de cristallisation ont été réalisés sur des plaques comportant six puits en teflon de 4 mm de diamètre et d'une capacité de 50  $\mu$ L ou 70  $\mu$ L. Chaque puit est connecté à un canal permettant l'injection de la solution de protéine dans la sous-phase sans perturber la monocouche présente à l'interface (Figure 2-20).

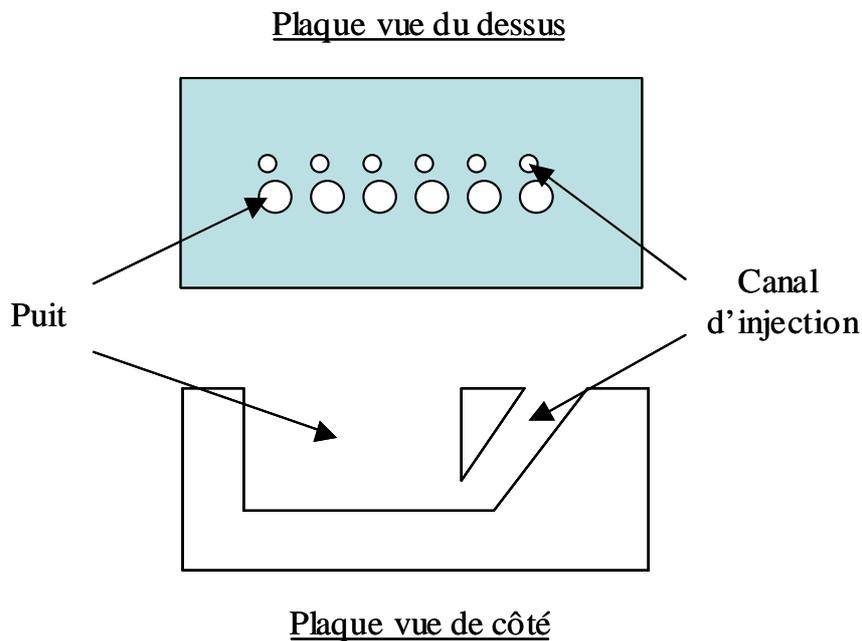


Figure 2-39 : Schématisation des plaques comportant les puits en teflon de cristallisation.

La solution mère du lipide hémifluoré PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> a été préparée à une concentration de 500  $\mu$ M dans un mélange CHCl<sub>3</sub>/*n*-Hexane (1:1).

Dans un premier temps, les plaques de puits en teflon sont remplies entièrement avec une solution tampon bien précise (50mM TRIS pH8, 50mM NaCl, 2,5% sucrose, 10mM TCEP, 10 $\mu$ M Glibenclamide et 0,001% Fos16). Le Glibenclamide permet d'organiser et maintenir la protéine dans sa conformation active. Le Fos 16 est l'abréviation donnée à un détergent ayant une structure similaire à un phospholipide, c'est lui qui sert à solubiliser la protéine membranaire. La solution tampon contient également de l'azoture de sodium pour inhiber la croissance bactérienne (1  $\mu$ L/mL).

Ensuite, 5 $\mu$ l de la solution de lipides fluorés (mélange C<sub>6</sub>F<sub>13</sub>SOTHAM + PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>) dissous dans le chloroforme sont étendus à la surface de la goutte tampon et la solution est incubée pendant 24 h à 20°C dans une chambre de Pétri pour stabiliser le film lipidique. Après cette période d'incubation, un mélange lipide/protéine est injecté via le canal à un ratio L/P variant de 0,5 à 0,8 (w:w) et la solution est de nouveau incubée à 20°C pendant 24 h. Le lipide de reconstitution utilisé est le DOPC.

Des perles de biobeads sont ensuite introduites par le canal d'injection au fond du puits de teflon pour éliminer les molécules de détergent.

Après 24 h d'incubation, une grille carbonée de microscopie électronique est déposée au contact de la goutte pendant 5 minutes, le film carboné de la grille tourné vers la couche de lipides. La goutte déposée sur la grille est séchée avec un papier adsorbant de type Wattman et on ajoute une goutte d'une solution d'acétate d'uranyle à 1% dans l'eau pour « colorer » l'échantillon..

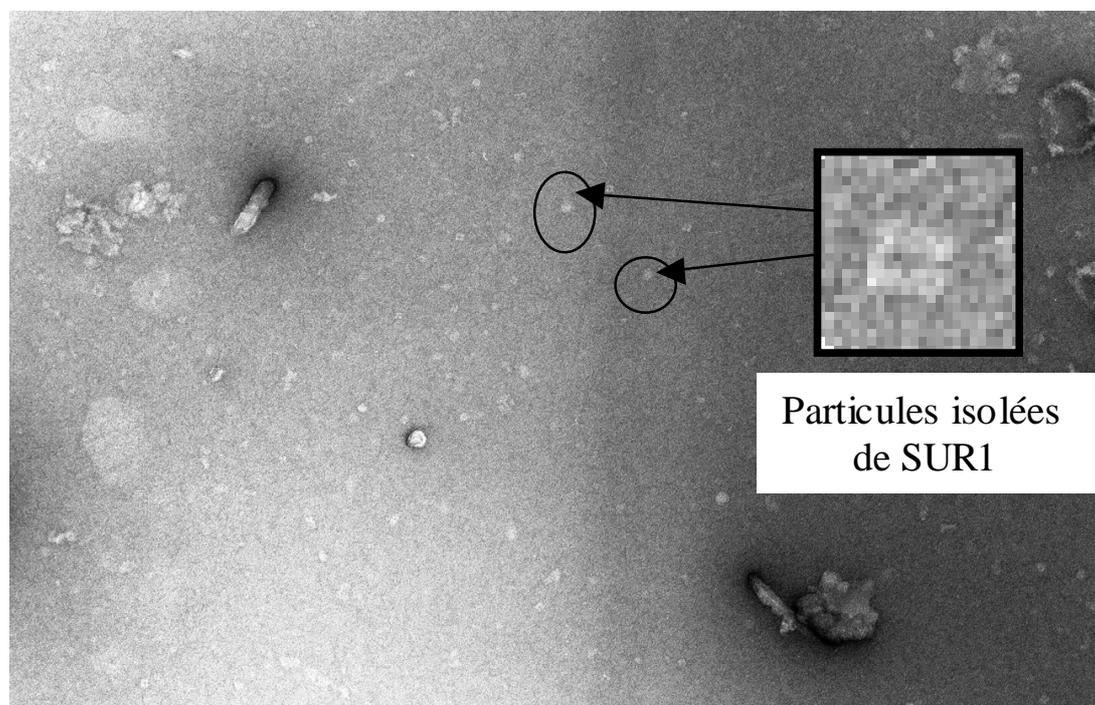
Cette méthode de contraste permet d'observer les protéines reconstituées à l'intérieur de la bicouche sur les projections de MET sous l'aspect d'objets blancs. La goutte de coloration à l'acétate d'uranyle est laissée quelques minutes puis séchée avec du papier adsorbant et les grilles sont ensuite prêtes à être visualisées sur un microscope électronique haute résolution CM 120 Philips FEI.

Suivant cette procédure, différentes conditions de cristallisation 2D ont été expérimentées en faisant varier la concentration du lipide PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup>, la constitution du film et le ratio avec le lipide diluant C<sub>6</sub>F<sub>13</sub>SOTHAM, les concentrations finales de la protéine en solution et du lipide de reconstitution DOPC ainsi que leur ratio L/P entre eux, ceci dans le but de trouver des conditions optimales de cristallisation 2D (Tableau 2-9).

Essais	[PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> ] ( $\mu$ M)	Ratio C <sub>6</sub> F <sub>13</sub> SOTHAM/PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup>	[Protéine] <sub>finale</sub> ( $\mu$ g/mL)	[Lipide] <sub>finale</sub> ( $\mu$ g/mL)	Ratio L/P (w:w)
1	33	PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> Pur	50	35	0,7
2	33	PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> Pur	100	80	0,8
3	45	PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> Pur	100	60	0,6
4	45	PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> Pur	90	63	0,7
5	500	PhHFNTA-Ni <sup>2+</sup> Pur	43	30	0,7
6	33	1:2	157	100	0,7
7	33	1:2	157	100	0,7
8	33	1:2	57	40	0,7
9	33	1:2	43	30	0,7

**Tableau 2-9 :** Conditions opératoires des essais de cristallisation 2D effectués sur la protéine membranaire SUR1.

Cette série d'essais n'a cependant pas permis de former des zones denses de cristallisation de protéines. Il a tout de même pu être identifiées des particules isolées de protéines mais leur nombre reste limité à 10-12 dans chaque quadrillage de la grille (Figure 2-21).



**Figure 2-41 :** Images de particules isolées de SUR1 vue du dessus. Les protéines apparaissent blanches sur fond ombré (Grossissement x 45000).

Les particules isolées disposent de la même orientation sur le film lipidique en raison de leur fixation identique sur le film lipidique par l'intermédiaire du segment his-tag et du lipide PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> organisé dans le film de Langmuir. Il est possible de traiter les images de chaque particule individuelle correctement orientée par le logiciel informatique d'analyse d'images SPIDER<sup>67</sup>. Ce logiciel est capable d'analyser l'ensemble des clichés et d'en faire une moyenne. Dans cette expérience un ensemble de 136 clichés a pu être étudié et moyenné grâce à ce logiciel (Figure 2-22).

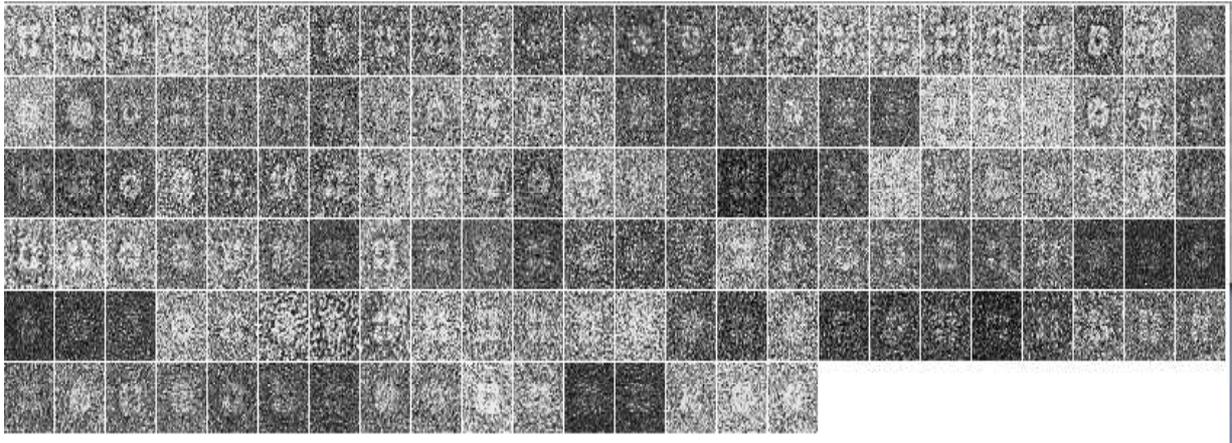


Figure 2-43 : Les 136 images de protéines isolées qui ont servi à établir une moyenne par le logiciel SPIDER.

Nous avons ainsi pu mettre en évidence une structure de type tétramère de la protéine SUR1. On peut observer la présence d'un canal central occupé probablement par la sous unité KIR 6.2 (Figure 2-23).

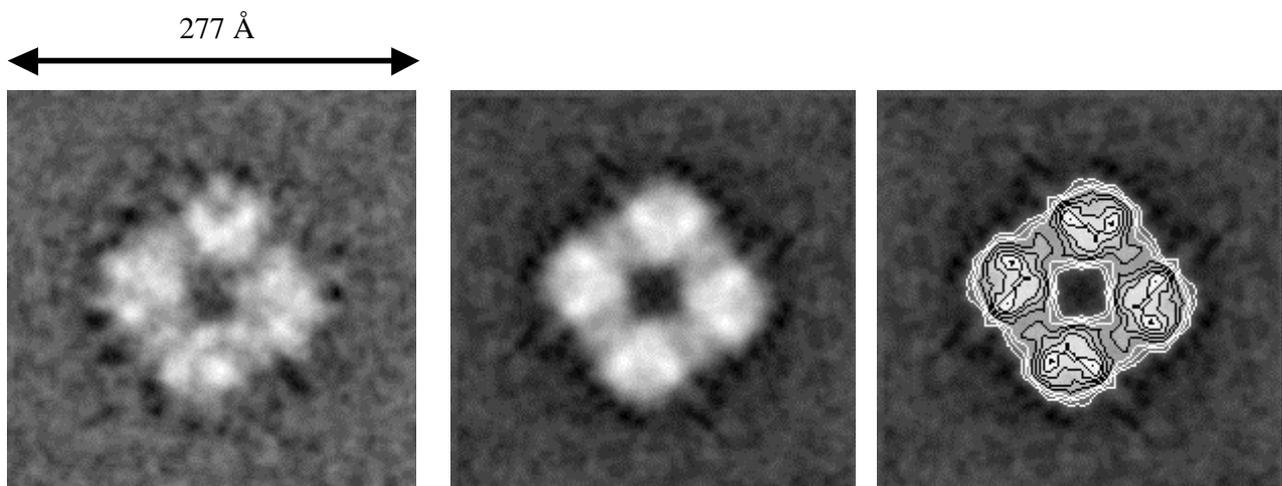


Figure 2-45 : Image moyenne obtenue par traitement informatique de 136 images de microscopie électronique de particules isolées de la protéine SUR1.

<sup>67</sup> <http://www.spidersoftware.com>.

Le traitement de l'image laisse également apparaître 3 zones occupées par les trois sous-unités de la protéine SUR1 (Figure 2-24).

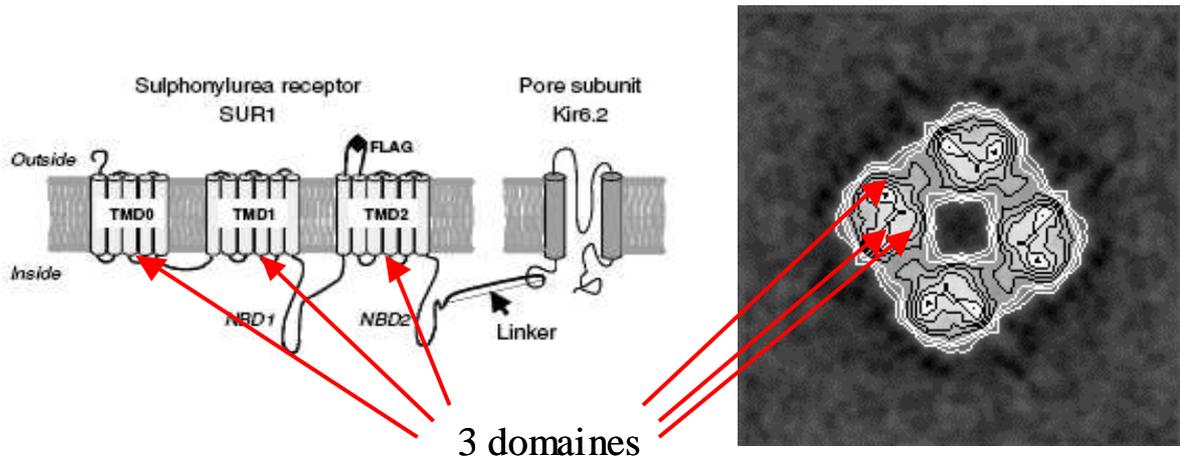


Figure 2-47 : Topologie de SUR1 d'après l'image moyennée par le logiciel SPIDER.

Les essais préliminaires effectués par Catherine Vénien-Bryan à Oxford nous amènent à faire plusieurs constatations :

- Quelles que soient les conditions mises en œuvre lors de ces essais de cristallisation de la protéine SUR1, aucune expérience n'a permis l'obtention de cristaux 2D.
- Cependant, comme on peut le voir dans le tableau 2-9 récapitulatif des essais de cristallisation, tous les essais ont été réalisés avec une concentration de PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> située en dessous de la CMC du lipide à l'exception de l'essai 5. Il serait peut être donc préférable à l'avenir de travailler à une concentration de lipide PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> égale voire légèrement supérieure à la CMC du tensioactif pour se placer dans une situation où l'interface est complètement saturée par des molécules de tensioactifs et disposer ainsi d'un nombre maximal de ligands NTA à la surface.
- Il est possible que le faible nombre de protéines recombinantes fixées sur le film soit lié à un défaut de complexation du segment his-tag lié à SUR1 par les ions Ni<sup>2+</sup> positionnés à l'interface du film. Si tel était le cas il faudrait, pour améliorer la fixation, éloigner la partie hydrophile de la partie hydrophobe du lipide par un bras de liaison hydrophile de type tétraéthylèneglycol. Cette modification pourrait permettre d'immerger plus profondément le ligand NTA:Ni<sup>2+</sup> dans la solution et

d'avoir une meilleure reconnaissance moléculaire des protéines sur le film de lipides, ce qui est primordiale pour espérer le développement de cristaux 2D.

- On peut également avoir le raisonnement inverse et penser que c'est la séquence his-tag de la protéine qui est difficilement accessible auquel cas la cristallisation 2D n'est pas favorable avec cette protéine.
- Les problèmes de mesure lors de la détermination de l'isotherme de compression du composé C<sub>6</sub>F<sub>13</sub>SOTHAM doivent être résolus afin de savoir si ce tensioactif peut être utilisé efficacement comme lipide de dilution lors de la cristallisation 2D des protéines membranaires. Il pourrait être avantageusement remplacé soit par son homologue supérieur C<sub>8</sub>F<sub>17</sub>SOTHAM, soit par le monoadduit du THAM C<sub>6</sub>F<sub>13</sub>THAM qui sont tous les deux préparés au laboratoire et beaucoup plus hydrophobes donc plus aptes à s'organiser en surface.

## **V. Conclusion**

En conclusion, ces premiers résultats montrent déjà clairement l'importance de l'aide que peut apporter la cristallisation 2D pour concentrer et orienter des protéines sur un film lipidique. Elle constitue notamment une bonne alternative à la cristallisation 3D classique qui peine à former des contacts favorables entre les domaines extramembranaires hydrophiles de micelles de protéine membranaire, pourtant nécessaires au développement et à la croissance de cristaux 3D.

Cependant, la technique de cristallisation 2D des protéines membranaires sur un film lipidique présente des inconvénients en raison de la présence indispensable de détergents en solution qui déstabilisent la couche de lipides. Le problème a pu être contourné en concevant des lipides hémifluorés mais les exemples dans la littérature sont rares et la synthèse de ces composés est souvent difficile.

Nous avons introduit ici une voie de synthèse basée sur la fonctionnalisation successive d'un cœur fluorocarboné I(CF<sub>2</sub>)<sub>6</sub>I via des additions radicalaires séquencées d'oléfines terminales. On a pu voir que l'addition était grandement facilitée lorsque l'insaturation se situait à proximité d'un groupement électrodonneur alors qu'un groupement électroattracteur, en appauvrissant en électrons la double liaison, diminuait considérablement les rendements de couplage de la chaîne fluorée.

Nous avons mis en place une stratégie de synthèse aisée donnant accès au lipide hémifluoré PhHFNTA-Ni<sup>2+</sup> que nous voulions tester avec un rendement global de 8%. Nous

avons également mis en évidence et quantifier la présence des ions  $\text{Ni}^{2+}$  complexés aux ligands NTA du lipide hémifluoré par spectroscopie d'absorption atomique.

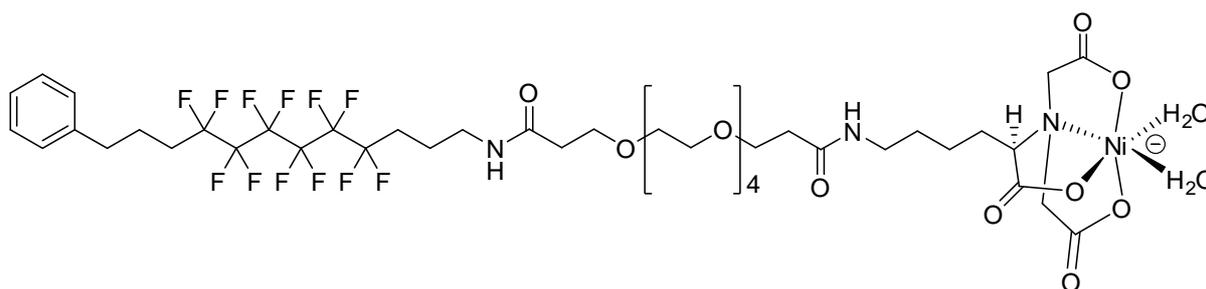
On a pu voir que le film formé à l'interface par les lipides fluorés PhHFNTA- $\text{Ni}^{2+}$  était parfaitement fluide à 20°C et qu'il n'était pas déstabilisé par l'ajout de molécules de détergent  $\text{H}_{12}$ -TAC à des concentrations égales à 3CMC lors des mesures de tension de surface.

Le lipide PhHFNTA- $\text{Ni}^{2+}$  a été testé seul ou en combinaison avec du  $\text{C}_6\text{F}_{13}$ SOTHAM pour évaluer sa capacité à orienter et cristalliser la protéine recombinante his-tag SUR1. Quelle que soient les conditions de cristallisation, il semble que les protéines s'adsorbent difficilement à la surface du film. Il n'a pas pu être observé de réseaux cristallins de la protéine mais seulement des particules isolées de protéine ayant la même orientation. La moyenne des images de particules isolées a tout de même permis de cartographier SUR1. Celle-ci forme un tétramère. Sur chaque unité monomérique, on peut distinguer les trois domaines transmembranaires de SUR1.

On peut envisager dans des essais futurs d'améliorer le processus de fixation des protéines membranaires en modifiant la structure du lipide hémifluoré par l'introduction d'un bras de liaison hydrosoluble plus ou moins long entre la queue hémifluorée et la tête hydrophile NTA: $\text{Ni}^{2+}$  (Figure 2-25).

Cette modification a pour but de rendre plus disponible les ligands NTA: $\text{Ni}^{2+}$  vis-à-vis de la fixation des résidus histidines de la protéine SUR1 his-tag.

Enfin, il serait également préférable d'utiliser une concentration de lipide fluoré égale ou légèrement supérieure à la CMC pour saturer l'interface et disposer d'un nombre maximal de ligand NTA.



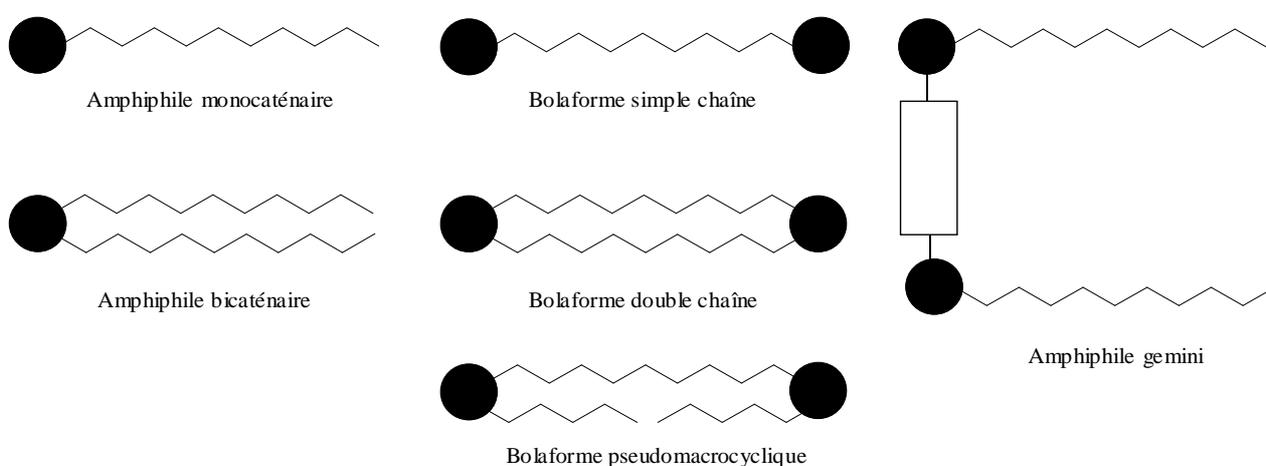
**Figure 2-49 :** Lipide hémifluoré envisageable pour améliorer l'accessibilité du ligand NTA: $\text{Ni}^{2+}$  via un bras espaceur de type tétraéthylène glycol.

***Chapitre 3 : Synthèse d'une nouvelle  
classe de tripodes amphiphiles faciaux***

## I. Introduction

### A. Les premières générations d'amphiphiles « linéaires »

Parallèlement aux nombreuses recherches qui ont été menées sur les tensioactifs monocaténaire, notamment sur leur comportement et leurs propriétés physico-chimiques en solution aqueuse, d'autres types d'architectures amphiphiles un peu plus sophistiquées ont été conçues et développées souvent en essayant de mimer des molécules amphiphiles naturelles (Figure 3-1).



**Figure 3-1** : Différents types d'architectures d'amphiphiles synthétiques apparus dans la littérature.

C'est le cas notamment des amphiphiles bicaténaire<sup>1</sup> qui reproduisent la structure des lipides constitutifs des membranes biologiques. Ces tensioactifs synthétiques possédant une tête polaire reliée à deux queues hydrophobes ont pu être utilisés pour former des vésicules sphériques ou des liposomes dans le but d'encapsuler des principes actifs<sup>2</sup>.

On a ensuite vu apparaître les tensioactifs bipolaires amphiphiles couramment appelés « bolaformes » ou encore « bolaamphiphiles »<sup>3</sup>. Ils sont caractérisés par la présence de deux têtes polaires identiques ou non (bolaforme symétrique ou dissymétrique) espacées par une ou

<sup>1</sup> N. Nakashima, S. Asakuma, T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 509-510 ; A. Terjung, K.-H. Jung and R.R. Schmidt, *Carbohydr. Res.*, **1997**, 297, 229-242.

<sup>2</sup> J.-H. Fuhrhop and J. Mathieu, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1984**, 23, 100-113.

<sup>3</sup> J.-H. Fuhrhop and D. Fritsch, *Acc. Chem. Res.*, **1986**, 19, 130-137 ; B. Schuur, A. Wagenaar, A. Heeres, E.H.J. Heeres, *Carb. Res.*, **2004**, 339, 1147-1153 ; S. André, B. Liu, H.-J. Gabius, R. Roy, *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, 1, 3909-3916 ; C. Prata, N. Mora, A. Polidori, J.-M. Lacombe, B. Pucci, *Carb. Res.*, **1999**, 321, 15-23.

deux chaînes carbonées suffisamment longues. On peut aussi rencontrer dans la littérature des molécules bolaformes de type « pseudomacrocycle »<sup>4</sup>.

Là encore, les plus importantes sources de bolaamphiphiles sont les lipides naturels constituant les membranes biologiques des archaebactéries<sup>5</sup>. L'organisation de ces bolaformes en monocouches ultra fines<sup>6</sup> très résistantes confère à ces organismes la particularité de survivre et de pouvoir proliférer dans des conditions extrêmes de salinité, de température et de pH de leur environnement d'origine. Ces structures ont trouvé plusieurs applications potentielles notamment pour la perméabilisation de membranes via un mécanisme d'insertion où le bras espaceur des molécules bolaformes a la capacité de s'incorporer dans la bicouche lipidique en formant un U, qui induit la déstabilisation voire la rupture de la bicouche membranaire<sup>7</sup>.

Les bolaformes permettent également la formation de vésicules de tailles variables. Ces architectures supramoléculaires ont été mises à profit en thérapie génique dans le cadre des bolaformes dissymétriques portant à la fois un pôle glucidique spécifiquement reconnu par les récepteurs membranaires et un second pôle cationique de type ammonium quaternaire, pour complexer des substrats chargés négativement tels que les acides nucléiques<sup>8</sup> et ceci dans le but d'introduire de l'ADN dans le noyau cellulaire via le phénomène de transfection de gènes<sup>9</sup>.

En 1991, une nouvelle classe d'amphiphile appelée tensioactif « gemini » a été proposée. Ces composés ont une structure correspondant à la jonction de deux tensioactifs monocaténares « classiques » (c'est à dire comportant une chaîne hydrocarbonée et un groupe polaire) par un bras espaceur apolaire de nature très variable (aliphatique ou aromatique) plus ou moins court et pouvant être à la fois rigide ou flexible<sup>10</sup>.

La communauté scientifique s'est beaucoup intéressée à l'étude du comportement que peut adopter les tensioactifs « gémini » et contrairement aux tensioactifs conventionnels, ils sont capables d'adopter plusieurs conformations à l'interface air-eau (linéaire, en fer à cheval ou à plat). Le type d'orientation choisie à l'interface est souvent relié directement aux

---

<sup>4</sup> J.N. Bertho, A. Coué, D.F. Ewing, J.W. Goodby, P. Letellier, G. Mackenzie and D. Plusquellec, *Carbohydr. Res.*, **1997**, 300, 341-346.

<sup>5</sup> A. Gliozzi, R. Rolandi, M. de Rosa and A. Gambacorta, *J. Membr. Biol.*, **1983**, 75, 45-56.

<sup>6</sup> G.H. Escamilla and G.R. Newkome, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1994**, 33, 1937-1940.

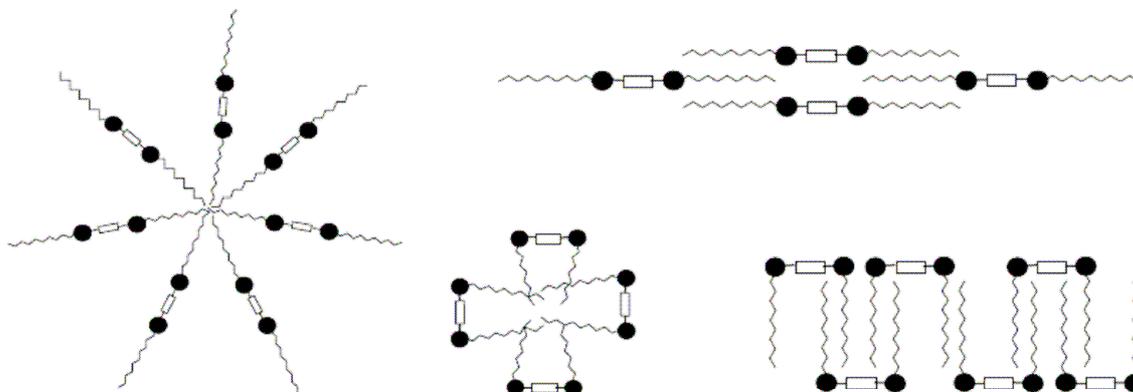
<sup>7</sup> N. Jayasuriya, S. Bosak and S.L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 5844-5851.

<sup>8</sup> J.H. Fuhrhop and H. Tank, *Chem. Phys. Lipids*, **1987**, 43, 193-213.

<sup>9</sup> A.J. Kirby, P. Camilleri and J.B. Engberts, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 1448-1457.

<sup>10</sup> F.M. Menger, C.A. Littau, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 1451-1452 ; F.M. Menger and C.A. Littau, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 10083-10090 ; F.M. Menger and B.N.A. Mbadugha, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 875-885.

propriétés particulières d'auto-assemblages et à la morphologie des agrégats formés en solution aqueuse<sup>11</sup> (Figure 3-2).



**Figure 3-3 :** Morphologie des agrégats susceptibles d'être formés en solution par les tensioactifs « gémini ».

Cette architecture particulière leur confère une activité de surface élevée et leur permet de former des agrégats à des concentrations cent fois plus faibles que leurs homologues monocaténaux. En raison de leur capacité accrue de solubilisation vis-à-vis des substances organiques dans l'eau, le domaine d'application le plus étudié réside dans leur aptitude à encapsuler des molécules d'intérêt biologique<sup>12</sup>.

## **B. Les amphiphiles faciaux**

En 1992, Kahne et ses collaborateurs ont été les premiers à introduire la notion d'amphiphilie « faciale » ou « contrafaciale » qui désigne des molécules possédant une structure rigide plane contenant des parties hydrophobes et hydrophiles localisées sur les faces opposées d'un plan<sup>13</sup> (Figure 3-3).

On retrouve dans la nature plusieurs cas de molécules possédant ces caractéristiques. Par exemple, des peptides, possédant une conformation hélicoïdale, sont connus pour avoir une amphiphilie faciale qui leur permet de se fixer spécifiquement aux interfaces membranaires afin de cibler une séquence peptidique précise sur des récepteurs liés en surface<sup>14</sup>.

<sup>11</sup> M.J. Rosen, *Chemtech*, **1993**, 23, 30-33.

<sup>12</sup> F.M. Menger and J.S. Kieper, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 1906-1920.

<sup>13</sup> Y. Cheng, D.M. Ho, C.R. Gottlieb, D. Kahne and M.A. Bruck, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 7319-7320.

<sup>14</sup> J.D. Lear, Z.R. Wasserman and W.F. DeGrado, *Science*, **1988**, 240, 1177-1181.

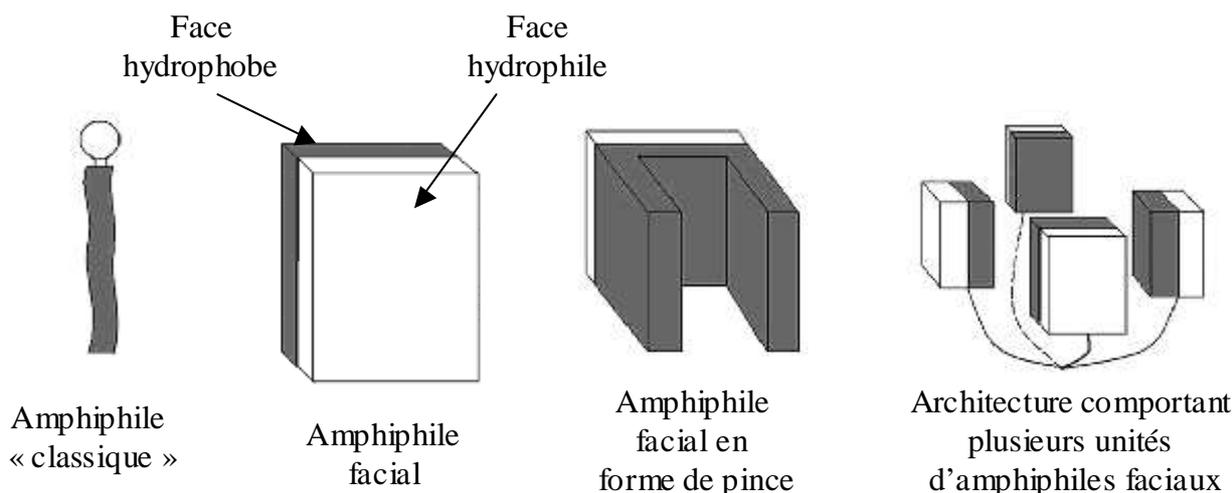


Figure 3-5 : Schématisation de la structure des amphiphiles faciaux comparé à un amphiphile « classique ».

Ils peuvent aussi provoquer la fusion membranaire<sup>15</sup>, rendre les membranes perméables<sup>16</sup> et agir comme agents antibiotiques dans le cas de peptides cationiques amphiphiles synthétiques<sup>17</sup>.

### 1. Les amphiphiles faciaux dérivés de l'acide cholique

L'exemple le plus populaire est certainement celui de l'acide cholique ou de son isomère l'acide allocholique. Ce sont des acides biliaires synthétisés naturellement dans notre foie à partir du cholestérol, qui révèlent un degré d'amphiphilie facial dû à l'orientation axiale des trois groupes hydroxyles sur la face inférieure du noyau stéroïde (Figure 3-4).

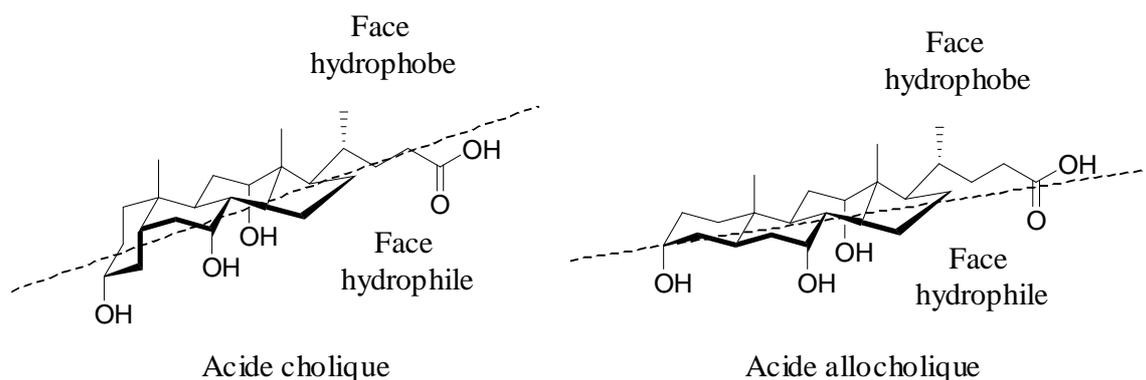


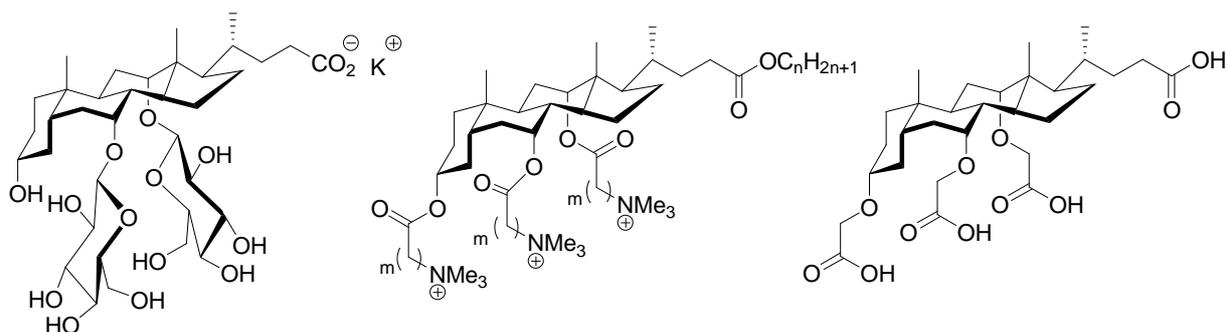
Figure 3-7 : Structures des acides biliaires naturels présent dans le foie possédant une amphiphilie faciale.

<sup>15</sup> S. Takahashi, *Biochemistry*, **1990**, 29, 6257-6264.

<sup>16</sup> J.D. Lear, Z.R. Wasserman, W.F. DeGrado, *Science*, **1988**, 240, 1177-1181.

<sup>17</sup> Y. Hamuro, J.P. Schneider and W.F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 12200-12201 ; E.A. Porter, X. Wang, H.-S. Lee, G. Weisblum and S.H. Gellman, *Nature*, **2000**, 200, 565-566.

L'acide cholique reste cependant modérément amphiphile<sup>18</sup> mais les chercheurs ont tout de même continué d'utiliser cette plateforme rigide peu coûteuse, disponible à grande échelle et ayant déjà une ségrégation faciale préorganisée<sup>19</sup>. Ils ont donc utilisé les fonctions hydroxyles axiales disponibles sur la molécule comme points d'ancrage pour introduire des groupements plus polaires afin d'augmenter l'amphiphilie faciale de la molécule et son hydrosolubilité (Figure 3-5).



**Figure 3-9** : Exemples d'amphiphiles faciaux dérivés de l'acide cholique où l'amphiphilie et la solubilité sont améliorées par l'introduction de groupements polaires sur les hydroxyles axiaux du noyau stéroïde.

On peut trouver dans la littérature des dérivés portant des sucres<sup>20</sup>, des ammoniums quaternaires<sup>21</sup>, des carboxylates<sup>22</sup> ou encore des sulfonates<sup>23</sup>. La plupart des amphiphiles faciaux dérivés de l'acide cholique s'auto-associent différemment des tensioactifs conventionnels tête/queue. Il est tout de même possible d'observer un comportement plus typique notamment avec le dérivé portant les têtes ammonium quaternaire où la CMC diminue tout à fait régulièrement avec l'allongement du bras espaceur ( $m$ ) et/ou de la chaîne ester ( $n$ )<sup>24</sup>.

Ces amphiphiles faciaux constitués d'un noyau stéroïde similaire au cholestérol ont trouvé bon nombre d'applications. Leur structure permet de déstabiliser les membranes biologiques en promouvant le flip-flop des phospholipides et le transport des ions chlorures<sup>25</sup>.

<sup>18</sup> M.J. Armstrong and M.C. Carey, *J. Lipid Res.*, **1982**, 23, 70-80 ; A. Roda, A.F. Hofmann and K.J. Mysels, *J. Biol. Chem.*, **1983**, 258, 6362-6370 ; A.F. Hofmann and K.J. Mysels, *Colloids Surf.*, **1988**, 30, 145-173.

<sup>19</sup> Y. Li, J.R. Dias, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 283-304 ; X.X. Zhu, M. Nichifor, *Acc. Chem. Res.*, **2002**, 35, 539-46 ; E. Virtanen and E. Kolehmainen, *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 3385-3399.

<sup>20</sup> Y. Cheng, D.M. Ho, C.R. Gottlieb, D. Kahne and M.A. Bruck, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 7319-7320.

<sup>21</sup> P.B. Savage, *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 759-768 ; H.M. Willemem, A.T.M. Marcelis, E.J.R. Sudhölter, *Langmuir*, **2003**, 19, 2588-2591 ; Z. Zhong, J. Yan and Y. Zhao, *Langmuir*, **2005**, 21, 6235-6239.

<sup>22</sup> U. Taotafa, D.B. McMullin, S.C. Lee, L.D. Hansen, P.B. Savage, *Org. Lett.* **2000**, 2, 4117-4120.

<sup>23</sup> Z. Zhong, J. Yan, Y. Zhao, *Langmuir*, **2005**, 21, 6235-6239.

<sup>24</sup> V. del Amo, L. Siracusa, T. Markidis, B. Baragaña, K.M. Bhattarai, M. Galobardes, G. Naredo, M.N. Pérez-Payán, A.P. Davis, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 3320-3328.

<sup>25</sup> B.D. Smith, T.N. Lambert, *Chem. Commun.*, **2003**, 2261-2268.

Les cholates polycationiques sont capables eux, de mimer des peptides bactériens et sont d'efficaces agents antibiotiques<sup>26</sup>.

## 2. Les amphiphiles faciaux non stéroïdiens

Des amphiphiles faciaux non stéroïdiens ont également été synthétisés (Figure 3-6).

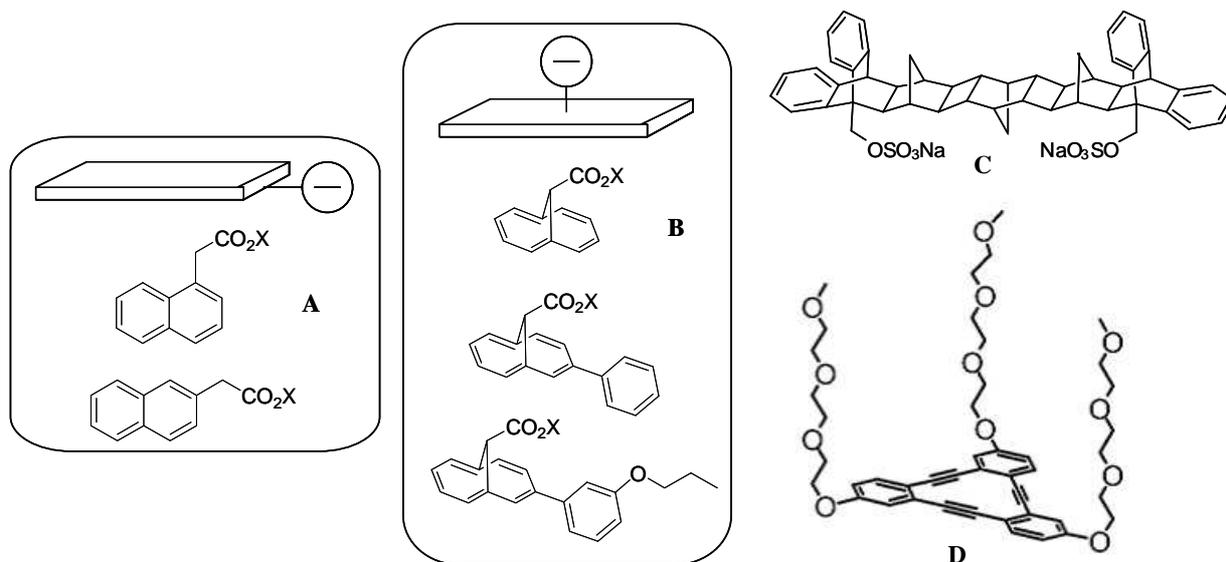


Figure 3-11 : Exemples d'amphiphiles faciaux non stéroïdiens.

Ces amphiphiles faciaux révèlent des propriétés bien différentes des amphiphiles classiques qui incluent leur capacité accrue à solubiliser différents types de molécules spécifiques mais une faible tendance à s'agréger en solution aqueuse.

Les composés de type **A** et **B** sont basés respectivement soit sur un noyau naphthalène ou un squelette 1,6-méthano-[10]-annulène pour obtenir une topologie d'amphiphilie faciale. Ces composés abaissent significativement la tension de surface à l'interface air-eau mais l'auto-assemblage de ces composés est très faible et se produit de manière progressive. Seuls les composés de type **A** se sont montrés capables de solubiliser un composé hydrophobe<sup>27</sup>.

<sup>26</sup> Ding, N. Yin, Y. Liu, J. Cardenas-Garcia, R. Evanson, T. Orsak, M. Fan, G. Turin and P.B. Savage, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 13642–13648 ; Y. Ishitsuka, L. Arnt, J. Majewski, S. Frey, M. Ratajczek, K. Kjaer, G.N. Tew and K.Y.C. Lee, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 13123–13129 ; G.N. Tew, D.H. Liu, B. Chen, R.J. Doerksen, J. Kaplan, P.J. Carroll, M.L. Klein and W. F. DeGrado, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, 99, 5110–5114 ;

W.H. Chen, X.B. Shao, R. Moellering, C. Wennersten, S.L. Regen, *Bioconjugate Chem.* **2006**, 17, 1582-1591 ; B. Ding, Q. Guan, J.P. Walsh, J.S. Boswell, T.W. Winter, E.S. Winter, S.S. Boyd, C. Li, P.B. Savage, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 663-669.

<sup>27</sup> D.T. Mcquade, D.G. Barrett, J.M. Desper, R. Hayashi and S.H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 4862-4869.

Le composé **C** a été synthétisé grâce à des cycloadditions [2+2] et [4+2] de norbornadiènes. En raison de sa large surface hydrophobe, ce composé amphiphile s'organise difficilement à l'interface air-eau, et diminue peu la tension de surface d'une solution aqueuse. Il s'est avéré en revanche très efficace pour stabiliser des émulsions d'huile dans l'eau<sup>28</sup>.

Le dérivé **D** constitué d'un corps hydrophobe rigide polyaromatique et de trois chaînes latérales flexibles tri(éthylèneglycol) peut former des vésicules stables grâce à l'empilement facial des corps aromatiques<sup>29</sup>.

### 3. Les amphiphiles faciaux en forme de pince

Quelques amphiphiles faciaux ayant une structure s'apparentant à la forme d'une pince ont aussi été préparés (Figure 3-7).

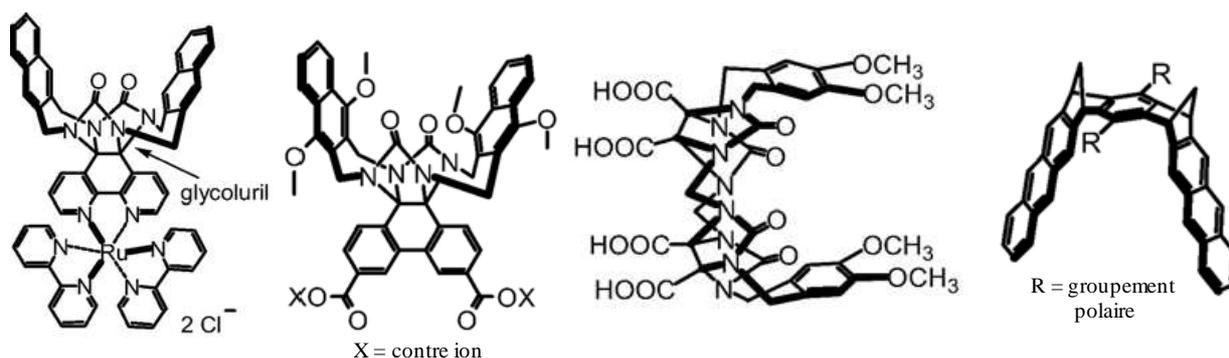


Figure 3-13 : Exemples de structures d'amphiphiles faciaux adoptant la forme d'une pince.

Leur topologie particulière composée d'une fente hydrophobe située entre deux parois opposées polyaromatiques donne à ces molécules des propriétés d'auto-association difficilement prévisibles si bien que ces composés se sont fréquemment retrouvés à produire des agrégats de formes très inhabituelles<sup>30</sup> (en forme de lames de rasoir, rectangles, cigares). Dans tous les cas, la force motrice favorisant l'auto-assemblage de ce type de structure dans

<sup>28</sup> F.M. Menger and J.L. Sorrells, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 4960–4961.

<sup>29</sup> S.H. Seo, J.Y. Chang and G.N. Tew, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2006**, 45, 7526–7530.

<sup>30</sup> J.N.H. Reek, A. Kros and R.J.M. Nolte, *Chem. Commun.*, **1996**, 245-247 ; J.A.A.W. Elemans, R. de Gelder, A.E. Rowan and R.J.M. Nolte, *Chem. Commun.*, **1998**, 1553-1554 ; J.A.A.W. Elemans, A.E. Rowan and R.J.M. Nolte, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 1532-1540.

les solvants polaires est la formation de dimères fortement associés ( $K \approx 10^4 \text{ M}^{-1}$ ), dans lesquels les cavités des pinces hydrophobes s'emboîtent entre elles<sup>31</sup>.

#### 4. Les architectures portant plusieurs motifs d'amphiphiles faciaux

On a vu ensuite apparaître des architectures comportant de multiples sous-unités d'amphiphiles faciaux qui sont la plupart du temps, formées à partir de résidus d'acide cholique (Figure 3-8).

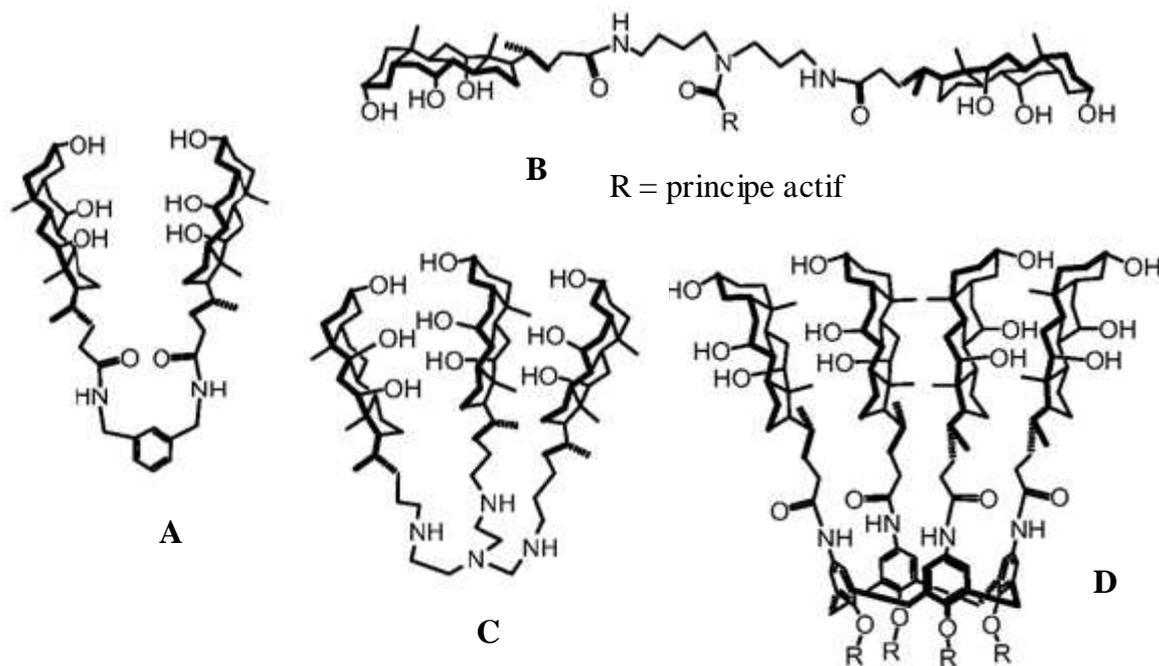


Figure 3-15 : Exemples d'architectures comportant plusieurs sous-unités d'amphiphiles faciaux.

Le choix de la plateforme centrale et/ou des jonctions pour relier les motifs amphiphiles faciaux confère des propriétés particulières qu'il est impossible d'obtenir à partir d'un seul motif. Ce type de structure va la plupart du temps s'adapter à la nature de son environnement et établir les changements conformationnels nécessaires à l'agrégation intramoléculaire de la molécule en orientant les résidus d'acide cholique de façon à exposer au contact du solvant les faces possédant la même polarité.

Par exemple dans un solvant apolaire tel que le chloroforme, la molécule **A** adopte une conformation « fermée » dans laquelle les deux résidus d'acide cholique s'auto-associent

<sup>31</sup> J.A.A.W. Elemans, A.E. Rowan and R.J.M. Nolte, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 1532–1540 ; J.A.A.W. Elemans, R.R.J. Slagen, A.E. Rowan and R.J.M. Nolte, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 9040–9049 ; L. Isaacs, D. Witt and J. Lagona, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3221–3224 ; F-G. Klärner, B. Kahlert, A. Nellesen, J. Zienau, C. Ochsenfeld and T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 4831–4841.

ensemble par des liaisons hydrogène. Mais, cette conformation peut facilement être basculée vers une forme « ouverte » par l'addition de méthanol ou l'élévation de la température<sup>32</sup>.

Cette capacité de changement conformationnel des résidus d'acide cholique a notamment été mise à profit dans la conception des molécules **B** de type « parapluie ». Il est bien connu que la membrane biologique joue le rôle de barrière sélective en limitant l'entrée de beaucoup de classes de molécules hautement hydrophiles et/ou chargées tels que certains principes actifs, les oligonucléotides, l'ADN, les protéines ou encore certains peptides<sup>33</sup>.

Ce type de molécules amphiphiles contenant un principe actif R greffé de manière covalente peut en fonction de la polarité de l'environnement adopter là encore une forme soit « protégée » ou « exposée » du principe actif grâce aux différentes faces de l'acide cholique<sup>34</sup>. En plus d'améliorer la solubilité et la stabilité de ces principes actifs d'intérêt thérapeutique dans l'eau, ces composés se sont révélés très efficaces pour perméabiliser et promouvoir le transport ainsi que la délivrance de principes actifs tels que le glutathion à travers la bicouche lipidique<sup>35</sup>.

La structure **C** possédant une moitié tétraamino capable de chélater un métal en plus des résidus d'acide cholique possède des propriétés d'auto-assemblage variant suivant la présence ou non d'ions métalliques<sup>36</sup>.

La molécule de type **D** comportant quatre résidus d'acide cholique préorganisés sur une plateforme de type calix-[4]-arène a été désignée comme molécule « basket ». L'agrégation intramoléculaire des acides choliques se produit à la fois dans les solvants apolaires via les faces hydrophiles et dans les solvants polaires via les faces hydrophobes. Cette caractéristique permet à la molécule d'être un mime unimoléculaire à la fois d'une micelle et d'une micelle inverse, ce qui la rend capable d'encapsuler des molécules dont la polarité est opposée à celle du solvant<sup>37</sup>.

---

<sup>32</sup> C.J. Burrows and R.A. Sauter, *J. Incl. Phenom.*, **1987**, 5, 117–121.

<sup>33</sup> S. Akhtar and R.L. Juliano, *Trends Cell. Biol.*, **1992**, 2, 139-144 ; S. Akhtar, S. Basu, E. Wickstrom and R.L. Juliano, *Nucleic Acids Res.*, **1991**, 19, 5551-5559 ; A. De Mesmaeker, R. Haner, P. Martin, H.E. Moser, *Acc. Chem. Res.*, **1995**, 28, 366-374 ; E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.*, **1990**, 90, 543-584 ; P.S. Burton, R.A. Conradi and A.R. Hilgers, *Adv. Drug Deliv.*, **1991**, 7, 365-386.

<sup>34</sup> V. Janout, M. Lanier and S.L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 640–647.

<sup>35</sup> V. Janous, L-H. Zhang, I.V. Staina, C. Di Giorgio and S.L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 5401–5406.

<sup>36</sup> F. Werner and H-J. Schneider, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **2001**, 41, 37–40.

<sup>37</sup> E-H. Ryu and Y. Zhao, *Org. Lett.*, **2004**, 6, 3187–3189 ; E-H. Ryu and J. Yan, Z. Zhong and Y. Zhao, *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 7205–7213 ; Y. Zhao and E-H. Ryu, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 7585–7591.

## 5. Les dendrimères possédant une amphiphilie faciale

Quelques dendrimères possédant une amphiphilie faciale ont également été reportés dans la littérature comme par exemple des réseaux 2D de lipides amphiphiles nommés « spider-web ». Ces dendrimères sont préparés via des couplages peptidiques séquencés d'une unité répétitive amphiphile d'un tripeptide Lys-Lys-Glu possédant des queues hydrophobes sur la position C-terminale et une tête polaire sur la position N-terminale<sup>38</sup>.

Dans le même ordre d'idée, une classe de molécules dendrimères dont la structure est basée sur un noyau biaryle a été découverte dans lesquelles chaque unité répétitive contient à la fois des fonctionnalités hydrophiles et hydrophobes<sup>39</sup> (Figure 3-9).

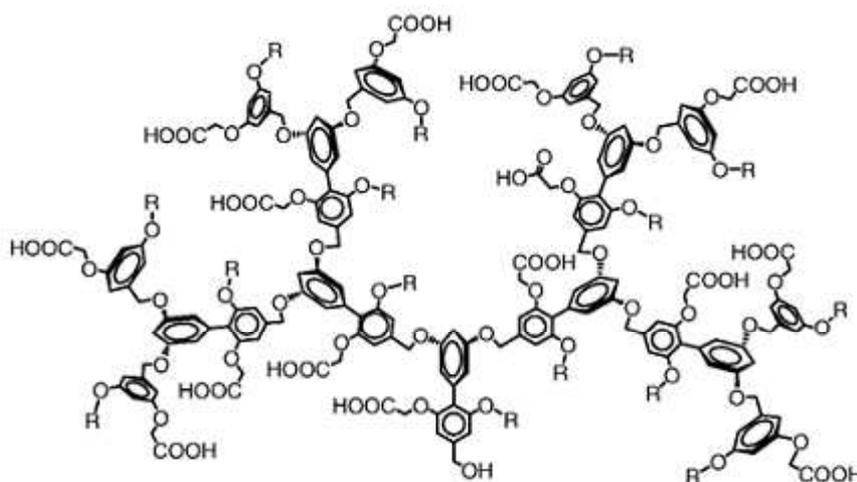


Figure 3-17 : Dendrimère amphiphile facial basé sur un noyau biaryle amphiphile.

La plupart des dendrimères atteignent une forme globulaire à des poids moléculaires élevés<sup>40</sup> dans laquelle le cœur est hydrophobe et la périphérie est composée de fonctions hydrophiles pour optimiser la surface de contact avec le solvant<sup>41</sup>. Il a notamment été démontré que la taille des agrégats en solution aqueuse pouvait être contrôlée en modulant le degré de courbure des dendrimères. Ceci a été réalisé en modifiant la distance séparant les fonctions hydroxyles sur le noyau biaryle qui sert à construire le dendrimère<sup>42</sup> (Figure 3-10).

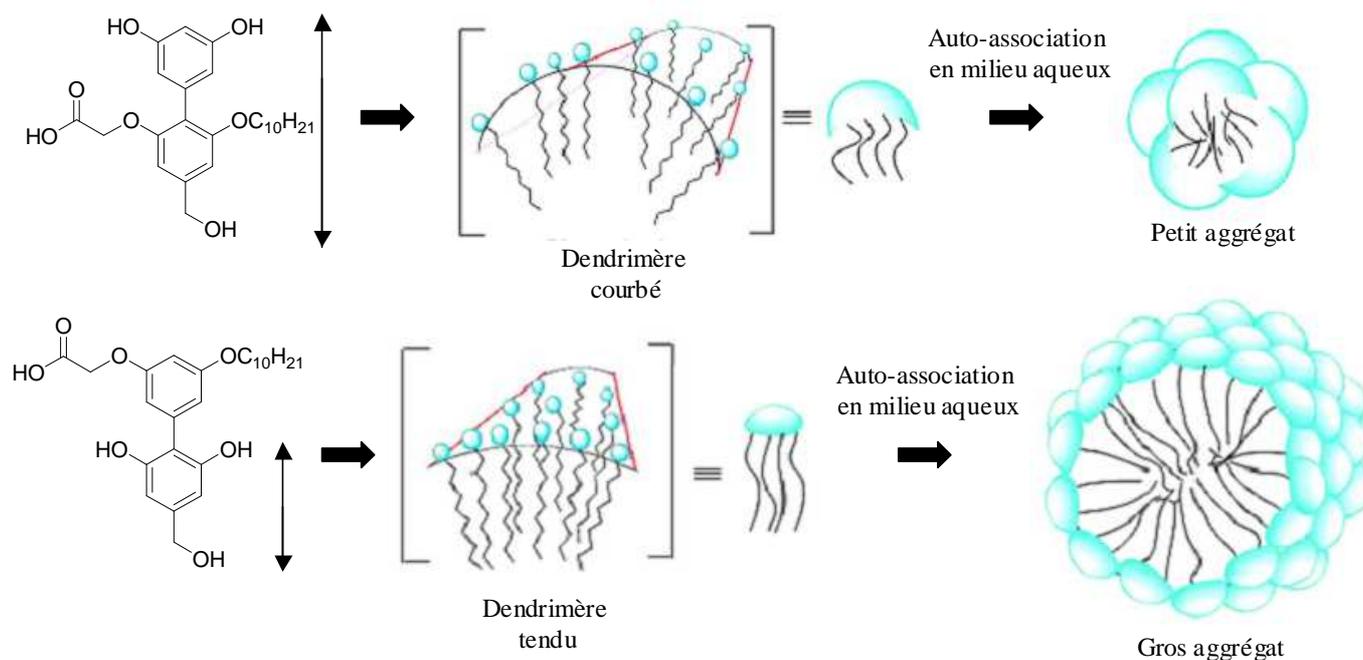
<sup>38</sup> K. Ariga, T. Urakawa, A. Michiue and J.-I. Kikuchi, *Langmuir*, **2004**, 20, 6762-6769.

<sup>39</sup> P. Bharathi, H. Zhao and S. Thayumanavan, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 1961-1964.

<sup>40</sup> D.A. Tomalia, A.M. Naylor and W.A. Goddard, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 138-175.

<sup>41</sup> M.J. Laufersweiler, J.M. Rohde, J.-L. Chaumette, D. Sarazin and J.R. Parquette, *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 6440-6452 ; D.K. Smith, *Chem. Commun.*, **2006**, 34-44

<sup>42</sup> A.V. Ambade, S.V. Aathimanikandan, D. van der Poll and S. Thayumanavan, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 8167-8174.



**Figure 3-19 :** Représentation du contrôle de la taille des auto-assemblages grâce à l'agencement des fonctions hydroxyles sur le noyau biaryle amphiphile.

## 6. Les amphiphiles faciaux basés sur des molécules hôtes utilisées en chimie supramoléculaire

Les calix-[n]-arènes représentent, avec les éthers couronnes et les cyclodextrines, l'un des trois groupes majeurs de molécules hôtes synthétiques en chimie supramoléculaire<sup>43</sup> qui ont été largement étudiées pour leur capacité à complexer de petites molécules et des ions à l'interface air-eau<sup>44</sup>. Cette plateforme a également été utilisée dans la conception d'amphiphiles faciaux (Figure 3-11).

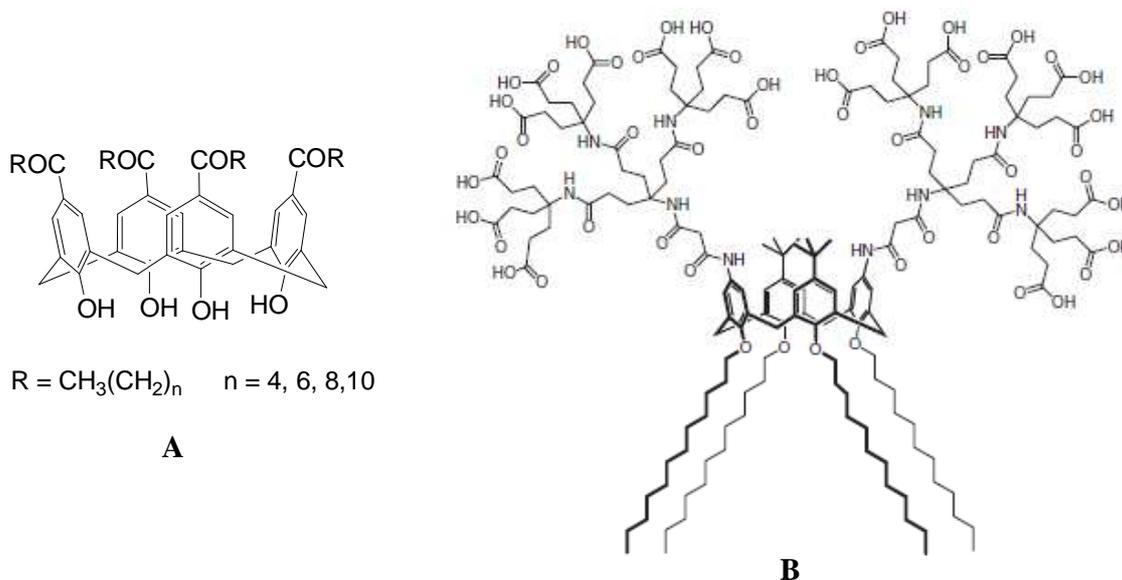
Par exemple, la série de *para*-acylcalix-[4]-arènes de type **A** forme des films stables bien que l'aire occupée par ces molécules à l'interface soit pratiquement invariable en fonction de la longueur des chaînes alkyles R<sup>45</sup>. Ce résultat est d'ailleurs en contradiction avec ceux obtenus sur des cyclodextrines amphiphiles qui montrent, elles une aire occupée dépendante de la longueur des chaînes hydrophobes greffées<sup>46</sup>.

<sup>43</sup> H.-J. Schneider and A. Yatsimirsky, « *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry* », John Wiley & Sons, Chichester, **2000**.

<sup>44</sup> P. Shahgaldian and A.W. Coleman, *Langmuir*, **2001**, 17, 6851-6854.

<sup>45</sup> P. Shahgaldian, M. Cesario, P. Goreloff and A.W. Coleman, *Chem. Commun.*, **2002**, 326-327.

<sup>46</sup> P. Zhang, H. Parrot-Lopez, P. Tchoreloff, A. Bazkin, C.-C. Ling, C. De Rango and A.W. Coleman, *J. Phys. Org. Chem.*, **1992**, 5, 518-528.



**Figure 3-21** : Amphiphiles faciaux basés sur une plateforme de type calix-[4]-arène.

Cette base rigide a aussi été utilisée pour préparer le dendro-calixarène amphiphile **B** possédant des têtes polaires chargées stériquement encombrantes et une partie hydrophobe considérablement plus petite en volume. Cette composition structurale lui donne la forme d'un T qui suivant les hypothèses de Israelachvili<sup>47</sup>, conduisent à la formation de petits agrégats micellaires fortement courbés plutôt qu'à de larges auto-assemblages faiblement courbés<sup>48</sup>.

## II. Objectif du travail

Nous avons vu que les tripodes amphiphiles synthétisés par le groupe de Gellman étaient capables de maintenir en solution efficacement les protéines membranaires sous une forme native pendant plusieurs semaines, ce qui fait d'eux des candidats très prometteurs à la cristallisation 3D des protéines membranaires<sup>49</sup> (Figure 3-12).

La longueur réduite de ces trois groupements hydrophobes permet d'éviter les interactions dénaturantes de la molécule tripode avec la protéine, tandis que la multiplication des motifs apolaires conduit à une liaison efficace au domaine transmembranaire tout en diminuant les degrés de liberté (et donc d'insertion dans la protéine) de chacun des bras hydrophobes. Cette approche nous semble particulièrement prometteuse. Dans cette optique,

<sup>47</sup> J.N. Israelachvili, « *Intermolecular and Surface Forces* », Academic Press, New York, **1985**.

<sup>48</sup> M. Kellermann, W. Bauer, A. Hirsch, B. Schade, K. Ludwig and C. Böttcher, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 2959-2962.

<sup>49</sup> P.S. Chae, M.J. Wander, A.P. Bowling, P.D. Laible and S.H. Gellman, *ChemBioChem*, **2008**, 9, 1706-1709.

nous nous proposons de synthétiser de nouvelles molécules amphiphiles multifonctionnalisées par des groupements polaires et apolaires à travers l'utilisation d'une plateforme aromatique telle que le benzène.

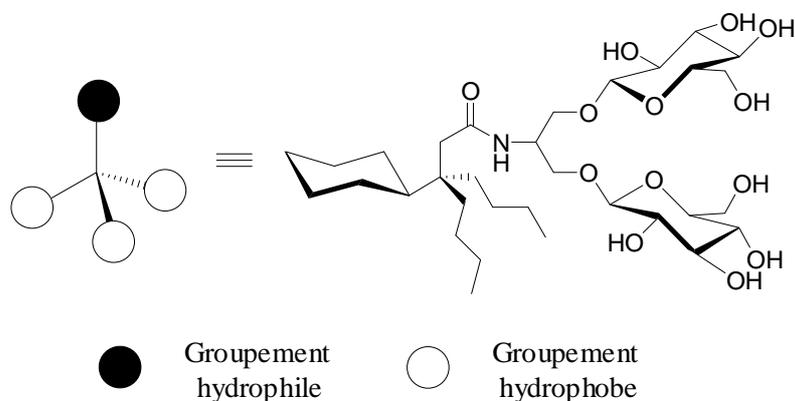


Figure 3-23 : Schématisation de la structure des tripodes amphiphiles.

Il est bien connu maintenant que l'hexaéthylbenzène (HEB) adopte un réseau conformationnel préférentiel visant à minimiser les interactions coopératives entre les groupements éthyles vicinaux de façon à les orienter sur les faces opposées du noyau aromatique de manière alternée. Il en résulte une ségrégation faciale 1,3,5/2,4,6 des substituants par rapport au plan du cycle aromatique<sup>50</sup> (Figure 3-13).

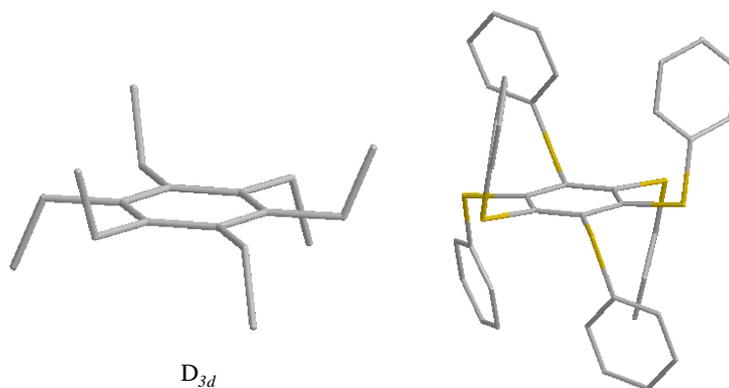


Figure 3-25 : Représentation de la conformation alternée pour l'hexaéthylbenzène et un noyau aromatique persulfuré. Notez la ségrégation faciale alternée des substituants par rapport au plan de la molécule.

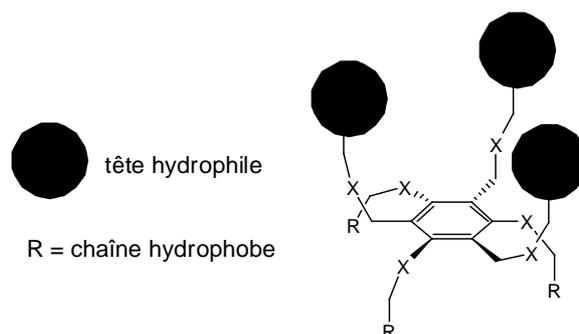
Il a d'ailleurs été démontré en RMN que la conformation alternée  $D_{3d}$  était prédominante en solution à des concentrations supérieures à 99%. Cette observation a également été vérifiée dans le cas de noyaux aromatiques persulfurés<sup>51</sup>.

<sup>50</sup> D.J. Iverson, G. Hunter, J.F. Blount, J.R. Damewood and K. Mislow, *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, 103, 6073-6083.

<sup>51</sup> D. Michalski, M.A. White, P.K. Bakshi, T.S. Cameron and I. Swainson, *Can. J. Chem.*, **1995**, 73, 513-521.

Les benzènes persubstitués ont pour cette raison été intensément utilisés dans des applications de reconnaissance moléculaire ou comme bloc de construction pour la conception d'auto-assemblages en chimie supramoléculaire<sup>52</sup>.

Dans un contexte visant à stabiliser des protéines membranaires en solution aqueuse sous leur forme native, nous proposons de synthétiser une nouvelle classe d'amphiphiles baptisée « tripode amphiphile facial » (Figure 3-14).



**Figure 3-27** : Représentation schématique de la structure des tripodes amphiphiles faciaux .

La plateforme rigide du noyau aromatique sera mise à profit ici pour apporter l'amphiphilie via une ségrégation faciale en introduisant sélectivement des têtes hydrophiles sur les positions 1,3,5 et des parties hydrophobes sur les positions 2,4,6.

Pour limiter les phénomènes d'encombrement stérique sur le cycle aromatique, une ségrégation des substituants situés sur les positions 1,3,5 et 2,4,6 entre les deux faces du plan de la molécule doit en effet s'opérer.

Ces substituants étant de nature hydrophile et hydrophobe, cette ségrégation va conférer à la molécule des propriétés amphiphiles. La multiplication des parties hydrophobes permet de plus, de limiter la longueur des chaînes hydrophobes tout en préservant les capacités amphiphiles du composé. Cette propriété est évidemment essentielle pour les applications en protéomique, les tensioactifs possédant des chaînes carbonées moins longues auront l'avantage, comme on l'a suggéré, de ne pas avoir de caractère intrusif vis-à-vis du domaine transmembranaire de la protéine et seront donc moins dénaturants.

L'utilisation d'un cycle aromatique central permet d'une part, d'apporter via sa structure plane la ségrégation faciale et d'autre part, les six carbones du benzène

<sup>52</sup> P. Prinz, A. Lansky, T. haumann, R. Boese, M. Noltemeyer, B. Knieriem and A. de Meijere, *Angew. Chem.*, **1997**, 109, 1343-1346 ; G. Henrich, V.M. Lynch and E.V. Anslyn, *Chem. Commun.*, **2001**, 2436-2437 ; M. Mayor, J.-M. Lehn, K.M. Fromm and D. Fenske, *Angew. Chem.*, **1997**, 109, 2468-2471 ; H.A.M. Biemans, A.E. Rowan, A. Verhoeven, P. Vanoppen, L. Latterini, J. Foekema, A.P.H.J. Schenning, E.W. Meijer, F.C. de Schreyver and R.J.M. Nolte, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 11054-11060.

théoriquement tous fonctionnalisables vont générer la multiplication fonctionnelle indispensable à la synthèse de ces tripodes faciaux amphiphiles.

Le travail a donc consisté à mettre au point une voie de synthèse efficace permettant une modulation et une fonctionnalisation aisée des faces hydrophiles et hydrophobes de ces molécules amphiphiles tripodales. Nous avons aussi choisi d'introduire des têtes non ioniques en raison de leur caractère moins dénaturant lors de la manipulation des protéines membranaires.

Les propriétés d'association des tensioactifs utilisés en protéomique ayant une influence considérable sur les propriétés fonctionnelles ou structurales des protéines membranaires, nous nous efforcerons donc d'étudier les propriétés amphiphiles de cette nouvelle famille de composés amphiphiles dans un troisième chapitre.

### III. Synthèse des tripodes amphiphiles faciaux

#### A. Stratégie de synthèse basée sur le phloroglucinol

L'étape clé pour obtenir les benzènes persubstitués de façon alternée consiste à fonctionnaliser de manière séquencée un précurseur aromatique adapté. Nous avons choisi le phloroglucinol (1,3,5-hydroxybenzène) comme précurseur car il présente l'avantage d'être peu coûteux, disponible à grande échelle, potentiellement très réactif vis à vis des électrophiles car fortement enrichi en électrons par ces trois groupements hydroxyles, et évidemment idéalement fonctionnalisé en position 1,3,5 sur le noyau aromatique pour obtenir les amphiphiles tripodes cibles.

La forte réactivité potentielle de ce type de composés polyphénoliques ouvre donc la voie à une grande polyvalence de réactions sur les sommets libres de l'aromatique. Les trois fonctions hydroxyles sont susceptibles d'accueillir les chaînes hydrophobes par des liaisons éther. Les sommets 2,4,6 peuvent réagir par  $SE_{Ar}$  pour intégrer les têtes polaires (Schéma 3-1).

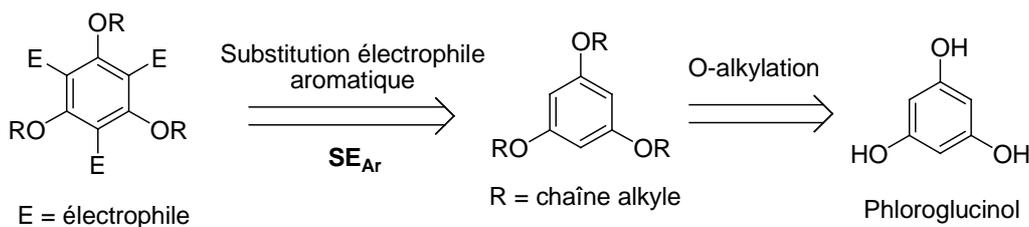
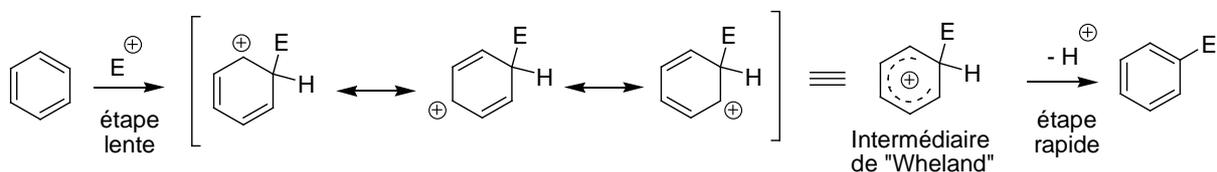


Schéma 3-1 : Analyse rétrosynthétique basée sur une réaction de substitution électrophile aromatique.

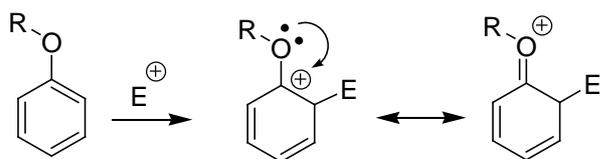
L'étape clé repose ici sur l'addition de trois substrats électrophiles identiques sur les positions libres du noyau aromatique via une réaction de  $SE_{Ar}$  (Schéma 3-2) sur un dérivé trialkoxybenzène.



**Schéma 3-2 :** Mécanisme de la réaction de substitution électrophile aromatique ( $SE_{Ar}$ ).

Le mécanisme de cette réaction débute par l'attaque des doublets  $\pi$  de l'aromatique sur l'électrophile  $E^+$  (une espèce comportant une charge positive ou un dipôle) pour donner un intermédiaire positivement chargé appelé ion arénium qui se délocalise sur le cycle par résonance. Les formes tautomères de l'ion arénium sont représentées par l'intermédiaire de Wheland qui tient compte de la répartition globale de la charge sur le noyau aromatique. La deuxième étape correspond à l'élimination d'un proton pour que le cycle récupère son aromaticité.

Les fonctions éthers du trialkoxybenzène favorisent l'attaque sur  $E^+$  d'une part en enrichissant le noyau aromatique en électrons par des effets mésomères  $M^+$  et d'autre part en stabilisant l'ion arénium intermédiaire avec les doublets non liants des atomes d'oxygène (Schéma 3-3).



**Schéma 3-3 :** Stabilisation de l'ion arénium intermédiaire par résonance avec les fonctions éthers.

Avec la présence d'une fonction modulable adéquate sur l'espèce électrophile, cette stratégie permet de produire des points d'ancrage sur le cycle pouvant conduire par des modifications ultérieures à la formation des têtes polaires neutres. Le dérivé trialkoxybenzène peut être synthétisé quant à lui par la méthode classique de O-alkylation selon la réaction de Williamson à partir du phloroglucinol.

## 1. Alkylation du phloroglucinol

Dans un premier temps, nous avons réalisé des essais préliminaires de O-alkylation du phénol assistés par micro-ondes dans le but de nous familiariser avec cette technique d'activation et de l'utiliser pour d'autres étapes de la synthèse des tripodes amphiphiles faciaux.

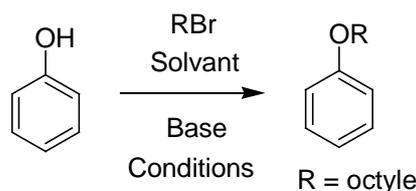
Depuis sa découverte en 1990, le champ électrique des radiations micro-ondes situées entre 0,3 et 300 GHz a été utilisé pour activer et accélérer considérablement la vitesse des réactions organiques en chauffant les composés présents (solvant et/ou réactifs) dans le milieu réactionnel<sup>53</sup>.

Le chauffage est provoqué par l'induction d'un alignement des dipôles des molécules avec le champ électrique des micro-ondes. La variation constante de l'orientation du champ électrique provoque une différence de phase entre le champ électrique et les dipôles des molécules qui empêche les molécules de se réorienter correctement si bien que les molécules n'ont jamais le temps de se relaxer.

Cet état dynamique forcé provoque l'augmentation de la vitesse de rotation des molécules et des forces de friction entre elles, qui se traduit par un chauffage diélectrique interne très important. On peut noter que ce chauffage dépend donc de la polarité ainsi que de la constante diélectrique  $\epsilon$  des molécules (solvant et réactifs).

Cette technique présente l'avantage de pouvoir appliquer et contrôler un chauffage localisé dans le milieu réactionnel plutôt que d'avoir un gradient de température entre le cœur de la solution et les parois extérieures de la verrerie lors d'un chauffage traditionnel avec un bain d'huile, qui peut conduire dans beaucoup de cas à la décomposition des composés.

On a donc essayé quelques conditions de O-alkylation du phénol par le bromure d'octyle avec l'assistance des micro-ondes (Schéma 3-4 et Tableau 3-1).



**Schéma 3-4 :** Schéma de synthèse de l'alkylation du phénol avec du bromure d'octyle.

<sup>53</sup> R. Martin, *Org. Prep. Proced. Int.*, **1992**, 24, 369-435.

Essai	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1,2 éq	DMF	TA, 16 h	O-alkylation incomplète
3	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1,2 éq	DMF	Micro-ondes, 100 W, 5 min	PhOH/PhOR (1:1)
2	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1,2 éq	CH <sub>3</sub> CN	Micro-ondes, 150 W, 20 min	82%
4	KOH, 1 éq	EtOH	Micro-ondes, 10 W, 10 min	94%

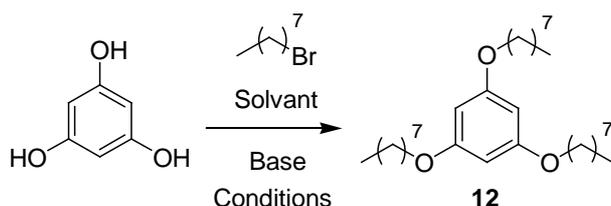
**Tableau 3-1** : Essais d'alkylation du phénol avec le bromure d'octyle.

Le premier essai a été réalisé dans des conditions classiques de S<sub>N</sub>2 dans des proportions équimoléculaires de phénol et de bromure d'octyle avec du DMF comme solvant aprotique apolaire et le carbonate de potassium pour déprotoner le phénol (pKa ~ 10), cependant la réaction s'est révélée incomplète après 16 h de réaction à TA.

Nous avons ensuite conservé ces conditions mais en activant le milieu réactionnel par des micro-ondes, ce qui a donné un mélange de phénol et d'octyloxybenzène (1:1, mol/mol) après 5 minutes d'irradiation à 100 W.

Le remplacement du DMF par du CH<sub>3</sub>CN et une puissance du générateur de micro-ondes de 150 W a permis d'obtenir le produit souhaité en seulement 20 minutes avec un rendement de 82%. La réaction a pu être encore améliorée et le rendement atteindre 94% en utilisant une solution de potasse méthanolique après 10 minutes d'irradiation à une puissance de 10W.

Après ce résultat positif, on a donc utilisé ces mêmes conditions en multipliant par trois les quantités de réactif pour effectuer la triple O-alkylation du phloroglucinol mais cet essai a conduit à la formation d'un mélange complexe qu'il nous a été difficile d'interpréter (Schéma 3-5 et Tableau 3-2).



**Schéma 3-5** : Schéma de synthèse de la triple O-alkylation du phloroglucinol avec le bromure d'octyle.

Essai	RBr	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	3 éq	KOH, 3 éq	EtOH	Micro-ondes, 10 W, 30 min	Echec
2	3 éq	KOH, 3 éq	EtOH	TA, 1 h	Echec
3	6 éq	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 4 éq	DMF	TA, 6 jours	71%

**Tableau 3-2 :** Essais d'alkylation du phloroglucinol avec le bromure d'octyle.

On a donc ensuite essayé de simplement reproduire ces conditions sans l'utilisation des micro-ondes mais on observait déjà la formation d'un mélange complexe de produits par CCM en seulement 1 h de réaction à TA. Ce deuxième résultat laissait supposer une incompatibilité de la potasse avec le phloroglucinol. Nous nous sommes donc contentés d'effectuer la réaction dans les conditions classiques<sup>54</sup> avec un excès de bromure d'octyle et 4 éq de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ce qui nous a permis d'obtenir le 1,3,5-trioctyloxybenzène désiré **12** avec un bon rendement de 71% en effectuant l'expérience sur une période de temps prolongé à TA.

## 2. Alkylation de Friedel-Crafts

A partir du dérivé **12**, on a tenté de réaliser une SE<sub>Ar</sub> du type alkylation de Friedel-Crafts<sup>55</sup>. La réaction nécessite un catalyseur et l'utilisation soit d'un halogénure d'alkyle, d'une oléfine ou d'un alcool. Le catalyseur peut être un acide de Brønsted du type HF ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mais la plupart du temps c'est un acide Lewis qui est utilisé pour générer l'espèce électrophile lors de la réaction dont l'ordre de réactivité global est AlCl<sub>3</sub> > FeCl<sub>3</sub> > ZnCl<sub>2</sub> > SnCl<sub>4</sub> > BF<sub>3</sub> (Schéma 3-6). Le solvant utilisé est souvent de nature apolaire et aprotique (éther de pétrole, CCl<sub>4</sub>, CS<sub>2</sub>,...) pour accentuer la réactivité de l'espèce électrophile et favoriser la réaction.



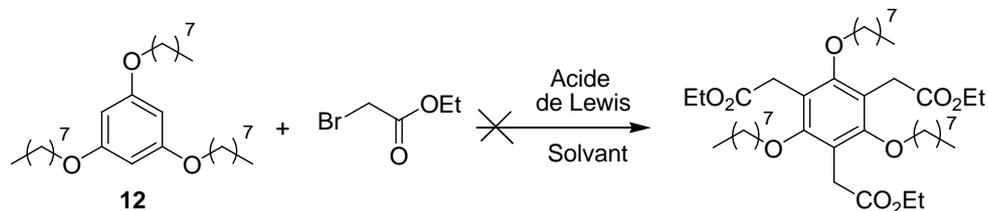
**Schéma 3-6 :** Formation d'un carbocation électrophile à partir d'un halogénure d'alkyle en présence de AlCl<sub>3</sub>.

Dans ce cas de figure, il est à noter que les fonctions éthers OR et esters CO<sub>2</sub>R peuvent ralentir ou inhiber la réaction en coordonnant le catalyseur sur les doublets non liants des

<sup>54</sup> G. Ulrich, S. Bedel and C. Picard, *Tet. Lett.*, **2002**, 43, 8835-8837 ; A. Scopton and T.R. Kelly, *Org. Lett.*, **2004**, 21, 3869-3871.

<sup>55</sup> Olah, « *Friedel-Crafts Chemistry* », Wiley, New York, **1973**.

oxygènes si bien que nous avons fait varier les conditions de l'expérience en utilisant à chaque fois un large excès d'acide de Lewis. Cependant, quelles que soient les conditions de l'expérience, nous n'avons observé aucune réactivité du dérivé **12** en faisant varier la nature du solvant, de l'acide de Lewis ou de la température du milieu (Schéma 3-7 et Tableau 3-3).



**Schéma 3-7 :** Schéma de synthèse de la réaction de Friedel-Crafts du bromoacétate d'éthyle sur le 1,3,5-trioxybenzène **12**.

Essai	Bromoacétate d'éthyle	Solvant	Acide de Lewis	Conditions	Résultat
1	3 éq	Ether de pétrole	AlCl <sub>3</sub> , 12 éq	0°C puis TA, 1 h	-
2	3 éq	Ether de pétrole	AlCl <sub>3</sub> , 12 éq	Reflux, 2 h	-
3	3 éq	CCl <sub>4</sub>	AlCl <sub>3</sub> , 12 éq	TA, 22 h	-
4	3 éq	CCl <sub>4</sub>	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 10 éq	TA, 18 h	-

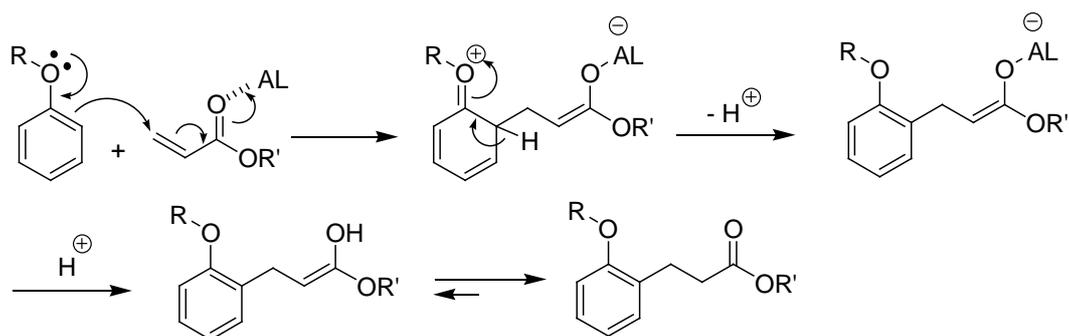
**Tableau 3-3 :** Essais d'alkylation de Friedel-Crafts du bromoacétate d'éthyle avec le dérivé **12**.

On a voulu modifier l'espèce électrophile en remplaçant le bromoacétate d'éthyle par le très réactif bromure d'allyle mais là encore, on n'a observé aucune réactivité du dérivé **12** en solution dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en présence de SnCl<sub>4</sub> ou de AlCl<sub>3</sub> (4 éq) vis à vis de l'addition du bromure d'allyle.

### **3. Addition conjuguée sur un composé carbonyle $\alpha,\beta$ -insaturé**

Cette première tentative infructueuse nous a conduit à tester une version particulière de la réaction de Friedel-Crafts. Le dérivé triéther est utilisé ici pour effectuer une addition conjuguée de type Michael sur un accepteur adapté tel qu'un acrylate d'alkyle comme cela a déjà été démontré avec des aldéhydes  $\alpha,\beta$ -insaturés ou des nitrooléfines<sup>56</sup> (Schéma 3-8).

<sup>56</sup> D. Almasi, D. Alonso and C. Njera, *Tetrahedron Asym.*, **2007**, 18, 299-365.

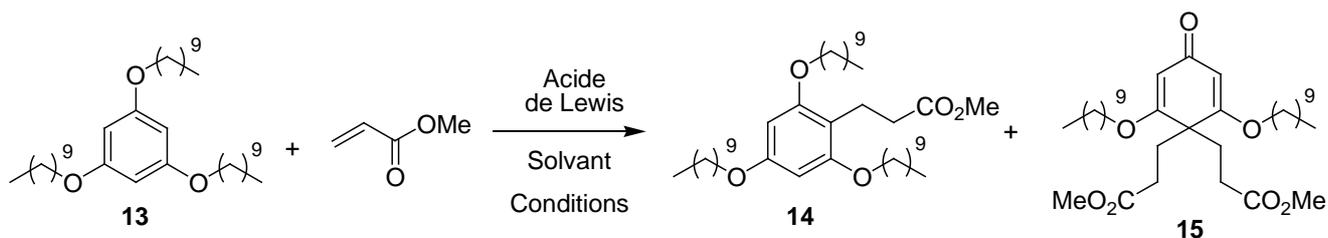


**Schéma 3-8 :** Mécanisme de l'addition d'un éther aromatique sur un acrylate d'alkyle catalysée par un acide de Lewis (AL).

Nous avons effectué ici la réaction du dérivé **13**, un analogue du dérivé **12** portant des chaînes décyles au lieu de chaînes octyles, avec de l'acrylate de méthyle dans différentes conditions mais la réaction a conduit exclusivement à la formation des produits **14** et/ou **15** dans des proportions variables. L'expérience s'est à chaque fois déroulée sous atmosphère d'argon dans un solvant distillé et en désactivant le catalyseur en fin la réaction par ajout d'H<sub>2</sub>O (Schéma 3-9 et Tableau 3-4).

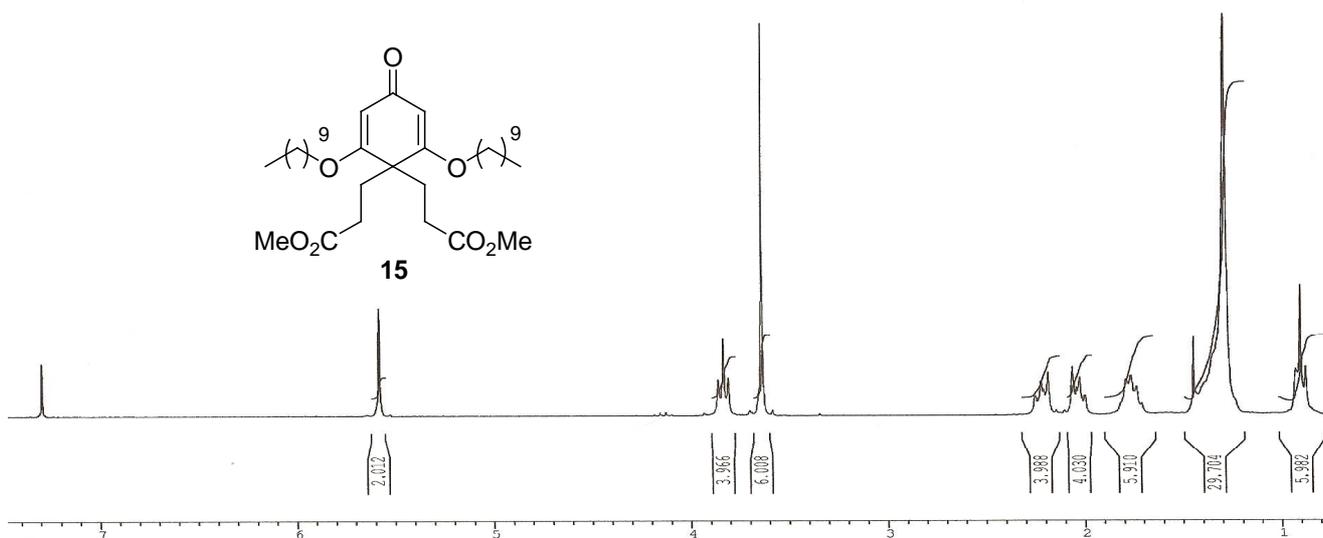
Essai	Acrylate de méthyle	Solvant	Acide de Lewis	Conditions	Résultat
1	6 éq	CCl <sub>4</sub>	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 10éq	TA, 18 h	74% de <b>15</b>
2	6 éq	CCl <sub>4</sub>	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 10éq	TA, 48 h	89% de <b>15</b>
3	3 éq	CCl <sub>4</sub>	AlCl <sub>3</sub> , 4 éq	TA, 4 h	57 % de <b>14</b> et 43 % de <b>15</b>
4	3 éq	CCl <sub>4</sub>	ZnCl <sub>2</sub> , 4 éq	TA, 24 h	-
5	3 éq	CS <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub> , 4 éq	TA, 4 h	Idem que l'essai 3
6	6 éq	CS <sub>2</sub>	AlCl <sub>3</sub> , 8 éq	TA, 3 h	46% de <b>14</b> et 54% de <b>15</b>
7	60 éq	Acrylate de méthyle	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 9 éq	TA, 18 h	Produit <b>15</b> majoritaire
8	4 éq	CS <sub>2</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 85%, 3 éq	TA, 12 h	-

**Tableau 3-4 :** Essais d'addition conjuguée du dérivé **13** sur l'acrylate de méthyle dans différentes conditions.



**Schéma 3-9** : Schéma de synthèse de l'addition conjuguée du dérivé **13** sur l'acrylate de méthyle.

Le premier essai réalisé dans le  $\text{CCl}_4$  avec un excès de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (10 éq) a donné exclusivement la formation du dérivé **15** portant deux adduits geminés sur le  $\text{C}^{\text{IV}}$  avec un rendement de 89%. Le produit **15** a pu être identifié facilement à partir de plusieurs informations. Tout d'abord, le composé possède un signal très déblindé à 188 ppm sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  caractéristique d'une fonction carbonyle ainsi que des protons éthyléniques à 5,6 ppm sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  (Figure 3-15).



**Figure 3-29** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit **15** dans le  $\text{CDCl}_3$ .

De même, les intégrations entre les protons  $\text{ArOCH}_2$  à 3,8 ppm et  $\text{CO}_2\text{CH}_3$  à 3,6 ppm sont de 4H et 6H respectivement, ce qui indique la présence du même nombre de chaînes alkyles et de fonctions ester méthylique. Enfin, l'effet de toit entre les signaux des protons méthylènes  $\text{ArCH}_2$  et  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$  à 2 ppm et 2,2 ppm respectivement indiquent également la présence d'un axe de symétrie sur la molécule.

Après ce résultat inattendu, qui a d'ailleurs été amélioré en prolongeant le temps de réaction à 48 h (89%), nous avons utilisé l' $\text{AlCl}_3$  comme acide de Lewis. Cette modification

n'a pas permis d'obtenir le produit résultant d'une triple addition mais a donné un mélange des produits **14** et **15** avec un ratio molaire de 6:4.

Le produit **14** a été aussi facilement caractérisé par son spectre RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  qui possède des protons sur le noyau benzénique légèrement plus déblindés à 6,1 ppm comparés aux protons éthyléniques du produit **15** mais aussi des intégrations des protons  $\text{ArOCH}_2$  à 3,9 ppm et  $\text{CO}_2\text{CH}_3$  à 3,7 ppm de 6H et 3H respectivement montrant clairement que l'on a effectué l'addition d'un seul résidu d'acrylate de méthyle (Figure 3-16).

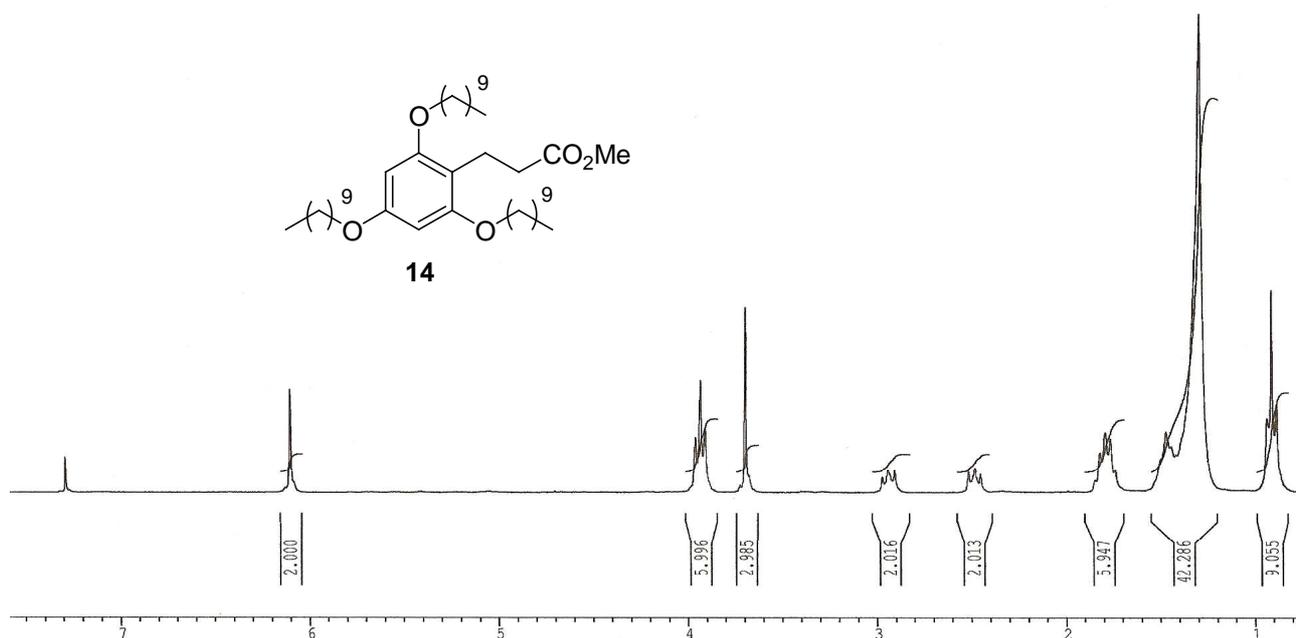


Figure 3-31 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit de monoaddition **14** dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Le remplacement du catalyseur par le chlorure de zinc ou de l'acide phosphorique n'a donné aucune réaction tandis que l'utilisation de disulfide de carbone comme solvant a conduit à des résultats assez similaires à ceux obtenus précédemment. Pour finir, l'acide acrylique n'est pas du tout réactif vis à vis du dérivé **13** en présence d' $\text{AlCl}_3$  (8 éq) et de  $\text{CS}_2$  comme solvant.

A ce stade, ces premiers résultats nous ont conduit à utiliser des conditions similaires d'addition conjuguée sur l'acrylate de méthyle mais directement avec le phloroglucinol, ce qui a conduit selon les conditions à un mélange des produits **16**, **17** et un dérivé lactonique dans des proportions variables (Schéma 3-10 et Tableau 3-5).

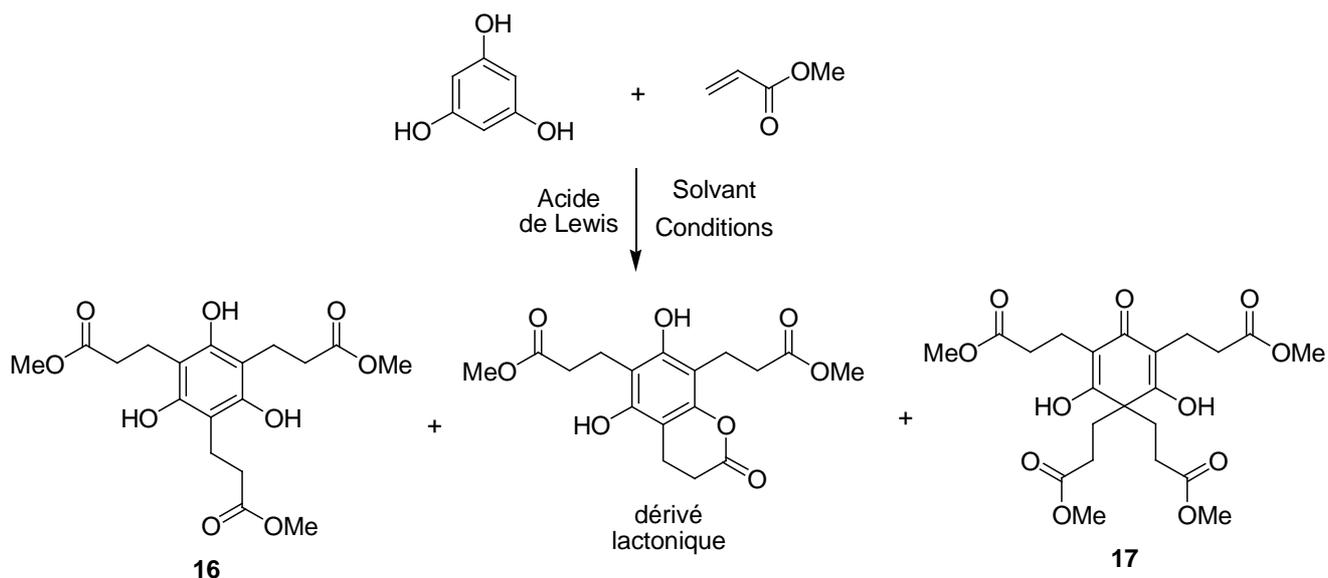


Schéma 3-10 : Schéma de synthèse de l'addition conjuguée du phloroglucinol sur l'acrylate de méthyle.

Essai	Acrylate de méthyle	Solvant	Acide de Lewis	Conditions	Résultat
1	18 éq	Acrylate de méthyle	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 3,5 éq	TA, 18 h	19% de <b>16</b> , 13% du dérivé lactonique et 29% de <b>17</b>
2	4 éq	CS <sub>2</sub>	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 8 éq	TA, 18 h	Echec
3	3,5 éq	THF	AlCl <sub>3</sub> , 6 éq	TA, 15 h	<b>17</b> majoritaire
4	3,5 éq	THF	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 7 éq	0°C puis TA, 14h	<b>17</b> majoritaire
5	30 éq	Acrylate de méthyle	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O, 7 éq	0°C puis TA, 4 h	6% du dérivé lactonique et 28% de <b>17</b> Formation de <b>16</b> puis consommation
6	3,5 éq	THF	APTS, 1 éq	TA, 16 h	-
7	3,5 éq	THF	APTS, 1 éq	60°C, 8h	Mélange complexe

Tableau 3-5 : Essais d'addition conjuguée du phloroglucinol sur l'acrylate de méthyle.

Le premier essai a été réalisé avec l'acrylate de méthyle comme solvant et 3,5 éq de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O à TA. Après 18 h de réaction, on a pu isoler et identifier les produits **16**, **17** et le dérivé lactonique avec des rendements respectifs de 19%, 29% et 13%.

Le produit **16** est caractérisé sur son spectre RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  par un singulet fin fortement déblindé à 8,1 ppm intégrant 3H correspondant aux fonctions phénol et un autre singulet à 3,7 ppm intégrant 9H correspondant lui aux protons des esters méthyliques (Figure 3-17).

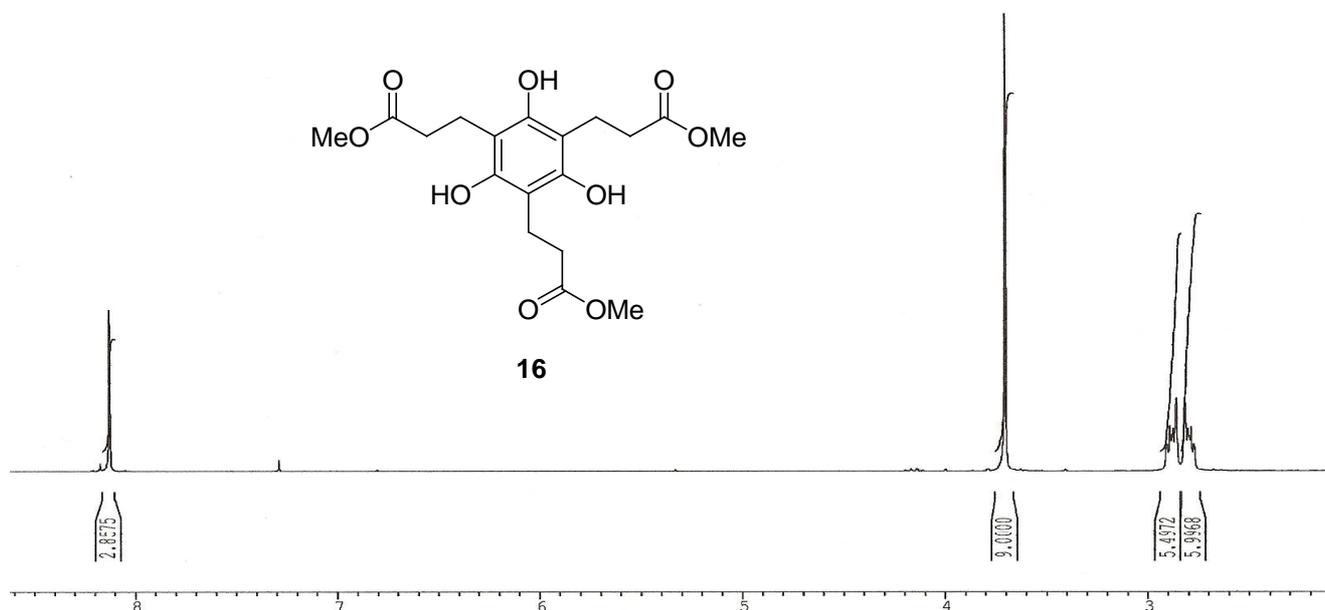


Figure 3-33 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit **16** dans le  $\text{CDCl}_3$ .

La correspondance du signal à 8,1 ppm avec les OH a aussi été confirmée en réalisant un spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit **16** dans le MeOD où l'on retrouve un signal très fin cette fois à 4,9 ppm qui s'élargit et devient plus déblindé lorsque l'on ajoute quelques gouttes de TFA.

Le dérivé lactonique est lui caractérisé sur son spectre RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  par deux singulets à 8,4 ppm correspondant aux deux fonctions phénoliques qui ont un environnement légèrement différent. On retrouve encore le singulet des esters méthyliques à 3,7 ppm intégrant pour 6H et un multiplet complexe entre 2,7 et 3 ppm regroupant les protons méthylènes  $\text{ArCH}_2$  et  $\text{CH}_2\text{CO}$ .

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit **17** dans le  $\text{CDCl}_3$  ressemble à celui du produit **15** (Figure 3-18). On retrouve un effet de toit entre les signaux situés à 1,9 ppm et 2,3 ppm correspondant respectivement aux protons méthylènes  $\text{C}^{\text{IV}}\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$  ainsi qu'un singulet fortement déblindé à 9 ppm correspondant aux fonctions phénols. Cependant, on observe deux singulets d'esters méthyliques à 3,6 ppm et 3,7 ppm indiquant qu'ils sont dans un environnement différent. Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du produit **17** dans le  $\text{CDCl}_3$  comporte aussi un signal fortement déblindé à 187 ppm caractéristique de la fonction carbonyle.

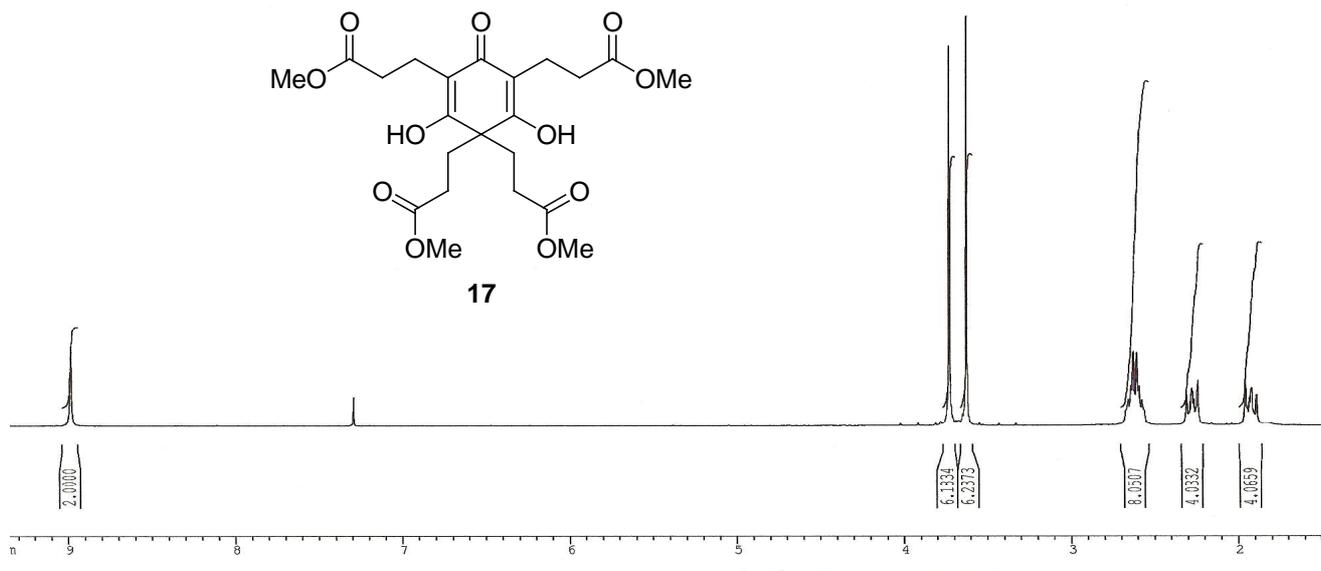


Figure 3-35 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit **17** dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Après ce premier résultat, nous avons donc fait varier la nature du solvant et celle du catalyseur mais cela n'a pas permis dans tous les cas de reformer le produit **16** correspondant à la triple addition de l'acrylate de méthyle. La réaction a eu plutôt tendance à former le produit **17** majoritairement.

De manière intéressante, les conditions de l'essai 5 avec 7 éq de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  ont permis de voir l'apparition en CCM du composé souhaité **16** mais nous avons aussi observé sa disparition ultérieure lorsqu'on laissait la réaction se prolonger pour donner majoritairement le produit **17**. A noter que l'utilisation d'APTS n'a rien donné à TA mais a conduit à la formation d'un mélange complexe à chaud dans le THF ne contenant pas le produit **16** attendu.

Nous avons également tenté une alkylation du composé **16** avec les conditions déjà mises au point utilisant le  $\text{K}_2\text{CO}_3$  dans le DMF et du bromure d'octyle mais cette expérience ne nous a pas permis d'isoler le produit attendu de trialkylation. Il semble donc que le produit de O-alkylation du phloroglucinol ne soit pas suffisamment réactif vis-à-vis des électrophiles de Friedel et Crafts mais que les conditions réactionnelles acides conduisent à la déalkylation partielle du phloroglucinol et la formation de produits de diaddition en para de la fonction phénol déalkylée.

#### 4. Réaction de diméthylaminométhylation

Compte tenu des difficultés rencontrées pour maîtriser la formation du produit **16**, nous avons voulu suivant la même logique utiliser le dérivé 1,3,5-trioctyloxybenzène **12** pour faire une réaction de diméthylaminométhylation qui est en réalité un cas particulier de la réaction de Mannich. La réaction s'effectue à partir d'une espèce appelée iminium issu de la condensation du formaldéhyde avec une amine secondaire dans des conditions acides (Schéma 3-11).

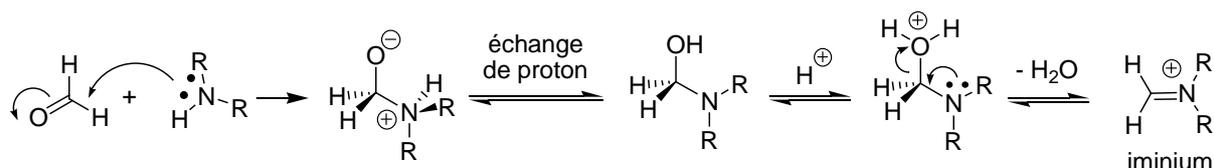


Schéma 3-11 : Mécanisme de la formation d'un iminium.

L'iodure de N,N-diméthylméthylèneammonium dénommé sel d'Eschenmoser est utilisé tel quel avec des composés aromatiques activés sans nécessiter au préalable une activation par un acide de Lewis<sup>57</sup>. Dans la littérature, la réaction de Mannich a pu être réalisée sur des noyaux aromatiques activés tels que le phénol<sup>58</sup> ou encore le pyrrole qui dans ce cas permet de concevoir des macrocycles de type porphyrine<sup>59</sup>. Nous avons donc voulu tirer partie des fonctions éther du produit **12** pour effectuer l'addition sur le sel d'Eschenmoser (Schéma 3-12).

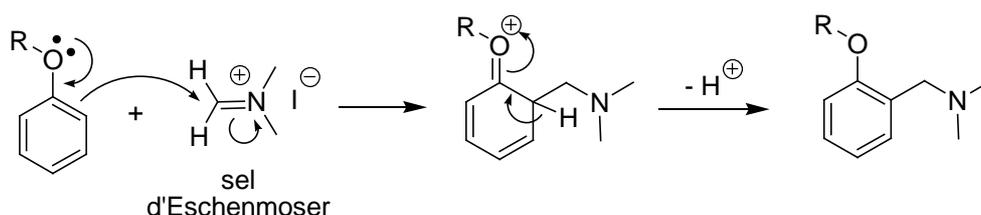


Schéma 3-12 : Mécanisme schématisant l'assistance d'une fonction éther sur un cycle aromatique pour faire une addition nucléophile sur le sel d'Eschenmoser.

A partir du dérivé comportant trois substituants diméthylaminométhyle, on pouvait très bien envisager la perméthylation des amines secondaires pour former les ammoniums quaternaires correspondants. Cet intermédiaire pourrait ainsi permettre l'introduction de

<sup>57</sup> J. Schreiber, H. Maag, N. Hashimoto, A. Eschenmoser, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1971**, 10, 330-331.

<sup>58</sup> C. Mannich, *Arch. Pharm.*, **1917**, 255, 261-276 ; M. Tramontini, *Synthesis*, **1973**, 703-775 ; M. Tramontini ; A. Luigi, *Tetrahedron*, **1990**, 46, 1791-1837

<sup>59</sup> D. Fan, M. Taniguchi, Z. Yao, S. Dhanalekshmi and J.S. Lindsey, *Tetrahedron*, **2005**, 61, 10291-10302.

différents types de nucléophiles via une réaction de type  $S_N2$  qui serait fortement favorisée par l'élimination de la triméthylamine (Schéma 3-13).

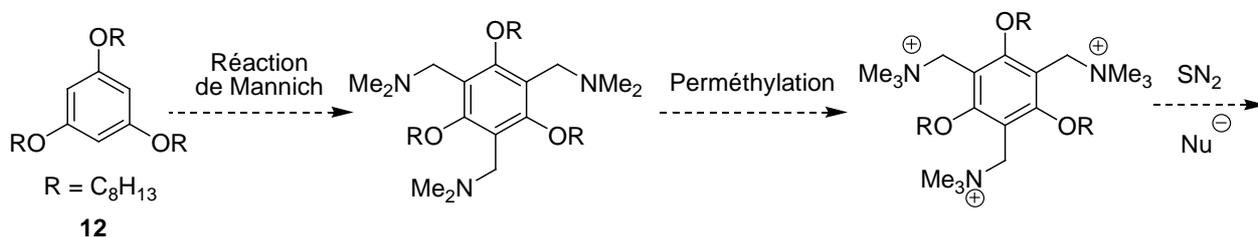


Schéma 3-13 : Séquence réactionnelle envisagée sur la base d'une réaction de Mannich.

Nos premiers essais se sont basés sur une méthode régiosélective qui utilise un système basique  $Et_3N/MgCl_2$  dans le  $CH_2Cl_2$  à TA<sup>60</sup> (Schéma 3-14 et Tableau 3-6).

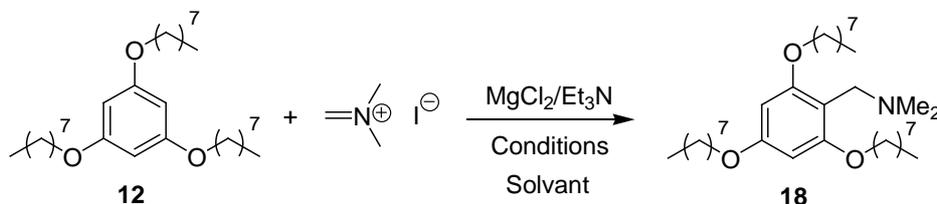


Schéma 3-14 : Réaction de Mannich entre le 1,3,5-trioctyloxybenzène **13** et le sel d'Eschenmoser.

Essai	MgCl <sub>2</sub>	Sel d'Eschenmoser	Et <sub>3</sub> N	Solvant	Conditions	Résultat
1	6 éq	6 éq	7,2 éq	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	TA 16 h puis Reflux 2 h	30% de <b>18</b>
2	-	6 éq	5 éq	Dioxane	Reflux, 48 h	28% de <b>18</b>
3	6 éq	4 éq	7 éq	PhCH <sub>3</sub>	80°C, 22 h	17% conversion de <b>12</b>

Tableau 3-6 : Essais de la réaction de Mannich du produit **12** sur le sel d'Eschenmoser.

Cependant, de telles conditions même après un chauffage au reflux pendant 2 h ne donnent pas le produit attendu mais seulement le produit de monoaddition **18** avec un rendement de 30%. Nous avons obtenu un rendement similaire lorsque l'on réalise l'expérience au reflux du dioxane pendant 48 h en l'absence de  $MgCl_2$ . Dans le toluène au reflux, seul 17% du produit de départ **12** est consommé après 22h de réaction.

<sup>60</sup> H.F. Anwar, L. Skattebøl and T.V. Hansen, *Tetrahedron*, **2007**, 63, 9997-10002.

Etant donné les difficultés rencontrées pour effectuer efficacement la réaction sur les trois positions libres du cycle aromatique, nous avons tenté d'effectuer l'aminométhylation du phloroglucinol, plus réactif que son produit de tri-O-alkylation. Lorsqu'on solubilise le phloroglucinol dans un mélange MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), on observe la précipitation du produit attendu **19** après seulement 10 minutes en présence du sel d'Eschenmoser (3 éq) avec un excellent rendement de 91% (Schéma 3-15).

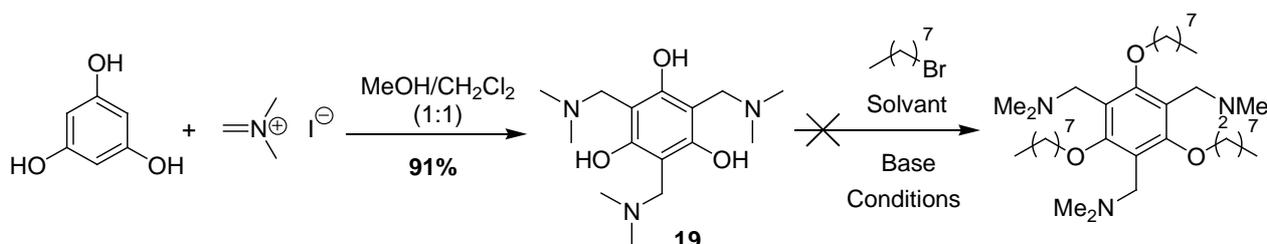


Schéma 3-15 : Schéma de synthèse conduisant à la formation du dérivé 19.

Le composé **19** solubilisé dans le DMSO deutéré est caractérisé en RMN <sup>1</sup>H par les singlets à 2,7 ppm et 4,3 ppm correspondant respectivement aux méthyles et aux protons méthylènes des substituants CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>. De même sur le spectre RMN <sup>13</sup>C, la présence des signaux situés à 100 ppm et 159 ppm attribués respectivement aux C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub> et C<sub>Ar</sub>OH confirment également l'obtention du produit.

Cependant, nous n'avons pas réussi à obtenir le produit attendu résultant de la triple alkylation du dérivé **19**. Quelles que soient les conditions réactionnelles utilisées, nous avons constaté la disparition des signaux caractéristiques des substituants diméthylaminométhyle même en se plaçant dans les conditions classiques (Tableau 3-7).

Essai	C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> Br	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	6 éq	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 4 éq	DMF	TA, 18 h	Echec
2	3 éq	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 4 éq	DMF	Micro-ondes, 100°C, 10 min	Echec
3	3 éq	Et <sub>3</sub> N, pH 9-10	DMF	TA, 18 h	Echec

Tableau 3-7 : Essais d'alkylation du produit **19**.

## 5. Réaction de halométhylation

Nous nous sommes alors orientés vers une réaction de chlorométhylation qui permet à partir de formaldéhyde ou d'un précurseur tel que du trioxane ou du paraformaldéhyde et d'HCl gazeux en présence d'un acide de Lewis ( $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{SnCl}_2$  ou  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) de former l'ion hydroxycarbénium électrophile et d'introduire des groupements  $\text{CH}_2\text{Cl}$ <sup>61</sup>.

On peut également réaliser la chlorométhylation des arènes activés en présence d'autres agents de couplage comme le chlorométhyl méthyléther, le bis(chlorométhyl)éther<sup>62</sup>, le chlorure de méthoxyacétoyle<sup>63</sup> ou le 1-chloro-4-(chlorométhoxy)butane<sup>64</sup>. La réaction est efficace avec les composés aromatiques activés tels que les alkoxybenzènes mais difficile à contrôler sur les dérivés du phénol qui ont tendance à polymériser pour donner des polymères bien connus de type bisphénol appelés Bakélites<sup>65</sup>.

Il est aussi possible de synthétiser les analogues bromométhylbenzènes selon une méthode similaire avec du paraformaldéhyde et de l'HBr dans l'acide acétique<sup>66</sup>. Dans ce cas, le sous-produit *bis*-bromométhyléther très toxique n'est pas synthétisé contrairement à la préparation des chlorométhylbenzènes où le bis(chlorométhyl)éther connu comme produit carcinogène et dangereux peut se former<sup>67</sup>.

Cette méthodologie donne accès à des chlorométhylbenzènes polyvalents en chimie organique où les atomes de chlore servent de points d'ancrage pour l'introduction d'autres éléments<sup>68</sup>. Elle a notamment permis la modification chimique de polysilanes aromatiques<sup>69</sup>, la bis-chlorométhylation sélective d'un dérivé calix-[4]-arène avec du chlorométhyl-*n*-octyléther en présence de  $\text{SnCl}_4$  à  $-40\text{ }^\circ\text{C}$ <sup>70</sup> ou encore la préparation de cavitands utilisés en chimie supramoléculaire<sup>71</sup>.

<sup>61</sup> M. Gerisch, J.R. Krumper, R.G. Bergman and T. Don Tilley, *Organometallics*, **2003**, 22, 47-58 ; R.C. Fuson and C.H. McKeever, « *Organic Reactions* », 1, John Wiley, New York, **1943**, 63-90.

<sup>62</sup> H. Suzuki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1970**, 43, 3299-3304.

<sup>63</sup> A. McKillop, F.A. Madjadabadi and D.A. Long, *Tet. Lett.*, **1983**, 24, 1933-1936.

<sup>64</sup> G.A. Olah, D.A. Beal and J.A. Olah, *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 1627.

<sup>65</sup> G. Casiraghi, G. Casnati, A. Pochini, G. Puglia, R. Ungaro and G. Sartori, *Synthesis*, **1981**, 143-145.

<sup>66</sup> A.W. van der Made and R.H. van der Made, *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 1262-1263.

<sup>67</sup> B.L. Van Duuren, B.M. Goldschmidt, C. Katz, L. Langseth, G. Mercado and A. Sivak, *Arch. Environ. Health*, **1968**, 16, 472-476 ; W.G. Dauben, *Eds. Org. React.*, **1972**, 19, 422.

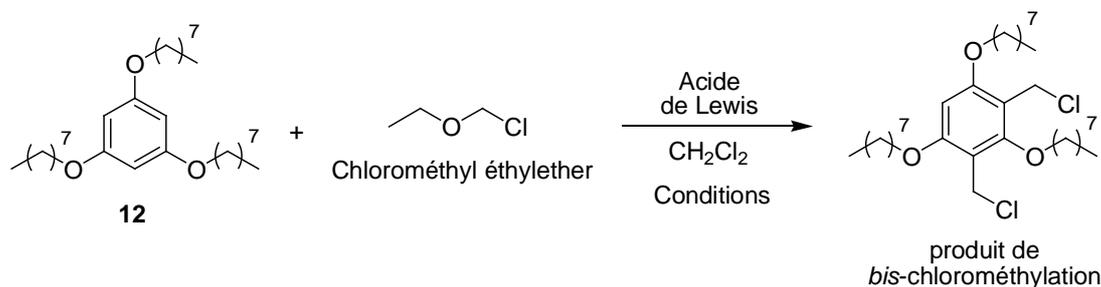
<sup>68</sup> S. Ott, M. Kritikos, B. Akermark, L.C. Sun and R. Lomoth, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 1006-1009 ; N. Grag and T.R. Lee, *Synlett.*, **1998**, 310-312.

<sup>69</sup> H. Ban, K. Sukegawa and S. Tagawa, *Macromolecules*, **1987**, 21, 304-309 ; T. Seki, T. Tamaki and K. Ueno, *Macromolecules*, **1992**, 25, 3825-3826.

<sup>70</sup> J.-D. van Loon, A. Arduini, L. Coppi, W. Verboom, A. Pochini, R. Ungaro, S. Harkema, D.N. Reinhoudt, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 5639-5646.

<sup>71</sup> F. Hamada, S. Ito, M. Narita and N. Nashirozawa, *Tet. Lett.*, **1999**, 40, 1527-1530.

Nous avons donc tenté d'effectuer une *tris*-chlorométhylation du 1,3,5-trioctyloxybenzène **12** avec le chlorométhyl éthyléther comme agent de chlorométhylation en présence d'un acide de Lewis dans différentes conditions (Schéma 3-16 et Tableau 3-8).



**Schéma 3-16** : Schéma de synthèse de la chlorométhylation du 1,3,5-trioctyloxybenzène **12**.

Essai	Chlorométhyléthyléther	Acide de Lewis	Conditions	Résultat
1	6 éq	SnCl <sub>4</sub> , 3 éq	-10°C puis TA, 3h	<i>Bis</i> -chlorométhylation
2	6 éq	SnCl <sub>4</sub> , 3 éq	-10°C puis TA, 16 h	Polymérisation
3	12 éq	SnCl <sub>4</sub> , 3 éq	-40°C puis TA, 3 h 30	Polymérisation
4	24 éq	SnCl <sub>4</sub> , 1 éq	-20°C puis TA, 30 min	<i>Bis</i> -chlorométhylation
5	24 éq	AlCl <sub>3</sub> , 1 éq	-20°C puis TA, 30 min	Polymérisation
6	24 éq	SnCl <sub>4</sub> , 2 éq	-20°C puis TA, 30 min	Polymérisation
7	24 éq	SnCl <sub>4</sub> , 1 éq	-20°C puis TA, 30 min puis Micro-ondes 250W, 100°C, 30 sec	Polymérisation
8	24 éq	SnCl <sub>4</sub> , 1 éq	-20°C puis TA, 30 min puis Micro-ondes 10W, 40°C, 10 sec	Polymérisation
9	24 éq	FeCl <sub>3</sub> , 1 éq	-40°C puis TA, 3 h 30 puis Reflux, 30min	Polymérisation

**Tableau 3-8** : Essais de chlorométhylation sur le 1,3,5-trioctyloxybenzène **12** dans différentes conditions.

Nos premiers essais ont été réalisés dans une solution de SnCl<sub>4</sub> dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à basse température en raison de la meilleure solubilité de cet acide de Lewis dans ce solvant

comparée à celle du  $\text{ZnCl}_2$  mais aussi pour son caractère plus doux qui le rend moins propice à la production de réactions secondaires telles que la double condensation d'aromatiques conduisant ainsi à des sous-produits de type diarylméthanés.

Lors du suivi de l'expérience par RMN  $^1\text{H}$ , le constat de tous ces essais est que l'on forme proprement et rapidement selon les conditions (15 min environ), le produit de *bis*-chlorométhylation correspondant du dérivé **12** (Figure 3-19).

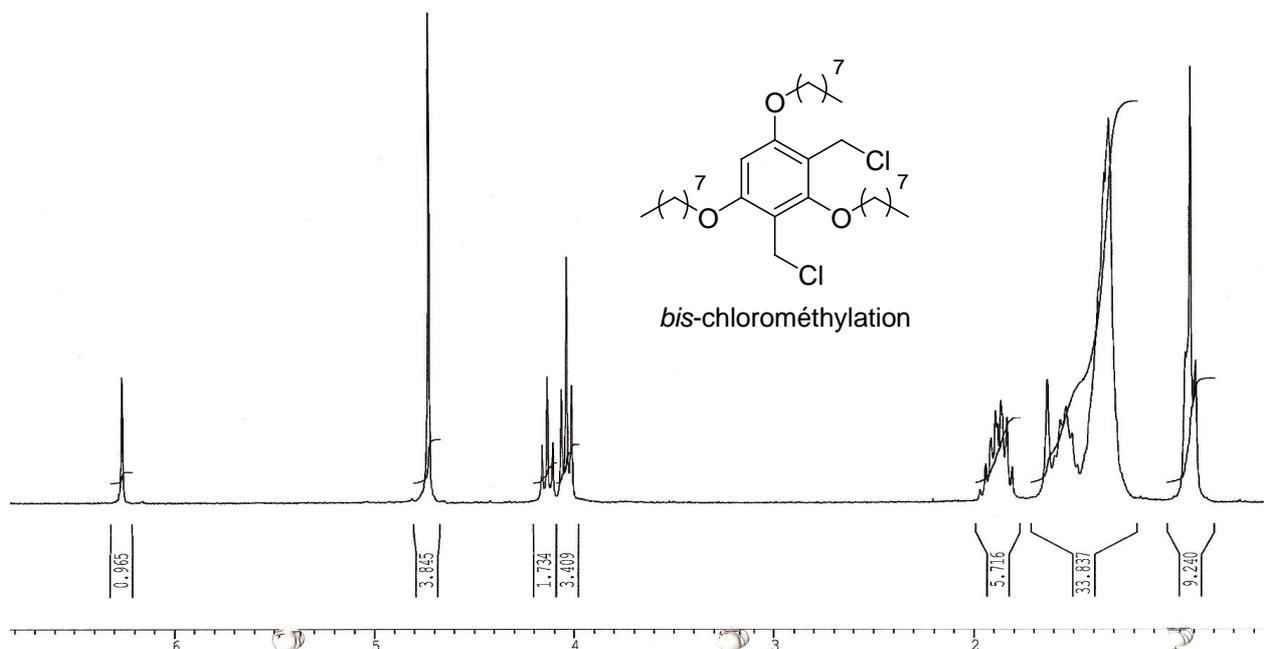


Figure 3-37 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit de *bis*-chlorométhylation du dérivé **12** solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Mais on observe inévitablement la production d'un mélange d'oligomères de 1,3,5-trialkoxybenzène **12** pontés par des segments méthylènes, lorsque la réaction se poursuit sur un période de temps trop longue. Ceci se traduit sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  par l'apparition de signaux élargis. Nous n'avons en aucun cas réussi à former le produit attendu de *tris*-chlorométhylation que ce soit en activant la réaction par des micro-ondes, en utilisant des acides de Lewis plus forts tels que le  $\text{FeCl}_3$  et l' $\text{AlCl}_3$  ou en variant le nombre d'équivalents du catalyseur et/ou du chlorométhyléthyléther.

Le produit de *bis*-chlorométhylation en solution dans le  $\text{CDCl}_3$  est caractérisé en RMN  $^1\text{H}$  par son singulet à 6,3 ppm intégrant pour un proton correspondant à la position libre du  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  et par le singulet à 4,7 ppm intégrant 4H qui correspond aux deux substituants  $\text{CH}_2\text{Cl}$ . Les deux triplets à 4 ppm et 4,1 ppm d'intégration 4H et 2H respectivement correspondent au

protons méthylènes  $\text{ArOCH}_2$  respectifs se trouvant dans des environnements différents soit entre les deux substituants  $\text{CH}_2\text{Cl}$  ou à proximité d'un seul.

Ces résultats infructueux nous ont conduit à expérimenter la réaction de bromométhylation du dérivé **12** dans un tube scellé en présence de formaldéhyde et d'une solution de HBr à 33% dans l'acide acétique (Schéma 3-17).

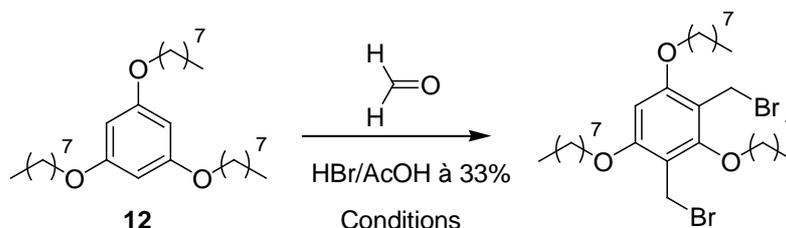


Schéma 3-17 : Schéma de synthèse de la bromométhylation du dérivé **12**.

Là encore, nous avons été confronté aux problèmes déjà rencontrés qui conduisent soit à la formation du produit de *bis*-bromométhylation du dérivé **12** ou à un mélange complexe lors d'une activation aux micro-ondes (Tableau 3-9).

Essai	Formaldéhyde	HBr	Conditions	Résultat
1	3,5 éq	6 éq	Tube scellé, 70°C, 50 min	<i>Bis</i> -bromométhylation
2	3,5 éq	6 éq	Tube scellé 70°C, 3 h	<i>Bis</i> -bromométhylation
3	3,5 éq	6 éq	Micro-ondes, 100°C, 5 min	Mélange complexe

Tableau 3-9 : Essais de bromométhylation du dérivé **12** avec le formaldéhyde et un mélange HBr/AcOH à 33%.

Cependant, il a été montré dans la littérature que le 1,3,5-triméthoxybenzène pouvait conduire à la formation du produit de *tris*-bromométhylation **20** correspondant avec du formaldéhyde et un mélange HBr/AcOH<sup>72</sup>.

Nous avons donc envisagé d'utiliser cette approche comme point de départ dans une séquence réactionnelle pouvant amener à la fonctionnalisation séquencée du noyau aromatique (Schéma 3-18).

<sup>72</sup> H. Li, E.A. Homan, A.J. Lampkins, I. Ghiviriga and R.K. Castellano, *Org. Lett.* **2005**, 7, 443-446.

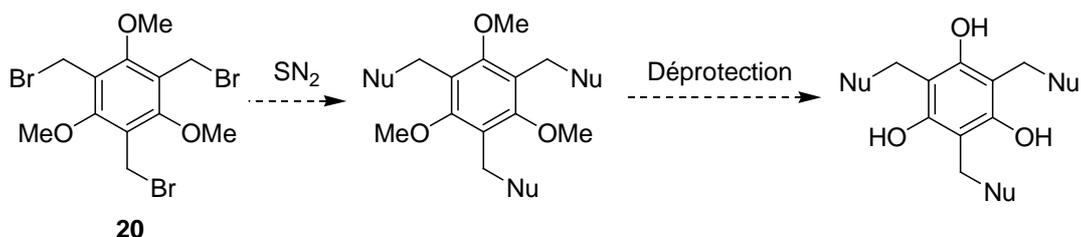


Schéma 3-18 : Séquence réactionnelle envisagée à partir du composé **20**.

Le composé **20** n'a pu cependant être synthétisé dans le meilleur des cas qu'avec un rendement de 19% en modifiant légèrement les conditions d'origine puisque celles-ci donnaient le composé **20** avec un rendement de 15 % seulement alors qu'il était décrit à 37% (Tableau 3-10). A noter que lors de l'ajout du 1,3,5-triméthoxybenzène, on observe la formation d'une gomme dans le milieu réactionnel signe qu'il se produit une réaction de polymérisation.

Essai	Formaldéhyde	HBr	Conditions	Résultat
1	3,6 éq	3,9 éq	Tube scellé, 70°C, 3 h	15%
2	3 éq	3 éq	Tube scellé, 70°C, 3 h	10%
3	3,6 éq	6 éq	Tube scellé, 70°C, 3 h 30	19%

Tableau 3-10 : Essais de brométhylation du 1,3,5-triméthoxybenzène.

Le 1,3,5-tris(bromométhyl)-2,4,6-triméthoxybenzène **20** a tout de même été utilisé pour réaliser une réaction de type  $S_N2$  avec du KCN dans le DMF pour donner le dérivé nitrile **21** correspondant avec un rendement moyen de 50%.

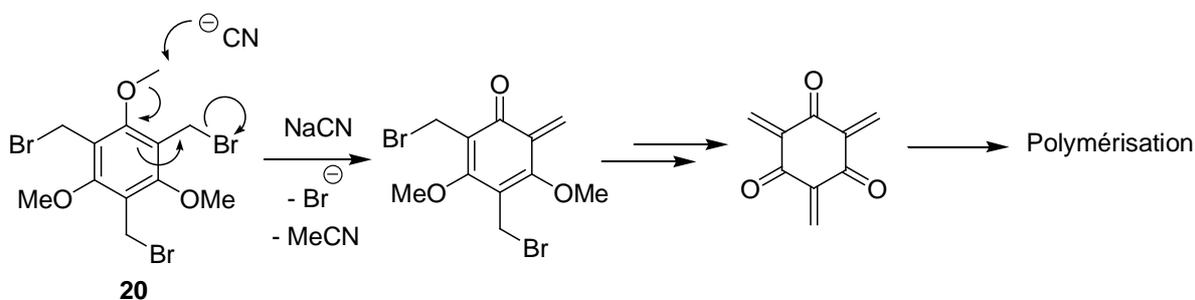


Schéma 3-19 : Mécanisme possible de la déprotection des groupes méthoxy conduisant à la formation de cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées et leur polymérisation.

Ce rendement médiocre laisse supposer que les ions cyanures pourraient déprotéger les groupements méthoxy et conduire à des dérivés comportant des cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées, bien que nous n'ayons pas isolé ce type de produits, qui peuvent induire des réactions de polymérisation du milieu réactionnel (Schéma 3-19).

Finalement, la déprotection du dérivé nitrile **21** dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  à  $-78^\circ\text{C}$  en présence de  $\text{BBr}_3$  ne nous a pas permis d'isoler le dérivé phénolique attendu après 4 h de réaction à TA (Schéma 20).

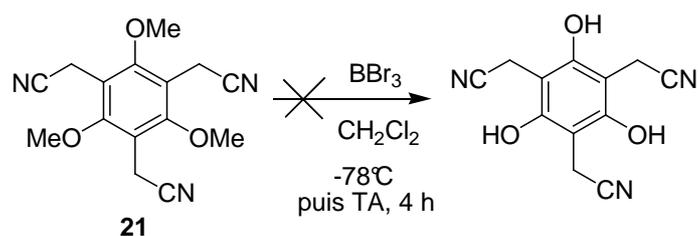


Schéma 3-20 : Schéma de synthèse de la déprotection du nitrile **21**.

## 6. Réarrangement de dérivés du phloroglucinol

Les résultats obtenus démontrent donc que les réactions de  $\text{SE}_{\text{Ar}}$  multiples sur les dérivés O-alkylés du phloroglucinol semblent extrêmement délicates à réaliser. Nous avons donc tenté une stratégie différente basée sur les réactions de réarrangement des dérivés du phloroglucinol.

### a. Réarrangement de Fries

Le réarrangement de Fries peut être effectué sur des dérivés acylés du phénol. Ce réarrangement conduit à une acylation directe des sommets ortho ou para du phénol selon les conditions réactionnelles utilisées. Après transposition des groupements acétyl, il est possible d'accéder par la réaction iodoforme aux fonctions acides puis alcool (Schéma 3-21).

L'étape clé de la stratégie de synthèse consiste à préparer le composé **D** à partir du 1,3,5-tris(acétoxy)benzène **22** via un réarrangement de Fries.

Dans un premier temps, nous avons donc acétylé le phloroglucinol dans un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /Pyridine (1:1) à  $0^\circ\text{C}$ . Après 2 h de réaction à TA, on obtient le triester **22** après recristallisation à chaud dans l'EtOH avec un rendement de 94%.

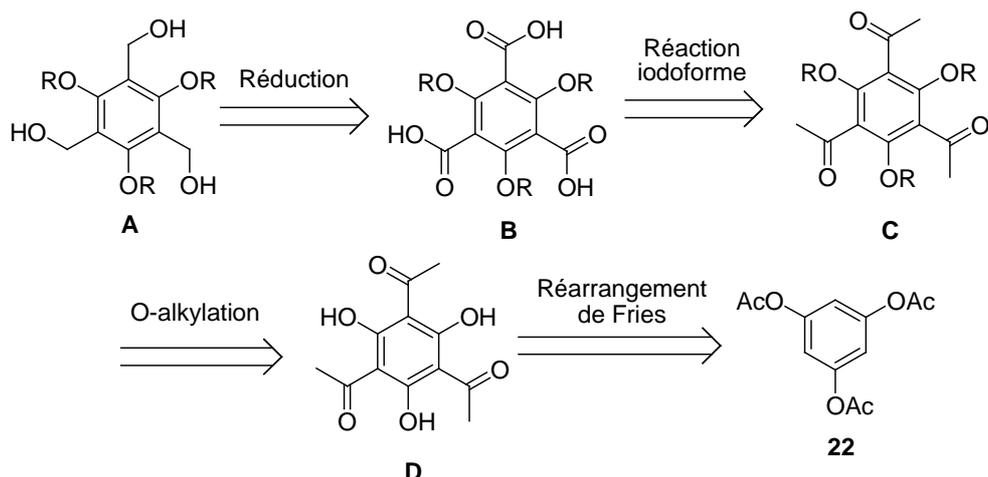


Schéma 3-21 : Analyse rétrosynthétique basée sur un réarrangement de Fries.

Dans la littérature, le réarrangement de Fries des esters phénoliques est réalisé par chauffage en présence d'un acide de Lewis, la plupart du temps du chlorure d'aluminium en excès pouvant atteindre jusqu'à 25% en mole. Il a été montré que l'utilisation du nitrobenzène comme solvant réduisait la température nécessaire de 100°C pour effectuer la transformation si bien qu'il est possible de réaliser la réaction en 24 h à TA ou bien en 1 h à 60°C<sup>73</sup>.

La réaction conduit souvent à un mélange de *o*- et *p*-hydroxycétone dont la proportion varie en fonction des conditions et notamment de la température. Le mécanisme n'est pas encore complètement élucidé même s'il est admis que l'acide de Lewis AlCl<sub>3</sub> génère la formation d'un ion acylium intermédiaire, mais sa réaction ultérieure est encore controversée selon un mécanisme de SE<sub>Ar</sub> intramoléculaire, intermoléculaire ou une combinaison des deux<sup>74</sup> (Schéma 3-22).

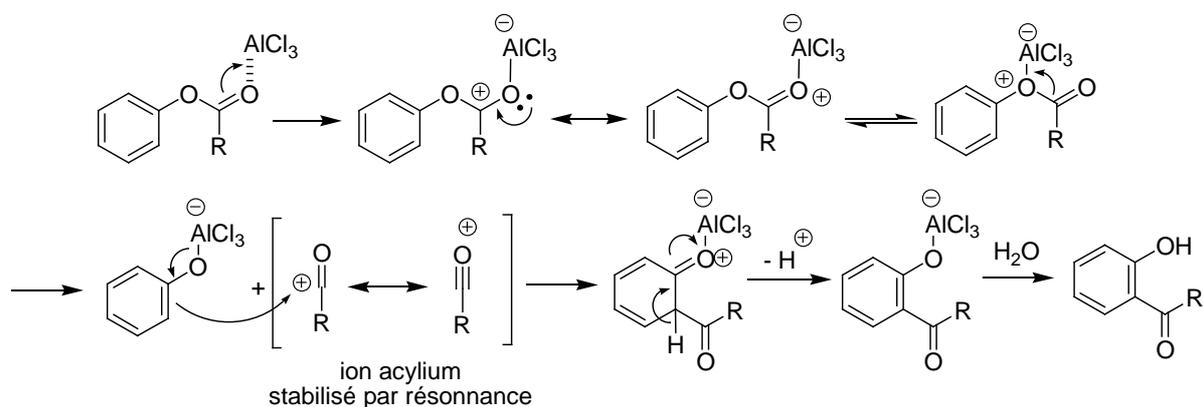
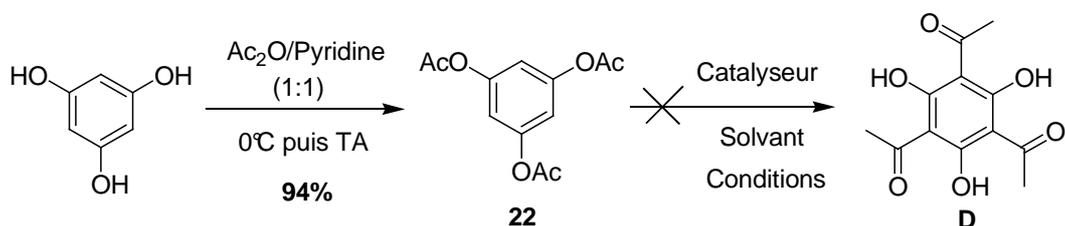


Schéma 3-22 : Mécanisme du réarrangement de Fries.

<sup>73</sup> W. Barch, *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, 57, 2330 ; F. Mauthner, *J. Prakt. Chem.*, **1934**, 139, 293.

<sup>74</sup> F. Krausz and R. Martin, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1965**, 2192-2197 ; Y. Ogata and H. Tabuchi, *Tetrahedron*, **1964**, 20, 1661-1666 ; A. Warshawsky, R. Kalir and A. Patchornik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 4544-4550.

En tenant compte de ces considérations, on a donc expérimenté quelques essais de réaction de Fries à partir du phloroglucinol acétylé **22** (Schéma 3-23 et Tableau 3-11).



**Schéma 3-23** : Schéma de synthèse conduisant au dérivé **D** selon un réarrangement de Fries.

Essai	Catalyseur	Solvant	Conditions	Résultat
1	AlCl <sub>3</sub> , 4 éq	Nitrobenzène	60°C, 2 h	Echec
2	AlCl <sub>3</sub> , 4 éq	Chlorobenzène	TA, 24 h	Echec
3	AlCl <sub>3</sub> , 4 éq	CHCl <sub>3</sub>	TA, 24 h	Echec
4	AlCl <sub>3</sub> /ZnCl <sub>2</sub> (1:3) sur SiO <sub>2</sub>	-	100°C, 7 min	Mélange complexe

**Tableau 3-11** : Essais de la réaction de Fries sur le dérivé **22** dans différentes conditions.

Malheureusement, nos essais utilisant un excès d'AlCl<sub>3</sub> dans différents solvants ont conduit à la formation de mélanges complexes dans lesquels après élimination du solvant sous pression réduite ou par distillation, il nous a été impossible par chromatographie sur gel de silice d'isoler un produit confirmant la structure du composé **D**.

Nous avons également testé des conditions où il a été montré qu'un mélange d'acides de Lewis AlCl<sub>3</sub>/ZnCl<sub>2</sub> (1:3) supportée sur un gel de SiO<sub>2</sub> était un moyen efficace de promouvoir le réarrangement de Fries de phénylacétates sans solvant par chauffage diélectrique aux micro-ondes en seulement 7 min<sup>75</sup>.

Dans ces conditions, nous formons un mélange complexe difficile à interpréter. En raison des difficultés rencontrées, nous avons finalement été contraint d'abandonner cette stratégie de synthèse.

<sup>75</sup> F.M. Moghaddam, M. Ghaffarzadeh and S.H. Abdi-Oskoui, *J. Chem. Research*, **1999**, 574-575.

## b. Réarrangement de Claisen

Dans le même état d'esprit, nous avons envisagé une autre stratégie basée également sur un réarrangement. L'analyse rétrosynthétique décrite dans le schéma 3-24 traduit un passage éventuel par cette voie de synthèse.

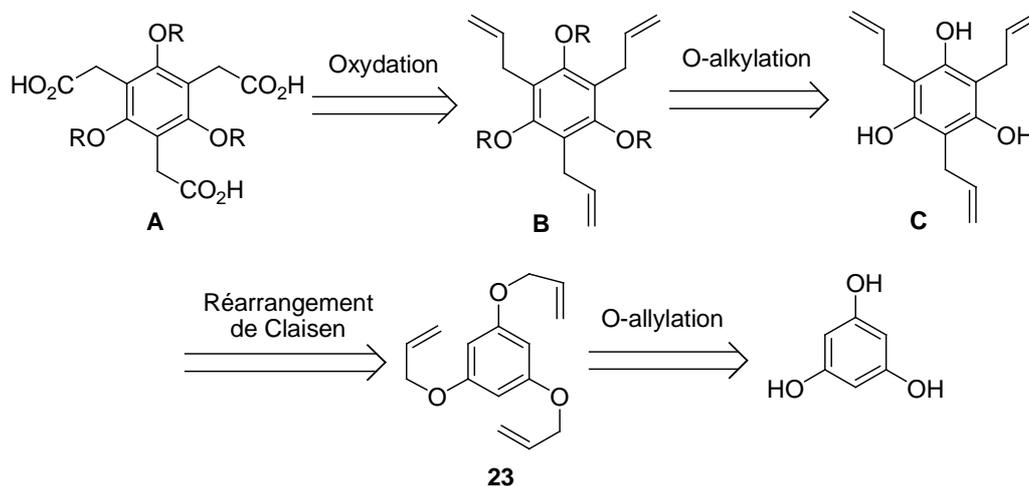


Schéma 3-24 : Analyse rétrosynthétique basée sur un réarrangement de Claisen.

Le triacide **A** peut être formé par addition oxydante des insaturations de l'alcène **B**, lui-même obtenu de manière classique par O-alkylation du dérivé phénolique **C**. L'étape clé de la stratégie repose ici sur la formation du produit **C** à partir du 1,3,5-tris(allyloxy)benzène **23** via le réarrangement de Claisen.

Nous avons donc préparé le produit **23** de *tris*-allylation du phloroglucinol selon des conditions décrites dans la littérature<sup>76</sup> utilisant le bromure d'allyle dans le DMF en présence de  $K_2CO_3$  mais cette procédure expérimentale conduit à un mélange de six composés parmi lesquels on isole le dérivé **23** avec un rendement de seulement 25% contrairement à celui attendu de 88%. Il est bien connu que selon le choix du solvant, on peut observer la formation à la fois de produits de C- et O-alkylation<sup>77</sup>. Le fait de mener la réaction à température ambiante plutôt qu'à 65°C n'a rien changé et a même conduit à un rendement moins bon de 20%. Il existe pourtant d'autres méthodes donnant accès à des éthers aromatiques comme le traitement de phénols avec un alcool en présence de DCC<sup>78</sup> ou l'utilisation de Zn en poudre comme catalyseur et d'un halogénure d'alkyle dans le DMF avec l'assistance des micro-ondes

<sup>76</sup> H. Li, E.A. Homan, A.J. Lampkins, I. Ghiviriga and R.K. Castellano, *Org. Lett.* **2005**, 7, 443-446.

<sup>77</sup> E. Wenkert, R.D. Youssefyeh and R.G. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4675-4680 ; N. Kornblum, R. Seltzer and P. Haberfield, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 1148-1154.

<sup>78</sup> E. Vowinkel, *Chem. Ber.*, **1966**, 99, 1479-1484.

sans base inorganique<sup>79</sup>. Toutefois, nous nous sommes contentés de ce mauvais rendement dans un premier temps pour étudier la faisabilité d'un réarrangement multiple de Claisen sur le phloroglucinol O-allylé.

Classiquement, la réaction de Claisen correspond à un réarrangement sigmatropique [3,3] dans lequel un allylvinyléther est converti thermiquement selon un processus pericyclique intramoléculaire concerté pour donner un composé carbonylé insaturé<sup>80</sup>. Le réarrangement s'accompagne d'une réaromatisation lorsque la réaction est effectuée en série aromatique sur des allylphényléthers (Schéma 3-25).

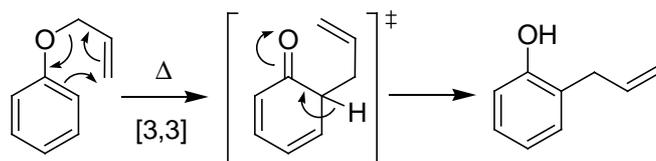


Schéma 3-25 : Mécanisme du réarrangement de Claisen sur un allylphényléther.

Depuis sa découverte en 1912, la réaction est continuellement étudiée pour améliorer l'efficacité du réarrangement dans des conditions plus douces si bien qu'on trouve aujourd'hui un bon nombre de substances catalytiques permettant d'accélérer la réaction et d'éviter les réactions secondaires compétitives et la décomposition du produit de départ et/ou des produits formés.

Parmi elles, on retrouve l'utilisation des acides de Lewis tels que  $\text{BCl}_3$ <sup>81</sup>,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  à basse température<sup>82</sup> ou  $\text{AlCl}_3$  en solution dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>83</sup>. Il existe également des exemples employant des complexes métalliques du Pd(II)<sup>84</sup> ou encore avec des acides de Brønsted tels que la TFA ou l' $\text{H}_2\text{SO}_4$ <sup>85</sup>.

La réaction peut être aussi conduite sous irradiation de micro-ondes en présence ou l'absence de solvant (DMF, N,N-diéthylaniline,...). Il a d'ailleurs été montré que la vitesse était considérablement accélérée dans un solvant polaire aprotique tel que le DMF, qui

<sup>79</sup> S. Paul and M. Gupta, *Tet. Lett.*, **2004**, 45, 8825-8829.

<sup>80</sup> L. Claisen, *Chem. Ber.*, **1912**, 45, 3157.

<sup>81</sup> U. Widmer, J. Zsindely, H.-J. Hansen and H. Schmid, *Helv. Chim. Acta*, **1973**, 56, 75-105.

<sup>82</sup> H.Y. Godage and A.J. Fairbanks, *Tet. Lett.*, **2003**, 44, 3631-3635 ; G. Lai and W.K. Anderson, *Tetrahedron*, **2000**, 56, 2583-2590.

<sup>83</sup> D.K. Bates and M.W. Janes, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 3856-3861 ; K.C. Majumdar and B. Chattopadhyay, *Synth. Commun.*, **2006**, 36, 3125-3133.

<sup>84</sup> L.E. Overman, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1984**, 23, 579-586 ; J.L. Baan and F. Bickelhaupt, *Tet. Lett.*, **1986**, 27, 6267-6270.

<sup>85</sup> L.M. Harwood, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1983**, 530-532.

absorbe plus d'énergie des micro-ondes et génère ainsi un chauffage plus important pour promouvoir le réarrangement dans un court temps de réaction<sup>86</sup>.

Toutes ces considérations nous ont donc amené à tester le réarrangement de Claisen du produit **23** dans des conditions utilisant les micro-ondes sans solvant (Schéma 3-26 et Tableau 3-12).

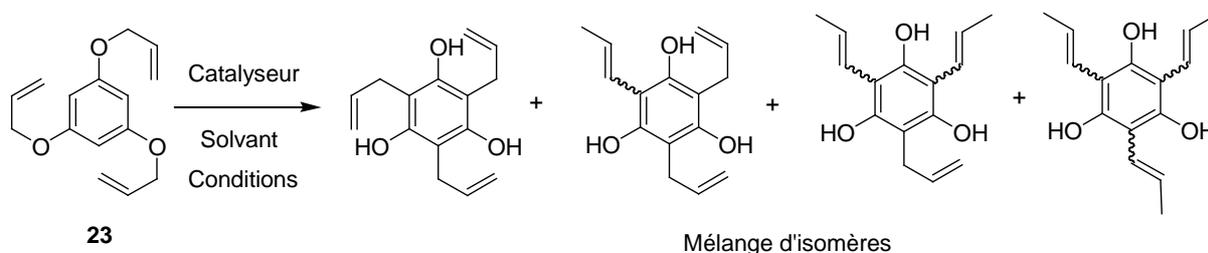


Schéma 3-26 : Schéma de synthèse du réarrangement de Claisen du 1,3,5-tris(allyloxy)benzène **23**.

Essai	Catalyseur	Solvant	Conditions	Résultat
1	-	-	Micro-ondes, 200°C, 30 min	55% Mélange d'isomères
2	-	DMF	Micro-ondes, 80 W, 220°C, 15 min	71% Mélange d'isomères
3	-	DMF	Micro-ondes, 80 W, 190°C, 2 min	Mélange d'isomères 12% d'oléfine (Z) 21% d'oléfine (E) 66% d'oléfine terminale
4	AlCl <sub>3</sub> , 3,5 éq	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	TA, 24 h	-
5	-	N,N-Diéthylamine	Reflux, 4 h	Mélange d'isomères

Tableau 3-12 : Essais du réarrangement de Claisen sur le produit **23**.

A noter que le dérivé **23** a été caractérisé en spectroscopie RMN <sup>1</sup>H dans le CDCl<sub>3</sub> par l'apparition d'un singulet à 6,2 ppm intégrant pour 3H correspondant aux protons aromatiques et un doublet situé à 4,5 ppm intégrant pour 6H correspondant aux méthylènes ArOCH<sub>2</sub>. On retrouve également les multiplets caractéristiques des signaux éthyléniques à 5,4 ppm et 6,1 ppm intégrant respectivement pour 6H et 3H qui sont attribués aux fonctions oléfine CH=CH<sub>2</sub> et CH=CH<sub>2</sub>.

<sup>86</sup> R.J. Gignere, T.L. Bray, S.M. Duncan and G. Majetich, *Tet. Lett.*, **1986**, 27, 4945.

Le premier essai a été conduit sous irradiation aux micro-ondes sans solvant à 200°C. Après 30 minutes de réaction, on observe la disparition des signaux des protons aromatiques et ceux des méthylènes en  $\alpha$  de l'oxygène signe que le produit de départ a été consommé.

Cependant, ces conditions nous ont seulement permis après purification par chromatographie sur gel de silice d'isoler 55% d'un mélange d'isomères du produit attendu. En effet, il nous a été difficile d'isoler efficacement le produit souhaité qui semble subir des modifications chimiques lors de la purification sur la colonne de silice légèrement acide.

Nous suspectons les insaturations terminales de s'isomériser d'après le spectre RMN  $^1\text{H}$  du mélange dans le MeOD qui présente des doublets à 1,4 ppm et 2,5 ppm pouvant laisser penser respectivement à des groupements méthyles adjacents à une insaturation de configuration (Z) et (E).

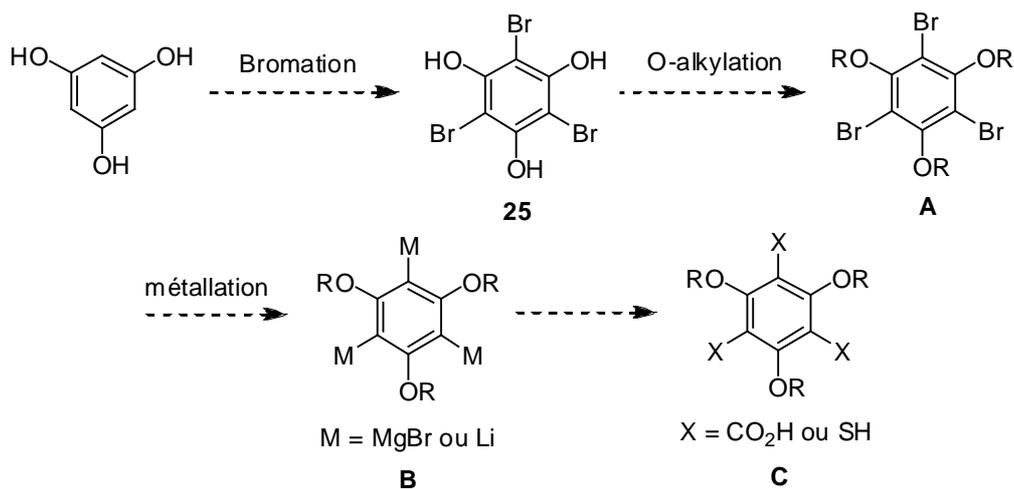
Les deux autres essais menés dans le DMF sous irradiation aux micro-ondes ont conduit à des résultats similaires où on observe déjà sans étape de purification la présence d'un mélange d'isomères lorsqu'on effectue le spectre RMN  $^1\text{H}$  du brut réactionnel dans le MeOD après traitement. On a notamment pu quantifier grossièrement la proportion des oléfines (Z), (E) et terminales sur l'ensemble des molécules présentes dans le brut réactionnel d'après les intégrations respectives des doublets à 1,4 ppm, 2,5 ppm et 3,4 ppm.

Pour finir, l'essai utilisant l' $\text{AlCl}_3$  n'a donné aucune réaction alors que l'expérience réalisée dans les conditions classiques en utilisant un chauffage thermique au reflux de la N,N-Diéthylamine a conduit là encore à un mélange d'isomères.

## **7. Réaction de dérivés organométalliques du phloroglucinol**

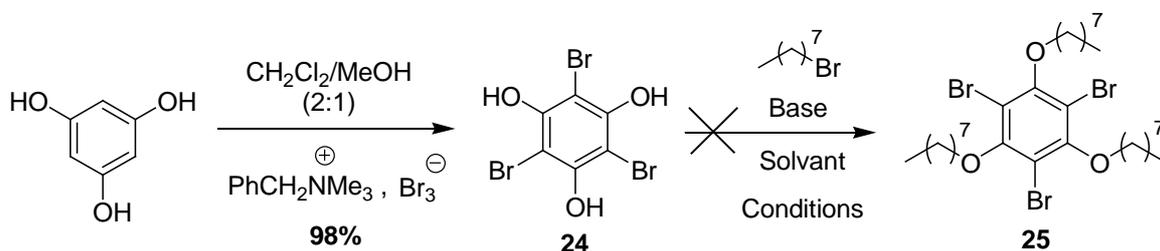
Suite à tous ces résultats insatisfaisants, nous avons décidé de revoir encore notre méthodologie de synthèse pour accéder aux structures cibles des tripodes amphiphiles faciaux selon une séquence réactionnelle basée sur la préparation de composés organométalliques (Schéma 3-27).

A partir du phloroglucinol, nous pouvons effectuer une réaction de bromation suivie d'une O-alkylation pour aboutir à un dérivé 1,3,5-trialkoxybenzène tribromé de type **A**. Cet intermédiaire permet ensuite d'accéder à un composé organométallique **B** ( $\text{ArMgBr}$  ou  $\text{ArLi}$ ) selon une réaction d'insertion ou d'échange halogène-métal respectivement. Ce type de réactif peut être utilisé pour préparer les structures de type **C** portant des fonctions acides carboxyliques ou thiols via une réaction d'addition nucléophile sur le  $\text{CO}_2$  ou de sulfuration.



**Schéma 3-27** : Séquence réactionnelle basée sur la préparation de dérivés organométalliques **B**.

Nous avons donc effectué la bromation du phloroglucinol selon une procédure décrite dans la littérature<sup>87</sup> avec du tribromure de benzyltriméthylammonium dans un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (2:1) qui a conduit à la formation du 1,3,5-tribromophloroglucinol **24** avec un rendement de 98% après recristallisation dans un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (Schéma 3-28).



**Schéma 3-28** : Schéma de synthèse de la préparation du produit **25**.

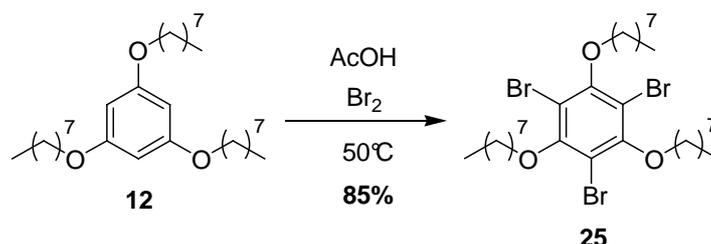
Essai	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 3 éq	DMF	-	Dégradation
2	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 3 éq	DMF	-	Dégradation
3	KOH, 3 éq	EtOH	-	Dégradation

**Tableau 3-13** : Essais d'alkylation du phloroglucinol tribromé **24**.

<sup>87</sup> S. Kajigaeshi, T. Kakinami, H. Tokiyama, T. Hirakawa and T. Okamoto, *Chem. Lett.*, **1987**, 627-630.

Cependant, il n'a pas été possible de réaliser l'alkylation du dérivé **24**. En milieu basique ce composé se dégrade quelle que soit la base utilisée pour déprotoner les fonctions phénols (Tableau 3-13).

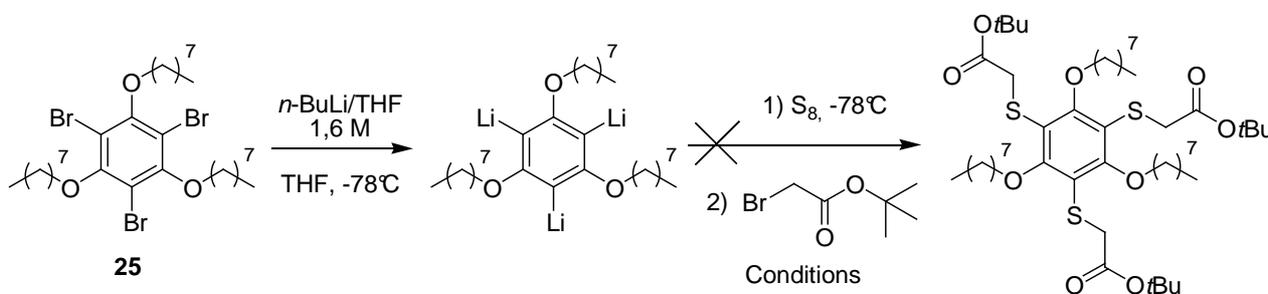
Ceci nous a conduit à effectuer la réaction de bromation sur le 1,3,5-trioctyloxybenzène **12** activé dans les conditions précédemment décrites mais on a seulement pu former le produit résultant d'une dibromation après 6 h de réaction à TA. Nous avons donc utilisé des conditions de bromation plus drastiques en conduisant la réaction dans de l'acide acétique à 50°C en présence d'un excès de dibrome liquide (5 éq), ce qui nous a permis d'obtenir le produit attendu de tribromation **25** avec un rendement de 85% (Schéma 3-29).



**Schéma 3-29** : Schéma de synthèse de la Bromation du 1,3,5-trioctyloxybenzène **12**.

Une méthode convenable permettant la préparation de thioéthers aromatiques avec des rendements variant de 71 à 96% a été décrite en faisant réagir des thiophénates de lithium sur une large gamme d'halogénures d'alkyles<sup>88</sup>. Le thiophénate de lithium est généré *in situ* via une réaction d'échange halogène-métal entre un dérivé du bromobenzène et le *n*-BuLi à -78°C dans du THF, suivi d'une étape d'insertion d'atomes de soufre sur les liaisons C<sub>Ar</sub>-Li en présence de la forme allotropique S<sub>8</sub> du soufre.

Nous avons donc adapté cette méthode au dérivé **25** pour former un trithioéther en faisant réagir l'organolithien intermédiaire sur du S<sub>8</sub> en poudre puis le thiophénate de lithium formé avec du bromoacétate de *tert*-butyle (Schéma 3-30 et Tableau 3-14).



**Schéma 3-30** : Schéma de synthèse de la sulfuration du dérivé lithien correspondant au composé **25**.

<sup>88</sup> J. Ham, I. Yang and H. Kang, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 3236-3239 ; J. Ham, S.J. Cho, J. Ko, J. Chin and H. Kang, *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 5781-5784.

Essai	<i>n</i> -BuLi	S <sub>8</sub>	BrCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> <i>t</i> Bu	Conditions	Résultat
1	3 éq	3 éq	6 éq	- 78°C puis TA, 1 h	Pas de réaction
2	4,5 éq	4,5 éq	9 éq	- 78°C puis TA, 16h	Pas de réaction
3	4,5 éq	9 éq	9 éq	- 78°C puis TA, 16h	Pas de réaction
4	4,5 éq	9 éq	-	- 78°C puis TA, 1 h	Pas de réaction

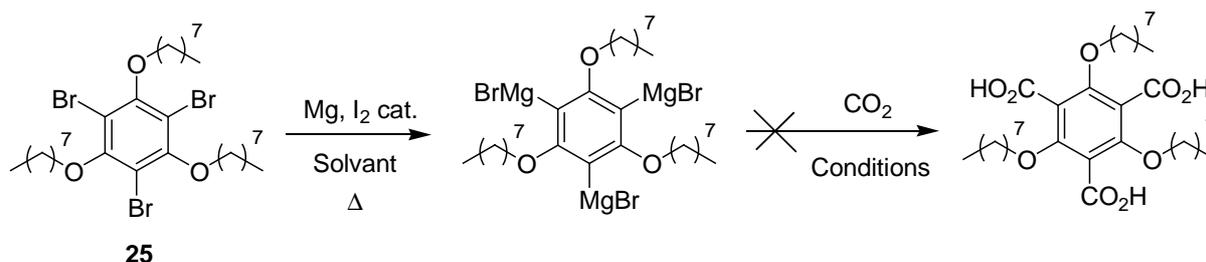
**Tableau 3-14** : Conditions des essais de formation du dérivé trithioéther.

Cependant, ces conditions ne nous ont pas permis d'introduire les substituants disposant de fonctions esters *tert*-butyliques sur la molécule puisque après le traitement du milieu réactionnel, on observe sur le spectre RMN <sup>1</sup>H du brut réactionnel aucun signal caractéristique du groupement *tert*-butyle à 1,4 ppm.

On a tout de même pu remarquer la présence de signaux aromatiques du proton à 6,1 ppm montrant bien que la réaction d'échange halogène-métal a lieu sur le dérivé **25** mais que le dérivé organométallique intermédiaire ne réagit pas avec l'électrophile et conduit après hydrolyse à la protonation des sommets halogénés.

Suite à ce résultat, nous avons essayé d'augmenter le nombre d'équivalents en réactifs et/ou le temps de réaction mais ces changements n'ont donné lieu à aucune amélioration. Enfin, le dernier essai a été réalisé dans le but de former simplement le thiol sans additionner le bromoacétate de *tert*-butyle mais là encore, aucune réaction n'a pu être observée. Tout ceci nous laisse à penser que l'environnement stérique de l'organolithien empêche l'approche et l'insertion du soufre.

Suite à ces expériences infructueuses, nous avons voulu essayer de préparer les organomagnésiens du dérivé **25** dans l'idée de faire réagir le composé organométallique avec du CO<sub>2</sub> pour former le triacide carboxylique correspondant (Schéma 3-31 et Tableau 3-15).


**Schéma 3-31** : Schéma de synthèse d'un triacide carboxylique à partir du produit **25** en passant par un organomagnésien.

Essai	Solvant	CO <sub>2</sub>	Conditions	Résultat
1	Et <sub>2</sub> O	Gazeux	Reflux, 3 h puis TA, barbotage CO <sub>2</sub> , 1 h	Produit de départ <b>25</b>
2	THF	Gazeux	Reflux, 22 h puis TA, barbotage CO <sub>2</sub> , 2 h	1,3,5-trioctyloxybenzène <b>12</b>
3	THF	Carboglace	Reflux, 22 h puis TA, 4 spatules CO <sub>2</sub> (s), 2 h	1,3,5-trioctyloxybenzène <b>12</b>
5	THF	Liquéfié	Reflux, 22 h puis -78°C, barbotage CO <sub>2</sub> , 2 h	Echec Addition partielle

**Tableau 3-15 :** Essais de carboxylation du dérivé tribromé **25** via le composé organomagnésien intermédiaire.

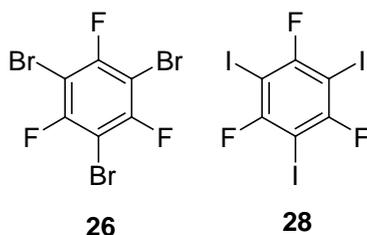
Dans un premier temps, la formation du composé organométallique intermédiaire a été effectuée au reflux de l'éther en initiant la réaction avec de l'iode. Cette réaction ne se produit pas puisque après hydrolyse on récupère le produit tribromé de départ **25**.

On a ensuite utilisé le THF comme solvant pour pouvoir chauffer à une température plus élevée. Cependant, le composé organométallique intermédiaire formé après 22 h de reflux ne s'additionne pas sur le CO<sub>2</sub> après 2 h de barbotage à température ambiante. Après hydrolyse on récupère le dérivé triéther **12** preuve que la formation du magnésien s'est bien produite dans le THF à ébullition. Ce résultat justifie la formation du réactif de Grignard mais montre également la difficulté du composé organométallique à réagir sur le CO<sub>2</sub> à l'état gazeux.

L'addition de CO<sub>2</sub> sous la forme de carboglace (CO<sub>2</sub> solide) dans le milieu réactionnel conduit au même résultat. L'utilisation de CO<sub>2</sub> gaz liquéfié en le faisant barboter dans la solution refroidie à -90°C avec un bain N<sub>2</sub>/acétone a donné une addition partielle du magnésien au CO<sub>2</sub>. Là encore, même en maintenant la température à -80°C pendant 2 h, nous isolons toujours du triéther **12** dont la quantité nous indique qu'il y a eu 68% de conversion du composé tribromé **25** en magnésien.

## **B. Stratégie de synthèse basée sur des précurseurs aromatiques polyhalogénés**

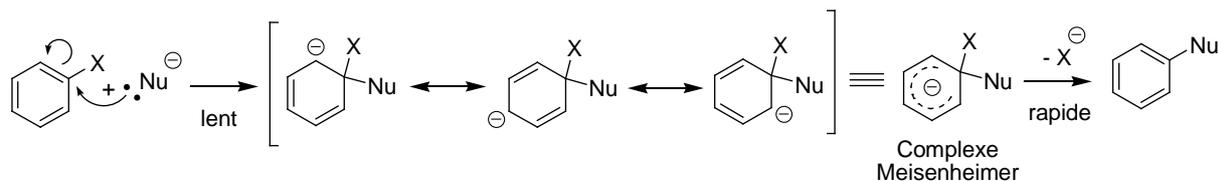
Suite à toutes ces stratégies infructueuses basées sur le phloroglucinol, nous avons donc décidé de réorienter nos recherches sur des précurseurs aromatiques polyhalogénés dans le but de trouver une combinaison appropriée de réactions associant des couplages de Sonogashira et/ou des réactions de SN<sub>Ar</sub> avec des thiolates d'alkyles (Figure 3-20).



**Figure 3-39 :** Précurseurs aromatiques polyhalogénés envisagés pour concevoir les tripodes amphiphiles faciaux.

## 1. Réaction de substitution nucléophile aromatique

La réaction de  $S_{N_{Ar}}$  se déroule selon un mécanisme comportant deux étapes, qui ressemble beaucoup à celui d'une  $S_{E_{Ar}}$  où l'on forme un ion arénium intermédiaire. Un nucléophile attaque le noyau aromatique en créant une liaison avec le centre portant un groupe partant et il se forme un intermédiaire chargé négativement se délocalisant sur le cycle par résonance qui est appelé complexe de Meisenheimer lorsqu'on tient compte de la répartition globale de la charge sur le cycle (Schéma 3-32).



**Schéma 3-32 :** Mécanisme de la substitution nucléophile aromatique.

La vitesse de la réaction déterminée par l'étape d'addition va dépendre du solvant, de la nature du nucléofuge  $X^-$ , du nucléophile  $Nu^-$  et surtout de la présence de groupements électroattracteurs en position ortho ou para du nucléofuge sur le cycle.

Ainsi, selon la force de l'effet inductif  $-I$  du nucléofuge, la densité électronique plus ou moins importante du centre carboné portant le nucléofuge va donc gouverner la facilité du nucléophile à s'ajouter. On retrouve donc des pouvoirs nucléofuges inversés des halogénures en série aromatique ( $F > Cl > Br > I$ ) pour une  $S_{N_{Ar}}$ .

Le raisonnement est identique lorsque le noyau aromatique porte des groupements électroattracteurs qui abaissent également la densité électronique du cycle, et ont pour effet de favoriser l'attaque nucléophile en stabilisant le complexe de Meisenheimer intermédiaire.

Les anions thiolates qui ont été beaucoup étudiés, se sont montrés particulièrement efficaces pour réaliser les persubstitutions de composés aromatiques polyhalogénés ( $C_6F_6$ ,

C<sub>6</sub>Br<sub>6</sub>, C<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub>) avec des solvants hautement polaires dans des conditions douces<sup>89</sup>. Bien que les thiolates soient des groupements électrodonneurs, la réaction de polysubstitution par ces derniers est possible grâce à l'augmentation du nombre de substituants thioalkyles sur le cycle qui ont un effet stabilisant de la charge négative en  $\alpha$  des atomes de soufre et donc de l'état de transition.

La nature du solvant est primordiale pour mener complètement à bien ce type de réaction. Ainsi, les solvants moins polaires tels que la pyridine, ou les solvants protiques tel que l'éthanol, conduisent souvent à la substitution partielle des composés aromatiques perhalogénés par des thiolates d'alkyle en donnant des rendements médiocres qui de plus nécessitent l'utilisation de températures élevées<sup>90</sup>.

D'un autre côté, l'utilisation des solvants polaires aprotiques comme le DMF<sup>91</sup>, le DMSO<sup>92</sup>, la N-méthyl-2-pyrrolidinone (NMP)<sup>93</sup>, le HMPT<sup>94</sup> ou encore le 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone (DMI)<sup>95</sup> comme substitut du HMPA<sup>96</sup> toxique, permet la substitution des halogénures d'aryles aussi bien activés que désactivés par les anions thiolates dans des conditions douces de température (20°C).

Dans ce contexte, plusieurs cavitands ont été conçus sur la base de structures dérivées de noyaux benzéniques persulfurés mixtes issus de la persubstitution sélective des halogénures de l'intermédiaire clé 1,3,5-tribromo-2,4,6-trifluorobenzène<sup>97</sup>. Le déplacement chemiosélectif des atomes de Br par rapport à F a été exploité grâce à des arylthiocuprates à 140°C dans le DMF. L'intermédiaire formé est ensuite mis en réaction avec des anions thiolates appropriés pour conduire aux dérivés benzéniques persulfurés mixtes.

Nous avons donc préparé le 1,3,5-tribromo-2,4,6-trifluorobenzène **26** avec un rendement de 94% en réalisant la bromation du 1,3,5-trifluorobenzène avec un excès de Br<sub>2</sub> et en présence d'une quantité catalytique d'aluminium pour générer *in situ* l'acide de Lewis AlBr<sub>3</sub> (Schéma 3-33).

<sup>89</sup> F. Maiolo, L. Testaferri, M. Tiecco, M. Tingoli, *J. Org. Chem.*, **1981**, 46, 3070-3073 ; D.D. MacNicol, P.R. Mallinson, A. Murphy and G.J. Sym, *Tet. Lett.*, **1982**, 23, 4131-4134 ; R.D. Chambers, M.J. Seabury, D.L.H. Williams and N. Hughes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1988**, 1, 255-257 ; G.G. Yakobson and V.M. Vlasov, *Synthesis*, **1976**, 652-672 ; L.S. Kobrina, *Fluorine Chem. Rev.*, 1974, 7, 1-114.

<sup>90</sup> S.D. Pastor and E.T. Hessell, *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 4812-4815 ; M. Kulka, *J. Org. Chem.*, **1959**, 24, 235-237 ; M.E. Peach and A.M. Smith, *J. Fluorine Chem.*, **1974**, 4, 399-408.

<sup>91</sup> L. Testaferri, M. Tiecco, M. Tingoli, D. Chianelli and M. Montanucci, *Synthesis*, **1983**, 751-755.

<sup>92</sup> J.S. Bradshaw, J.A. South, and R.H. Hales, *J. Org. Chem.*, **1972**, 37, 2381-2383.

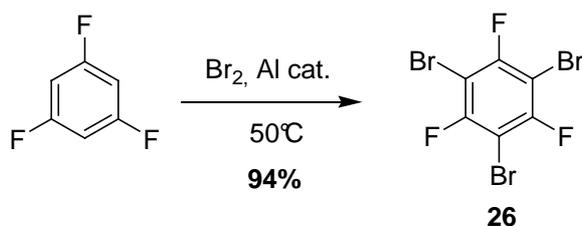
<sup>93</sup> A.J. Caruso, A.M. Colley and G.I. Bryant, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 862-865.

<sup>94</sup> M. Testaferri, M. Tingoli and M. Tiecco, *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 4376-4380.

<sup>95</sup> D.D. MacNicol, P.R. Mallinson, A. Murphy and G.J. Sym, *Tet. Lett.*, **1982**, 23, 4131-4134.

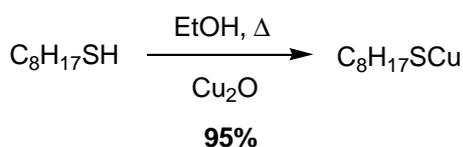
<sup>96</sup> H. Suzuki, H. Abe and A. Osuka, *Chem. Lett.*, **1980**, 1363.

<sup>97</sup> T.D.P. Stack, J.A. Weigel and R.H. Holm, *Inorg. Chem.*, **1990**, 29, 3745-3760 ; T.D. P. Stack and R.H. Holm, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 2546-2547.



**Schéma 3-33** : Schéma de synthèse de la bromation du 1,3,5-trifluorobenzène.

En parallèle, nous avons préparé le thiocuprate  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SCu}$  au reflux dans EtOH à partir de l'octane thiol et de 0,5 éq de dioxyde de cuivre en suspension (Schéma 3-34).



**Schéma 3-34** : Schéma de synthèse de la formation du thiocuprate  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SCu}$ .

Après 5 jours de reflux, on observe la disparition de l'octane thiol dans le milieu réactionnel et récupère le thiocuprate  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SCu}$  directement par filtration sans traitement avec un rendement de 95%.

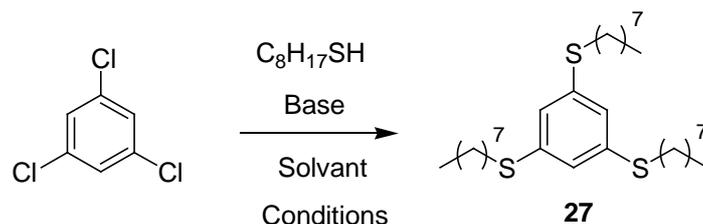
Cependant, le composé **26** en présence de 4,5 éq de  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SCu}$  à  $140^\circ\text{C}$  dans le DMF n'a donné aucune réaction même après un chauffage prolongé sur une période de 5 jours. On récupère majoritairement le disulfure RSSR en fin d'expérience.

Quelles que soient les conditions utilisées, les essais en présence de thiocuprates n'ont pas conduit au composé désiré. Il semble donc que la réactivité des alkylthiocuprates ne soit pas aussi forte que celle décrite avec des arylthiocuprates utilisés dans la préparation des cavitands. Il est aussi probable que la liaison S-Cu soit assez importante pour ainsi limiter la nucléophilie de l'atome de soufre.

Cette hypothèse a également pu être vérifiée puisqu'il nous a été impossible de substituer efficacement tous les atomes de chlore du 1,3,5-trichlorobenzène commercial par les thiocuprates  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SCu}$  que ce soit en chauffant le milieu réactionnel à  $160^\circ\text{C}$  pendant 24 h ou bien en activant la réaction par les micro-ondes.

Ces échecs nous ont conduit à mener la réaction de  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  à partir de thiolates de sodium afin d'avoir une charge nette et une nucléophilie plus importante de l'atome de soufre. Les thiolates sont préparés assez aisément en utilisant une base appropriée suffisamment forte pour déplacer l'équilibre acido-basique et déprotoner le thiol. Les thiols ( $\text{pK}_a = 10-11$ ) sont

plus acides que les alcools (15-17) et leur déprotonation par les alcoolates est donc théoriquement aisée (Schéma 3-35 et Tableau 3-16).



**Schéma 3-35** : Schéma de synthèse de la réaction de  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  du 1,3,5-trichlorobenzène par des thiolates d'octyle.

Essai	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SH}$	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	4,5 éq	MeONa, 4,5 éq	DMF	Reflux, 40 h	Disulfure RSSR + Produit monosubstitué
3	3,5 éq	MeONa, 3,5 éq	DMF	Micro-ondes, 130°C, 20 min	Echec
2	4,5 éq	<i>t</i> BuOK, 4,5 éq	DMF	150°C, 24 h	37%
4	12 éq	NaH 60%, 12 éq	DMI	TA, 24 h puis 50°C, 16 h	97%

**Tableau 3-16** : Essais de  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  du 1,3,5-trichlorobenzène par des thiolates d'octyle.

Dans un premier temps, nous avons utilisé du MeONa pour générer le thiolate d'octyle mais sa réaction avec le 1,3,5-trichlorobenzène au reflux du DMF pendant 40 h a produit du disulfure et le dérivé de monosubstitution. L'activation de la réaction aux micro-ondes n'a apporté aucune amélioration. Nous obtenons un mélange complexe de dégradation ne comportant aucune trace du produit attendu **27**.

Nous avons tout de même réussi à obtenir le produit attendu avec un rendement médiocre de 37% avec le *t*BuOK comme base en chauffant à 150°C dans le DMF pendant 24 h. Ce rendement a pu être fortement amélioré (97%) en utilisant un large excès de NaH et d'octane thiol (12 éq) et en menant l'expérience dans un solvant très polaire, le DMI avec un chauffage modéré à 50°C. Concernant le spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **27** dans le  $\text{CDCl}_3$ , on peut noter que les protons  $\text{ArSCH}_2$  se situent à 2,9 ppm tandis que pour l'analogue triéther **12**, les protons  $\text{ArOCH}_2$  sont plus déblindés à 3,9 ppm. On observe les protons aromatiques  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  à 7 ppm ici alors qu'ils sont moins déblindés à 6,1 ppm sur l'analogue triéther **12**.

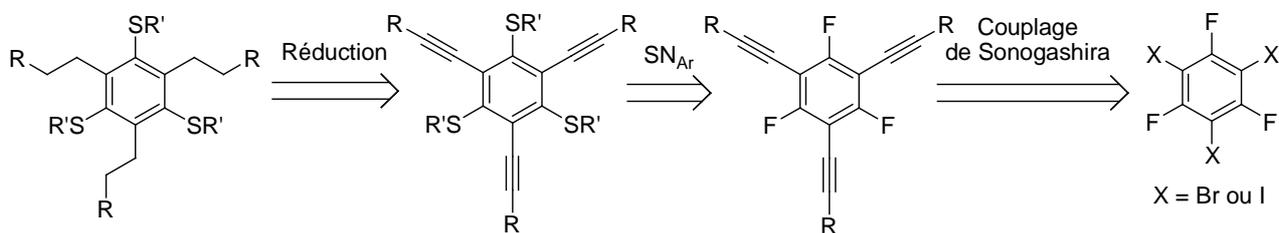
Par curiosité, nous avons essayé de faire réagir plusieurs électrophiles sur l'analogue thioéther **27** pour réaliser des réactions de  $SE_{Ar}$  dans des conditions similaires à celles effectuées sur le 1,3,5-trioctyloxybenzène **12**. La réactivité du dérivé thioéther **27** est bien plus faible que celle de son homologue éther **12** puisque nous n'observons aucune conversion du produit de départ quelles que soient les conditions de  $SE_{Ar}$  testées (Tableau 3-17).

Essai	Electrophile	Solvant	Acide de Lewis	Conditions	Résultat
1	Acrylate de méthyle	Acrylate de méthyle	$BF_3 \cdot Et_2O$ , 17 éq	TA, 18 h	-
2	Acrylate de méthyle, 6 éq	$CS_2$	$AlCl_3$ , 7 éq	TA, 16 h	-
3	$BrCH_2CO_2Et$ , 3 éq	$CS_2$	$AlCl_3$ , 6 éq	TA, 20 h	-
4	Bromure d'allyle, 3 éq	$CS_2$	$AlCl_3$ , 4 éq	0°C puis TA, 14 h	-

**Tableau 3-17** : Essais de  $SE_{Ar}$  de différents électrophiles sur le dérivé thioéther **27**.

## 2. Couplage de Sonogashira sur des dérivés aromatiques polyhalogénés

Puisque l'introduction des substituants thioalkyles sur un dérivé polyhalogéné via une réaction de  $SN_{Ar}$  est réalisable dans de bonnes conditions, nous avons envisagé d'utiliser une stratégie de polyfonctionnalisation du noyau aromatique via un dérivé perhalogéné mixte et des réactions successives de couplage organométallique et de  $SN_{Ar}$  (Schéma 3-36).

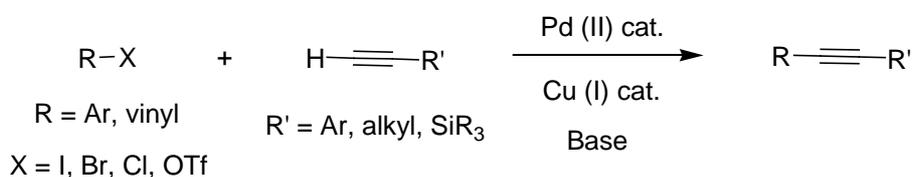


**Schéma 3-36** : Stratégie de synthèse combinant un couplage de Sonogashira et une réaction de  $SN_{Ar}$  à partir d'un aromatique perhalogéné mixte.

A partir d'un dérivé aromatique perhalogéné mixte polyiodofluoré ou polybromo-fluoré, nous pouvons envisager d'effectuer sélectivement un triple couplage de Sonogashira d'alcyne terminaux appropriés sur les positions iodées ou bromées du noyau aromatique. Les

positions restantes constituées d'atomes de fluor non réactives vis-à-vis de ce type de couplage organométallique peuvent être mises à profit pour introduire les queues hydrophobes via une réaction de  $S_NAr$  d'un alcane thiol. Le système conjugué composé du noyau aromatique et des triples liaisons peut être réduit ultérieurement en phase homogène avec le catalyseur de Wilkinson  $RhCl(PPh_3)_3$  pour transformer les fonctions alcynes en segments hydrocarbonés saturés.

La réaction de Sonogashira<sup>98</sup> est un couplage  $sp^2$ - $sp$  catalysé par un complexe au palladium entre un halogénure (ou triflate) vinylique (ou benzénique) et un alcyne terminal en présence d'un cocatalyseur de cuivre et d'une base (Schéma 3-37).



**Schéma 3-37** : Schéma de synthèse général du couplage de Sonogashira.

La réaction est réalisée en présence d'une quantité catalytique de sels de cuivre  $CuI$  car ils accélèrent grandement la vitesse de réaction et permettent d'effectuer la transformation à température ambiante<sup>99</sup>. D'un autre côté, la présence de  $CuI$  peut parfois s'avérer problématique en raison de la formation *in situ* des acétylures de cuivre qui peuvent conduire à la production de produits d'homocouplage de l'alcyne terminal selon la réaction de Glaser<sup>100</sup>. Beaucoup d'efforts ont été d'ailleurs réalisés pour développer des procédures de couplage fonctionnant en l'absence de  $CuI$  où dans ce cas, le procédé nécessite l'utilisation d'un excès d'amine comme base qui peut même être utilisée comme solvant.

L'ordre général de réactivité des espèces  $sp^2$  vinyliques ou benzéniques est le suivant :  $RCH=CH-I > RCH=CH-OTf > RCH=CH-Br > RCH=CH-Cl > Ar-I > Ar-OTf > Ar-Br > Ar-Cl$ . Les fluorures d'aryle ne sont pas réactifs. Le couplage de Sonogashira s'opère aisément avec les iodures vinyliques ou benzéniques et peut même être facilité si le système halogéné est activé par la présence de groupements électroattracteurs sur le cycle qui ont pour effet d'appauvrir la densité électronique du noyau aromatique et notamment de polariser plus fortement la liaison C-X. Dans ce cas, cela peut permettre de coupler les bromures ou

<sup>98</sup> R. Chinchilla and C. Nájera, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 874-922.

<sup>99</sup> K. Sonogashira, Y. Tohda and N. Hagihara, *Tet. Lett.*, **1975**, 16, 4467-4470.

<sup>100</sup> P. Siemsen, R.C. Livingston and F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 2632-2657.

chlorures benzéniques moins réactifs<sup>101</sup>. La présence de fluor électroattracteur en position ortho d'un iodure peut donc s'avérer particulièrement précieux en terme de réactivité pour ce type de couplage.

Le mécanisme du couplage de Sonogashira cocatalysé par le Cu (I) a lieu selon deux cycles catalytiques indépendants du Pd et du Cu (Schéma 3-38).

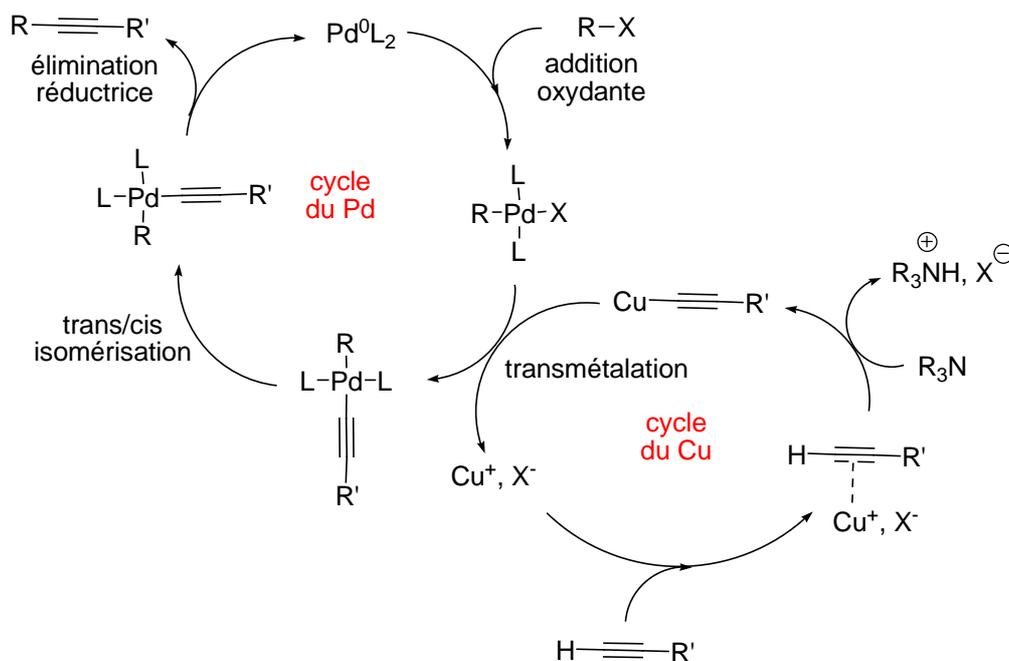


Schéma 3-38 : Mécanisme du couplage de Sonogashira cocatalysé par le Cu (I).

Le cycle catalytique généralement accepté du palladium comporte l'addition oxydante rapide de ArX sur le catalyseur actif Pd<sup>0</sup>L<sub>2</sub> à 14 électrons qui est généré par réduction d'un complexe initial au Pd (II). Selon les conditions, la réduction de différents complexes au Pd (II) peut se faire facilement en présence de ligands donneurs de doublet à deux électrons tels que les phosphanes (PR<sub>3</sub>), les amines (NR<sub>3</sub>) ou encore les éthers (ROR), utilisés comme solvant et/ou ligand via une  $\sigma$ -complexation, dehydropalladation ou élimination réductrice.

L'étape suivante généralement déterminante de la vitesse connectant le cycle du Pd à celui du Cu, correspond à la transmétallation de l'acétylure de cuivre formé dans le cycle du Cu sur le complexe RPdL<sub>2</sub>X pour générer l'espèce RPdL<sub>2</sub>(-C≡CR') qui conduit à l'alcyne final couplé et la régénération du catalyseur Pd<sup>0</sup>L<sub>2</sub> après la trans/cis isomérisation et l'élimination réductrice du complexe au Pd (II).

<sup>101</sup> A.F. Littke and G.C. Fu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 4176-4211.

La formation de l'acétylure de cuivre suppose ici que la base arrache le proton acétylénique de l'alcyne terminal alors que les amines ne sont généralement pas suffisamment basiques pour déprotoner l'alcyne terminal ( $pK_a = 25$ ). Ainsi, il est admis qu'un complexe  $\pi$ -alcyne/Cu soit impliqué dans le cycle du Cu pour rendre le proton alcyne plus acide et qu'il puisse être capté par l'amine<sup>102</sup>.

La réaction est la plupart du temps effectuée dans des conditions homogènes avec le complexe Pd (II) utilisé dans des proportions variant de 1-10% mol, le cocatalyseur CuI dont les quantités peuvent atteindre 20% mol et une amine en large excès ou comme solvant. Les catalyseurs traditionnellement utilisés sont le Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, le très commun Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> qui est à la fois plus stable et plus soluble, ou encore des complexes possédant des ligands bidentates tels que le Pd(dppe)Cl<sub>2</sub>, Pd(dppp)Cl<sub>2</sub> ou le Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.

A noter également que les ligands phosphanes riches en électrons et/ou stériquement encombrés comme le P(*t*Bu)<sub>3</sub> facilitent la dissociation du complexe Pd (II) initial pour former l'espèce active Pd<sup>0</sup>L<sub>2</sub> ainsi que l'addition oxydante de RX, ce qui permet dans certains cas d'effectuer le couplage à TA sur les bromures ou chlorures benzéniques désactivés<sup>103</sup>.

Nous avons dans un premier temps effectué le couplage de Sonogashira du 1,3,5-tribromo-2,4,6-trifluorobenzène **26** avec l'alcool propargylique ou sa forme protégée acétylée (Schéma 3-39 et Tableau 3-18).

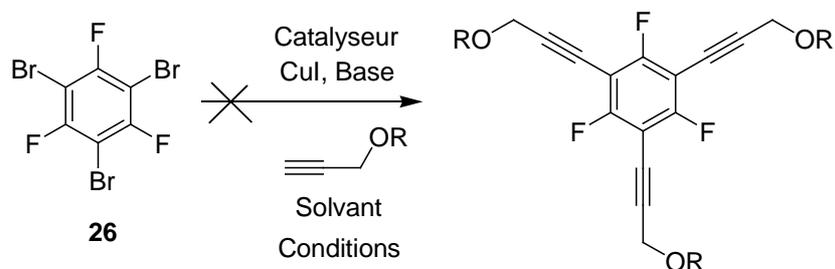


Schéma 3-39 : Schéma de synthèse du couplage de Sonogashira sur le produit **26**.

Le premier essai a été réalisé sur l'alcool propargylique à 70°C dans le DMF sous atmosphère anhydre contrôlée. Dans ces conditions, la réactivité est très faible puisqu'après 24 h de réaction, le produit de départ n'est pas consommé. L'utilisation du dérivé acétylé de l'alcool propargylique, l'augmentation des proportions molaires de catalyseur, de la température et l'utilisation de base en large excès n'ont pas permis d'améliorer de manière

<sup>102</sup> P. Bertus, F. Fécourt, C. Bauder and P. Pale, *New. J. Chem.*, **2004**, 28, 12-14.

<sup>103</sup> F. Barrios-Landeros and J.F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 6944-6945 ; T. Hundertmark, A.F. Litke, S.L. Buchwald and G.C. Fu, *Org. Lett.*, **2000**, 2, 1729-1731.

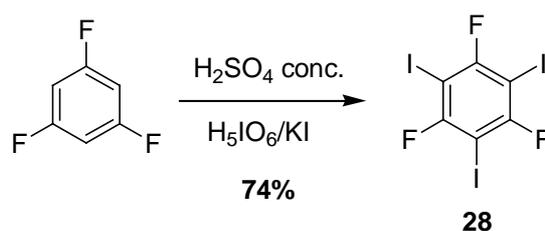
significative les taux de conversion. Dans tous les cas aucune trace de produit final n'a pu être isolée.

Essai	Catalyseur	CuI	R	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 1% mol	10% mol	-H, 4 éq	Et <sub>3</sub> N, 2,5 éq	DMF	70°C, 24 h	Produit de départ majoritaire
2	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 10% mol	20% mol	-Ac, 6 éq	Et <sub>3</sub> N	Base/PhCH <sub>3</sub> (3:1)	TA, 48 h puis 40°C, 3 jours	17% Conversion
3	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 10% mol	20% mol	-Ac, 4 éq	Et <sub>3</sub> N	Base	Tube scellé, 90°C, 24 h	30% Conversion

**Tableau 3-18** : Essais de couplages de Sonogashira sur le 1,3,5-tribromo-2,4,6-trifluorobenzène **26**.

Etant donné les difficultés rencontrées ici sur le précurseur bromé, nous avons décidé d'orienter plutôt nos recherches sur son analogue iodé **28** qui est théoriquement plus réactif vis-à-vis des couplages organométalliques catalysés par le palladium (Schéma 3-41 et Tableau 3-19).

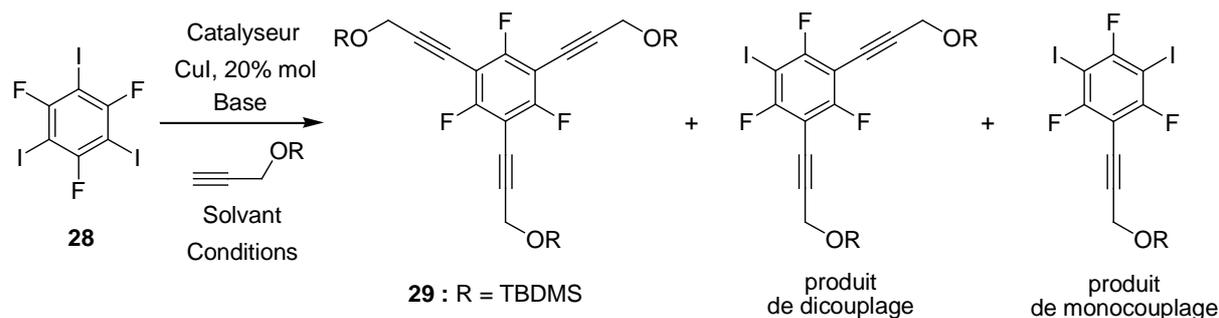
Le dérivé mixte perhalogéné est d'abord préparé par la periodation du 1,3,5-trifluorobenzène avec de l'acide orthoperiodique H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub> et du KI dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> selon une méthode décrite par Mattern.<sup>104</sup> On obtient l'analogue iodé du 1,3,5-tribromo-2,4,6-trifluorobenzène **27** avec un rendement convenable (Schéma 3-40).



**Schéma 3-40** : Periodation du 1,3,5-trifluorobenzène.

Les premiers essais ont été réalisés avec l'alcool propargylique dans la pipéridine utilisée à la fois comme base et solvant. Cependant, ces conditions ont donné lieu à la formation d'un mélange complexe de composés dans lequel nous n'avons pas réussi à obtenir le produit attendu même en activant la réaction aux micro-ondes.

<sup>104</sup> D.L. Mattern, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 4772-4773.


 Schéma 3-41 : Schéma de synthèse du couplage de Sonogashira sur le produit **28**.

Essai	Catalyseur	R	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 10% mol	-H, 6 éq	Pipéridine	Base	TA, 48 h + PPh <sub>3</sub> , 10% mol	Echec
2	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 10% mol	-H, 3 éq	Pipéridine, 9 éq	Base	Micro-ondes, 70°C, 1 min	Echec
3	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 5% mol	-Ac, 4 éq	Et <sub>3</sub> N	Base	TA, 20 h	Mélange complexe 17% de Monocouplage
4	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 5% mol	-TBDMS, 4 éq	Et <sub>3</sub> N	Base	TA, 20 h	50% de Dicouplage 11% de <b>29</b>
5	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 10% mol	-TBDMS, 6 éq	<i>i</i> PrNH	Base	50°C, 20 h	Mélange complexe 16% de <b>29</b>

 Tableau 3-19 : Essais de couplages de Sonogashira sur le 1,3,5-triiodo-2,4,6-trifluorobenzène **28**.

L'utilisation de l'acool propargylique acétylé en solution dans la TEA à température ambiante conduit également à un mélange complexe du milieu réactionnel mais nous avons pu isoler 17% du produit correspondant à une réaction de monocouplage.

Le produit de monocouplage solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub> est caractérisé en RMN <sup>1</sup>H par deux singulets situés à 2,2 ppm et 5 ppm d'intégrations respectives 9H et 6H correspondant aux signaux OAc et CH<sub>2</sub>O respectivement. Etant donné que le composé de départ **28** solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub> possède un signal unique en RMN <sup>19</sup>F situé à -69 ppm, on a pu conclure qu'il s'agissait bien du produit de monocouplage à partir du spectre RMN <sup>19</sup>F qui comporte lui deux singulets situés à -67 ppm et -85 ppm d'intégrations respectives 1F et 2F.

L'utilisation de l'alcool propargylique protégé par le groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS) dans la TEA conduit à un mélange complexe de composés dans lequel on a réussi à isoler et identifier le produit de dicouplage obtenu avec un

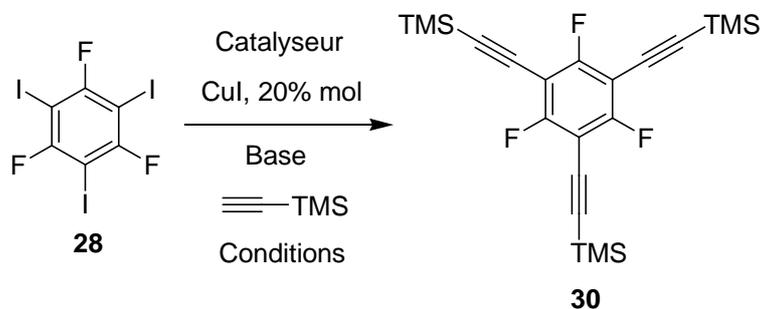
rendement de 50% et le produit attendu **29** obtenu lui avec un rendement très faible de seulement 11%.

Le produit de dicouplage solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$  est caractérisé en RMN  $^1\text{H}$  par les singulets à 4,4 ppm, 0,9 ppm et 0,1 ppm d'intégrations respectives 6H, 27H et 18H qui correspondent aux protons  $\text{CH}_2\text{OSi}$ ,  $\text{CH}_3\text{Si}$  et  $t\text{BuSi}$  du groupement protecteur TBDMS. C'est en réalité la présence des deux singulets différents sur le spectre RMN  $^{19}\text{F}$  situés à  $-102$  ppm et  $-84$  ppm intégrant respectivement 1F et 2F qui permettent d'affirmer que la structure obtenue résulte d'un dicouplage.

Le composé **29** solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$  possède les mêmes signaux que le produit de dicouplage sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  mais présente seulement un signal en RMN  $^{19}\text{F}$  situé à  $-100$  ppm signifiant que les atomes de fluor ont le même environnement et que l'on a bien la structure du composé résultant du triple couplage de Sonogashira.

Nous avons voulu essayé d'améliorer la préparation du dérivé **29** en chauffant le milieu réactionnel à  $50^\circ\text{C}$  pendant 20 h en présence d'une quantité plus importante de catalyseur au Pd (II) et d'une base plus forte légèrement encombrée mais là encore, nous formons un mélange complexe contenant pas moins de six composés dont nous isolons seulement 16% du produit désiré **29**.

Ces résultats peu convaincants nous ont amené à changer la nature de l'alcyne terminal en utilisant le (triméthylsilyl)-acétylène qui est très souvent utilisé dans la littérature lors de couplages multiples de Sonogashira<sup>105</sup> (Schéma 3-42 et Tableau 3-20).



**Schéma 3-42** : Schéma de synthèse du couplage de Sonogashira du dérivé **28** avec le (triméthylsilyl)-acétylène.

<sup>105</sup> G. Hennrich and A.M. Echavarren, *Tet. Lett.*, **2004**, 45, 1147-1149 ; J.E. Anthony, S.I. Khan and Y. Rubin, *Tet. Lett.*, **1997**, 38, 3499-3502 and M. Sonoda, A. Inanba, K. Itahashi and Y. Tobe, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 2419-2421 ; G. Hennrich, V.M. Lynch and E.V. Anslyn, *Chem. Eur. J.*, **2002**, 8, 2274-2278.

Essai	Catalyseur	Alcyne	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 1% mol	4,5 éq	<i>i</i> Pr <sub>2</sub> NH	Base/THF (1:2)	Reflux, 48 h	Mélange de produits (R <sub>f</sub> proches) + Produit homocouplage
2	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 10% mol	3,3 éq	Et <sub>3</sub> N	Base/DMF (1:1)	TA, 24 h	Mélange de produits (R <sub>f</sub> proches) 33% de <b>30</b>
3	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 5% mol	4 éq	Et <sub>3</sub> N	Base	TA, 20 h	+ Produit homocouplage

**Tableau 3-20** : Essais de couplages de Sonogashira du dérivé **28** avec le (triméthylsilyl)-acétylène.

Le premier essai réalisé au reflux d'un mélange *i*Pr<sub>2</sub>NH/THF (1:2) pendant 48 h avec 1% mol de catalyseur a conduit à la formation d'un mélange de composés délicats à séparer qui correspondaient aux différents intermédiaires résultant de couplages partiels de Sonogashira du produit triiodé **28**.

On a aussi observé la formation non négligeable d'un composé très apolaire issu de la réaction d'homocouplage des alcynes terminaux. Afin de compléter les trois couplages de Sonogashira, nous avons mené l'expérience dans un mélange Et<sub>3</sub>N/DMF (1:1) en augmentant la quantité de catalyseur à 10% mol avec du Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mais ces conditions ont conduit également à la formation de mélanges.

On a tout de même réussi à obtenir le produit souhaité **30** avec un rendement faible de 33% en travaillant directement avec la TEA comme solvant. Nous observons toujours dans ces conditions la formation importante du produit d'homocouplage de l'alcyne terminal. Le produit **30** est lui caractérisé par son seul singulet à 0,3 ppm en RMN <sup>1</sup>H correspondant aux protons MeSi mais aussi par son singulet à -99 ppm en RMN <sup>19</sup>F.

Cette stratégie de synthèse bien que séduisante en théorie a montré toutes ses limites. Il semble en effet que la polyfonctionnalisation d'un aromatique par couplage de Sonogashira se heurte à des problèmes d'encombrement stérique majeurs. Ceux-ci peuvent notamment limiter considérablement les vitesses d'insertion du palladium dans la première étape du cycle catalytique. Les réactions parasites d'homocouplage d'alcynes prennent alors le pas sur la liaison aryle-alcyne. Cette contrainte et les faibles rendements obtenus nous ont obligé à imaginer une nouvelle stratégie de synthèse.

## C. Stratégie de synthèse basée sur le mésitylène

### 1. Préparation du précurseur clé et introduction des chaînes alkyles hydrophobes par $S_NAr$

Nous avons donc envisagé de préparer un intermédiaire hexabromé issu d'un enchaînement de réactions de bromation du mésitylène selon une méthodologie décrite dans la littérature<sup>106</sup>, à partir duquel nous pourrions introduire facilement des nucléophiles par réaction  $S_N2$  sur les positions benzyliques avant d'effectuer une substitution nucléophile aromatique par des anions thiolates (Schéma 3-43).

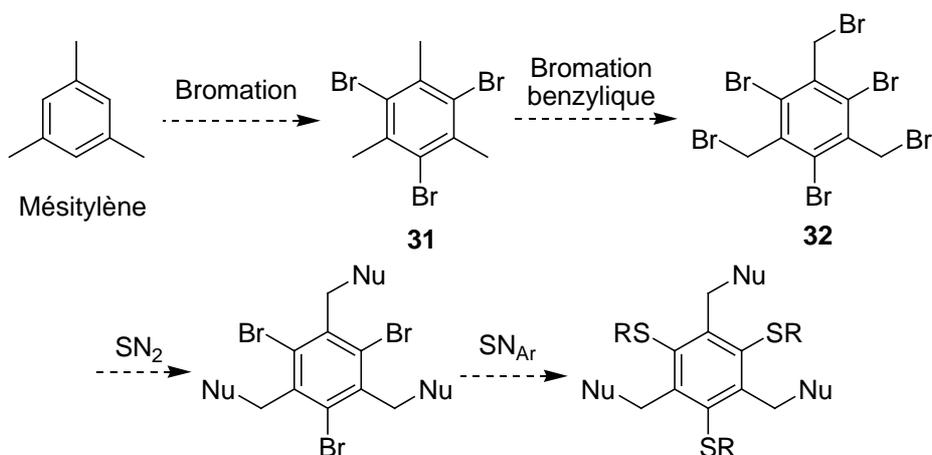


Schéma 3-43 : Stratégie de synthèse envisagée à partir du mésitylène.

Dans un premier temps, nous avons effectué la bromation du mésitylène au reflux du 1,2-dichloroéthane pendant 1 h avec du Br<sub>2</sub> liquide en présence d'une quantité catalytique de FeCl<sub>3</sub>. Le composé tribromé **31** a été obtenu par recristallisation à chaud dans le CHCl<sub>3</sub> avec un rendement de 78%. La bromation benzylique du composé **32** est ensuite effectuée selon un processus radicalaire. Pour cela, la réaction est conduite au reflux du 1,2-dibromoéthane (T<sub>éb</sub> = 132°C) pendant 48 h avec un excès de Br<sub>2</sub> pour donner après recristallisation à chaud le dérivé **32** avec un rendement de 83% (Schéma 3-44).

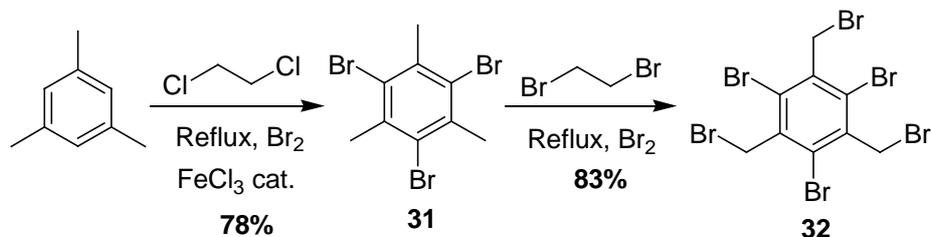


Schéma 3-44 : Séquence réactionnelle conduisant au composé hexabromé **33**.

<sup>106</sup> G. Hennrich, V.M. Lynch and E.V. Anslyn, *Chem. Eur. J.*, **2002**, 8, 2274-2278.

Le chauffage induit la coupure homolytique des molécules de Br<sub>2</sub> pour former des radicaux Br<sup>•</sup> qui viennent ensuite capter les protons des positions benzyliques pour générer un radical stabilisé par le cycle aromatique et libérer du HBr gazeux. L'association des radicaux benzyliques avec le brome propage la réaction et conduit au composé **32** constitué de trois groupements bromométhyles CH<sub>2</sub>Br, caractérisés en RMN <sup>1</sup>H dans le CDCl<sub>3</sub> par un singulet unique à 4,9 ppm.

Nous avons ensuite fonctionnalisé le cycle par des fonctions ester par réaction S<sub>N</sub>2 en utilisant du mercaptopropanoate de méthyle. Le triester **33** est obtenu avec un rendement de 57 % via une réaction S<sub>N</sub>2 du dérivé hexabromé **32** par les anions thiolates résultant de la déprotonation du mercaptopropanoate de méthyle avec du *t*BuOK dans une solution de DMF chauffée à 80°C (Schéma 3-45).

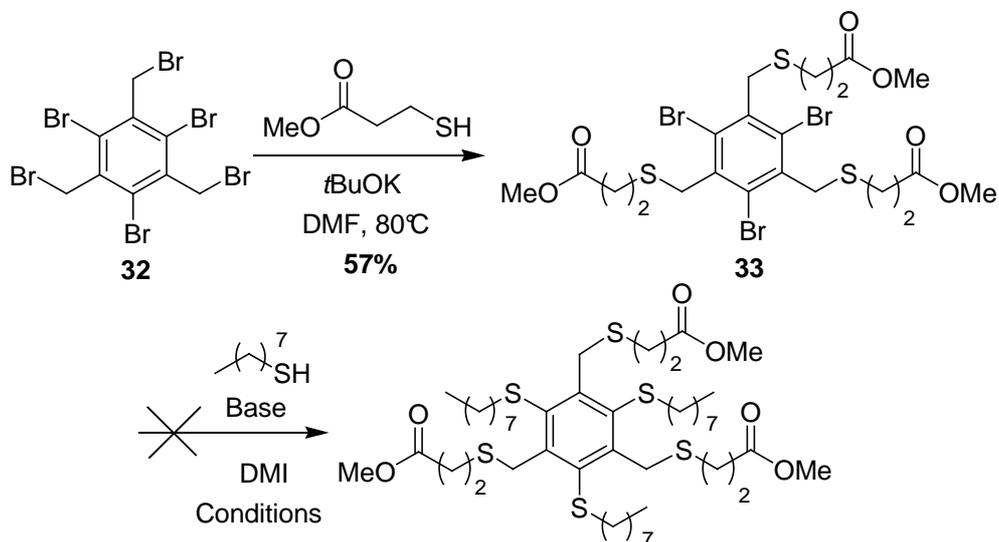
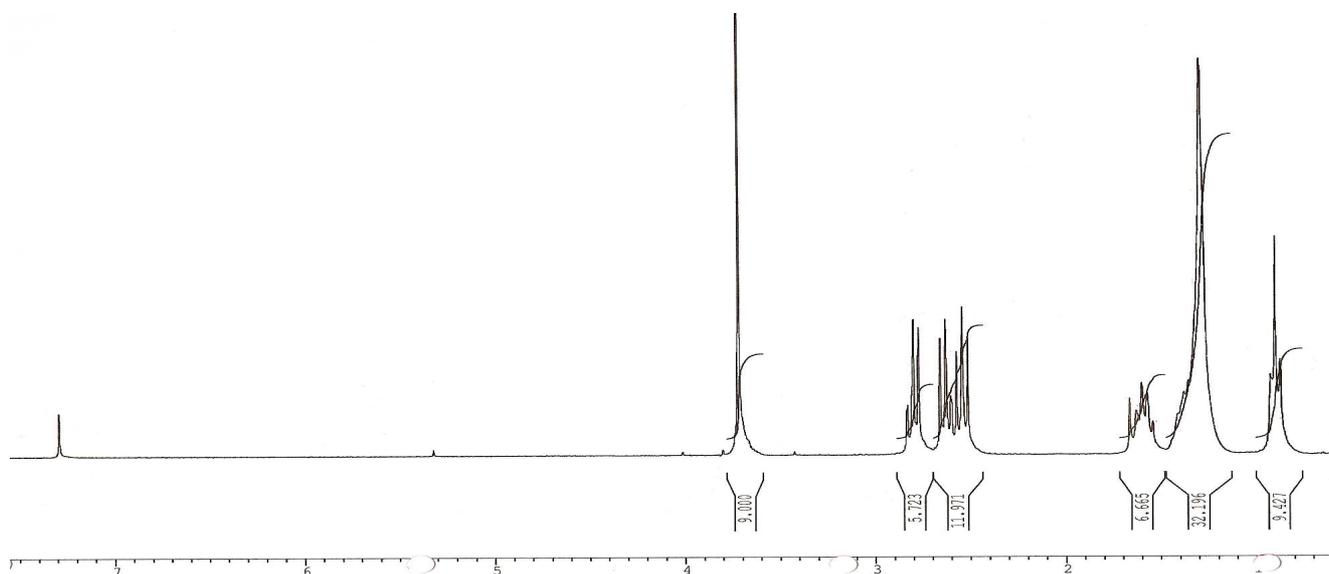


Schéma 3-45 : Schéma de synthèse de la formation du triester **33**.

Cependant, nous n'avons pas réussi à substituer le composé **33** par les thiols aliphatiques dans les conditions habituelles de réaction. Après 48 h de réaction sous atmosphère d'argon, nous récupérons uniquement le disulfure de l'octanethiol. Nous avons testé des conditions de réaction réductrices en utilisant le même excès d'octanethiol et de NaBH<sub>4</sub> (4,5 éq) dans le DMI. Dans ces conditions, nous obtenons majoritairement du produit d'oxydation disulfure dissymétrique C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>S-SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Me. La structure de ce composé a pu être confirmée grâce aux expériences RMN <sup>1</sup>H et RMN <sup>13</sup>C. Sur le spectre RMN <sup>1</sup>H du disulfure dans le CDCl<sub>3</sub>, les signaux entre 0,5 ppm et 2 ppm correspondent aux protons de la chaîne alkyle. Les trois triplets entre 2,5 et 2,8 ppm correspondent aux signaux méthylènes en

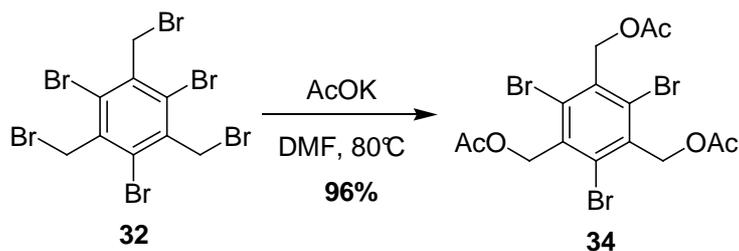
$\alpha$  des atomes de soufre et de la fonction ester méthylique. Le singulet déblindé à 4,7 ppm correspond au groupement méthyle de la fonction ester (Figure 3-21).



**Figure 3-41** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du disulfure dissymétrique  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{S-SCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$ .

A noter également que la disparition du singulet situé à 4,3 ppm correspondant au méthylène  $\text{ArCH}_2\text{S}$  sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  et des signaux caractéristiques des carbones aromatiques situés à 130 et 139 ppm sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  pour le composé **33**, confirment bien que le produit ne comporte pas le cycle aromatique et que l'on a le disulfure dissymétrique.

Pour introduire les fonctions polaires sur l'aromatique, nous nous sommes alors orientés vers la fonctionnalisation par des groupements alcool de la position benzylique. Ces alcools benzyliques permettront en effet, de coupler efficacement les fonctions polaires des tripodes amphiphiles via des liaisons glucidiques ou des liaisons éther. Pour cela, nous avons substitué les atomes de Br du dérivé **32** par des anions acétates à  $80^\circ\text{C}$  dans le DMF pour obtenir le composé 1,3,5-tris(acétoxyméthyl)-2,4,6-tribromobenzène **34** avec un excellent rendement de 96% après recristallisation à chaud dans EtOH (Schéma 3-46).



**Schéma 3-46** : Schéma de synthèse de la formation du composé tris(acétoxy) **34**.

A partir du composé **34**, nous avons réalisé une réaction de  $S_NAr$  avec le même excès (6 éq) de *t*BuOK comme base et d'octane thiol à TA pendant 16 h dans le DMI mais ces conditions ont conduit à la formation des dérivés issus de la substitution nucléophile aromatique et de la substitution en position benzylique des acétates (Schéma 3-47). Il est à noter que cette réaction n'est absolument pas sélective puisqu'elle entraîne également la déprotection partielle des acétates par transestérification.

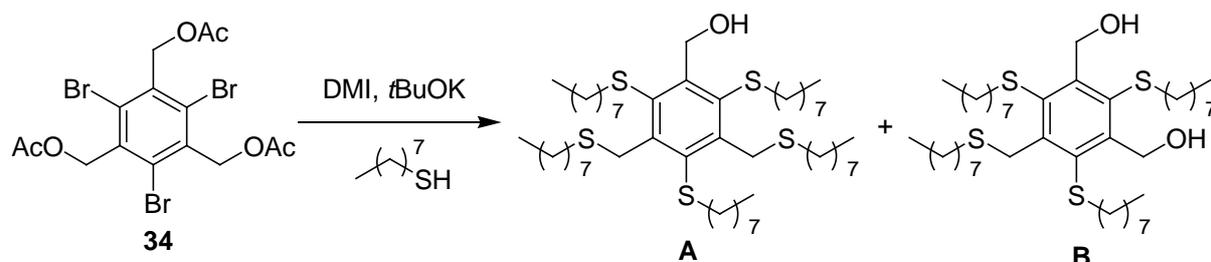


Schéma 3-47 : Schéma de synthèse de la  $S_NAr$  du dérivé **34** conduisant à un mélange des composés A et B.

Le composé **A** est caractérisé en RMN  $^1H$  (Figure 3-22) par le doublet à 5,3 ppm et le triplet à 3,3 ppm d'intégrations respectives 2H et 1H qui correspondent au motif  $CH_2OH$  de la fonction alcool libre. La substitution de deux groupements OAc par des thiolates d'octyle se traduit sur le spectre par le singulet à 4,6 ppm et le triplet à 2,65 ppm tous les deux intégrant 4H qui correspondent aux signaux  $ArCH_2S$  et  $ArCH_2SCH_2$  respectivement. Le triplet à 2,9 ppm (6H) correspond aux signaux méthylènes  $ArSCH_2$  issus de la  $S_NAr$ .

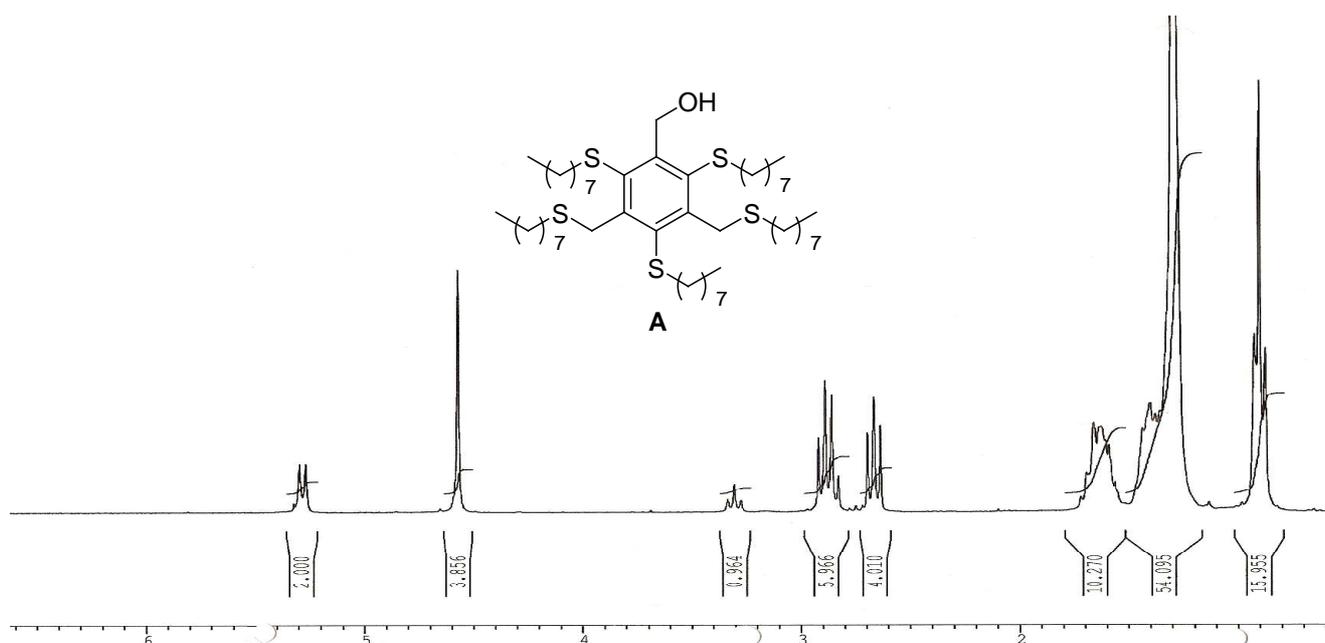


Figure 3-43 : Spectre RMN  $^1H$  du composé **A** solubilisé dans le  $CDCl_3$ .

Afin d'éviter ces réactions parasites, nous avons converti le triacétate **34** en triol **35** selon les conditions de Zemplén<sup>107</sup> avec du MeOH distillé et une quantité catalytique de MeONa (Schéma 3-48).

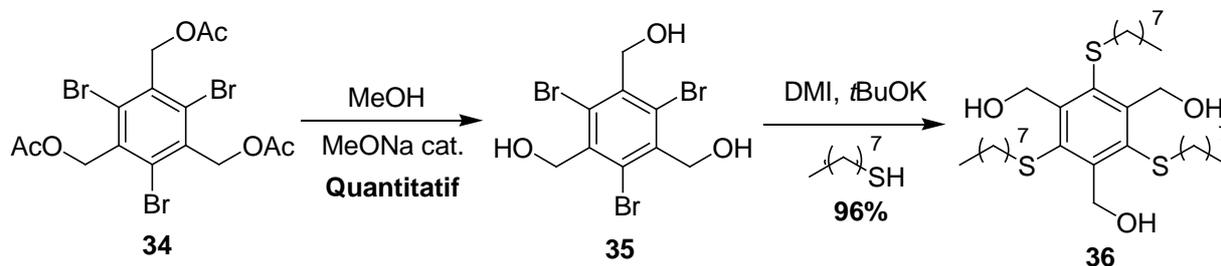


Schéma 3-48 : Schéma de synthèse conduisant à la formation du triol **36**.

A noter que l'intermédiaire clé **35** est facilement synthétisé à grande échelle avec un rendement global de 59% à partir du mésitylène selon une voie de synthèse en quatre étapes ne nécessitant aucune purification par chromatographie mais uniquement des procédés de cristallisation et/ou de précipitation. Cette voie de synthèse a permis d'obtenir un lot de 90 g du composé **35**.

Le composé **35** solubilisé dans le DMSO deutéré comporte en RMN <sup>1</sup>H deux singulets à 4,9 ppm et 5,3 ppm correspondants respectivement aux méthylènes CH<sub>2</sub>OH et aux protons des fonctions alcools (Figure 3-23).

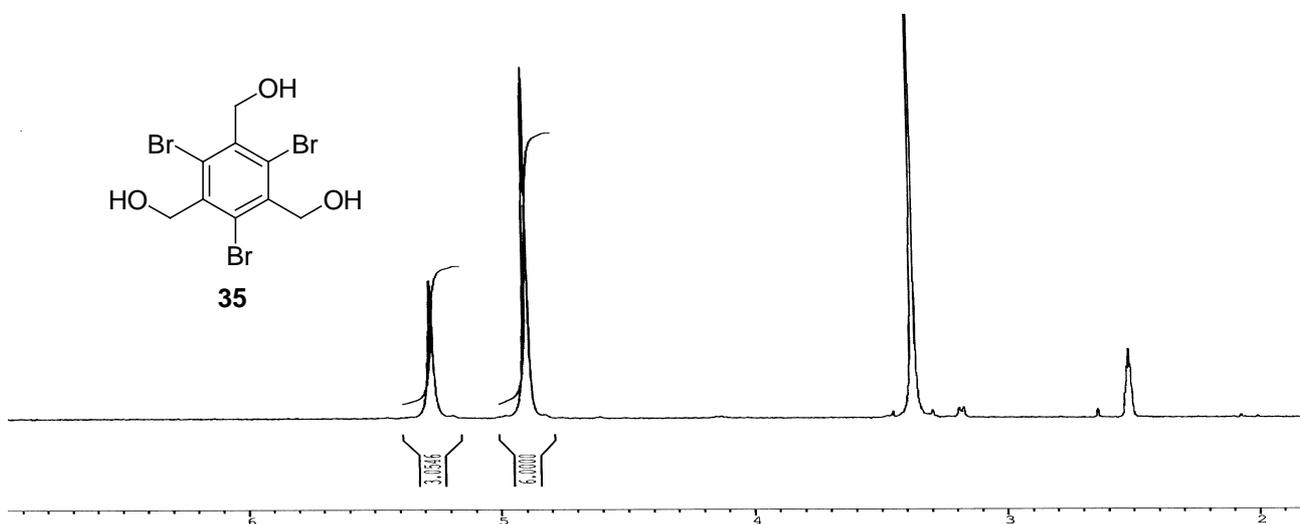


Figure 3-45 : Spectre RMN <sup>1</sup>H dans le DMSO deutéré de l'intermédiaire clé **35**.

Le dérivé **35** a permis d'accéder au thioéther **36** avec un excellent rendement de 96% via la réaction de S<sub>N</sub>Ar des thiolates d'octyle générés avec le *t*BuOK dans le DMI. On retrouve sur le spectre RMN <sup>1</sup>H du composé **36** le doublet à 5,3 ppm et le triplet à ~ 3 ppm

<sup>107</sup> G. Zemplén, *Chem. Ber.*, **1927**, 60, 1555-1564.

correspondant aux substituants CH<sub>2</sub>OH ainsi que le triplet à 2,9 ppm intégrant 6H qui est attribué aux trois méthylènes en α des atomes de soufre. Les signaux compris entre 0,9 ppm et 1,6 ppm correspondent aux trois chaînes octyle (Figure 3-24).

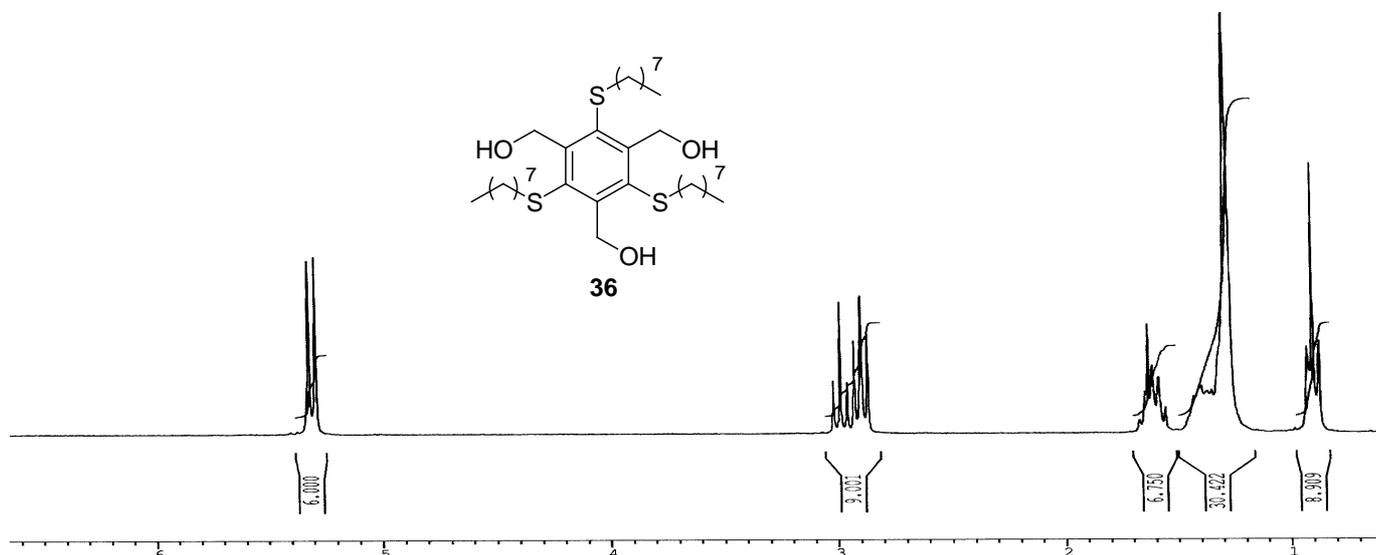


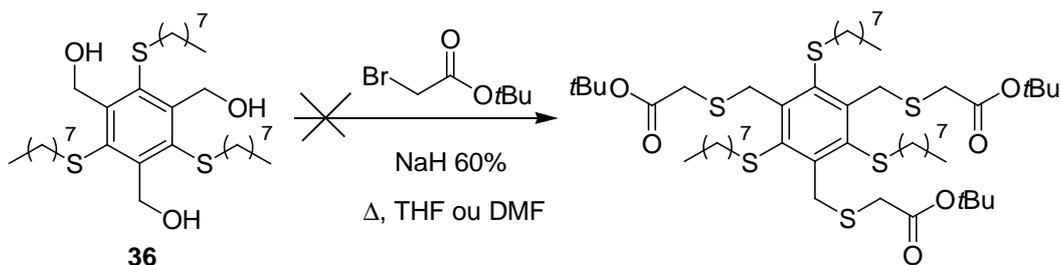
Figure 3-47 : Spectre RMN <sup>1</sup>H du triol **36** solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub>.

## **2. Introduction des têtes polaires et création de la ségrégation faciale sur le noyau aromatique**

### **a. Essais de fonctionnalisation à partir du triol 36**

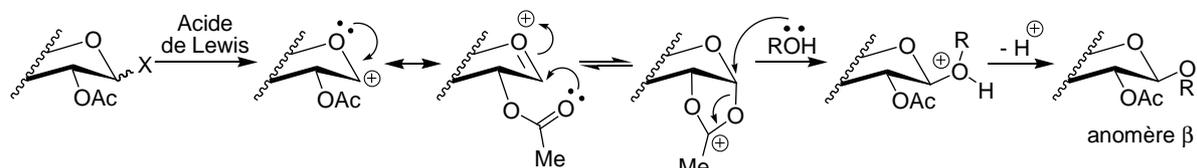
Nous avons ensuite tenté une réaction de O-alkylation du triol **36** dans le THF en présence de NaH à 60% et un excès de bromoacétate de *tert*-butyle (6 équ) pour former le triester correspondant.

De manière surprenante, même après un chauffage prolongé au reflux du milieu réactionnel pendant 3 jours, on obtient après le traitement usuel un mélange de composés issus de la substitution partielle du bromoacétate de *tert*-butyle par les anions alcoolates dans lequel on récupère également une proportion non négligeable du produit **36** n'ayant pas réagi. A noter que le remplacement du THF par du DMF en chauffant la solution à 100°C n'a apporté aucune amélioration significative de la réaction de S<sub>N</sub>2 (Schéma 3-49).



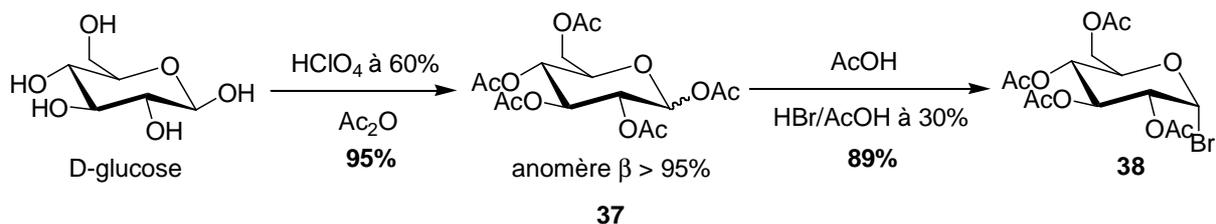
**Schéma 3-49** : Schéma de synthèse de la réaction de Williamson du triol **36** sur le bromoacétate de *tert*-butyle.

Ce résultat semble indiquer une faible réactivité des fonctions alcool benzylique. Nous avons cependant testé une réaction de O-glycosylation du triol **36** en présence d'acétoxybromoglucose et de  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  dans les conditions de Helferich<sup>108</sup> (Schéma 3-50).



**Schéma 3-50** : Mécanisme de O-glycosylation selon Koenigs-Knorr montrant la participation du groupement acétylé en position 2 conduisant à la formation exclusive de l'anomère β.

Pour cela, nous avons d'abord préparé le bromure de tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle **38** selon une séquence réactionnelle de deux étapes à partir de D-glucose en réalisant la peracétylation des fonctions alcools suivi de la bromation de la position anomérique avec un mélange acide  $\text{HBr}/\text{AcOH}$  (Schéma 3-51).



**Schéma 3-51** : Séquence réactionnelle conduisant à la formation du tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle **38**.

Nous avons donc mis en réaction le triol **36** en solution dans l'acétonitrile distillé avec le même excès (4,5 éq) du dérivé bromogluco-pyranosyle **38** et de catalyseur anhydre  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  pendant 24 h à température ambiante. Cependant, ces conditions ont conduit à la formation

<sup>108</sup> B. Helferich, E. Schimitz-Hellbrecht, *Chem. Ber.*, **1933**, 66, 378-383 ; B.L. Helferich, S. Winkler, *Ber.*, **1933**, 66B, 1556-1558.

d'un mélange complexe de composés dans lequel nous avons seulement pu isoler difficilement 20% du produit de mono-O-glycosylation légèrement impur (Schéma 3-52).

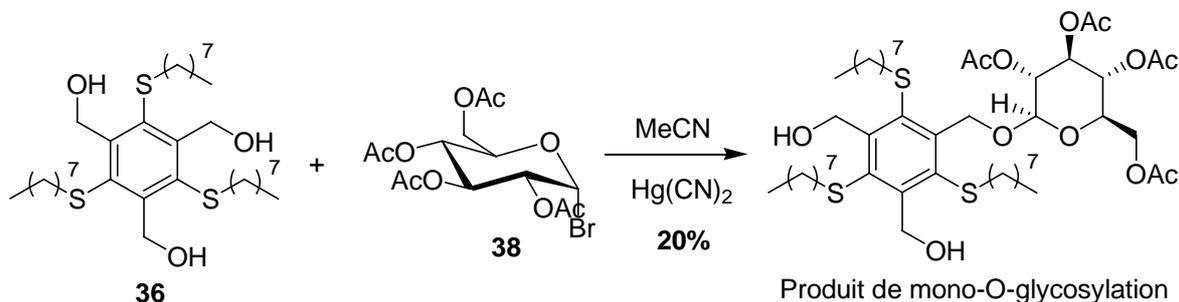


Schéma 3-52 : Schéma de synthèse de la O-glycosylation du triol **36**.

En RMN  $^1\text{H}$ , on retrouve le triplet à 3 ppm des fonctions alcools  $\text{CH}_2\text{OH}$  intégrant ici pour seulement 2H et un doublet très déblindé à 5,7 ppm d'intégration 1H ayant une constante de couplage  $J = 9,5$  Hz caractéristique d'un proton anomérique en position  $\alpha$ . On observe également tous les signaux multiplets caractéristiques du saccharide entre 3,5 et 5,5 ppm, les singlets à 2,1 ppm des acétyles ainsi que les signaux correspondant des chaînes octyles entre 0,9 et 1,7 ppm.

A ce stade, il était possible d'approfondir nos recherches en faisant varier les conditions opératoires de la réaction soit en modifiant la nature du catalyseur ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$ , ...), en choisissant une autre méthode de O-glycosylation comme celle utilisant les trichloroacétimidates de Schmidt<sup>109</sup> ou encore en activant la réaction par des ultrasons ou des micro-ondes, mais il nous paraissait difficile ici de réaliser efficacement une triple O-glycosylation du triol **36**.

Nous avons ensuite tenté de faire réagir les fonctions alcools du triol **36** par une triple réaction de Mitsunobu par le couple  $\text{PPh}_3/\text{DEAD}$  et du mercaptopropionate de méthyle mais ces conditions ne nous ont pas permis de former le triester **39** attendu (Schéma 3-53).

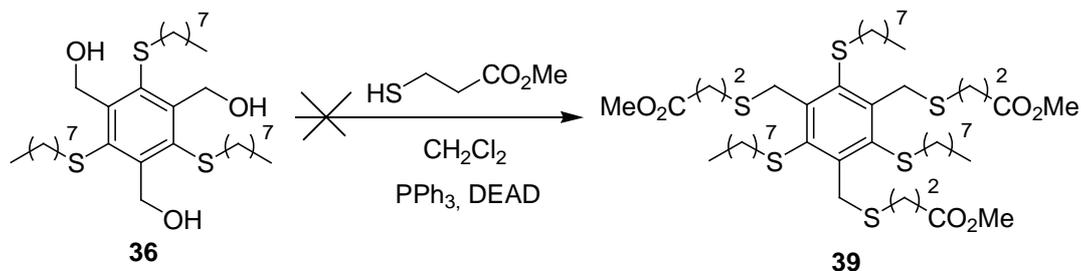


Schéma 3-53 : Schéma de synthèse de la réaction de Mitsunobu sur le triol **36**.

<sup>109</sup> R.R Schmidt and J. Michel, *Angew. Int. Ed. Engl.*, **1980**, 19, 731-732.

### b. L'intérêt inattendu d'une simple réaction de méthylation

Nous avons alors activé les fonctions alcool par méthylation pour effectuer des substitutions nucléophiles en position benzylique. Pour cela, le triol **36** solubilisé dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  distillé est mis en réaction à froid avec du chlorure de méthylation en présence de TEA (Schéma 3-54).

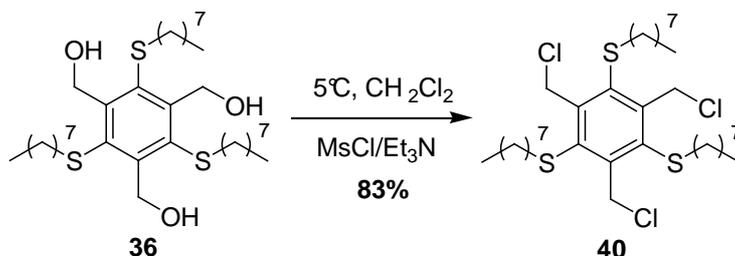


Schéma 3-54 : Schéma de synthèse de la réaction du triol **37** avec du chlorure de méthylation.

Durant l'expérience, on observe rapidement la disparition du produit de départ **36** mais il se forme un mélange complexe comportant pas moins six composés plus apolaires que le triol **36** lors du suivi CCM. Ce mélange se simplifie au cours du temps après trois jours de réaction à TA pour conduire de manière surprenante exclusivement à un produit très apolaire correspondant au composé trichloré **40** avec un rendement de 83%.

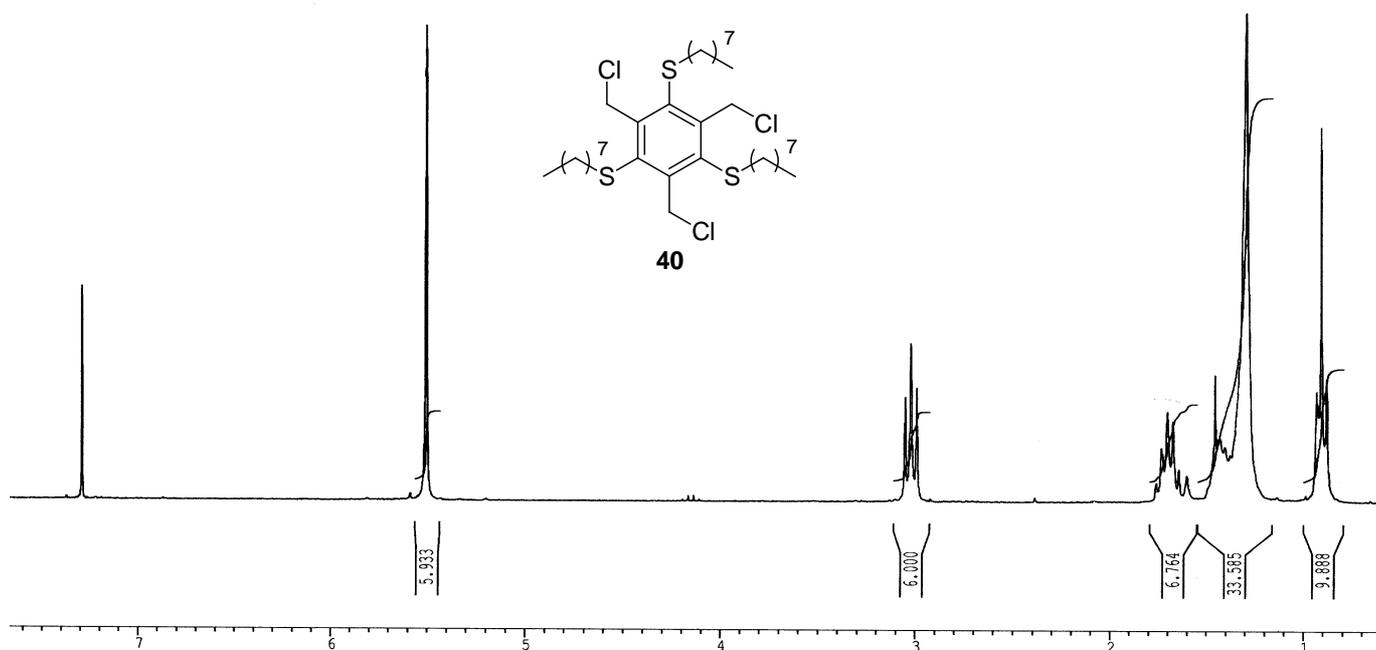


Figure 3-49 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  du composé trichloré **40**.

En effet, on s'attendait à voir apparaître sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit isolé les signaux caractéristiques de groupements mésylates  $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ , c'est à dire le singulet blindé à 2,9 ppm des méthyles ainsi que le singulet déblindé à 4,8 ppm des méthylènes situés entre le noyau aromatique et les groupements mésylates OMs. Au lieu de cela, on constate la présence d'un seul singulet déblindé à 5,5 ppm semblant correspondre à des groupes chlorométhylènes (Figure 3-25).

Ce résultat suppose que l'intermédiaire mésylate ainsi formé dans le milieu réactionnel subit une réaction de substitution par les ions chlorures générés lors de la mésylation (Schéma 3-55).

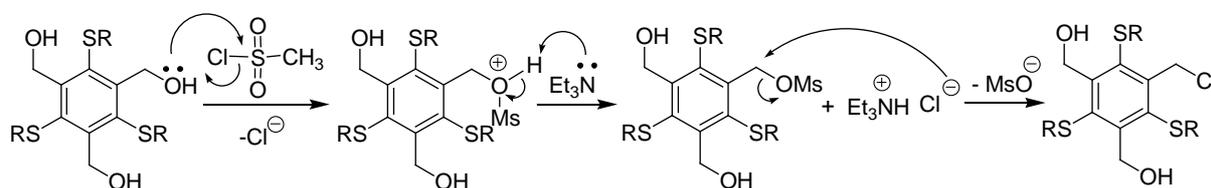


Schéma 3-55 : Mécanisme réactionnel expliquant la formation du dérivé trichloré **40**.

Cette réaction « parasite » s'est en fait révélée essentielle puisque le dérivé trichloré **40** ainsi obtenu avec un excellent rendement est très réactif vis-à-vis de toute réaction  $\text{S}_\text{N}2$ . Les réactions effectuées en présence de plusieurs nucléophiles s'effectuent rapidement en seulement quelques heures à TA dans le DMF (Schéma 3-56).

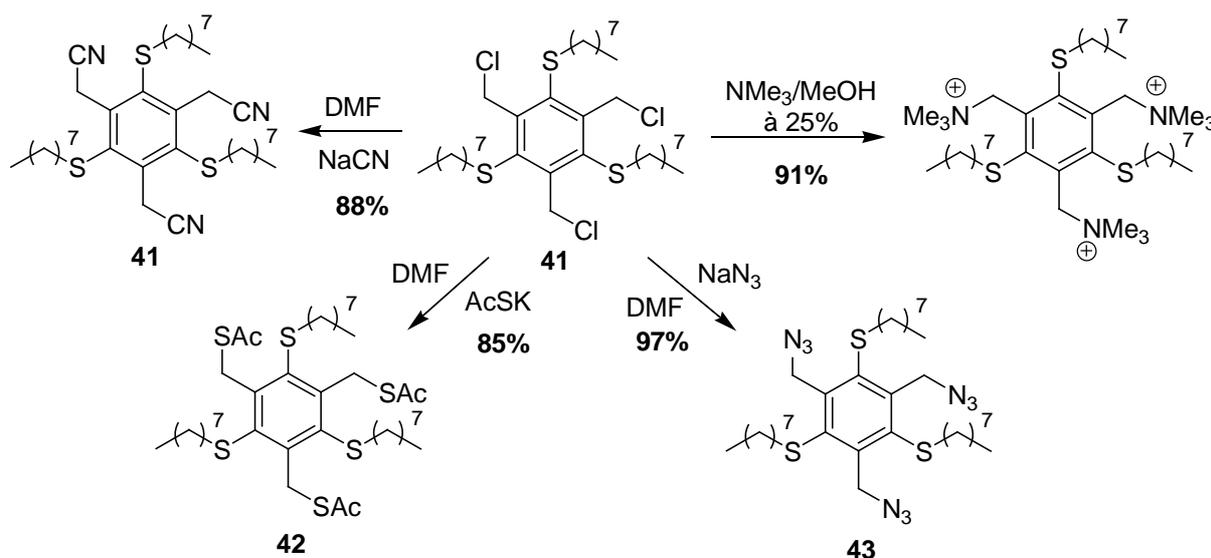


Schéma 3-56 : Schéma de synthèse de la réaction de  $\text{S}_\text{N}2$  de différents nucléophiles sur le dérivé trichloré **40**.

### c. Préparation des dérivés tripodes faciaux de type tricarboxylate

Suivant cette méthodologie, nous avons substitué le dérivé trichloré **40** dans le DMF par les anions thiolates du mercaptopropionate de méthyle générés à partir de *t*BuOK (Schéma 3-57).

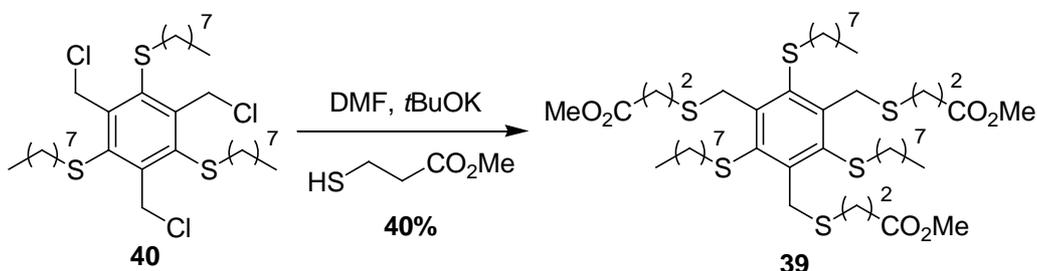


Schéma 3-57 : Schéma de synthèse conduisant à la formation du triester **39**.

Ces conditions conduisent effectivement à la formation du produit attendu **39** mais l'étape de purification est délicate pour isoler le composé bien pur et cela avec un rendement de seulement 40%. Ce rendement s'explique par la formation de produits secondaires d'oxydation du thiol même sous atmosphère inerte contrôlée.

Afin de pallier ce problème, il est possible de réaliser une thioalkylation en formant une liaison C-S à partir du thiol protégé sous forme de thioacétate RSAc. La méthode consiste à générer un anion thiolate intermédiaire et de le faire réagir « one pot » sur un halogénure d'alkyle ou un accepteur de Michael tel qu'un composé carbonyle  $\alpha,\beta$ -insaturé, permettant ainsi de contourner les problèmes liés à l'oxydation des thiols en disulfures.

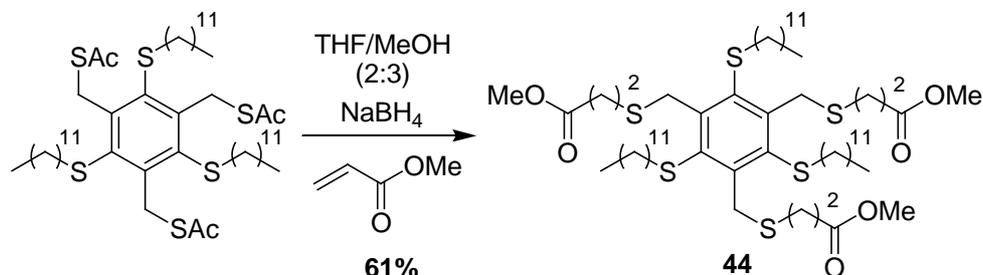
La réaction nécessite la plupart du temps l'action d'une base plus ou moins forte (Et<sub>3</sub>N, NaOH, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ...) utilisée en excès pour effectuer la réaction de déacétylation et générer l'anion thiolate. Cependant dans ces conditions basiques, la formation de pont disulfure est inévitable. Dans la littérature, on retrouve différentes méthodes notamment une utilisant des conditions réductrices avec du NaBH<sub>4</sub><sup>110</sup> ou une autre combinant à la fois un réducteur et une base (NaBH<sub>4</sub>/NaOH) dans EtOH à TA<sup>111</sup>. La procédure a été simplifiée au laboratoire en utilisant simplement du NaBH<sub>4</sub> en solution dans le MeOH anhydre. L'action du NaBH<sub>4</sub> génère lors de la réduction du thioester l'anion thiolate qui peut réagir sur l'accepteur de Michael<sup>112</sup>.

<sup>110</sup> A.L. Braga, H.R. Appelt, P.H. Schneider, C.C. Silveira and L.A. Wessjohann, *Tetrahedron Asym.*, **1999**, 10, 1733-1739.

<sup>111</sup> Y. Fall, O. Diouf, G ; Gomez and T. Bolaño, *Tet. Lett.*, **2003**, 44, 6069-6072 ; Z. Gandara, O. Diouf, G. Gomez and Y. Fall, *Tet. Lett.*, **2007**, 48, 6735-6737.

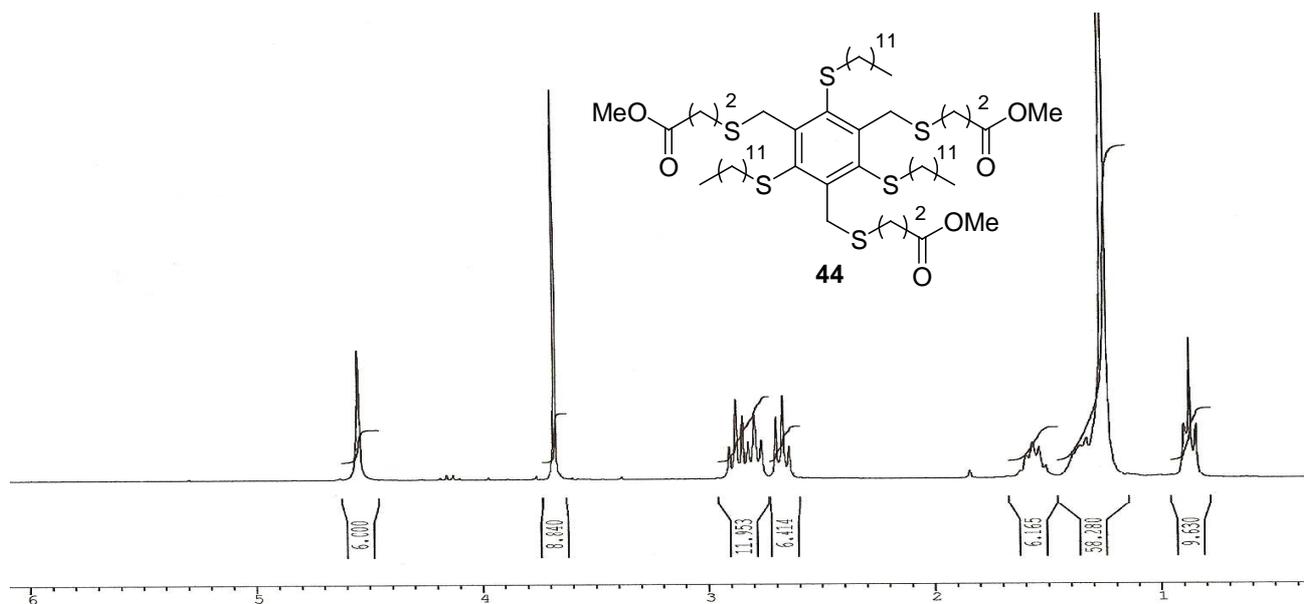
<sup>112</sup> M. Abila, G. Durand and B. Pucci, *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 8142-8153.

Suivant cette méthodologie, nous avons effectué la réaction d'un thioacétate analogue au composé **42** portant des chaînes hydrocarbonées en C12 sur de l'acrylate de méthyle dans un mélange anhydre THF/MeOH (2:3) en présence d'un large excès de NaBH<sub>4</sub> (6 éq) sous atmosphère d'argon (Schéma 3-58).



**Schéma 3-58** : Schéma de synthèse conduisant au triester **44** via une addition de Michael sur l'acrylate de méthyle.

Ces conditions ont permis de former et d'isoler facilement le triester **44** pur avec un rendement satisfaisant de 61%. Le composé **44** solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub> est caractérisé en RMN <sup>1</sup>H (Figure 3-26) par la présence d'un singulet à 3,7 ppm intégrant 9H correspondant aux groupes méthyles des fonctions esters ainsi que par le singulet situé à 4,6 ppm qui correspond aux protons ArCH<sub>2</sub>S situés entre le noyau aromatique et les atomes de soufre. Les triplets entre 2,6 ppm et 2,9 ppm sont attribués aux méthylènes en α des fonctions esters ou des atomes de soufre.



**Figure 3-51** : Spectre RMN <sup>1</sup>H du composé **44** solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub>.

A partir du triester **44**, nous avons voulu effectuer la saponification des fonctions esters dans différentes conditions (Schéma 3-59 et Tableau 3-21).

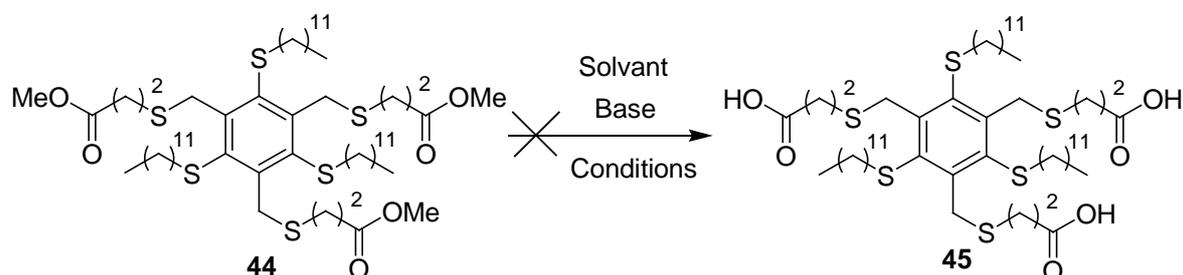


Schéma 3-59 : Schéma de synthèse de la saponification du triester **44**.

Essai	Base	Solvant	Conditions	Résultat
1	NaOH 1 M, 20 éq	DMF/NaOH <sub>aq</sub> 1M (1 :1)	TA, 24 h puis 50°C, 12 h	Saponification incomplète
2	KOH 0,5 M, 3,3 éq	MeOH/KOH <sub>aq</sub> 0,5 M (1:1)	Micro-ondes, 50°C, 20 min	Saponification incomplète
3	KOH 0,5 M, 3,3 éq	MeOH/KOH <sub>aq</sub> 0,5 M/THF (2:2:1)	Ultrasons, 50°C, 30 min	Saponification incomplète
4	KOH 0,5 M, 10 éq	KOH <sub>aq</sub> 0,5 M/THF (3:2)	Ultrasons, 50°C, 2 h	Mélange difficile à séparer

Tableau 3-21 : Essais de saponification du produit **44** dans différentes conditions.

Le premier essai a été réalisé dans un mélange homogène (1:1) de DMF et de soude aqueuse à 1 M. Cependant, on constate lors du suivi en CCM que la saponification est incomplète après 24 h de réaction à TA et même 12 h de chauffage à 50°C.

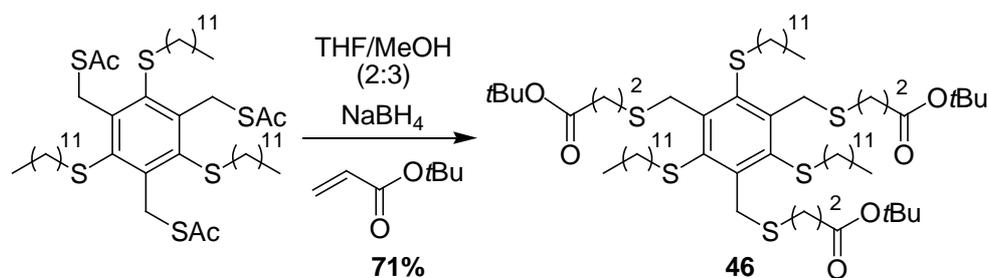
Cette première observation nous a amené à tester l'expérience avec une solution de KOH 0,5 M et de MeOH en activant la réaction aux micro-ondes. Ces conditions ont conduit également à la saponification partielle des fonctions esters.

L'utilisation d'un mélange ternaire de solvant MeOH/H<sub>2</sub>O/THF (2 :2 :1) pour améliorer la solubilité de l'ester et l'utilisation des ultrasons n'ont pas permis d'optimiser la réaction. On observe toujours la présence d'une quantité de triester n'ayant pas réagi en fin d'expérience après 30 minutes de réaction.

Finalement, nous avons réussi à consommer entièrement le produit de départ en travaillant avec un excès de KOH 0,5 M (10 éq) dans un mélange H<sub>2</sub>O/THF sous l'effet des

ultrasons à 50°C pendant 2 h mais on récupère en fin d'expérience un mélange de composés délicat à séparer.

La réaction de saponification étant difficile à réaliser, nous avons alors choisi de protéger les fonctions acides par des groupes *tert*-butyle qui peuvent être clivés en milieu acide (TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (Schéma 3-60).



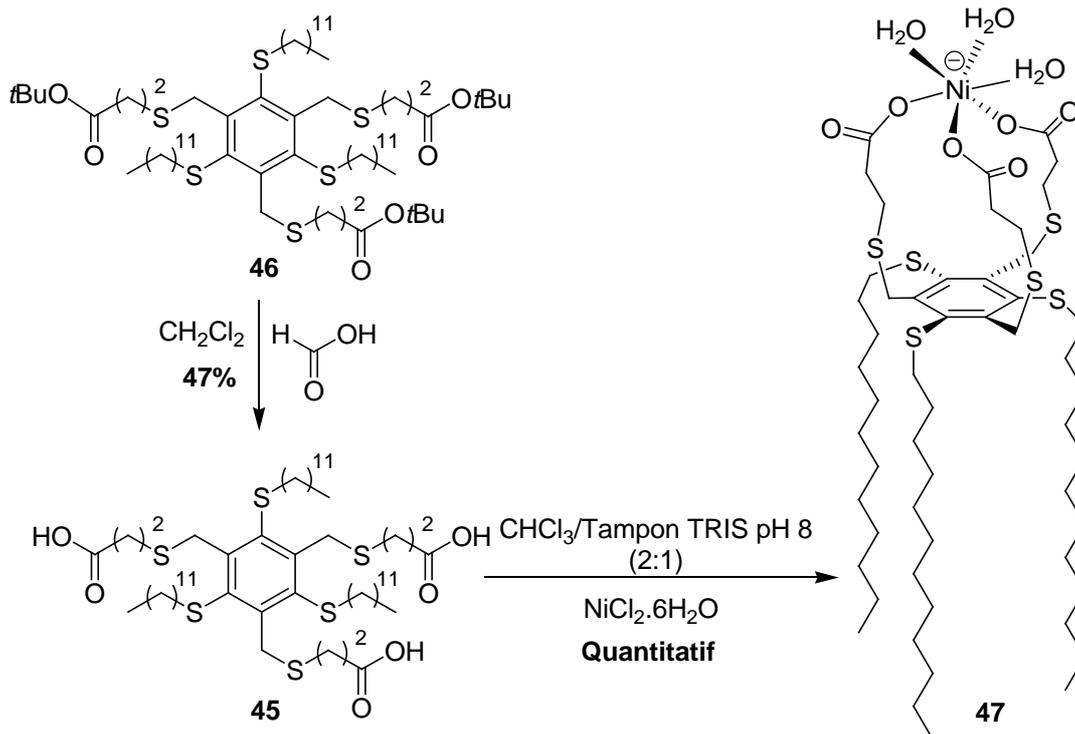
**Schéma 3-60** : Schéma de synthèse de la réaction de Michael conduisant à l'ester *tert*-butylique **46**.

L'addition des thiols sur l'acrylate de *tert*-butyle est réalisée avec un rendement satisfaisant de 71%. Le triester *tert*-butylique **46** solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub> possède un spectre RMN <sup>1</sup>H quasi identique à celui de son analogue **44** à l'exception du singulet des esters méthyliques à 3,7 ppm qui est remplacé par un singulet très blindé à 1,5 ppm caractéristique du groupement *tert*-butyle.

A partir du composé **46**, nous avons essayé logiquement de cliver les groupements *tert*-butyle dans un mélange acide TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9) mais ces conditions ont conduit à la formation d'un mélange de composés. A partir de ce mélange, le triacide **45** a été isolé avec un rendement de seulement 18 % sous la forme d'une huile.

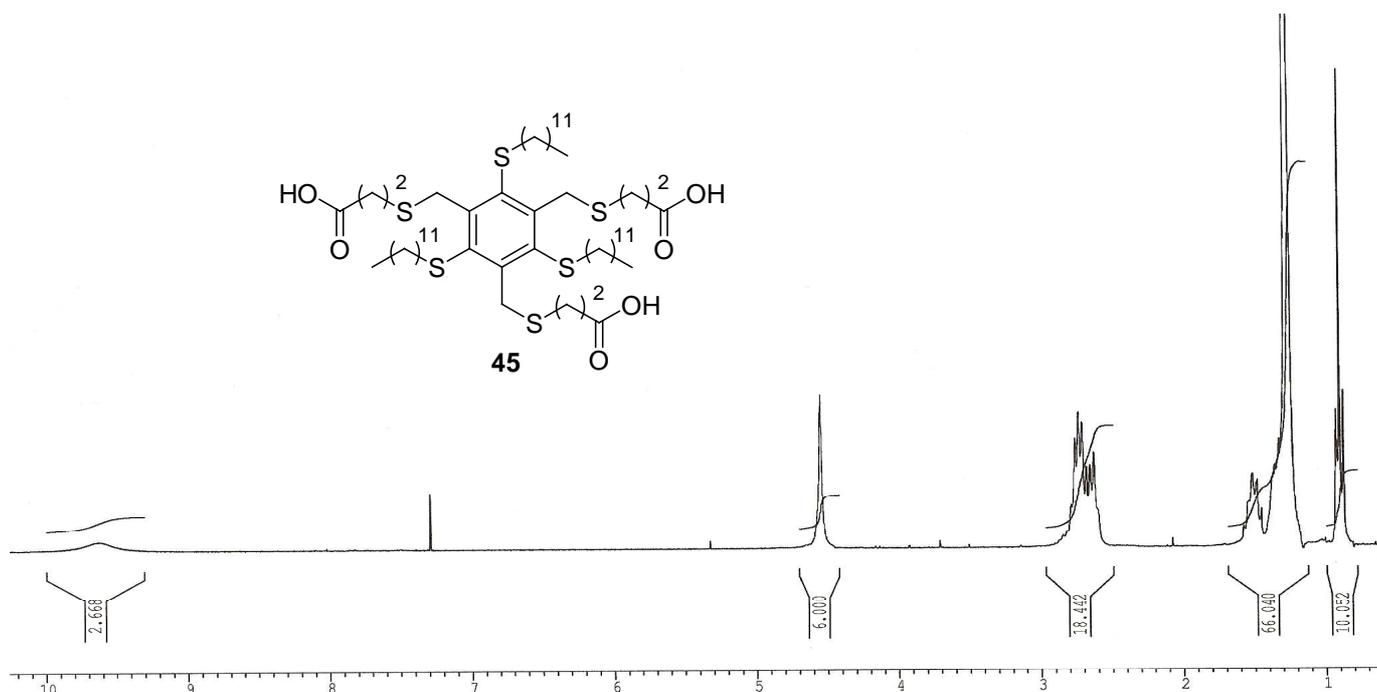
En effet, ces conditions acides drastiques (pKa TFA = 0,2) permettent bien de déprotéger les acides carboxyliques en libérant de l'isobutène gazeux mais il semble également que le TFA soit capable de protoner l'atome de soufre des thioéthers aliphatiques et de cliver la liaison C-S. Son énergie est relativement faible (272 kJ/mol) par rapport à son homologue éther (E<sub>C-O</sub> = 357 kJ/mol).

Ce clivage conduit ainsi à la perte des substituants comportant les fonctions acide carboxylique. Afin de limiter cette réaction parasite, nous avons utilisé un acide moins fort, l'acide formique (pKa = 3,8) en solution dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à TA, ce qui nous a permis d'obtenir un rendement satisfaisant de 47% tout en simplifiant l'étape de purification (Schéma 3-61).



**Schéma 3-61** : Schéma de synthèse du triacide **45** ayant conduit à la complexation d'ions  $\text{Ni}^{2+}$ .

L'identification du triacide **47** en RMN  $^1\text{H}$  est aisée puisque l'on constate la disparition du signal à 1,5 ppm correspondant au motif *tert*-butyle et l'apparition d'un singulet large fortement déblindé à 9,7 ppm intégrant environ 3H caractéristique des protons d'un acide carboxylique (Figure 3-27).



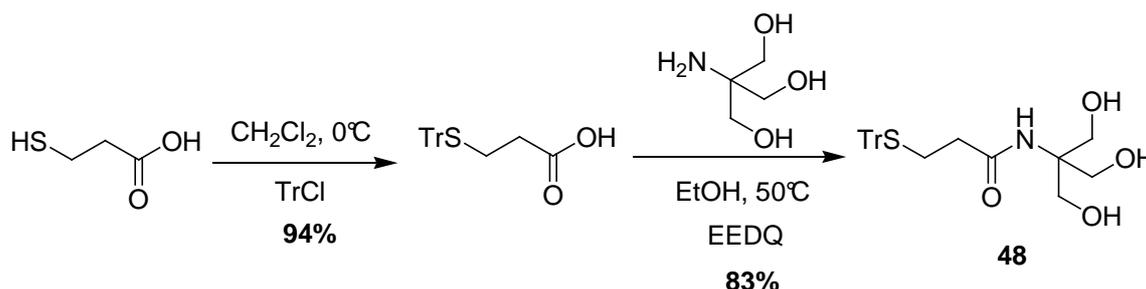
**Figure 3-53** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du triacide **45** solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$ .

A noter que le triacide **45** est capable de complexer des ions  $\text{Ni}^{2+}$  en utilisant la même procédure que celle du  $\text{PhHFNTA-Ni}^{2+}$  (voir Chapitre 2). De la même manière, le complexe **47** a été minéralisé puis dosé par spectroscopie d'absorption atomique, ce qui nous a permis de confirmer la complexation des ions  $\text{Ni}^{2+}$  par les trois fonctions acide carboxylique. Cette complexation du nickel démontre également la distribution des trois fonctions carboxylate sur une face du noyau benzène, et corrobore l'hypothèse de départ de ségrégation des fonctions polaires et apolaires sur les deux faces du benzène.

#### **d. Préparation de tripodes amphiphiles faciaux dérivés de résidus TRIS**

Nous avons ensuite poursuivi notre travail vers la préparation de tripodes faciaux amphiphiles, en introduisant dans un premier temps sur notre dérivé trichloré **40** des têtes polaires neutres polyalcooliques dérivées du TRIS.

Pour cela, nous avons décidé d'abord de préparer le composé **48** qui est facilement obtenu en deux étapes (Schéma 3-62).



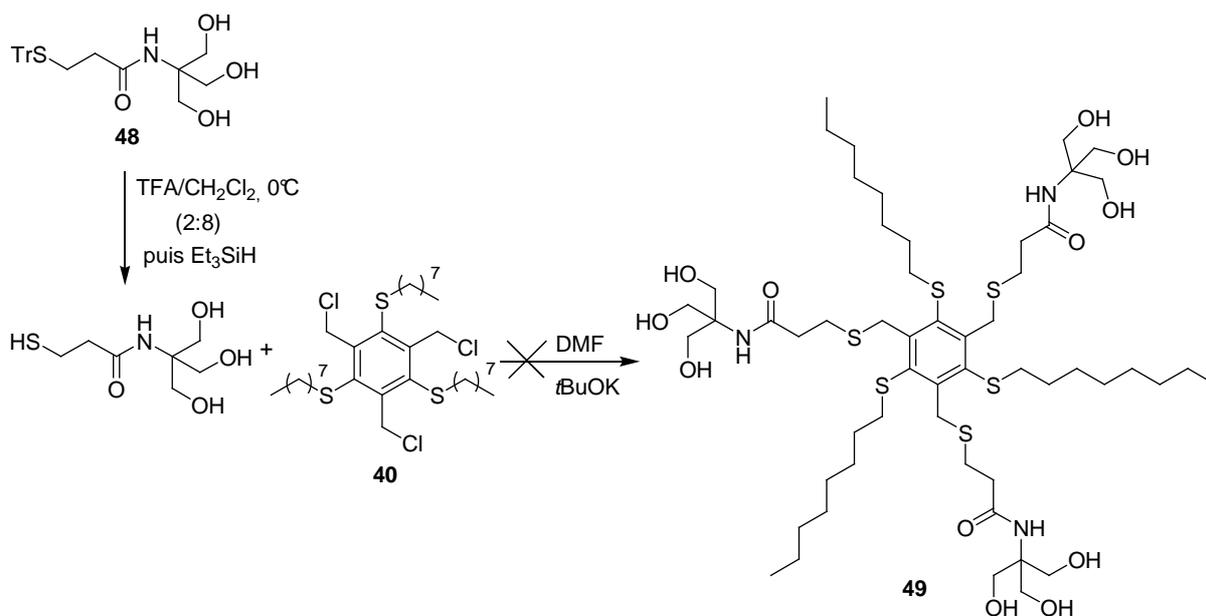
**Schéma 3-62** : Schéma de synthèse conduisant à la formation du thiol tritylé **48**.

A partir de l'acide 3-mercaptopropanoïque, on protège la fonction thiol par un groupement trityle en présence de chlorure de trityle à froid dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Le thiol tritylé qui précipite dans le milieu réactionnel est isolé par une simple filtration et mis en réaction dans  $\text{EtOH}$  à  $50^\circ\text{C}$  en présence d'EEDQ et du TRIS. Après 24 h de réaction, le composé **48** est récupéré par précipitation avec un rendement de 83%.

Nous avons donc déprotégé le groupement trityle à froid avec un mélange acide TFA/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2:8). La solution prend rapidement une coloration jaune signe de la formation du carbocation  $\text{Ph}_3\text{C}^+$ . Après 2 h, on ajoute du  $\text{Et}_3\text{SiH}$  jusqu'à décoloration du milieu réactionnel pour protoner le carbocation et former le groupe triphénylméthane. Le milieu réactionnel est concentré puis repris dans le DMF. La solution est tout de suite purgée et

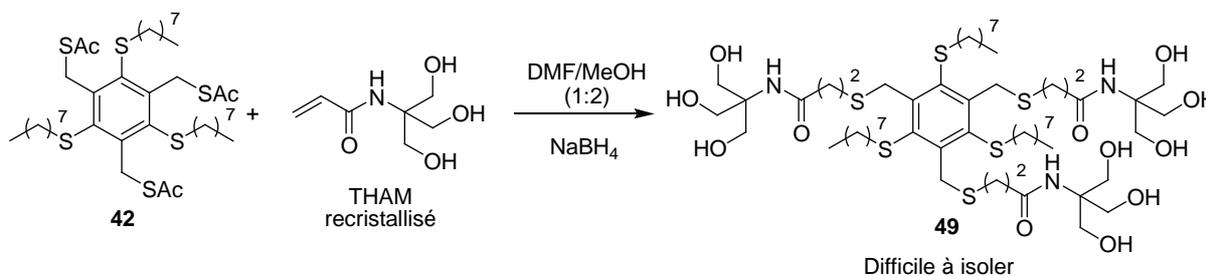
dégazée avec de l'argon avant d'ajouter un excès de *t*BuOK afin de générer les anions thiolates.

Logiquement, les conditions de l'expérience ont conduit à la formation d'un mélange complexe de composés difficile à séparer après 24 h de réaction à partir duquel nous n'avons pas réussi à isoler le produit attendu (Schéma 3-63).



**Schéma 3-63 :** Schéma de synthèse testé pour préparer un tripode amphiphile composé de têtes polaires TRIS.

Nous avons alors tenté la stratégie précédemment mise en place consistant à réaliser une addition d'un dérivé thioacétate sur un accepteur de Michael. Nous avons donc expérimenté l'addition 1,4 du thioacétate **42** sur un acrylamide. Dans ce contexte, nous disposons au laboratoire de THAM dont la préparation a déjà été reportée dans la littérature<sup>113</sup>.



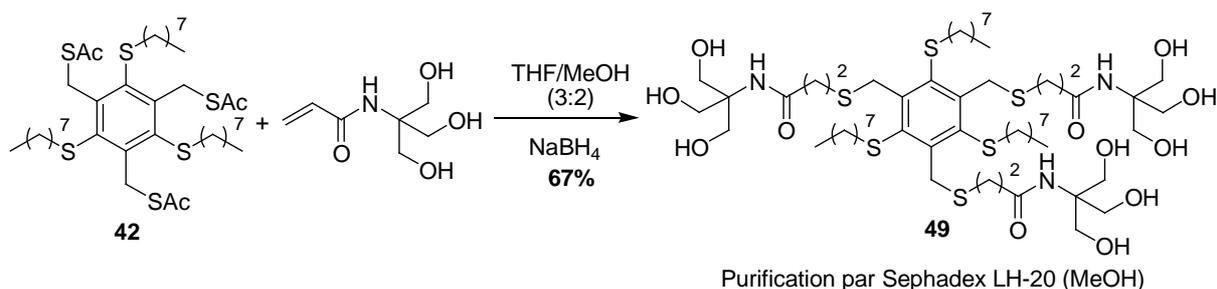
**Schéma 3-64 :** Schéma de synthèse du composé **49** via une addition conjuguée du THAM.

<sup>113</sup> B. Pucci, J. C. Maurizis and A.A. Pavia, *Eur. Polym.J.* **1991**, 27, 1101-1106.

Le THAM purifié par recristallisation à chaud dans l'EtOH est mis en réaction à température ambiante avec du NaBH<sub>4</sub> en excès (4,5 éq) en présence du thioacétate **42** en solution dans un mélange DMF/MeOH (1:2) (Schéma 3-64).

Après 24 h de réaction et traitement du milieu réactionnel, le spectre RMN <sup>1</sup>H du résidu solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub> confirme bien que la réaction a eu lieu. On observe la disparition des signaux caractéristiques des groupements thioacétates SAc situés à 2,4 ppm. Cependant, il est difficile d'isoler le composé **49** par chromatographie sur gel de silice.

Nous avons réussi toutefois à purifier le produit **49** via une chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20. Grâce à cette technique, nous avons pu en effet préparer le composé **49** avec un rendement satisfaisant de 67% en modifiant également légèrement les conditions de l'expérience en remplaçant simplement le DMF par du THF (Schéma 3-65).



**Schéma 3-66** : Schéma de synthèse d'obtention du tripode **49** via une purification par Sephadex LH-20.

Malheureusement, le composé **49** est très peu soluble dans l'eau même en chauffant la solution à 50°C et ne mousse pas lorsqu'il est agité dans l'eau.

Dans ces conditions, nous avons choisi de raccourcir la longueur des chaînes thioalkyles greffées sur le noyau aromatique suivant la même méthodologie pour modifier la balance hydrophile-lipophile de ce type de composés et augmenter leur hydrophilie. Un tripode constitué de têtes TRIS hydrophiles et de chaînes pentyles hydrophobes a été synthétisé et caractérisé en RMN <sup>1</sup>H. Malheureusement, même avec des chaînes plus courtes, le composé reste très peu soluble en solution aqueuse (Figure 3-28).

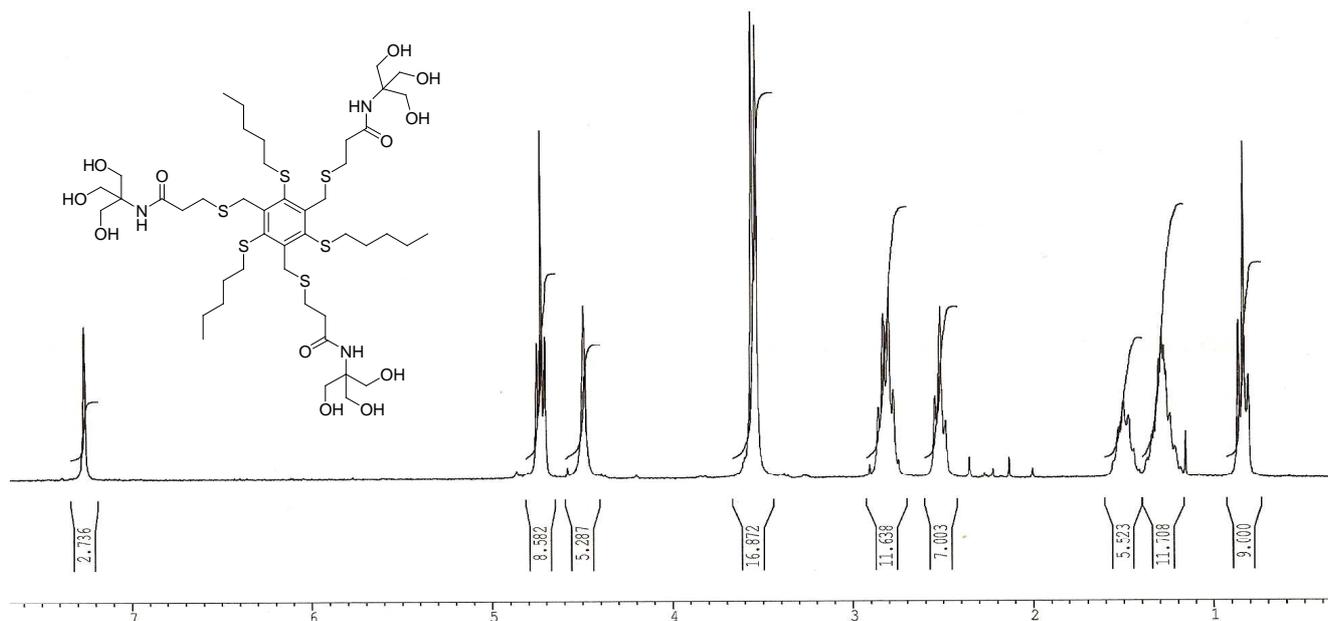


Figure 3-55 : Spectre RMN<sup>1</sup>H dans le DMSO deutéré du tripode constitué de têtes TRIS et de chaînes pentyles.

### **e. Synthèse des composés tripodes amphiphiles faciaux à têtes glycosylés**

#### **i) Réaction de « click chemistry »**

Pour augmenter l'hydrophilie de ces composés, nous avons décidé d'introduire des têtes polaires de nature saccharidique sur ces tensioactifs tripode. Puisque la glycosylation directe semble poser quelques problèmes, nous avons envisagé pour cela une stratégie basée sur le concept de « click chemistry ».

La "click chemistry" est un concept relativement récent qui met en œuvre les potentialités des cycloadditions dipolaires pour créer de façon efficace des liaisons hétéroatomiques entre unités différentes. Sharpless a ainsi défini un ensemble de critères stricts devant être remplis par la réaction pour être utilisée dans ce contexte. La procédure doit donner de très bons rendements à partir d'une grande variété de molécules de départ, être insensible aux conditions de la réaction notamment à la présence éventuelle d'oxygène ou d'eau, être simple à mettre en œuvre et faciliter la purification<sup>114</sup>.

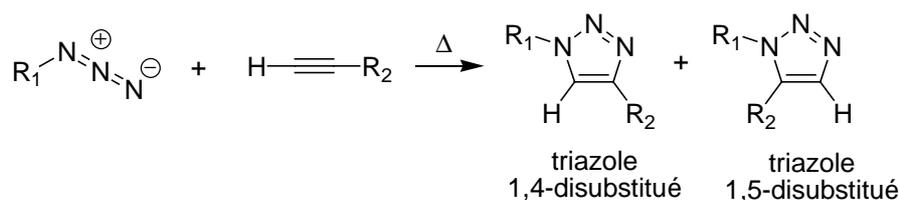
La notion de "click chemistry" englobe plusieurs familles de transformations chimiques dont la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen<sup>115</sup> entre un azoture et un alcyne vrai, qui est de loin l'exemple le plus rencontré dans la littérature. A l'origine, la

<sup>114</sup> H.C. Kolb, M.G. Finn and K.B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2004-2021.

<sup>115</sup> R. Huisgen, *Pure Appl. Chem.*, **1989**, 61, 613-628.

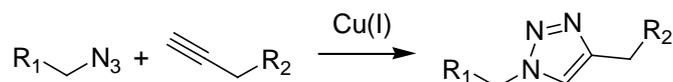
cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen est une méthode permettant d'assembler un composé insaturé (alcyne, alcène) avec un composé 1,3-dipolaire (azoture d'alkyle, diazoalcane, nitrile oxyde) pour conduire à une grande variété d'hétérocycles à 5 ou 6 atomes.

Dans le cas d'un azoture d'alkyle et d'un alcyne vrai, la cycloaddition conduit à un cycle 1,2,3-triazole disubstitué. Cette réaction non régiosélective et relativement lente, nécessite des conditions de températures élevées qui conduisent généralement à un mélange d'isomères de triazoles 1,4- et 1,5-disubstitués dans des proportions molaires stœchiométriques (Schéma 3-66).



**Schéma 3-67** : Schéma de synthèse de la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen par voie thermique.

C'est seulement après la découverte simultanée mais indépendante des laboratoires de Meldal<sup>116</sup> et Sharpless<sup>117</sup>, sur l'optimisation de la réaction en utilisant une source de Cu(I) comme catalyseur, que la réaction de cycloaddition entre un alcyne et un azoture catalysée par le cuivre (CuAAC) a retenu l'attention et est devenue à elle seule synonyme de « click chemistry ». En effet, la catalyse par le Cu(I) conduit à une amélioration majeure à la fois de la vitesse et de la régiosélectivité de la réaction qui donne exclusivement la formation de l'isomère triazole 1,4-disubstitué, permettant également d'opérer la réaction dans des conditions douces et de s'affranchir du chauffage (Schéma 3-67).



**Schéma 3-68** : Schéma de synthèse de la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée par le Cu(I) entre un azoture d'alkyle et un alcyne vrai (« click chemistry »).

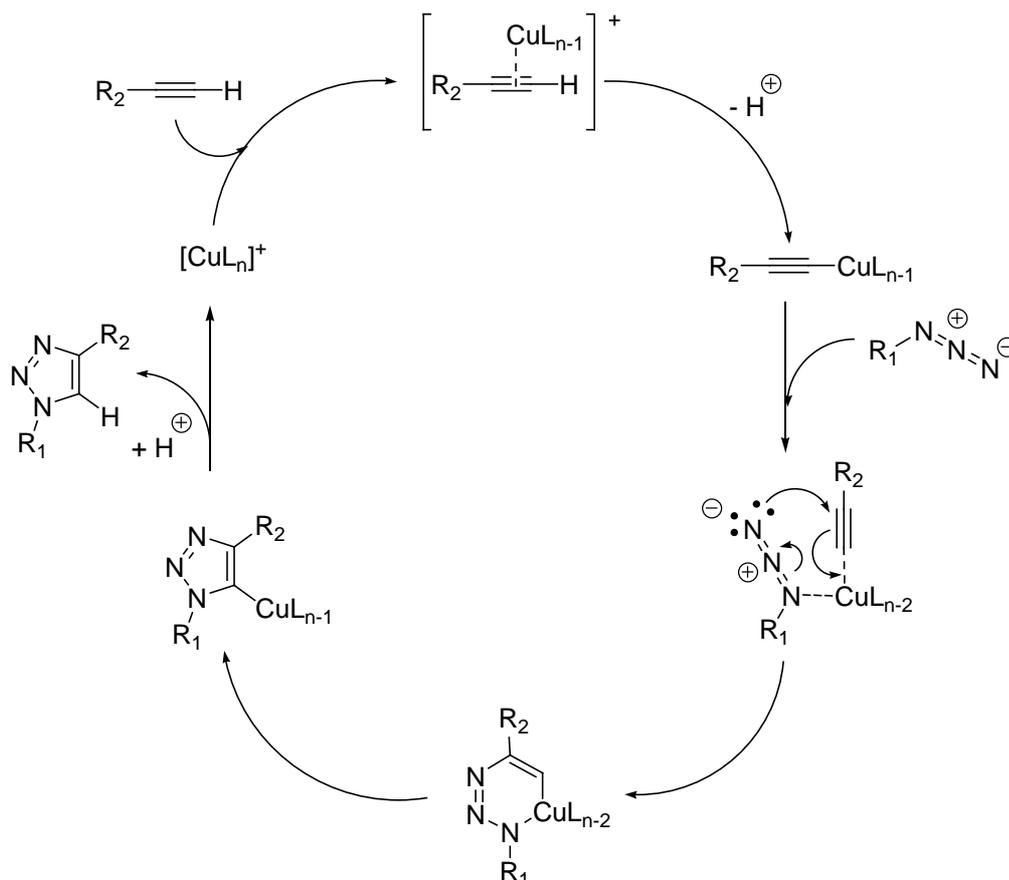
La réaction est insensible aux conditions de la réaction tant que le Cu(I) est présent et peut être accomplie dans un environnement aqueux ou organique avec une grande variété de solvants à la fois polaires ou apolaires que ce soit en solution ou sur support solide.

<sup>116</sup> C.W. Tornøe, C. Christensen and M. Meldal, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3057-3064.

<sup>117</sup> V.V. Rostovtsev, L.G. Green, V.V. Fokin and B.K. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 2596-2599.

La source de Cu(I) peut être introduite de différentes manières. Une méthode commune consiste à réduire *in situ* des sels de cuivre (II), apportés soit par du sulfate de cuivre pentahydrate  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ou par l'acétate de cuivre  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ . Généralement, la réaction est réalisée dans un mélange *t*BuOH/ $\text{H}_2\text{O}$  en présence d'un agent réducteur en excès, le plus souvent l'ascorbate de sodium, le sel de sodium de la vitamine C. L'oxydation du cuivre métallique est une autre façon de générer du cuivre (I) par l'intermédiaire d'un large excès de cuivre en tournure ou en poudre bien que cette procédure nécessite des temps de réactions plus longs ainsi qu'une plus grande quantité de cuivre.<sup>118</sup>

L'utilisation directe des sels de cuivre (I) est décrite comme étant la méthode la plus sensible aux conditions réactionnelles en raison des éventuelles réactions d'homocouplage des fonctions alcynes vraies. Cette approche nécessite la présence d'une base azotée telle que la TEA, la *N,N*-diisopropyléthylamine (DIEA), la pyridine ou encore la 2,6-lutidine et la plupart du temps l'utilisation de l'iodure de cuivre CuI comme source de cuivre(I).



**Schéma 3-69** : Mécanisme réactionnel de la cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée par le Cu(I) entre un alcyne vrai et un azoture d'alkyle.

<sup>118</sup> V.D. Bock, H. Hiemstra, J.H van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 2006, 51-68 ; V.O. Rodinov, V.V. Fokin, M.G. Finn, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 2210-2215.

Un mécanisme réactionnel de la CuAAC a été proposé, comprenant globalement cinq étapes qui sont reportées sur le schéma 3-68<sup>119</sup>.

Après la perte d'un ligand, le Cu<sup>+</sup> se coordine avec les électrons  $\pi$  de l'acétylène, pour abaisser le pK<sub>a</sub> du proton acétylénique et conduire à la formation de l'acétylure de cuivre. La dissociation d'un second ligand sur le complexe de cuivre permet la fixation et l'activation de l'azoture d'alkyle qui via l'atome d'azote terminal chargé peut venir ensuite attaquer le carbone central sp de l'acétylure de cuivre, conduisant à un réarrangement du complexe et à la formation du métallacycle à six centres. La contraction du métallacycle conduit au dérivé cuivré triazole 1,4-disubstitué qui après protonation permet d'isoler le composé triazolé 1,4-disubstitué souhaité et de régénérer le catalyseur au cuivre.

A noter, qu'il est maintenant établi via des mesures cinétiques que la réaction de CuAAC est du second ordre et dépend notamment des concentrations de [L<sub>n</sub>Cu] et [alcyne]<sup>120</sup>, ce qui laisse présager la participation dans l'état de transition de la réaction de plus d'un atome de Cu du catalyseur. En effet, la base de donnée cristallographique de Cambridge indique que 90% des structures d'un acétylure de cuivre ont leur triple liaison coordonnée à au minimum trois atomes de Cu, indiquant que les électrons  $\pi$  de l'alcyne sont fortement impliqués dans la sphère de coordination des atomes de Cu(I), rendant ainsi le second carbone partiellement chargé.

De même, le CuI se trouvant majoritairement en solution sous la forme de clusters Cu<sub>n</sub>I<sub>n</sub>, il est possible que l'état de transition précédant la formation du métallocycle à six centres n'ait pas nécessairement l'acétylure et l'azoture coordonnés sur le même atome de Cu. Cette possibilité a aussi été indiquée par le calcul et des études mécanistiques de plusieurs équipes de recherche<sup>121</sup>.

De ce fait, la réaction de « click chemistry » est devenue une méthode de ligation efficace et très générale permettant de greffer aisément des biomolécules<sup>122</sup>, des étiquettes *in vivo*<sup>123</sup>, ou encore de concevoir des macromolécules telles que des polymères et des dendrimères.<sup>124</sup>

<sup>119</sup> F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V.V. Rostovtsev, L. Noodleman, K.B. Sharpless and V.V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 210-216.

<sup>120</sup> V.O. Rodionov, V.V. Fokin and M.G. Finn, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 2210-2215.

<sup>121</sup> V.D. Bock, H. Hiemstra and J.H. Van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 51-68 ; B.F. Straub, *Chem. Commun.*, **2007**, 3868-3870.

<sup>122</sup> A.E. Speers, G.C. Adam and B.F. Cravatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 4686-4687.

<sup>123</sup> K.E. Beatty, F. Xie, Q. Wang, D.A. Tirrell, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 14150-14151 ; A. Deiters and P.G. Schultz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 1521-1524.

<sup>124</sup> W.H. Binder and R. Sachsenhofer, *Macromol. Rapid Commun.*, **2007**, 28, 15-54 ; J.F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 1018-1025 ; E.S. Read and S.P. Armes, *Chem. Commun.*, **2007**, 3021-3035.

## ii) Préparation du premier tripode amphiphile facial constitué de trois résidus glucosidiques

Dans un premier temps, nous avons préparé l'azoture de glucose peracétylé **50** qui peut être obtenu simplement à partir du bromo- $\alpha$ -D-glucopyranose **39** solubilisé dans du DMF selon une réaction de type  $S_N2$  en présence d'azoture de sodium. Après 24 h de réaction, on récupère le composé attendu **50** après recristallisation dans l'éther isopropylique avec un rendement de 69% (Schéma 3-69).

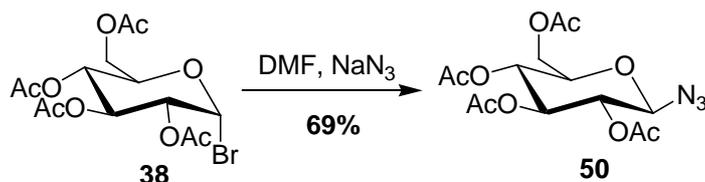


Schéma 3-71 : Schéma de synthèse de la formation du composé **50** à partir du bromo- $\alpha$ -D-glucopyranose **38**.

On a également synthétisé l'alcyne **51** à partir du dérivé chloré **40** solubilisé dans du DMF anhydre en présence du même excès (3,6 éq) de NaH à 60% et d'alcool propargylique. Après 18 h de réaction à température ambiante, on récupère le produit attendu **51** après purification par chromatographie et traitement du milieu réactionnel avec un rendement de 65% (Schéma 3-70).

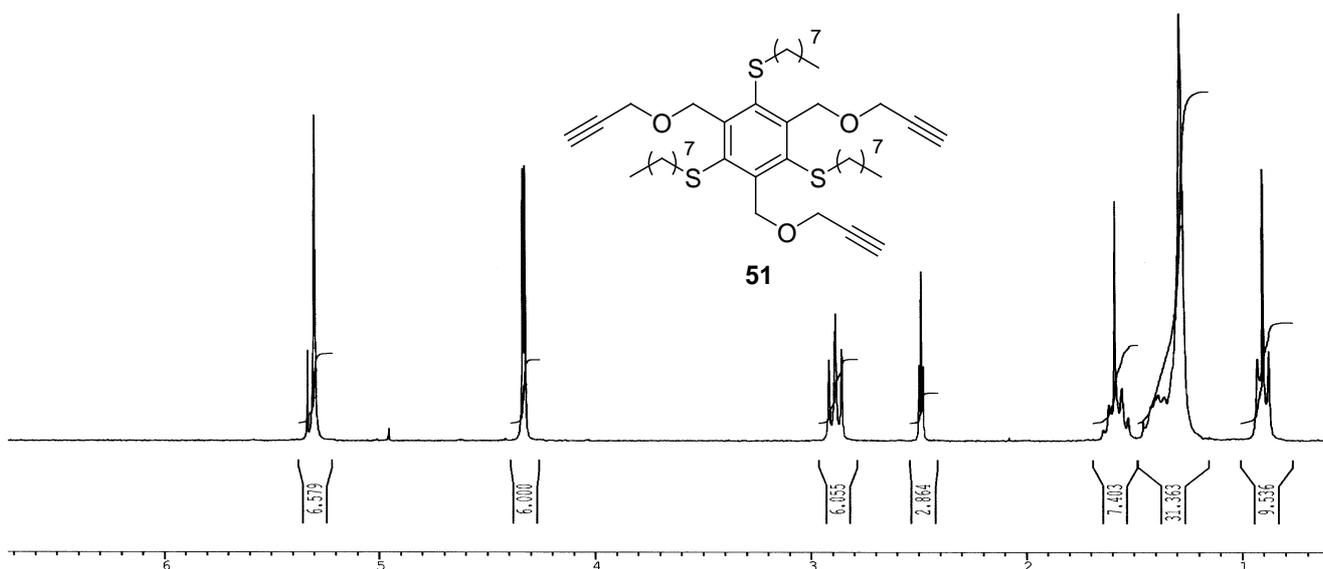
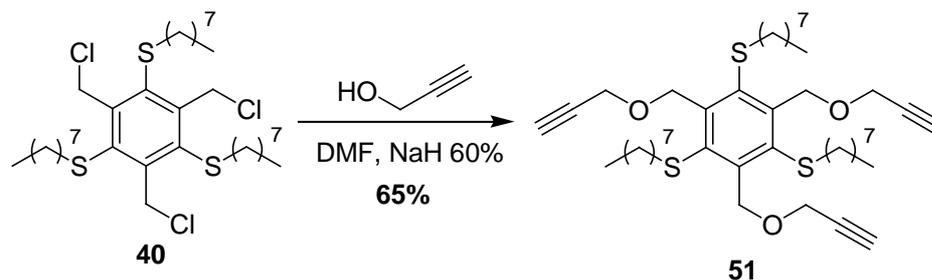


Figure 3-57 : Spectre RMN  $^1H$  du composé **51** solubilisé dans le  $CDCl_3$ .

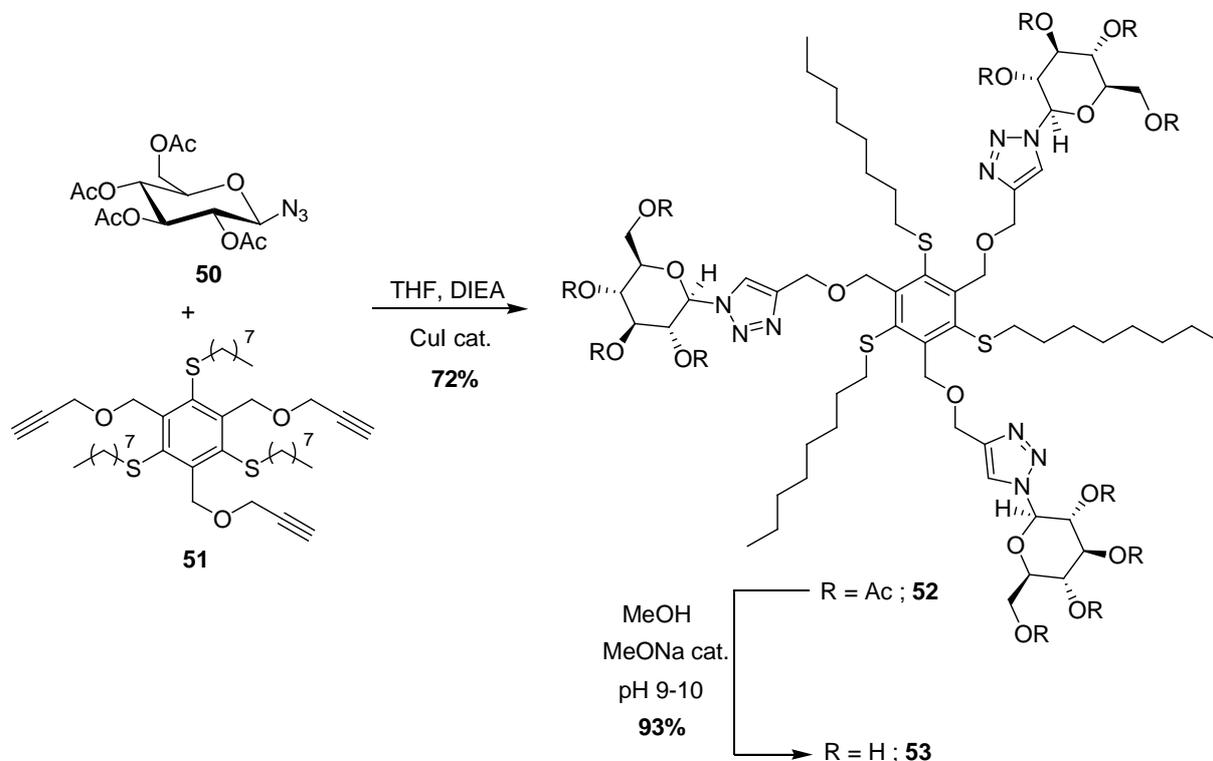
On observe en RMN  $^1H$  les signaux caractéristiques des fonctions propargyles, c'est à dire le doublet à 4,3 ppm (6H) correspondant aux protons oxy-méthylènes en  $\alpha$  de la triple

liaison ainsi que le triplet à 2,5 ppm d'intégration 3H correspondant aux protons acétyléniques (Figure 3-29).



**Schéma 3-72 :** Schéma de synthèse de la réaction de Williamson du dérivé chloré **40** avec l'alcool propargylique.

Disposant des synthons adéquats **50** et **51**, nous avons donc pu réaliser la réaction de « click chemistry » dans du THF en présence d'un excès de DIEA (6 éq) et d'une quantité catalytique de CuI (0,1 éq par fonction alcyne). Après addition de tous les réactifs, le milieu réactionnel prend rapidement une coloration verte puis on laisse la réaction se poursuivre pendant 24 h à température ambiante. Après traitement du milieu réactionnel par du NH<sub>4</sub>Cl saturé, on récupère le tripode acétylé **52** attendu après chromatographie avec un rendement satisfaisant de 72% (Schéma 3-71).



**Schéma 3-73 :** Séquence réactionnelle basée sur la réaction de « click chemistry » pour préparer le tripode amphiphile facial comportant des chaînes octyles et trois motifs glucosidiques.

La première visualisation du spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé isolé et solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$  nous a tout de suite permis de confirmer l'obtention du tripode acétylé **52** attendu. En effet, un des grands avantages de la « click chemistry » est que l'on peut facilement évaluer si la cycloaddition 1,3-dipolaire s'est produite, par la présence d'un singulet fortement déblindé vers 8 ppm caractéristique du proton du cycle 1,2,3-triazole.

Dans notre cas, on note tout d'abord la disparition du triplet caractéristique des protons acétyléniques à 2,5 ppm signe que toutes les fonctions alcynes vraies ont réagi et on observe également l'apparition du singulet déblindé à 7,9 ppm intégrant 3H caractéristique des protons du cycle triazole. On distingue aussi le doublet à 5,9 ppm ( $J = 9$  Hz) intégrant 3H correspondant aux protons anomériques  $\alpha$  des motifs glucosidiques, le système de multiplet entre 4 ppm et 5,5 ppm des protons glucosidiques ainsi que les singulets blindés autour de 2 ppm caractéristiques des fonctions acétyles présentes sur le glucose (Figure 3-30).

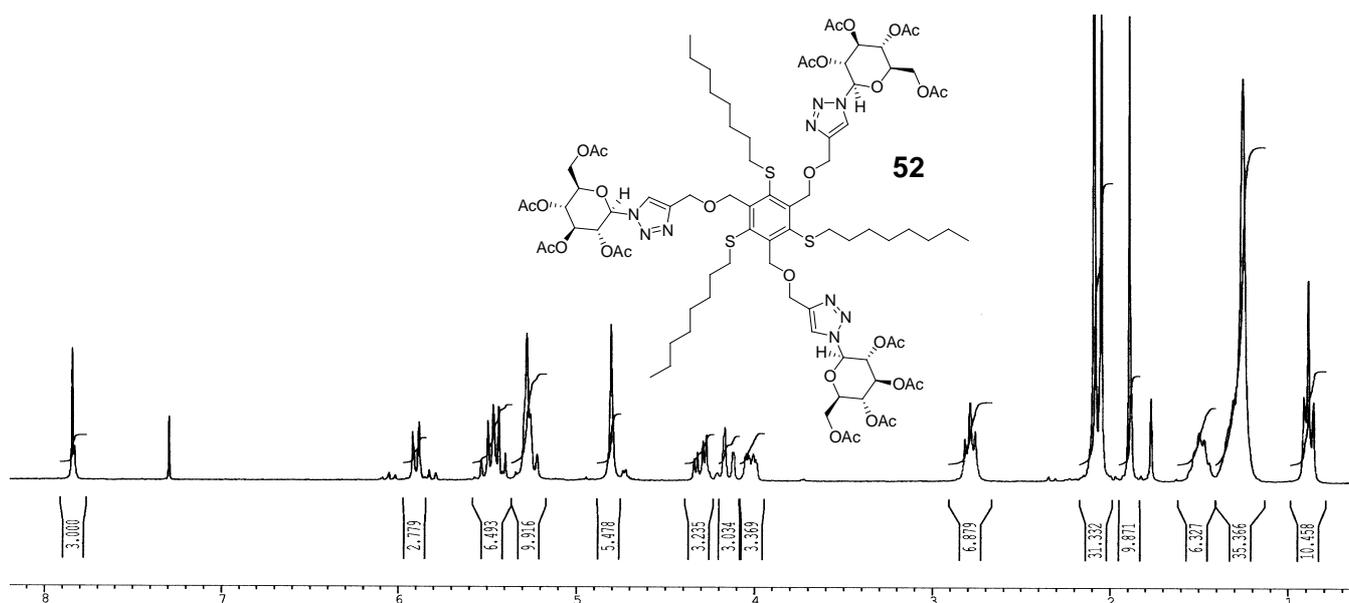
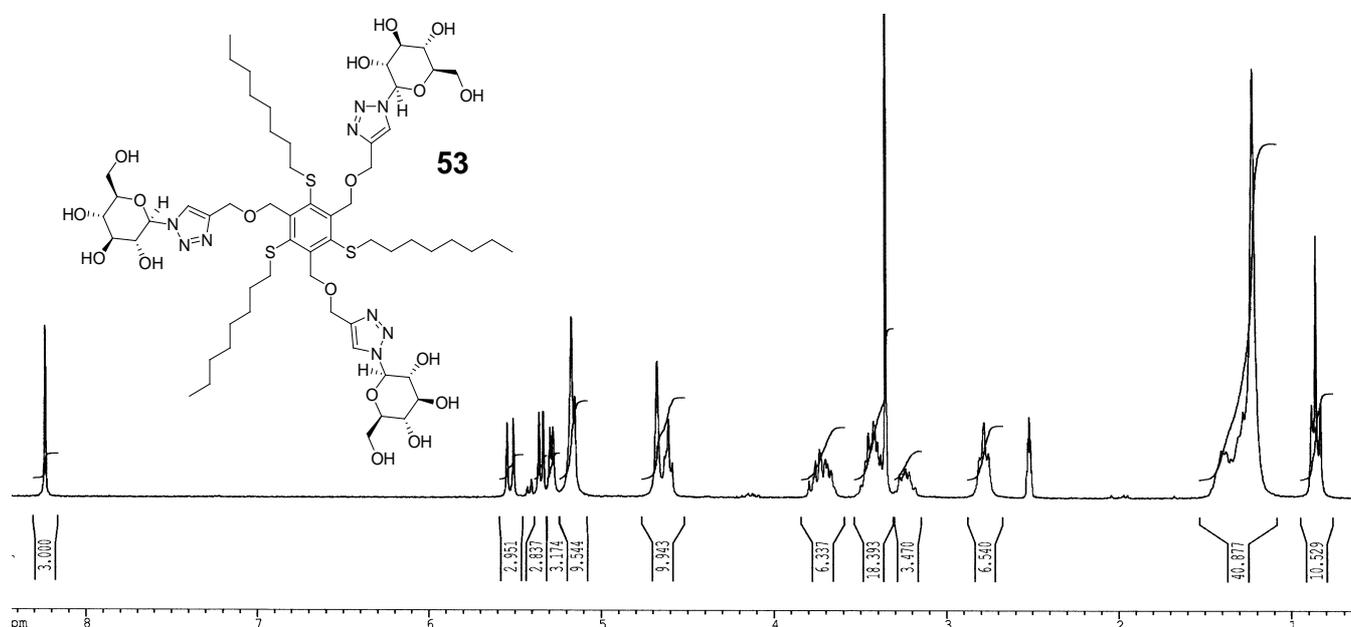


Figure 3-59 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode acétylé **52** solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Le composé **52** a ensuite été déprotégé par transestérification dans du MeOH anhydre avec une quantité catalytique de méthylate de sodium pour ajuster le pH à 9-10. Le milieu réactionnel est agité 24 h à température ambiante pour s'assurer de la déprotection de toutes les fonctions esters et on acidifie la solution avec la résine acide IRC-50. On obtient le tripode final **53** avec un rendement de 93% après une chromatographie d'exclusion de taille Séphadex LH-20 dans le MeOH. Le produit a été parfaitement décrit et caractérisé par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS).

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode **53** solubilisé dans le DMSO deutéré ne comporte plus de signaux singulets autour de 2 ppm montrant bien que l'on a transestérifié toutes les fonctions esters. On retrouve également les protons des cycles triazoles à 8,25 ppm ainsi que le doublet des protons anomériques  $\alpha$  qui se situe cette fois à 5,5 ppm (Figure 3-31).



**Figure 3-61** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode final **53** solubilisé dans le DMSO deutéré.

Cependant, la solubilité du composé **53** dans l'eau est vraiment très faible (<176 mg/L) et s'accompagne d'une coloration bleutée caractéristique d'un effet Tyndall bien connu indiquant la présence de particules en solution dont la taille est comparable à la longueur d'onde de la lumière.

Pour améliorer la solubilité des ces amphiphiles faciaux, deux possibilités s'offrent à nous : (i) augmenter le nombre de motifs glucose pour augmenter l'hydrophilie des tensioactifs ou (ii) diminuer la longueur des chaînes grasses pour limiter l'hydrophobie de ces composés.

### **iii) Préparation des glycodendrimères amphiphiles faciaux**

Dans un premier temps, nous nous sommes orientés vers la première possibilité tout en conservant notre stratégie basée sur la réaction de « click chemistry ». Pour cela, nous avons synthétisé deux précurseurs acrylamides propargylés suivant une méthodologie décrite dans la

littérature<sup>125</sup>, qui devraient nous permettre de fonctionnaliser ces tensioactifs tripodes par 6 ou 9 motifs glucose.

Pour obtenir des dérivés constitués de 9 glucoses, nous avons propargylé les trois fonctions alcools du THAM. Le THAM est mis en réaction dans le DMF avec un excès de bromure de propargyle et d'une poudre fine de potasse. L'acrylamide propargylé **54** est obtenu avec un rendement de 63% après chromatographie et recristallisation dans un mélange AcOEt/*n*-hexane (Schéma 3-72).

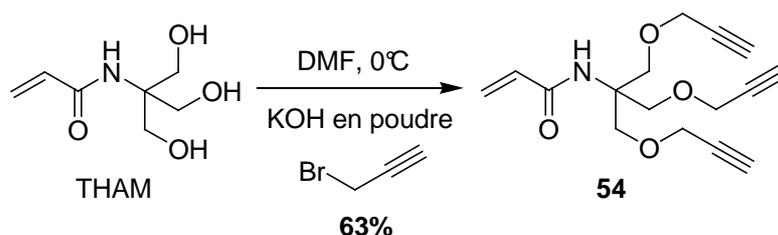


Schéma 3-74 : Schéma de synthèse du THAM propargylé **54**.

Le spectre RMN <sup>1</sup>H de l'acrylamide **54** permet de visualiser le triplet à 2,5 ppm et le doublet à 4,2 ppm correspondant respectivement aux protons acétyléniques et aux protons méthylènes en α des triples liaisons caractéristiques des fonctions propargyles. On observe également un singulet à 3,9 ppm correspondant aux méthylènes en α des atomes d'oxygène ainsi que les signaux caractéristiques d'un système vinylique entre 5,6 ppm et 6,3 ppm.

Selon la même méthodologie, nous avons propargylé l'intermédiaire N,N-bis(2-hydroxyéthyl)acrylamide brut qui est obtenu par la condensation à 0°C du chlorure d'acryloyle avec la diéthanolamine dans un mélange de MeOH et de potasse. Cette séquence réactionnelle permet d'obtenir l'acrylamide dipropargylé **55** désiré avec un rendement de 42% sur l'ensemble des deux étapes (Schéma 3-73).

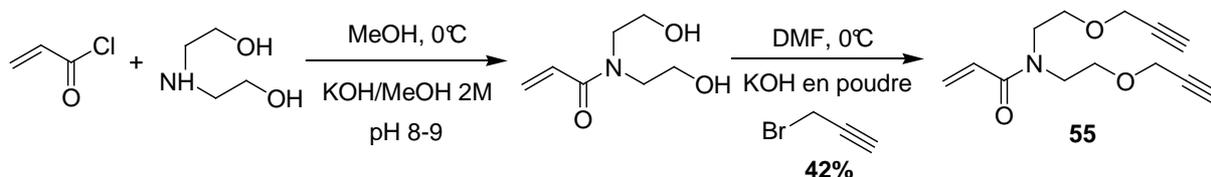


Schéma 3-75 : Schéma de synthèse de l'acrylamide dipropargylé **55**.

<sup>125</sup> Y.M. Chabre, C. Contino-Pépin, V. Placide, T. Chieh Shiao and R. Roy, *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 5602-5605.

A noter que le spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **55** montre que le triplet des protons acétyléniques est dédoublé autour de 2,4 ppm semblant indiquer que les protons sont situés dans un environnement chimique légèrement différent sur la molécule (Figure 3-32).

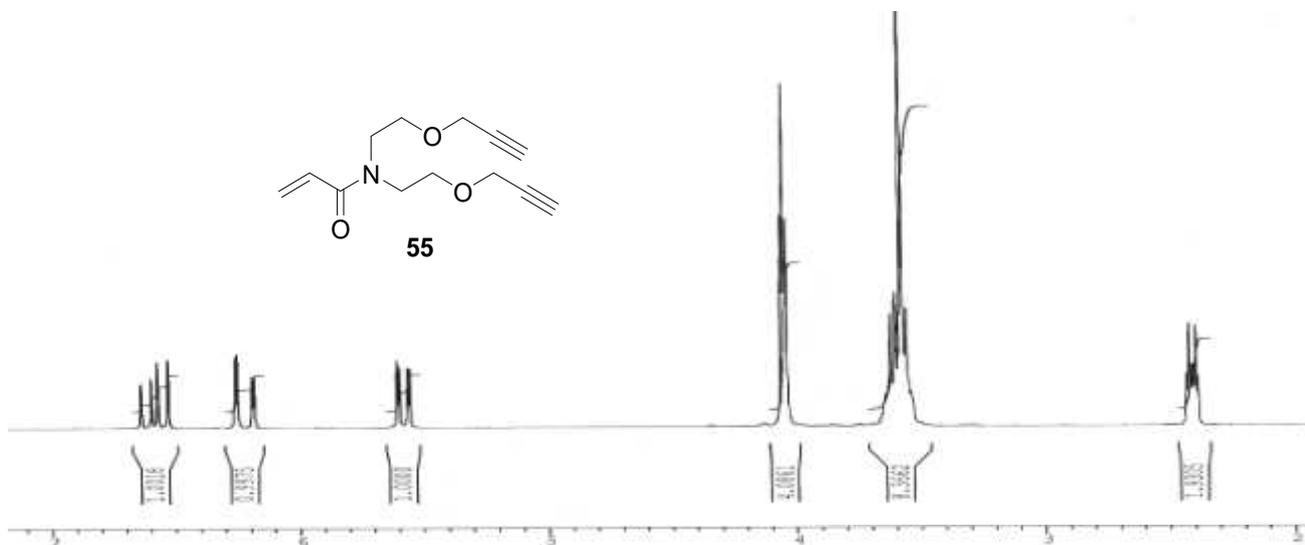


Figure 3-63 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **55** solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Ayant à disposition les synthons adéquats, nous avons donc pu effectuer une addition conjuguée du dérivé thioacétate **42** sur l'acrylamide dipropargylé **55** dans les conditions réductrices déjà utilisées avec cette fois un mélange MeOH/DMF (2:1) chauffé à  $50^\circ\text{C}$  (Schéma 3-74).

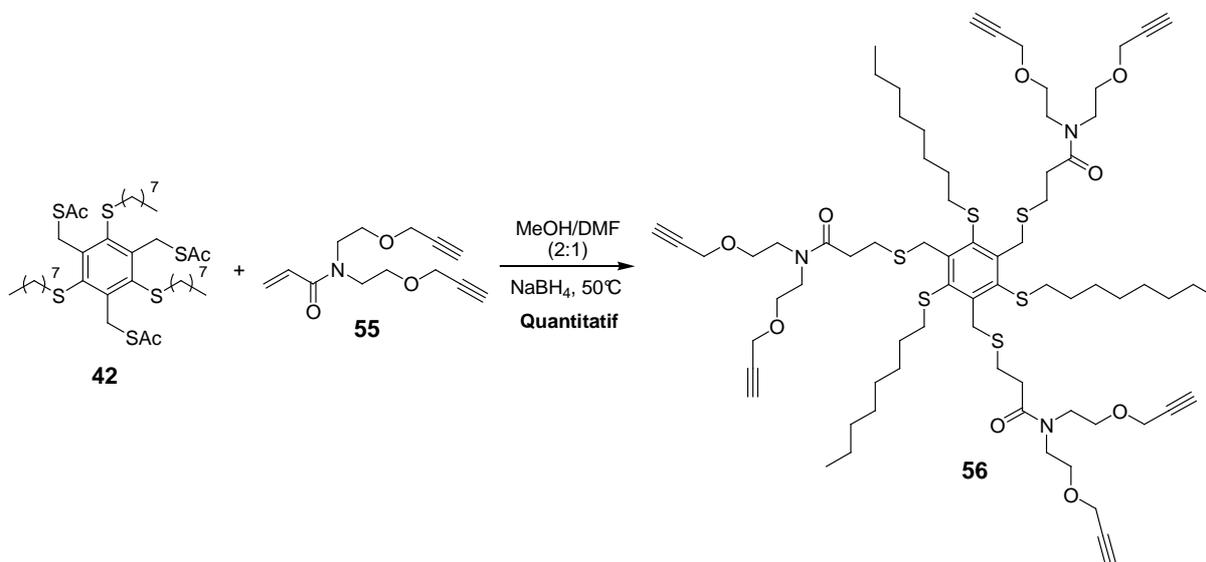


Schéma 3-76 : Schéma de synthèse de l'addition de Michael du thioacétate **42** sur le dérivé acrylamide **56**.

Après 20 h de réaction et le traitement du milieu réactionnel, on isole le composé **56** attendu avec un rendement quantitatif après une chromatographie d'exclusion de taille. On

retrouve en RMN  $^1\text{H}$  un triplet dédoublé à 2,45 ppm intégrant pour les six protons des fonctions acétylènes, montrant que l'on a complété les 3 additions conjuguées (Figure 3-33).

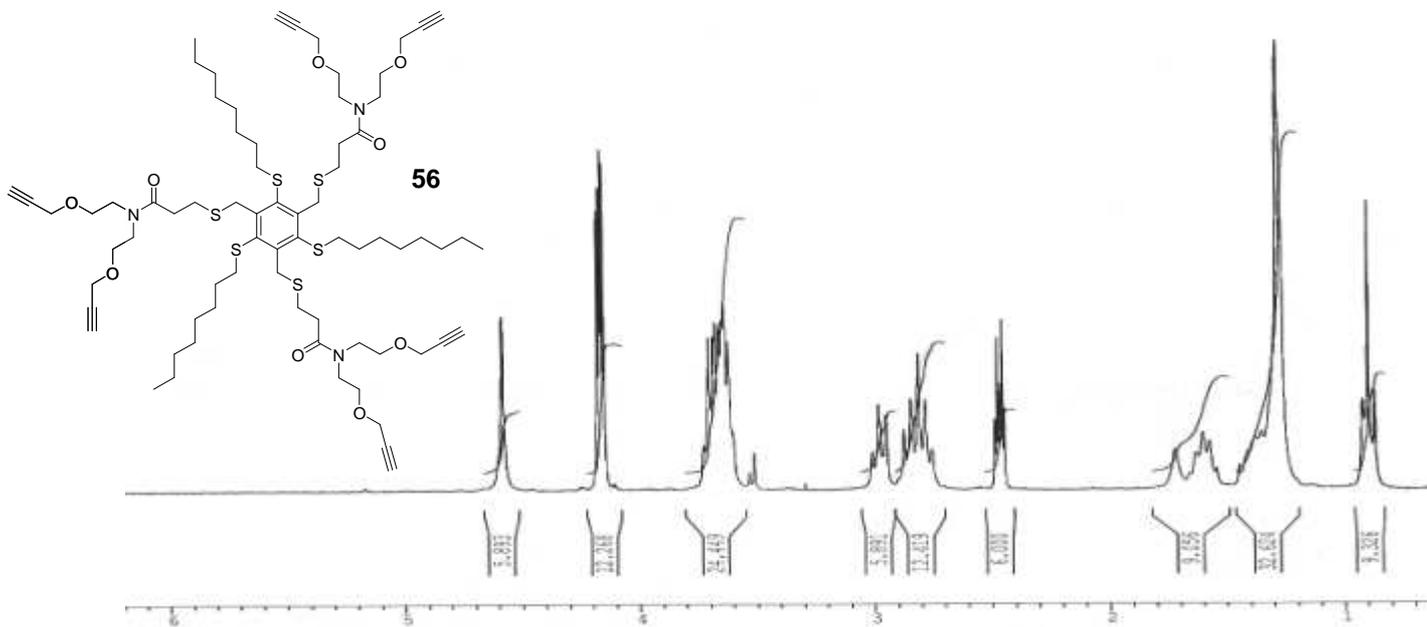


Figure 3-65 : Spectre RMN $^1\text{H}$  du composé **61** solubilisé dans le  $\text{CDCl}_3$ .

De la même façon, nous avons réalisé l'addition de Michael du thioacétate **42** sur le THAM propargylé **54**, ce qui nous a permis d'obtenir le composé **57** attendu avec un rendement de 68% (Schéma 3-75).

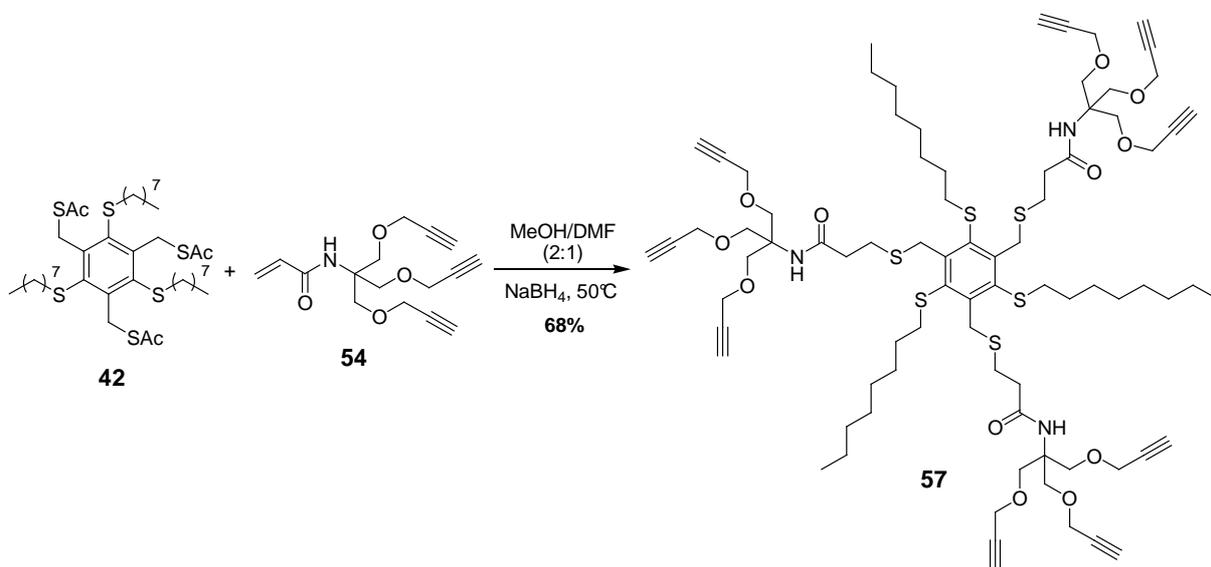


Schéma 3-77 : Schéma de synthèse de l'addition conjuguée du thioacétate **42** sur l'acrylamide propargylé **57**.

Là encore, on observe en RMN  $^1\text{H}$  le triplet à 2,5 ppm des protons acétyléniques intégrant ici pour 9H. Le signal est superposé à un autre triplet correspondant lui aux 6

protons méthylènes adjacents des fonctions amide. On peut citer également la présence du singulet des protons amides à 5,9 ppm intégrant 3H ainsi que le singulet à 3,9 ppm intégrant 18H correspondant aux protons méthylènes CH<sub>2</sub>O (Figure 3-34).

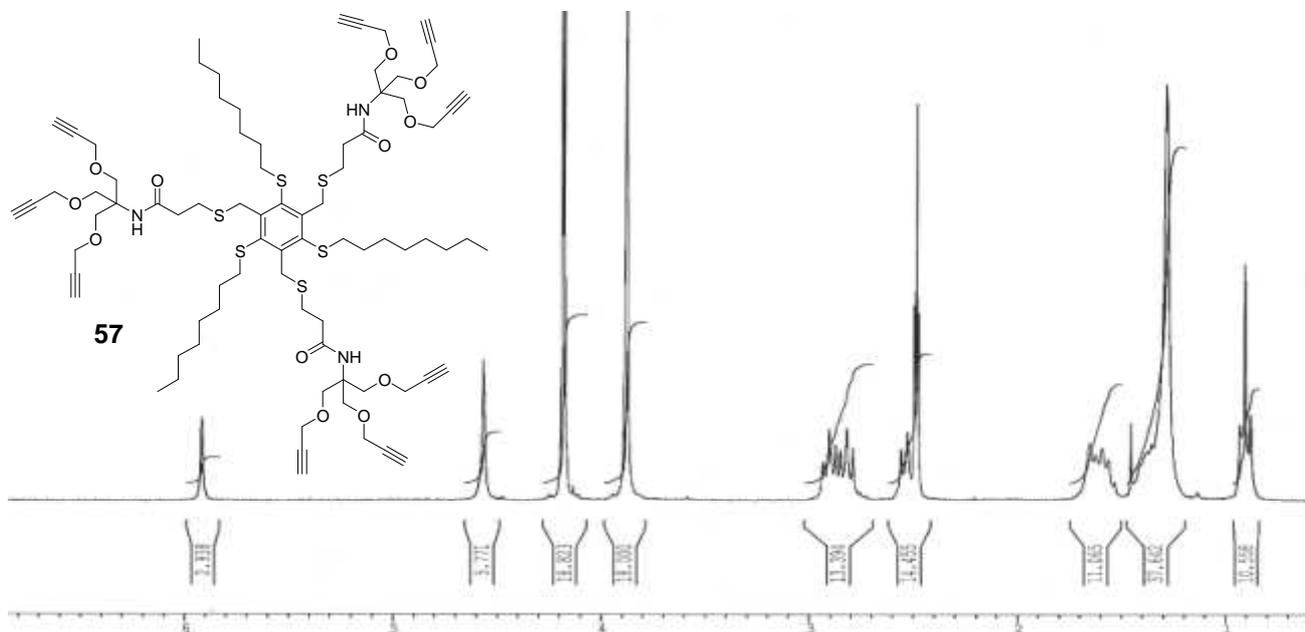


Figure 3-67 : Spectre RMN <sup>1</sup>H du produit **57** solubilisé dans le CDCl<sub>3</sub>.

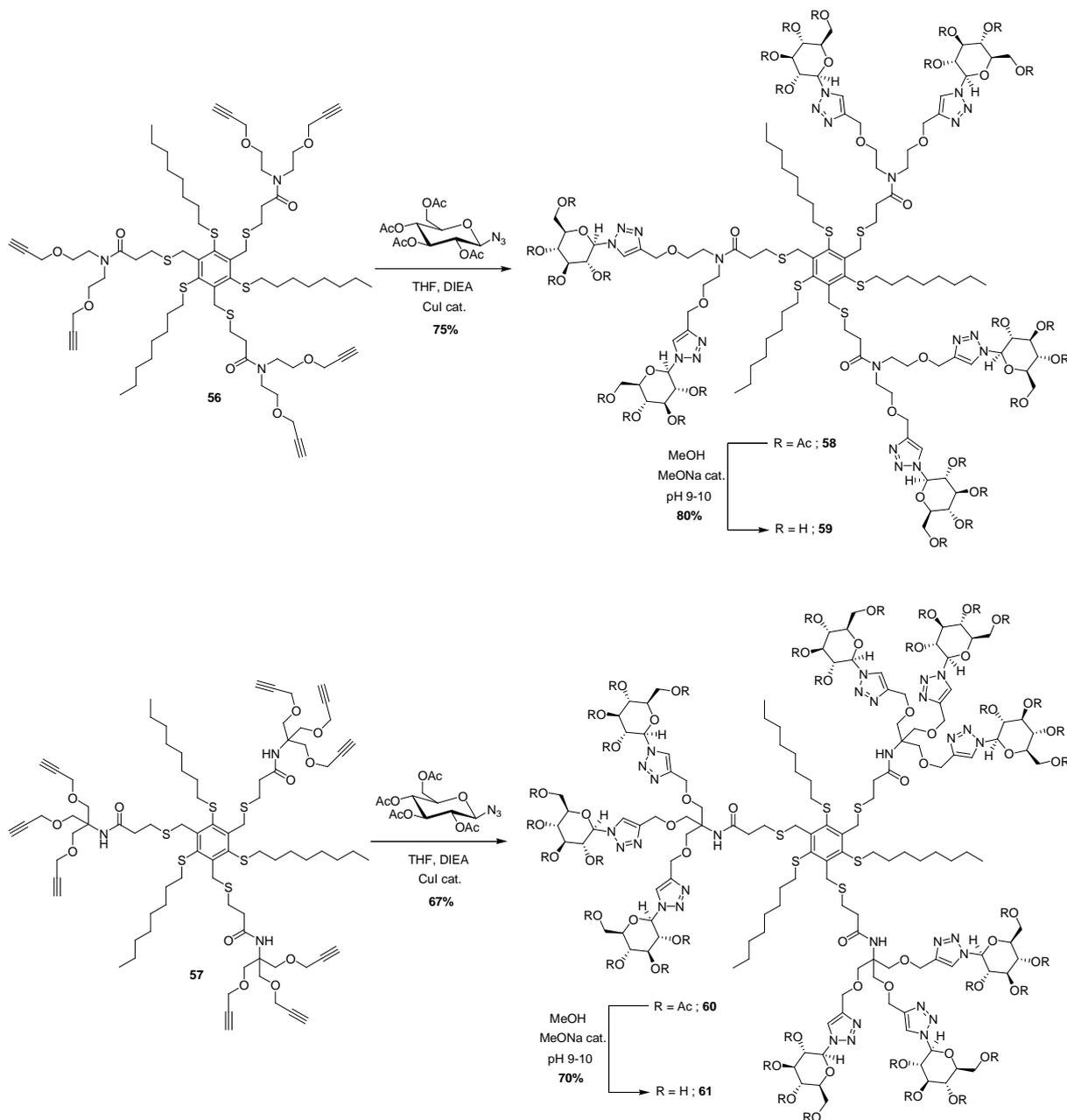
Ainsi, les intermédiaires **56** et **57** disposant idéalement en périphérie de 6 et 9 fonctions acétylène, doivent permettre de préparer des tripodes amphiphiles faciaux comprenant sur leur face hydrophile respectivement 6 ou 9 résidus glucosidiques via une séquence réactionnelle impliquant la réaction de « click chemistry » (Schéma 3-76).

La réaction de « click chemistry » est réalisée sur une période de 24 h afin d'assurer un greffage complet de tous les motifs saccharidiques. Après traitement et purification par chromatographie d'exclusion de taille, on isole les tripodes acétylés **58** et **60** avec des rendements respectifs de 75% et 67%.

A noter qu'il a été nécessaire de chauffer à 50°C les solutions des composés **58** et **60** solubilisés dans le DMSO deutéré lors des expériences de RMN <sup>1</sup>H afin d'obtenir des spectres satisfaisants.

En effet, même dans ces conditions, on peut tout de même remarquer que le signal RMN <sup>1</sup>H des protons de la partie hydrophobe des tripodes est moins bien résolu que celui des protons de la face hydrophile constituée de résidus saccharidiques. Ce comportement laisse supposer que les tripodes adoptent une organisation de type micellaire en solution dans le

DMSO deutéré et donc peuvent affecter le temps de relaxation des protons des chaînes hydrophobes.



**Schéma 3-78 :** Schéma de synthèse des tripodes amphiphiles finaux **59** et **61** comportant respectivement 6 et 9 résidus glucose.

Quoi qu'il en soit, nous pouvons confirmer aisément la formation de la molécule **58** d'après le singulet à 8,3 ppm des protons des cycles triazoles intégrant 6H ainsi que par le doublet à 6,3 ppm des protons anomériques  $\alpha$  intégrant aussi pour 6 protons. On retrouve également les singulets des fonctions acétyles autour 2 ppm ainsi que les signaux caractéristiques des chaînes octyles entre 0,8 ppm et 1,7 ppm (Figure 3-35).

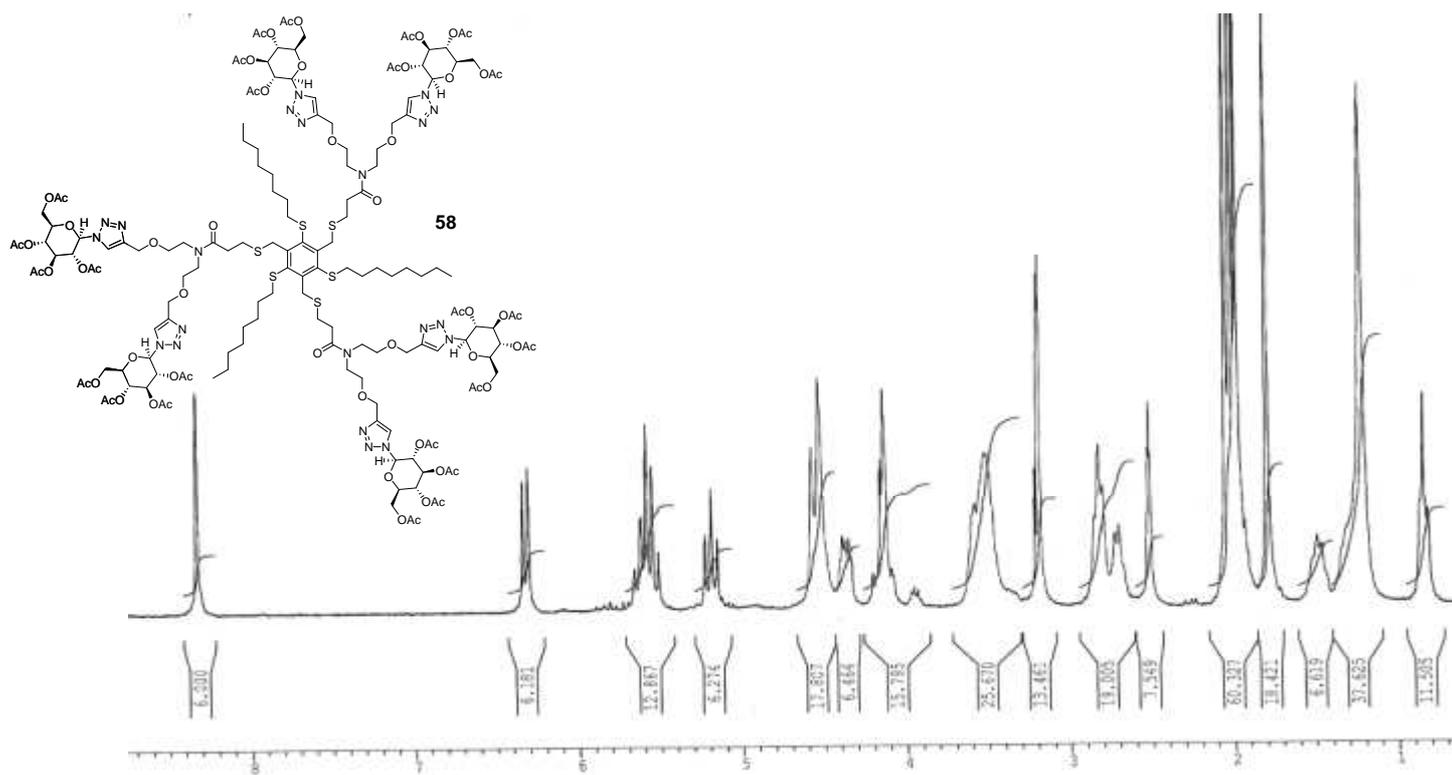


Figure 3-69 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode acétylé **58** en solution à  $50^\circ\text{C}$  dans le DMSO deutéré.

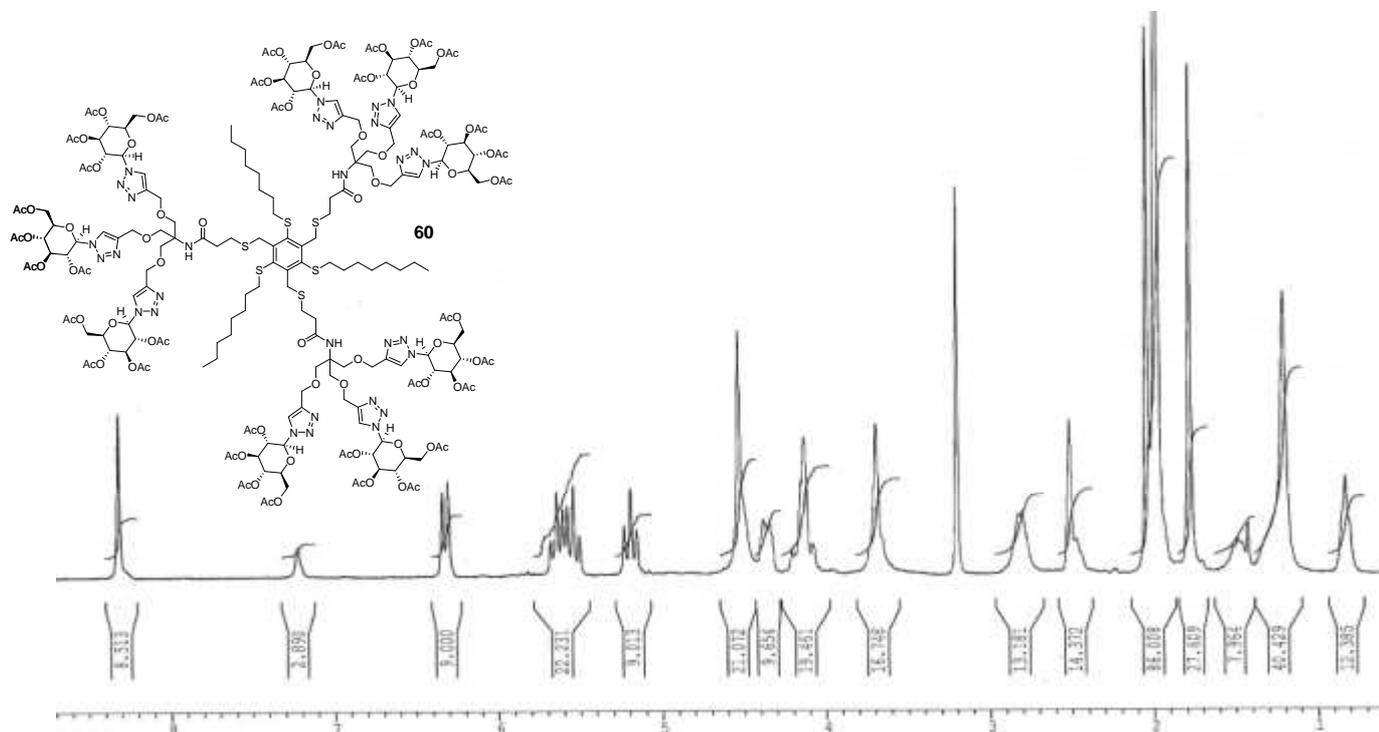


Figure 3-71 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode acétylé **60** en solution à  $50^\circ\text{C}$  dans le DMSO deutéré.

Le constat est le même sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode acétylé **60** comportant 9 résidus glucosidiques qui présente lui aussi le singulet caractéristique du proton des cycles triazoles à 8,3 ppm et le doublet des protons anomériques  $\alpha$  à 6,3 ppm intégrant cette fois tous les deux pour 9 protons. On peut noter la présence du singulet à 7,3 ppm des protons amides, les singulets des fonctions acétyles autour de 2 ppm ainsi que les protons méthylènes  $\text{CH}_2\text{O}$  à 3,7 ppm intégrant pour environ 18H (Figure 3-36).

Les tripodes acétylés **58** et **60** sont ensuite desacétylés dans du MeOH anhydre avec une quantité catalytique de méthylate de sodium. On isole par chromatographie d'exclusion de taille Séphadex LH-20 les tripodes finaux **59** et **61** avec des rendements respectifs de 80% et 70%.

A partir du composé **59**, on observe en RMN  $^1\text{H}$  la disparition des singulets autour de 2 ppm correspondant aux fonctions acétyles ainsi que la présence de plusieurs doublets entre 5 ppm et 5,4 ppm caractéristiques des fonctions alcools libres sur les résidus glucosidiques. On trouve cette fois le doublet des protons anomériques  $\alpha$  situé à 5,6 ppm et le singulet des protons positionnés sur les cycles triazoles à 8,3 ppm (Figure 3-37).

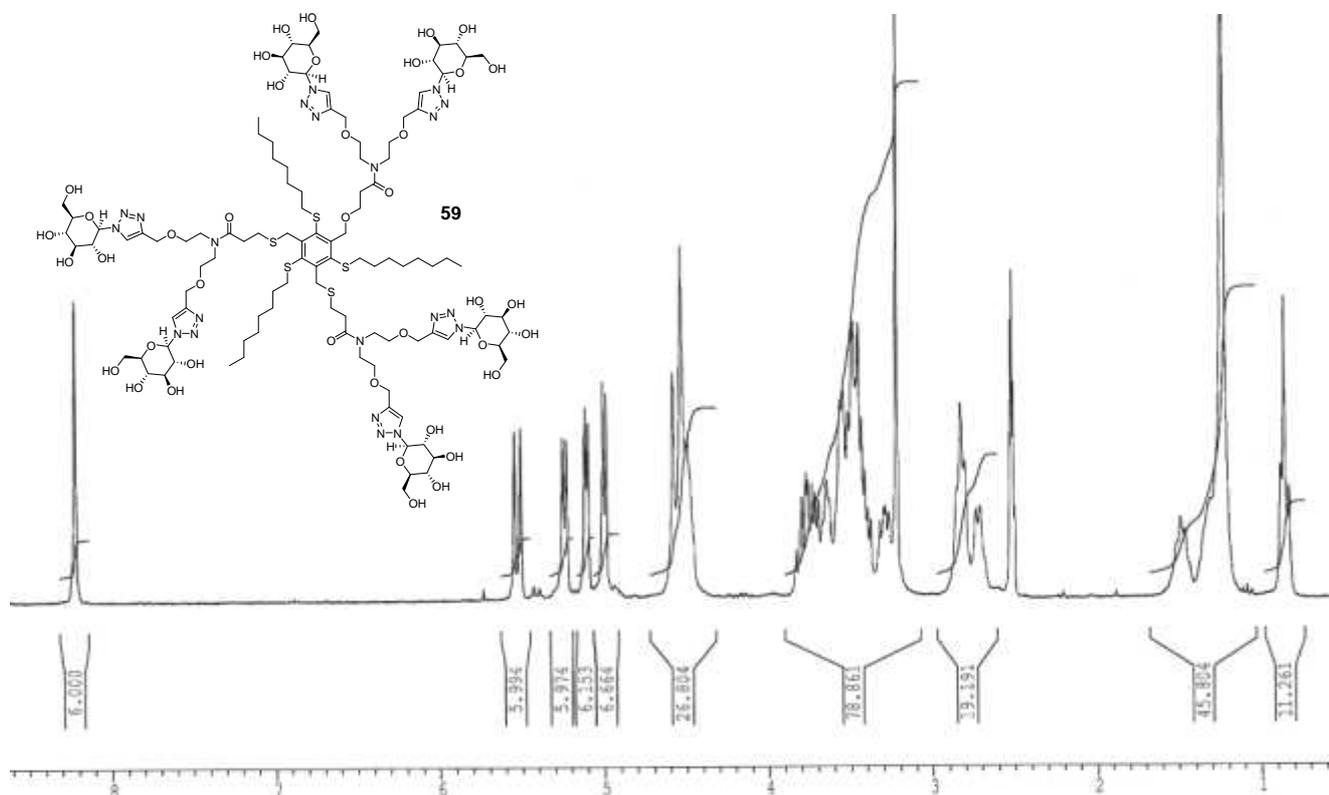


Figure 3-73 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode amphiphile **59** en solution à 50°C dans le DMSO deutéré.

On constate les mêmes observations pour le tripode final **61** en ce qui concerne la disparition des singulets autour de 2 ppm et l'apparition de plusieurs doublets entre 5,2 ppm et 5,6 ppm correspondant aux protons des fonctions alcools ainsi qu'à ceux des protons anomériques  $\alpha$  du sucre. On peut apercevoir le singulet du proton des cycles triazoles à 8,3 ppm et le singulet un peu élargi à 7,5 ppm des protons des fonctions amides (Figure 3-38).

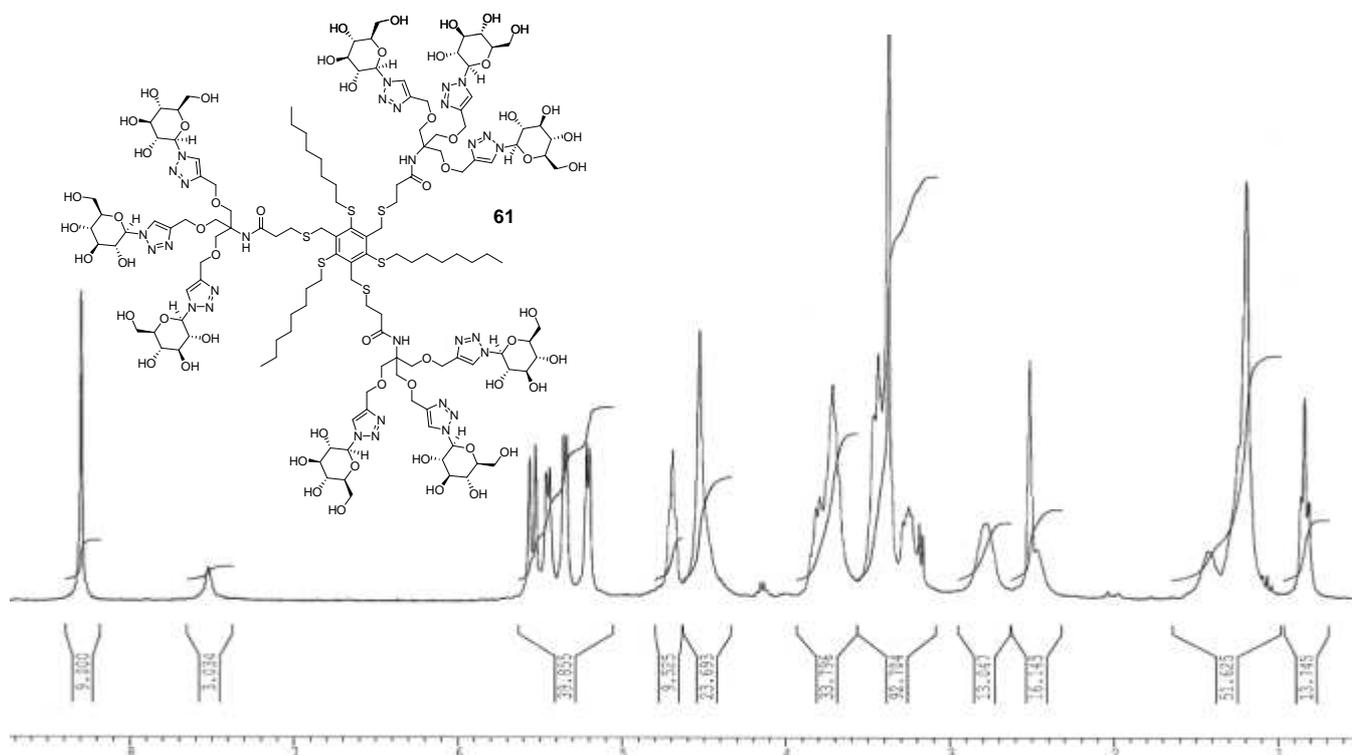


Figure 3-75 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode amphiphile **61** en solution à 50°C dans le DMSO deutéré.

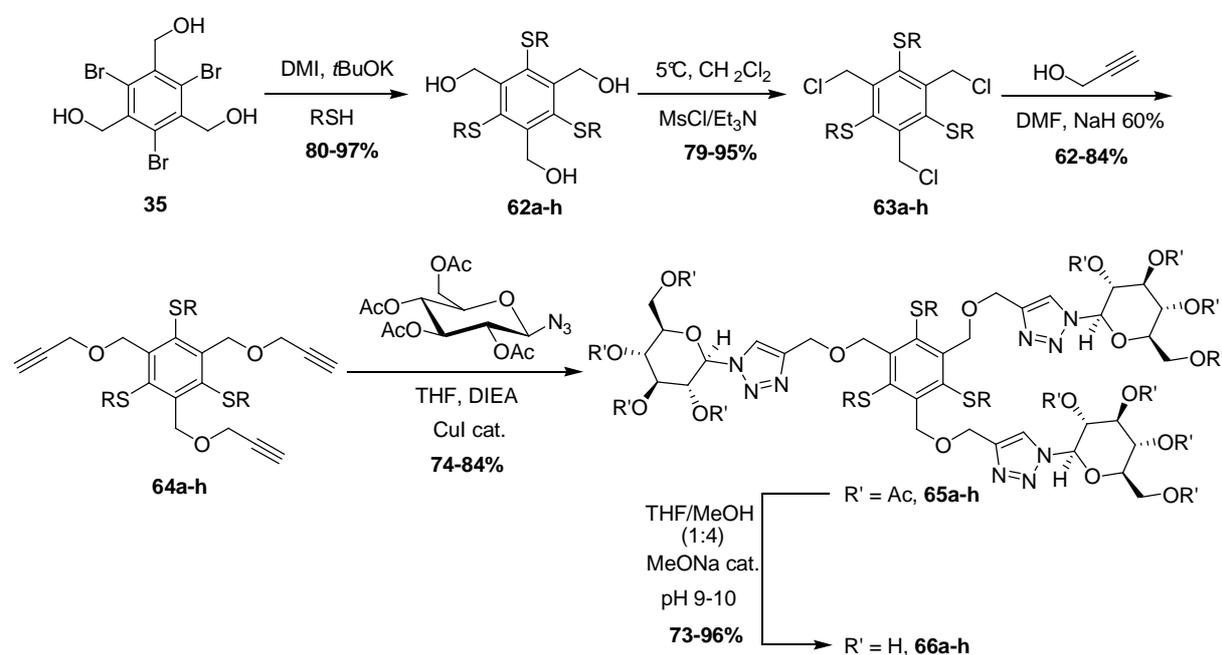
On peut tout de même signaler que les deux glycodendrimères amphiphiles faciaux **59** et **61** sont assez fastidieux à obtenir purs et en quantité suffisamment importante. En effet, les trois dernières étapes de la synthèse nécessitent à chaque fois de réaliser une purification par chromatographie d'exclusion de taille. Pour isoler efficacement les molécules d'intérêt, la technique nous impose de travailler à un débit d'élution très faible (~ une goutte par seconde) en déposant seulement 200 mg du résidu brut pour 100 g de phase stationnaire Séphadex LH-20 sachant que l'on peut avoir dans certains cas jusqu'à 3 g de brut réactionnel à purifier.

En plus de cet inconvénient et comme nous le verrons dans le quatrième chapitre de ce manuscrit, les composés **59** et **61** possèdent des CMC relativement élevées signifiant que, si l'on prend en considération leurs poids moléculaires de respectivement 2570  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  et 3363,72  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , il est nécessaire de disposer de quantités très importantes de produit pour avoir les tripodes amphiphiles **59** et **61** sous une forme associée en solution aqueuse.

Cependant, il faut noter que ces deux composés constitués de 6 et 9 résidus glucose sont hautement solubles dans l'eau. La multiplication des résidus sucre permet donc de contrebalancer l'hydrophobie des trois chaînes octyles de ces tensioactifs tripodes.

#### iv) Deuxième série de tripodes amphiphiles faciaux

Nous avons alors dans un deuxième temps synthétisé, selon une voie tout à fait comparable, une seconde série de tripodes amphiphiles porteurs de chaînes hydrophobes plus courtes, tout en conservant une face hydrophile fixe constituée de trois résidus glucosidiques (Schéma 3-77 et Tableau 3-22).



**Schéma 3-79** : Schéma de synthèse utilisée pour préparer la série de tripodes amphiphiles finaux **66a-h**.

Nous avons fait varier la longueur des chaînes grasses de 3 à 7 carbones en partant des thiols correspondants. Nous avons également synthétisé un analogue isopentyle de manière à observer l'impact de la présence de chaînes ramifiées sur le comportement en milieu aqueux de ces tensioactifs tripodes. Enfin nous avons inséré des noyaux aromatiques séparés de l'atome de soufre par un ou deux méthylènes. Cette petite différence pouvant induire un comportement d'association très différent en solution aqueuse.

A partir du mésitylène, selon cette séquence réactionnelle de 9 étapes, en passant par l'intermédiaire clé **35**, nous avons pu facilement synthétiser une série de 8 tripodes amphiphiles avec des rendements globaux satisfaisants variant entre 25% et 54%. Les

tensioactifs faciaux ont été parfaitement caractérisés par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et HRMS (voir partie expérimentale et les spectres RMN  $^1\text{H}$  en Annexe 2)

Substituant hydrophobe R	Tripode final	Nom	Rendement global
Propyle	<b>66a</b>	C3Glu3	25%
Butyle	<b>66b</b>	C4Glu3	32%
Pentyle	<b>66c</b>	C5Glu3	49%
Isopentyle	<b>66d</b>	iC5Glu3	36%
Héxyle	<b>66e</b>	C6Glu3	42%
Heptyle	<b>66f</b>	C7Glu3	34%
Phényléthyle	<b>66g</b>	PhC2Glu3	39%
Benzyle	<b>66h</b>	BnGlu3	54%

**Tableau 3-22** : Tableau récapitulatif de la série de tripodes amphiphiles faciaux synthétisés.

#### **IV. Conclusion**

En conclusion, nous avons pu voir lors de l'introduction de ce chapitre l'évolution durant ces dernières décennies de la topologie des tensioactifs, passant d'une forme linéaire relativement flexible vers des architectures plus ou moins rigides faisant intervenir la notion d'amphiphilie faciale.

On a vu que cette terminologie définit l'ensemble des molécules possédant une structure rigide plane qui permet de différencier des parties hydrophobes et hydrophiles localisées sur les faces opposées d'un plan. La plupart de ces composés sont dérivés de structures présentes dans la nature et notamment des sels d'acide biliaire, et possèdent généralement des propriétés vraiment différentes des tensioactifs « classiques » d'une part au niveau des interfaces air-eau ainsi que du point de vue de leur mode d'agrégation en solution aqueuse.

En effet, certains de ces composés ont des propriétés uniques qu'il est impossible de retrouver avec les tensioactifs usuels. Ils sont notamment efficaces pour perméabiliser les membranes biologiques et transporter des ions ou des principes actifs, ou encore agir comme agents antibiotiques. Cependant, ce type d'architecture a été très peu utilisé dans un contexte visant à maintenir et stabiliser des protéines membranaires en solution aqueuse dans leur état natif.

En nous appuyant et en extrapolant les concepts proposés par l'équipe de Gellman, nous avons donc conçu et développé une nouvelle famille de composés amphiphiles dont la base structurale est constituée d'un noyau benzénique persubstitué pour créer une ségrégation faciale 1,3,5/2,4,6 sur le cycle aromatique. De ce fait, nous pouvons nous rapprocher de la topologie rigide de leurs tripodes amphiphiles qui est induite sur leur partie hydrophobe par trois chaînes courtes branchées sur un centre carboné quaternaire. Nous avons mis à profit la plateforme rigide du noyau aromatique pour créer l'amphiphilie via une ségrégation faciale en introduisant sélectivement des têtes hydrophiles sur les positions 1,3,5 et des queues hydrophobes sur les positions 2,4,6.

Comme nous avons pu le voir, cette approche a nécessité un important travail de synthèse mais a pu aboutir à la mise au point d'une méthodologie viable et efficace permettant une modulation aisée des faces hydrophiles et hydrophobes. L'utilisation du phloroglucinol comme précurseur de départ ne s'est pas révélé adaptée pour introduire à la fois les parties hydrophiles et hydrophobes quelle que soit la stratégie envisagée. Les précurseurs polyhalogénés mixtes se sont également montrés inadaptés dans les stratégies de synthèse combinant les réactions du couplage organométallique de Sonogashira et/ou la réaction de  $SN_{Ar}$  d'anions thiolates.

Nous avons finalement pu résoudre ce problème majeur et synthétiser de manière efficace des tripodes amphiphiles faciaux à partir du mésitylène qui selon une séquence réactionnelle simple et reproductible de 4 étapes, permet d'obtenir un lot de 90 g de l'intermédiaire clé 1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tribromobenzène **35**.

En effet, ce composé a permis de préparer via les réactions clés de  $SN_{Ar}$  d'anions thiolates et d'addition de Michael par un thioacétate, le tripode amphiphile **47** disposant de trois fonctions acides carboxyliques qui s'est montré capable de complexer des ions  $Ni^{2+}$  (Figure 3-39). Ce complexe pourrait très bien être une alternative aux lipides fluorés et servir

de film lipidique pour la cristallisation 2D des protéines membranaires, tout en restant stable et résistant à la solubilisation des détergents hydrocarbonés grâce à la rigidité du cycle et la multiplication des chaînes hydrophobes.

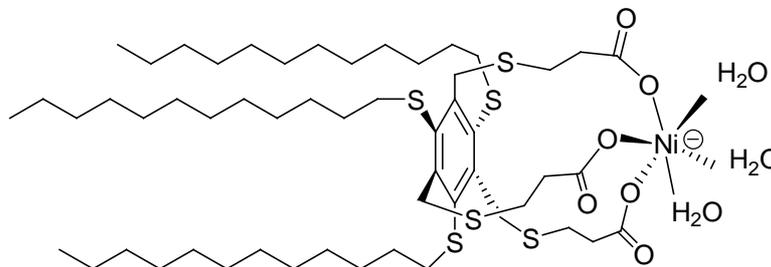


Figure 3-77 : Tripode amphiphile 47 tricarboxylate complexé à un atome de  $\text{Ni}^{2+}$ .

Cette stratégie nous a permis également de préparer deux tripodes amphiphiles porteurs de têtes polaires neutres TRIS avec des chaînes hydrocarbonées hydrophobes de type soit octyle ou bien pentyle (Figure 3-40). Cependant, la contribution hydrophile apportée par la présence des 9 fonctions alcools sur la face polaire est trop faible dans ce cas pour contre balancer le caractère hydrophobe du reste de la molécule et rendre soluble ces tensioactifs en solution aqueuse.

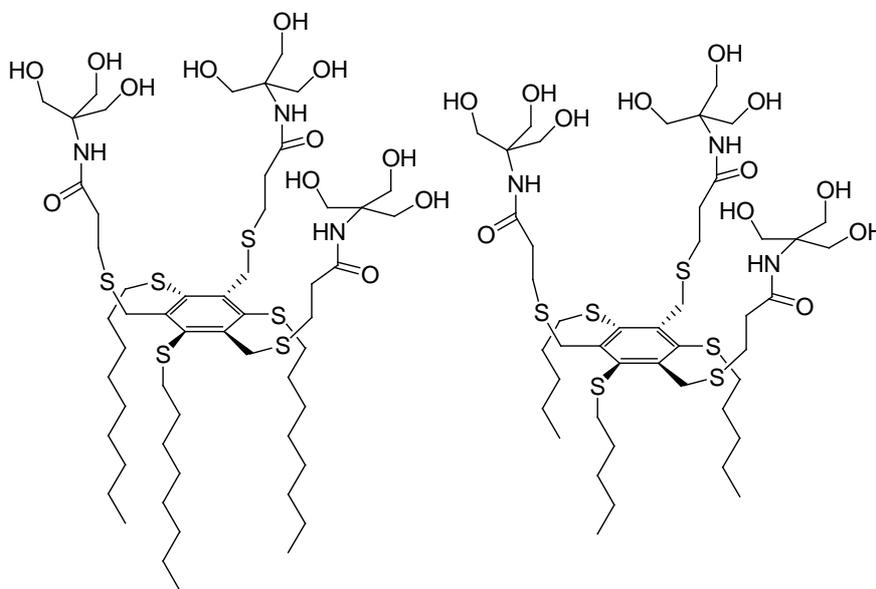
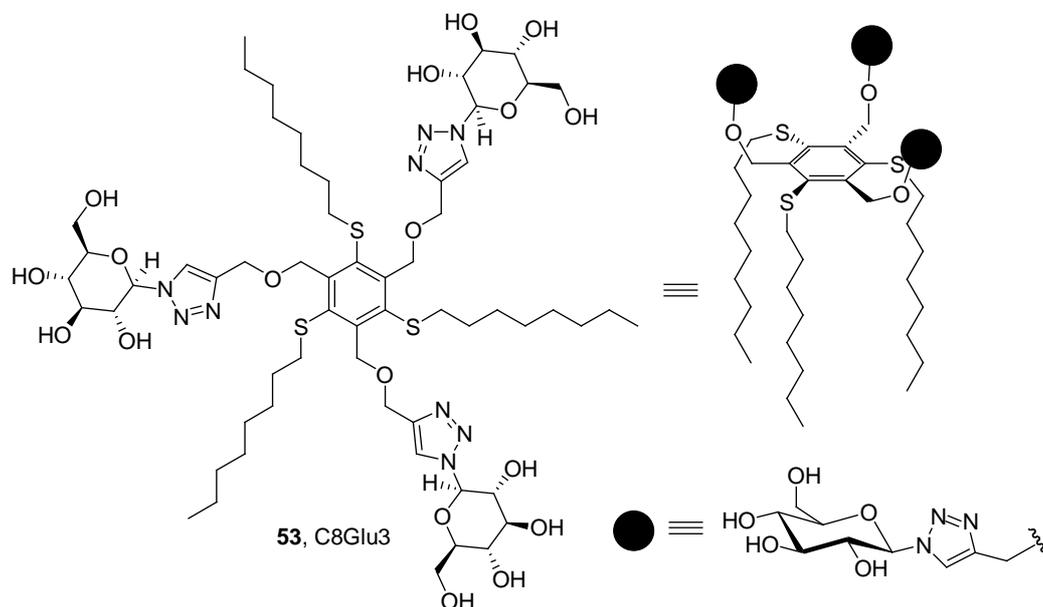


Figure 3-79 : Tripodes amphiphiles porteurs de têtes neutres Tris et de chaînes hydrophobes octyles ou pentyles.

Pour améliorer l'hydrosolubilité de ces composés nous avons utilisé le potentiel de la chimie des sucres. Les réactions de poly-*O*-glycosylation étant potentiellement peu efficaces

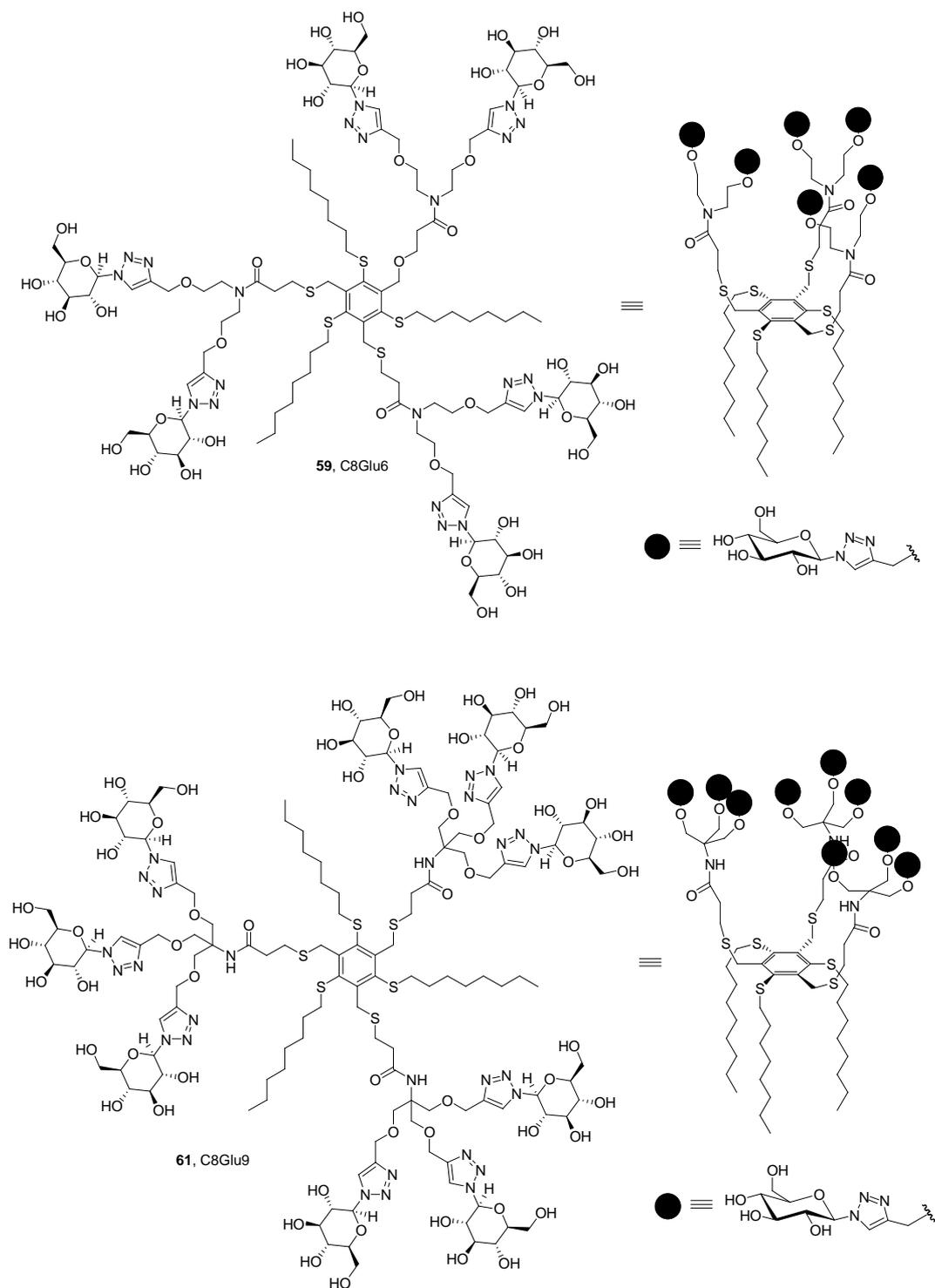
en terme de rendement et de stéréosélectivité nous avons choisi pour la fonctionnalisation polysaccharidique des tripodes amphiphiles, une stratégie de synthèse dite de « click chemistry » très utilisée dans la synthèse des molécules polyfonctionnalisées de type dendrimère.

Grâce à la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée par le Cu(I) (« click chemistry »), nous avons greffé facilement des têtes polaires glucosidiques via des jonctions de type triazole. Cependant, le premier tripode amphiphile **53** composé de trois têtes glucosidiques hydrophiles et de trois chaînes hydrophobes octyles s'est révélé peu soluble en solution aqueuse (Figure 3-41).



**Figure 3-81** : Structure du premier tripode amphiphile **53** constitué de trois têtes polaires glucosidiques et de trois chaînes hydrophobes octyles.

Pour améliorer cette solubilité nous avons synthétisé des dérivés possédant un plus grand nombre de résidus glucose. Nous avons donc préparé en associant la réaction d'addition conjuguée du thioacétate **42** avec un acrylamide propargylé adapté et la réaction de « click chemistry », les deux glycodendrimères amphiphiles **59** et **61** ayant une face hydrophobe fixe constituée de trois chaînes octyles et d'une face hydrophile possédant respectivement 6 ou 9 résidus saccharidiques. La synthèse se fait selon une séquence réactionnelle de 10 étapes conduisant aux tripodes amphiphiles C8Glu6 et C8Glu9 avec des rendements globaux de 24% et 13% (Figure 3-43).



**Figure 3-83 :** Structures des glycodendrimères amphiphiles **59** et **61** comportant respectivement 6 ou 9 résidus saccharidiques.

Enfin, pour augmenter la solubilité de ces tensioactifs tripodes, nous avons synthétisé des dérivés constitués de chaînes hydrocarbonées plus courtes. La synthèse est relativement simple à mettre en oeuvre à partir de l'intermédiaire clé **35** et en seulement cinq

étapes, une série de 8 tripodes amphiphiles faciaux **66a-h** a été synthétisée avec des rendements globaux variant de 15% à 32%.

L'étape suivante consiste à déterminer si réellement ces composés possèdent un caractère tensioactif et quelle est leur capacité d'organisation en milieu aqueux. Il est notamment important de savoir si la multiplication des chaînes hydrophobes permet de préserver le caractère tensioactif de ces composés lorsque la longueur de ces chaînes grasses diminue. L'étude physico-chimique du comportement en milieu aqueux de ces tensioactifs sera abordée dans le chapitre suivant.

***Chapitre 4 : Etude physico-chimique du  
comportement en solution aqueuse des  
tripodes amphiphiles faciaux***

L'objectif du travail décrit dans ce dernier chapitre de thèse a consisté à déterminer si les composés tripodes synthétisés possèdent bien un comportement tensioactif quelque soit le nombre de carbones constituant la partie hydrophobe de ces composés. Un certain nombre de technique a été mis en œuvre afin d'étudier leur comportement aux interfaces :

- La mesure par tensiométrie de la variation de leur tension interfaciale en fonction de leur concentration qui permet d'accéder à la concentration d'agrégation critique (CAC), l'aire à l'interface et la tension superficielle limite.
- La mesure du  $\log k'_w$  par CLHP qui permet d'évaluer l'hydrophobie et *in fine* la balance hydrophile-lipophile de la molécule
- La mesure par diffusion dynamique de lumière de la taille des particules formées par auto-association des tripodes.

## **I. Etude préliminaire de solubilisation des tripodes amphiphiles faciaux**

Avant d'envisager d'étudier le comportement des tripodes en milieu aqueux, il était important d'évaluer la solubilité dans l'eau de ces dérivés amphiphiles tripodes (Tableau 4-1).

A l'issue de ces tests, différentes remarques peuvent être faites : on peut noter tout d'abord que les tripodes constitués de chaînes hydrocarbonées d'une longueur supérieure ou égale à six carbones présentent une faible solubilité dans l'eau et qu'il est nécessaire de les chauffer légèrement à 40°C pour pouvoir complètement les solubiliser.

En second lieu, il est intéressant de constater que le dérivé comportant des groupements aromatiques de type benzyle BnGlu3 est bien plus soluble que son homologue PhC2Glu3, comportant un maillon méthylène supplémentaire entre le corps aromatique central et le groupement phényle.

Nous verrons de plus dans ce chapitre que l'introduction d'un carbone dans ce type de composé peut entraîner des conséquences importantes en terme de conformation et d'organisation de la molécule dans l'eau.

Enfin, la multiplication des motifs saccharidiques sur les têtes polaires permet d'accroître de façon conséquente cette solubilité et compense ainsi l'effet des queues hydrophobes notamment au niveau des chaînes octyles.

Tripode	Masse molaire (g/mol)	Solubilité (g/L)	Concentration (mM)	Propriétés moussantes
C3Glu3	1120	Très bonne > 12	> 10,7	Oui
C4Glu3	1162	Très bonne > 9	> 7,7	Oui
C5Glu3	1204	Bonne > 5	> 4,2	Oui
iC5Glu3	1204	Bonne > 6	> 5	Oui
C6Glu3	1246	Faible ~ 1	~ 0,8	Faible
C7Glu3	1288	Faible ~ 0,4	~ 0,3	Non
C8Glu3	1330	Très faible ~ 0,2	~ 0,15	Non
BnGlu3	1264	Bonne > 3	> 2,4	Oui
PhC2Glu3	1306	Moyenne ~ 1	~ 0,8	Faible
C8Glu6	2570	Excellente > 20	> 7,8	Oui
C8Glu9	3363	Excellente > 20	> 6	Oui

Tableau 4-1 : Solubilités et propriétés moussantes observées des différents tripodes amphiphiles.

## II. Propriétés physico-chimiques

### A. Notion de surface et définition de la tension superficielle

Une interface est une zone de séparation bien définie entre deux phases liquides non miscibles ou une phase liquide et l'air. Cette région possède en réalité localement une composition différente n'ayant pas le même état que celles des deux phases en présence. L'entropie de formation d'une interface doit être positive. En effet, si l'énergie est négative, la formation de l'interface est thermodynamiquement défavorisée et instable tandis qu'une valeur nulle a pour effet de rendre miscible les deux phases.

La définition thermodynamique de l'interface a souvent été sujette à des controverses. Gibbs l'a considérée comme une surface de division sans épaisseur, une surface mathématique, alors que Van der Waals et Bakker lui ont attribué une épaisseur faible mais

finie. Guggenheim a lui introduit le concept de “phase superficielle”, traitant l’interface comme une phase plane séparant deux phases homogènes.

Considérons par exemple deux phases, un liquide et un gaz, et mettons-les en contact. On peut décrire le système comme étant la somme de trois régions: un liquide homogène, un gaz homogène, et une phase superficielle. Dans le concept de Guggenheim, on affecte aux phases superficielles les mêmes grandeurs extensives qu’aux phases volumiques mais avec un terme supplémentaire  $\gamma.dA$ , où  $\gamma$  est la tension superficielle de l’interface et A l’aire de la surface de contact des deux phases en présence. Pour augmenter l’aire de la surface de contact d’une quantité  $dA$ , il faut fournir un travail appelé énergie superficielle :

$$dW = \gamma.dA$$

La tension superficielle  $\gamma$  correspond à une force qui s’exerce sur l’unité de longueur d’une ligne imaginaire découpant une surface, pour maintenir en contact les deux parties de la coupure. Cette force est tangente à la surface et perpendiculaire à la coupure. Elle s’exprime en N/m alors que l’énergie superficielle s’exprime en  $J/m^2$ . Tension et énergie superficielles ont donc les mêmes équations aux dimensions et sont souvent confondues. En fait, l’assimilation faite entre ces deux termes n’est pleinement justifiée que dans le cas des liquides en équilibre avec leur vapeur.

Physiquement, l’énergie superficielle a pour origine les forces exercées sur un atome par ses voisins. À l’intérieur d’un corps pur liquide constitué d’un seul type de molécules, les forces intermoléculaires d’attraction d’intensité égale dans toutes les directions, maintiennent des distances bien définies entre les molécules, bien qu’elles puissent se déplacer librement au sein du liquide. Par conséquent, la résultante des forces est nulle. En revanche à la surface du liquide, les molécules sont toujours soumises à l’action d’une force d’attraction vers l’intérieur par les autres molécules au sein du liquide, mais elles ne sont pas attirées aussi intensément par les molécules du milieu environnant gazeux correspondant à l’air, conduisant ainsi à une résultante des forces dirigée vers l’intérieur.

La surface se comporte donc comme si elle était soumise à une pression extérieure: c’est la pression superficielle. Pour compenser la pression extérieure soumise à la surface et conserver un équilibre, le liquide développe une tension élastique le long de la surface appelée tension superficielle, en contractant ses molécules pour minimiser la surface de l’aire du liquide.

La tension superficielle est donc un phénomène physique résultant des forces intermoléculaires de cohésion (liaisons hydrogène, forces de Van der Waals ou interactions dipôle-dipôle) qui agissent entre les molécules de la surface et à l'intérieur d'une phase liquide.

La tension superficielle est dépendante de la température et bien évidemment de la nature du liquide (Tableau 4-2)

Liquide	Température (°C)	Tension superficielle (mN/m)
Acide acétique	20	27,6
Ethanol	20	22,3
Eau	20	72,9
Eau	50	67,9

Tableau 4-2 : Tension superficielle de différents liquides en contact avec l'air à une température donnée.

## **B. Adsorption d'un tensioactif à la surface d'un liquide**

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, la structure des tensioactifs est constituée de deux parties de polarité opposée. L'une de nature hydrophile possède une grande affinité pour les phases aqueuses tandis que l'autre de nature hydrophobe a une bonne affinité avec les solvants organiques ou les huiles. De ce fait, le caractère amphiphile des molécules tensioactives leur confère ainsi une aptitude à s'adsorber et à s'accumuler sur tous les types d'interfaces (air/liquide, liquide/liquide ou liquide/solide).

En effet, lorsque l'on veut solubiliser une molécule tensioactive, les groupements apolaires introduits dans la solution aqueuse ont pour effet de perturber le réseau de liaisons hydrogène établi entre les molécules d'eau. Les molécules d'eau sont obligées de s'ordonner entre elles autour de la partie apolaire pour combler les liaisons hydrogène, entraînant ainsi une perte des degrés de liberté des molécules d'eau impliquées, ce qui a pour effet de provoquer une diminution défavorable de l'entropie du système qui déstabilise la solution.

Afin de minimiser cette perturbation, les molécules de tensioactifs auront tendance à s'adsorber et s'arranger à l'interface air/eau du liquide sous la forme d'un film monomoléculaire. Pour cela, les molécules s'organisent à la surface de telle sorte que la tête

hydrophile soit au contact de l'eau et que la chaîne hydrophobe soit orientée vers l'extérieur dans l'air. Ce phénomène provoque un abaissement de la tension superficielle du liquide.

L'adsorption d'un tensioactif peut aussi s'expliquer selon une approche thermodynamique en raisonnant en terme d'énergie interfaciale. En introduisant en premier la notion de quantité d'excès à partir d'une surface de référence S située quelque part dans la région interfaciale, le physicien Gibbs a pu établir l'équation d'adsorption suivante qui correspond d'ailleurs à la loi de Gibbs<sup>1</sup> :

$$dG = -S.dT + A.d\gamma + \sum n_i.d\mu_i$$

avec G, l'énergie libre de la surface

S, l'entropie du système

T, la température

A, l'aire de la surface

$\gamma$ , la tension interfaciale

$n_i$  et  $\mu_i$ , nombre de moles et potentiel chimique des composés à la surface, c'est à dire le soluté (le tensioactif) et le solvant (l'eau).

A partir de cette équation dérive une autre formule appelée isotherme de Gibbs qui met en relation la variation de tension superficielle  $\gamma$  et l'excès moléculaire superficiel  $\Gamma$  en fonction de l'activité d'adsorption du soluté à une température donnée :

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \frac{d\gamma}{d \ln C}$$

Avec C, la concentration du tensioactif dans la solution (mol/m<sup>3</sup>)

T, la température (K)

$\Gamma$ , l'excès superficiel par unité de surface (mol/m<sup>2</sup>)

R, la constante des gaz parfaits (8,32 J.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>)

$\gamma$ , la tension de surface (N/m)

L'aire occupée par une molécule adsorbée à la surface d'un liquide peut également être déduite de la valeur de la concentration d'excès de surface  $\Gamma$  selon l'équation suivante :

$$A = \frac{1}{N_a \cdot \Gamma}$$

Avec A, aire de la molécule occupée à la surface (m<sup>2</sup>/mole)

$N_a$ , le nombre d'Avogadro (6,022.10<sup>23</sup>)

---

<sup>1</sup> J.W. Gibbs, « Collected Works », Yale University Press, 1948.

$\Gamma$ , l'excès superficiel par unité de surface ( $\text{mol/m}^2$ )

Comme on peut le voir, d'après la loi de Gibbs la diminution de la tension superficielle va être directement proportionnelle à la concentration en tensioactifs puisque  $\Gamma$ ,  $R$  et  $T$  sont des constantes

## **C. Phénomène de micellisation**

### **1. Définition**

Comme nous l'avons signalé, à de faibles concentrations, les molécules de tensioactif s'adsorbent à la surface de l'eau et abaissent graduellement la tension superficielle du liquide au fur et à mesure que l'on augmente la concentration en tensioactifs dans la solution.

Au delà d'une certaine concentration appelée concentration micellaire critique (CMC), correspondant au seuil entropique de stabilité de la solution et à la formation des premières structures supramoléculaires d'association dans la phase liquide, la surface du liquide se trouve saturée en molécules de tensioactif et la tension superficielle du liquide devient constante. L'addition supplémentaire de tensioactifs provoque un auto-assemblage spontané des monomères de tensioactif en agrégats qui peuvent être de formes diverses, définies par leur taille et un nombre d'agrégation qui correspond au nombre de molécules composant l'agrégat. Le type d'architectures observées correspond généralement à des micelles sphériques de 4 à 10 nm qui peuvent néanmoins adopter une forme ellipsoïdale ou cylindrique selon les paramètres extrinsèques de la solution (solvant, température, pH, salinité, concentration,...) mais surtout suivant la structure du tensioactif (topologie de l'amphiphile, nature des parties polaires et hydrophobes,...).

Le phénomène de micellisation gouverné par l'effet hydrophobe provient des interactions défavorables existant en solution entre les parties hydrophobes des tensioactifs et les molécules d'eau. Pour minimiser ces effets thermodynamiques défavorables, les tensioactifs s'auto-associent sous la forme de micelles. Dans les micelles, les parties polaires sont orientées vers l'extérieur au contact de l'eau tandis que les parties hydrophobes sont en contact entre elles à l'intérieur du cœur hydrophobe de la micelle. Les molécules de tensioactif constituant les micelles en solution, sont en équilibre permanent avec les monomères de tensioactif libres en solution et à l'interface, et l'échange des molécules tensioactives se fait à une fréquence très rapide de l'ordre de  $10^4$ - $10^5$   $\text{s}^{-1}$ .

A partir de la concentration micellaire critique (CMC), il est possible d'observer une variation de très nombreuses propriétés physico-chimiques de la solution aqueuse contenant les micelles de tensioactif. Ces modifications peuvent notamment servir à déterminer la valeur de la CMC. On peut citer par exemple l'indice de réfraction de la solution, la conductivité, la tension superficielle, la diffusion de la lumière, les spectres d'absorption UV-visible ou d'émission d'un marqueur fluorescent adéquat présent dans la solution ainsi que les temps de relaxation et les déplacements chimiques des protons en RMN.

## **2. Les facteurs influençant la CMC**

En dehors des paramètres de la phase aqueuse (pH, force ionique, température,...), la valeur de la CMC va essentiellement dépendre de la nature des parties hydrophobe et hydrophile du tensioactif.

En général, pour une chaîne hydrophobe identique, les tensioactifs contenant une tête ionique ont une CMC plus élevée que ceux portant des groupements neutres. Ceci est dû aux répulsions électroniques entre les têtes polaires voisines de monomères de tensioactifs à l'intérieur des micelles. De ce fait, la présence d'électrolytes a tendance à réduire la CMC des tensioactifs ioniques<sup>2</sup>. En effet, l'addition d'électrolytes diminue les répulsions entre les charges ioniques des têtes hydrophiles dans la micelle. Ainsi, les monomères de détergent s'auto-associent plus fortement, ce qui a pour effet de diminuer la CMC du tensioactif. Les tensioactifs contenant des groupements zwitterioniques ont tendance à avoir des CMC basses.

La partie hydrophobe a un impact plus important sur la valeur de la CMC. De manière générale, l'augmentation de l'hydrophobie en allongeant la partie apolaire du tensioactif a pour conséquences : (i) de diminuer l'hydrosolubilité du tensioactif, (ii) de faciliter l'adsorption des tensioactifs à la surface de l'eau, (iii) d'améliorer l'empilement, la fluidité et la stabilité de la monocouche de tensioactifs à l'interface, (iv) d'augmenter la tendance du tensioactif à s'auto-associer en solution au dessus de la CMC.

Logiquement, le Log CMC diminue linéairement quand le nombre d'atomes de carbone dans la chaîne alkyle augmente jusqu'à environ 16 C. Au delà de ce point, la longueur de chaîne n'affecte plus la valeur de CMC et les tensioactifs adoptent le comportement des lipides<sup>3</sup>. Pour les tensioactifs ioniques, l'addition d'un groupement

---

<sup>2</sup> M. Corrin and W. Harkins, *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, 69, 683-688.

<sup>3</sup> P. Mukerjee, *Adv. Colloid. Interface Sci.*, **1967**, 1, 241-275.

méthylène  $\text{CH}_2$  à la queue hydrophobe divise par deux la CMC. L'effet d'un atome de carbone ramifiée dans la chaîne hydrophobe diminue la CMC et équivaut à l'effet de  $\sim 1,5$  C dans une chaîne linéaire<sup>4</sup>. L'addition d'un noyau phényle sur la position terminale d'une chaîne hydrocarbonée est équivalent à  $\sim 3,5$  méthylènes. Cependant, la présence d'insaturations sur la chaîne hydrophobe augmente la CMC. Les composés ayant une double liaison *cis* ont une CMC plus élevée que celle des composés ayant une double liaison *trans*. Les composés fluorés ont tendance à avoir une CMC beaucoup plus basse que leurs homologues hydrocarbonés, grossièrement l'effet sur l'évolution de la CMC d'un groupement  $\text{CF}_2$  correspond à  $1,7 \text{ CH}_2$

## **D. Détermination de la CMC des tensioactifs**

### **1. Méthodes existantes**

Comme on l'a précisé, la concentration micellaire critique (CMC) est une grandeur physique essentielle qui est une caractéristique propre de tout tensioactif ayant une structure bien définie. Il existe différentes manières de la mesurer plus ou moins précisément.

Il est possible par exemple de déterminer approximativement la valeur de la CMC du tensioactif étudié solubilisé dans le  $\text{D}_2\text{O}$  par RMN  $^1\text{H}$  en réalisant des dilutions successives et d'observer les modifications d'un signal caractéristique des protons se situant dans la partie hydrophobe du tensioactif. Lorsque le tensioactif passe d'une forme micellaire (ou agrégée) à un état monomérique dans la solution, les signaux de la partie hydrophobe deviennent mieux résolus ou peuvent avoir un déplacement chimique différent et on peut en déduire un intervalle de concentrations où se situe la CMC.

Dans le même ordre d'idée, une technique consiste à observer par spectrofluorimétrie l'influence caractéristique de l'environnement sur le spectre d'émission d'une sonde fluorescente telle que le pyrène<sup>5</sup>. En suivant le rapport d'intensité de 2 des 5 pics du pyrène situés à  $\lambda_{\text{max}} = 373 \text{ nm}$  et  $\lambda_{\text{max}} = 383 \text{ nm}$ , on peut observer une brusque diminution de ce rapport lorsque la concentration en tensioactif atteint et dépasse la CMC, signifiant que le pyrène se retrouve totalement ou partiellement piégé dans le cœur hydrophobe de la micelle.

La CMC peut être déterminée également indirectement en mesurant la tension superficielle de la solution à différentes concentrations en tensioactif. On peut citer la méthode de la goutte pendante qui à partir du profil de la goutte (forme de la courbure, taille

---

<sup>4</sup> E. Gotte and M.J. Schweiger, *Tenside*, **1969**, 3, 131-135.

<sup>5</sup> K. Kalyanasundaram and J.K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 2039-2044.

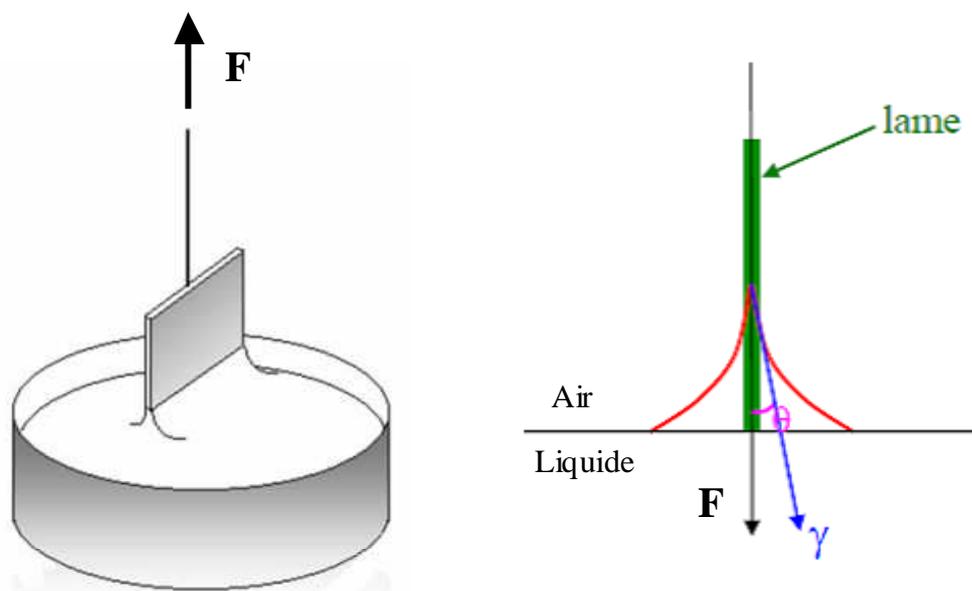
et longueur capillaire) et connaissant la densité du liquide, permet de déduire la tension superficielle.

Enfin, il est possible en plongeant partiellement un objet métallique avec une forme géométrique particulière, de mesurer la force exercée sur l'objet par les molécules de la solution (autrement dit la mouillabilité) pour en déduire la valeur de la tension superficielle. On parle généralement de la méthode de du Nouy lorsque l'objet est un anneau et de la méthode de Wilhelmy lorsque celui-ci est une plaque. A noter que la technique de la plaque de Wilhelmy présente l'avantage d'être moins sensible aux vibrations de la verrerie comparée à celle utilisant l'anneau.

Au laboratoire, nous disposons d'un tensiomètre Kruss K100 doté d'un système de dilution automatique. Avec cet appareillage nous utilisons la méthode de la plaque de Wilhelmy pour déterminer la CMC des tripodes amphiphiles faciaux.

## **2. Principe de la méthode de Wilhelmy**

Le principe consiste à étudier à l'aide d'un tensiomètre le comportement de surface du liquide en fonction de la quantité de tensioactif en solution. D'un point de vue expérimental, on plonge une lame de platine rugueuse de longueur connue, reliée à une microbalance, dans une solution de tensioactif afin de mouiller l'intégralité de la lame. On remonte ensuite celle-ci jusqu'à ce que l'extrémité inférieure affleure exactement la surface du liquide sans que le ménisque du liquide ne se détache (Figure 4-1).



**Figure 4-1** : Mesure de la tension superficielle selon la méthode de Wilhelmy et illustration des forces exercées par la lame immergée vue de côté.

À cet instant, la force  $F$  exercée sur la lame pour équilibrer la microbalance est proportionnelle à la tension de surface  $\gamma$  et de la longueur de la lame immergée dans la solution suivant la relation suivante :

$$F = l \cdot \gamma \cdot \cos \theta$$

Avec  $F$ , la force exercée à la surface du liquide (N)

$l$ , la longueur de la lame immergée (m)

$\gamma$ , la tension superficielle (N/m)

$\theta$ , angle formé par la lame et la tangente du ménisque

Cette méthode s'applique uniquement pour un mouillage parfait avec un angle de contact  $\theta$  égale à  $0^\circ$ , dans quel cas la relation se simplifie et devient :

$$\gamma = \frac{F}{l} = \frac{m \cdot g}{l}$$

Avec  $m$ , la masse mesurée au moment où la lame affleure le liquide (kg)

$g$ , l'accélération de la pesanteur (9,81 N/kg)

La méthode consiste à mesurer la tension superficielle à différentes concentrations de tensioactif en réalisant des dilutions successives de la solution. On peut ensuite tracer la courbe de variation de la tension superficielle en fonction du logarithme décimal de la concentration du tensioactif en solution (Figure 4-2).

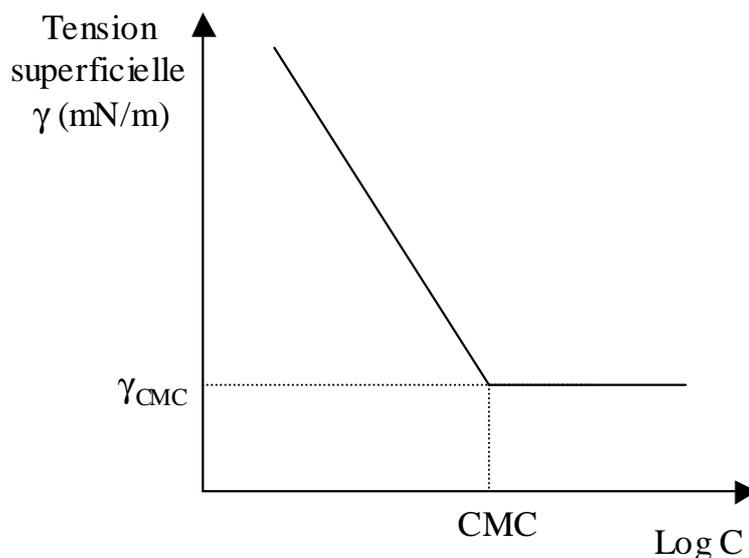


Figure 4-2 : Courbe standard  $\gamma = f(\text{Log } C)$  d'un tensioactif solubilisé dans l'eau.

Cette courbe permet de déterminer graphiquement la CMC propre à chaque composé étudié grâce au point de rupture des droites. La droite descendante linéaire correspond à l'équilibre entre les monomères de tensioactifs présents en solution et à la surface dans la monocouche.

La diminution de la tension superficielle est due à l'addition progressive des molécules de tensioactifs à la surface de la solution et à la pression exercée par les monomères en solution pour accéder à la surface. Le point de rupture des droites indique la CMC du tensioactif et la tension superficielle limite obtenue lorsque la surface de l'eau est saturée en tensioactif.

Au delà de la CMC, la tension superficielle reste constante, et le plateau de la courbe traduit un équilibre entre les monomères de tensioactif libres en solution, ceux de la monocouche en surface et ceux constituant les micelles. La pente de la droite permet également de calculer l'aire occupée  $A$  par chaque tensioactif lorsque la surface est saturée.

### **3. Procédure des mesures de tension superficielle des tripodes amphiphiles faciaux**

La tension superficielle à l'interface air/eau de solutions amphiphiles faciaux est déterminée suivant la méthode de Wilhelmy en utilisant un tensiomètre Krüss K100 (Krüss, Allemagne) contrôlé par le logiciel Labdesk.

Chaque solution de tensioactif est préparée à une concentration supérieure à leur CMC au moins estimée 12 h à l'avance avant le début des mesures avec de l'eau ultra pure (résistivité = 18,2 M $\Omega$ .cm, tension de surface = 72,8 mN/m à 20°C) purifiée avec un système Milli-Q. La plaque de platine est nettoyée avec de l'éthanol et brûlée avec une flamme avant les expériences.

La tension superficielle est mesurée à partir d'un volume initial de 20 mL de la solution étudiée introduite dans un cristalliseur. L'appareil procède à des dilutions successives grâce à deux systèmes de prélèvement Dosino pilotés par le logiciel, en retirant à chaque fois un volume précis de la solution et en y ajoutant le même volume d'eau ultra pure, afin de conserver un volume constant lors de l'expérience.

Cette méthode permet de déterminer les paramètres suivants : la concentration micellaire critique, la tension superficielle limite  $\gamma_{CMC}$  de la solution une fois la CMC atteinte, la concentration maximale de tensioactifs  $\Gamma_{max}$  adsorbées à la surface de l'eau et la surface minimale occupée  $A_{min}$  par le tensioactif à l'interface air/eau lorsque la surface est saturée.

#### 4. Interprétations des résultats

Chaque expérience de mesure de tension superficielle a été dupliquée pour la série de tripodes amphiphiles faciaux et une synthèse des résultats obtenus à partir des courbes  $\gamma = f$  (Log C) est reportée dans le Tableau 4-3. A noter que le composé C8Glu3 n'a pu être étudié en raison de sa mauvaise solubilité dans l'eau

Tripode amphiphile	CMC (mM)	$\gamma_{\text{CMC}}$ (mN/m)	$A_{\text{min}}$ ( $\text{\AA}^2$ )	$\Gamma_{\text{max}}$ ( $\cdot 10^{-13}$ mol/mm <sup>2</sup> )
C3Glu3	$2,4 \pm 0,3$	$39,2 \pm 1,3$	$275 \pm 88$	$6,7 \pm 2,1$
C4Glu3	$0,83 \pm 0,05$	$36,3 \pm 0,2$	$211 \pm 26$	$8 \pm 1$
C5Glu3	$0,13 \pm 0,01$	$35,8 \pm 0,4$	$210 \pm 8$	$8,7 \pm 1$
iC5Glu3	$0,25 \pm 0,02$	$35,3 \pm 0,1$	$171 \pm 9$	$9,71 \pm 0,5$
C6Glu3	$9,8 \cdot 10^{-3} \pm 1 \cdot 10^{-3}$	$33,2 \pm 0,6$	$152 \pm 24$	$11,2 \pm 1,7$
C7Glu3	$1,2 \cdot 10^{-3} \pm 0,1 \cdot 10^{-3}$	$31,3 \pm 0,3$	$211 \pm 13$	$7,9 \pm 0,5$
BnGlu3	$0,23 \pm 0,05$	$36,9 \pm 3,1$	$373 \pm 69$	$4,6 \pm 0,8$
PhC2Glu3 <sup>a</sup>	0,12	38,8	315	5,26
C8Glu6 <sup>a</sup>	3,12	41,2	472	3,52
C8Glu9 <sup>a</sup>	0,63	36,9	459	3,62

**Tableau 4-3 :** Données physico-chimiques mesurées et calculées des tripodes amphiphiles faciaux, obtenues sur une moyenne d'au moins 2 expériences. <sup>a</sup> Une seule expérience a été réalisée pour ces composés.

L'ensemble des courbes  $\gamma = f$  (Log C) représentatives de chaque tripode amphiphile facial a été rassemblé sur les figures 4-3 à 4-6.

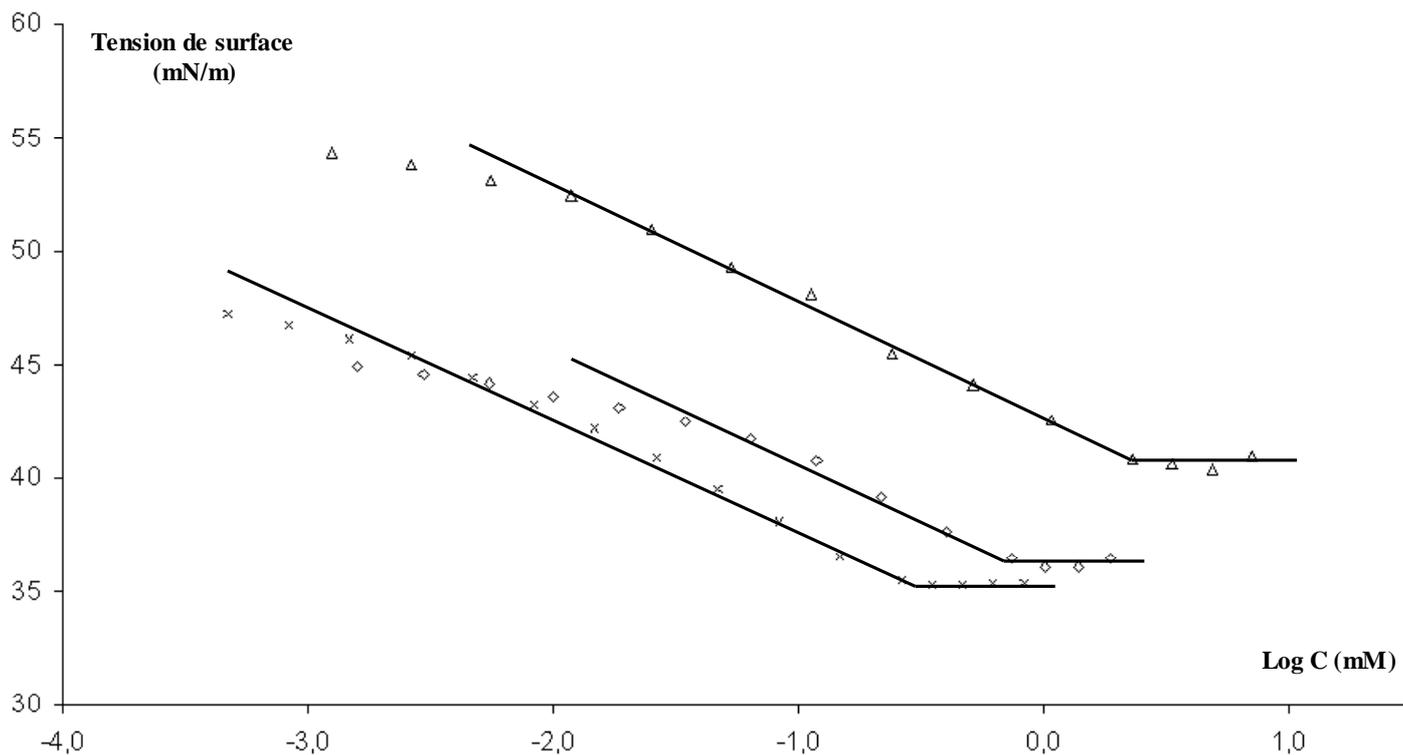


Figure 4-3 : Courbes  $\gamma = f(\text{Log } C)$  des tripodes amphiphiles C3Glu3 ( $\Delta$ ), C4Glu3 ( $\diamond$ ) et iC5Glu3 ( $\times$ ).

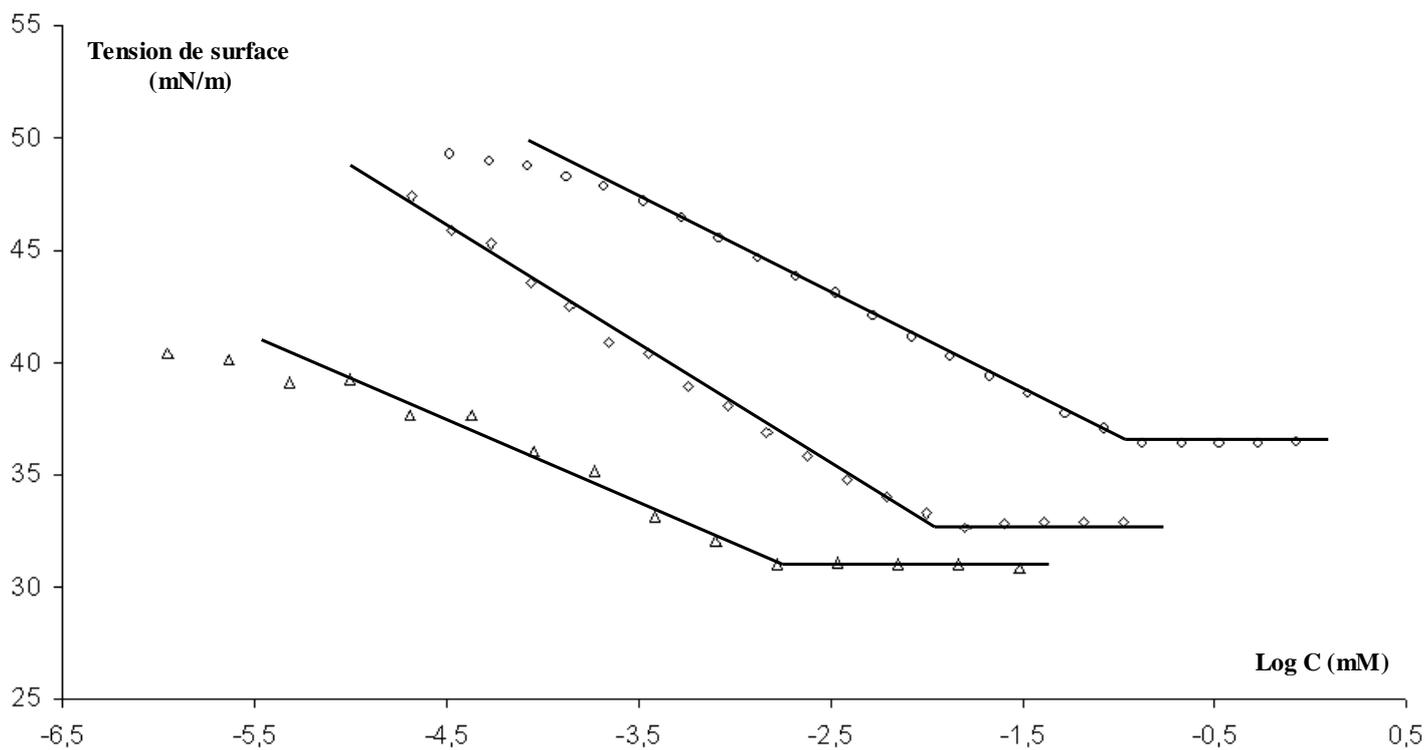


Figure 4-4 : Courbes  $\gamma = f(\text{Log } C)$  des tripodes amphiphiles C5Glu3 ( $\circ$ ), C6Glu3 ( $\diamond$ ) et C7Glu3 ( $\Delta$ ).

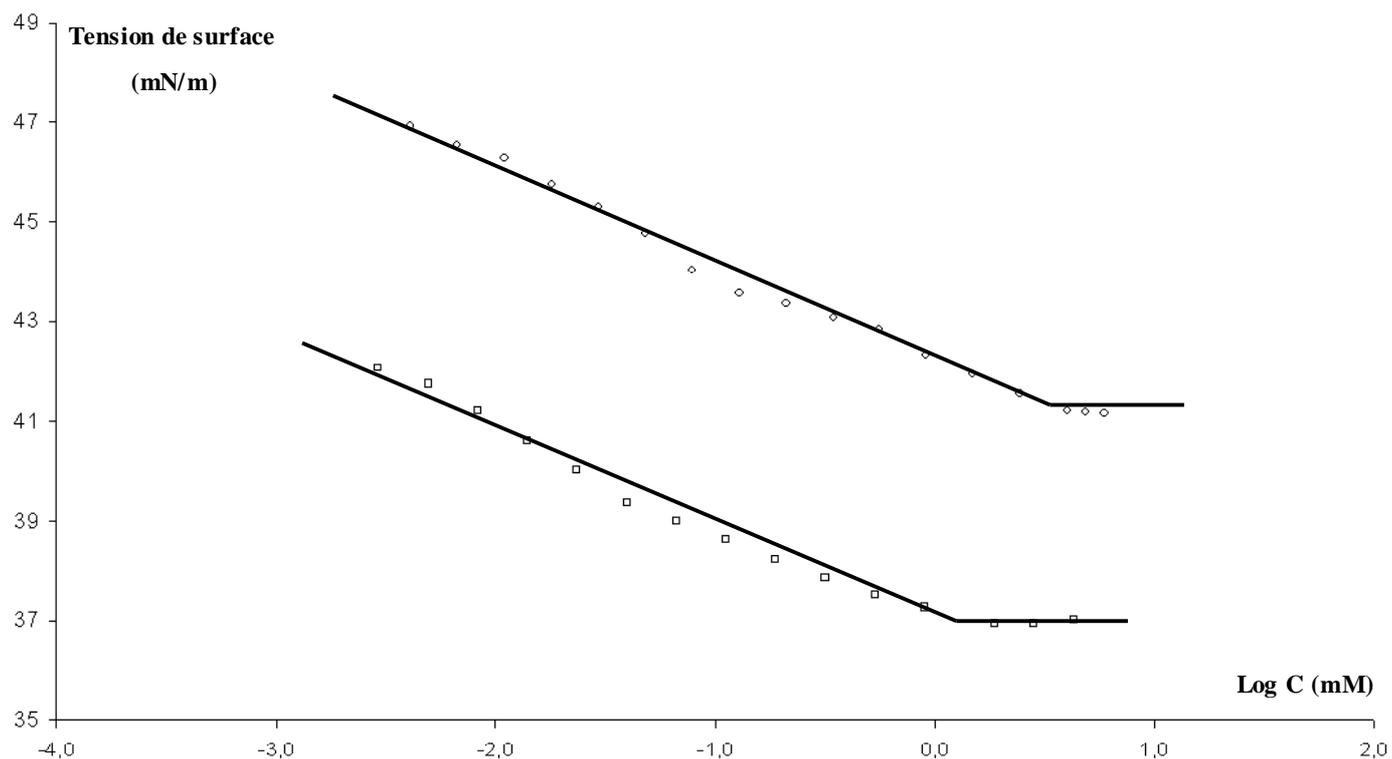


Figure 4-5 : Courbes  $\gamma = f(\text{Log } C)$  des glycodendrimères amphiphiles C8Glu6 (○) et C8Glu9 (□).

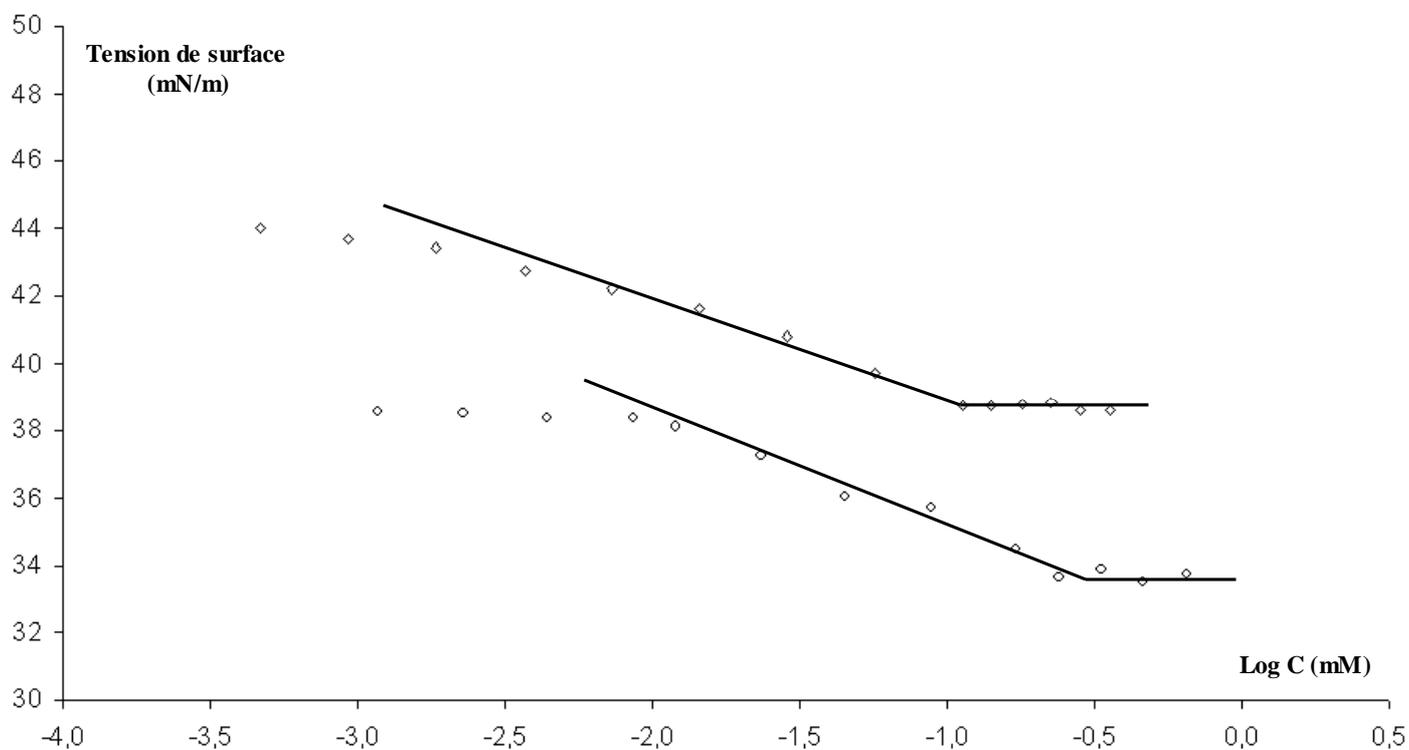


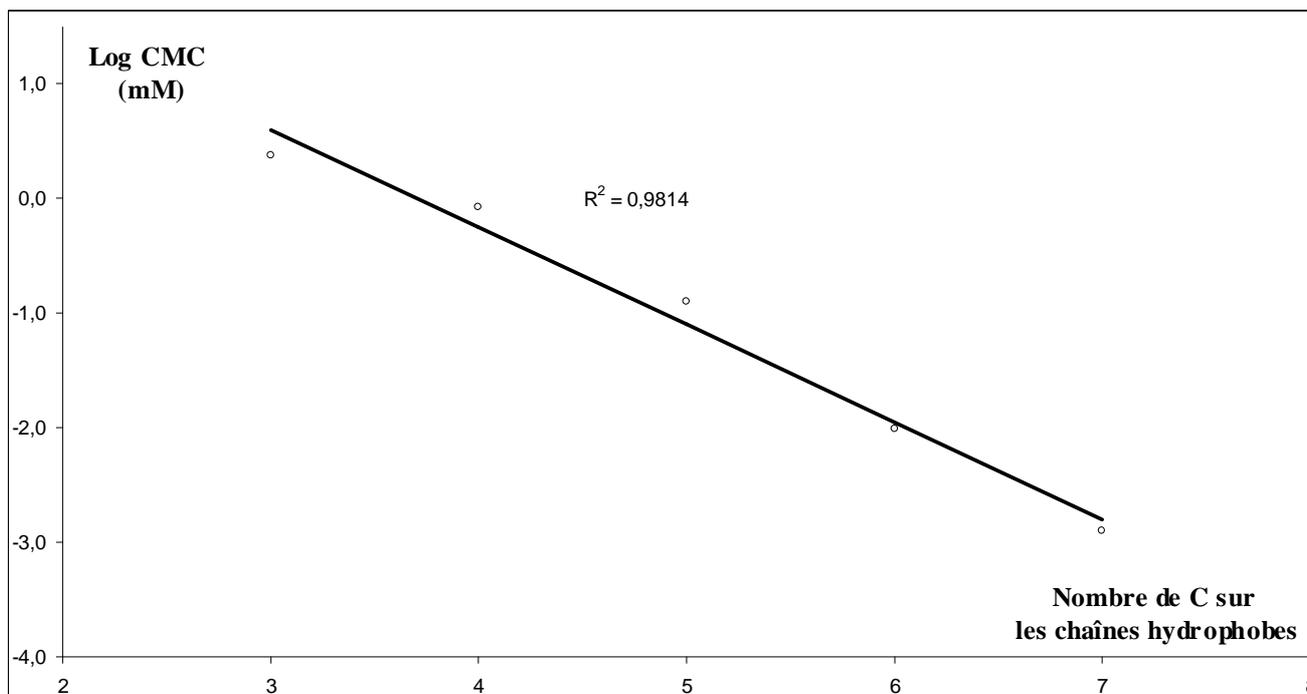
Figure 4-6 : Courbes  $\gamma = f(\text{Log } C)$  des tripodes amphiphiles PhC2Glu3 (○) et BnGlu3 (◊).

Il est dans un premier temps remarquable de constater que quelle que soit la longueur des chaînes constituant leur partie hydrophobe, ces composés se comportent tous comme des tensioactifs et abaissent tous la tension interfaciale entre l'air et l'eau proportionnellement à leur concentration et qu'ils présentent tous une CMC distincte.

Ce comportement spécifique démontre clairement que l'hypothèse de départ d'une ségrégation des parties polaires et apolaires sur les faces du corps central aromatique est parfaitement vérifiée quelque soit le tripode étudié. Il est très surprenant de constater que même le tripode C3Glu3 est tensioactif (CMC = 2,3 mM) malgré ses chaînes hydrophobes particulièrement courtes constituées de seulement trois carbones.

A ce niveau deux hypothèses non exclusives l'une de l'autre peuvent être faites pour interpréter ce phénomène (i) soit les segments thioalkyles portant les têtes hydrophiles participent au caractère hydrophobe de la molécule, (ii) soit la multiplicité de courtes chaînes hydrocarbonées sur une face du noyau central aromatique permet d'apporter un caractère tensioactif à la molécule. A l'heure actuelle nous ne disposons d'aucun élément de réponse précis.

L'autre paramètre à prendre en compte ici est la valeur extrêmement faible de la CMC détectée (de l'ordre de la  $\mu$ mole) pour le composé C7Glu3 ainsi que la solubilité très faible de ce composé dans l'eau. Avec le dérivé C8Glu3, nous nous retrouvons probablement dans les limites expérimentales de la mesure de la CMC compte tenu de ces paramètres.



**Figure 4-7 :** Courbe de variation  $\text{Log CMC} = f(nC)$  des tripodes faciaux ayant une face hydrophile fixe constituée de trois résidus glucosidiques et de chaînes hydrophobes linéaires de longueurs variables.

En ce qui concerne l'évolution de la CMC en fonction du nombre de carbones de la partie hydrophobe, on peut constater que la courbe  $\text{Log CMC} = f(nC)$ , où  $n$  correspond au nombre de carbones des chaînes hydrophobes sur les tripodes (Figure 4-7), a une variation parfaitement linéaire avec un excellent coefficient  $R^2$  de  $\sim 0,98$ .

Ce graphique montre en tout cas clairement que le comportement des tripodes amphiphiles faciaux en solution aqueuse est identique à celui d'une série homologue de tensioactifs monocaténares dit « classique », dans le sens où l'augmentation du nombre de carbones sur la chaîne aliphatique entraîne une diminution linéaire de la valeur de la CMC.

On remarque que la CMC du tripode BnGlu3 (0,23 mM) portant des groupements benzyle sur sa face hydrophobe est comprise entre celle du C4Glu3 et celle du C5Glu3. La contribution hydrophobe d'un groupe phényle à la CMC d'un tensioactif est estimée comme on l'a vu à 3,5 groupes méthylène,<sup>6</sup> ce qui correspond à une contribution globale du benzyle de 4,5 méthylènes. La valeur de la CMC obtenue expérimentalement est donc en très bonne corrélation avec la valeur théorique.

Le dérivé PhC2Glu3 comporte un groupement méthylène supplémentaire sur chaque bras hydrophobe correspondant dans les mêmes conditions à une contribution totale de 5,5 méthylène, possède une CMC deux fois plus faible (0,12 mM) équivalente à celle du C5Glu3. On aurait pu attendre une valeur expérimentale légèrement inférieure.

D'après les données expérimentales très larges actuellement disponibles, il est couramment admis que la CMC d'un tensioactif évolue linéairement en fonction du nombre de carbones présent dans la chaîne hydrophobe<sup>7</sup>. La CMC décroît généralement d'un facteur 10 tous les deux carbones rajoutés linéairement sur la chaîne. Cependant, nous observons ici que l'addition de trois carbones sur la face hydrophobe abaisse la CMC d'un facteur 3 entre le C3Glu3 et le C4Glu3 et d'un facteur 6 entre le C4Glu3 et le C5Glu3. Cette plus faible contribution à l'effet hydrophobe s'explique par le fait que ces trois méthylènes ne sont pas rajoutés linéairement à la chaîne mais sur trois chaînes différentes.

On peut comparer ce comportement à celui observé sur les phospholipides. En effet, Tanford explique que la contribution hydrophobe apportée par les groupements méthylène d'une seconde chaîne hydrocarbonée représente seulement 60% de ce qu'on devrait mesurer si ces mêmes méthylènes étaient fixés sur la chaîne principale. Il est probable qu'un

---

<sup>6</sup> G. Broze (Ed), « *Handbook of Detergents, part A : Properties* », Surfactant Science Series vol. 82, Marcel Dekker: New York, 1999.

<sup>7</sup> C. Tanford, « *The Hydrophobic Effect : Formation of Micelles and Biological Membranes* », 2<sup>nd</sup> Ed, Krieger Publishing Company: Malabar, Florida, 1991.

phénomène analogue se présente ici avec ces tensioactifs tripodes, et qui explique la faible contribution relative apportée à l'hydrophobie par ces trois méthylènes dans la série tripode.

On peut noter également que la CMC du tripode ramifié iC5Glu3 (0,25 mM) est environ le double de celle de son isomère linéaire C5Glu3 (0,13 mM). On peut tirer les mêmes conclusions que celles exprimées auparavant, l'augmentation de l'hydrophobie par la ramification des trois chaînes hydrophobes entraîne une contribution hydrophobe plus faible que celle observée sur l'isomère linéaire.

Enfin, on peut remarquer que la CMC des glycodendrimères C8Glu6 (3,12 mM) et C8glu9 (0,63 mM) est 500 à mille fois supérieure à celle de la molécule C7Glu3. Rosen et *al* ont décrit le comportement micellaire de dodécyl tri, penta, hexa et octaéthylène glycol et observent une augmentation de la valeur de la CMC proportionnelle au nombre de résidus éthylène glycol qui est donc liée à l'augmentation de l'hydrophilie<sup>8</sup>. Cependant cette variation de CMC reste dans ce dernier cas relativement marginale (de 52  $\mu$ M à 109  $\mu$ M) comparativement au cas présent des tripodes faciaux.

A noter que au laboratoire, nous avons pu faire la même observation sur des séries de tensioactifs fluorés dotés d'une tête polaire mono, di ou triglycosylés. L'augmentation du nombre de résidus sucre a pour conséquence d'accroître la valeur de la CMC de ces composés<sup>9</sup>. Il est probable que les effets de répulsion entre les têtes polaires extrêmement volumineuses de ces tripodes dendrimères diminuent la capacité de micellisation de ces composés et augmentent les valeurs de CMC dans une très forte proportion.

De la même manière, en faisant un comparatif des tensions superficielles limites suivant le nombre de carbones portés par les chaînes linéaires aliphatiques, on peut voir que la tension de surface limite  $\gamma_{CMC}$  atteinte au delà de la CMC par les tripodes diminue de façon sensiblement linéaire (Figure 4-8).

Cette observation est parfaitement logique puisqu'elle signifie que l'allongement des chaînes hydrophobes favorise l'adsorption et un meilleur empilement des tensioactifs à l'interface air/eau, et donc la formation d'une monocouche plus stable qui a pour effet de diminuer plus fortement la tension de surface du liquide.

---

<sup>8</sup> M.J. Rosen, A.W. Cohen, M. Dahanayake, X.Y. Hua, *J. Phys. Chem.*, **1982**, 86, 541-545.

<sup>9</sup> M. Abila, G. Durand and B. Pucci, *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 8142-8153.

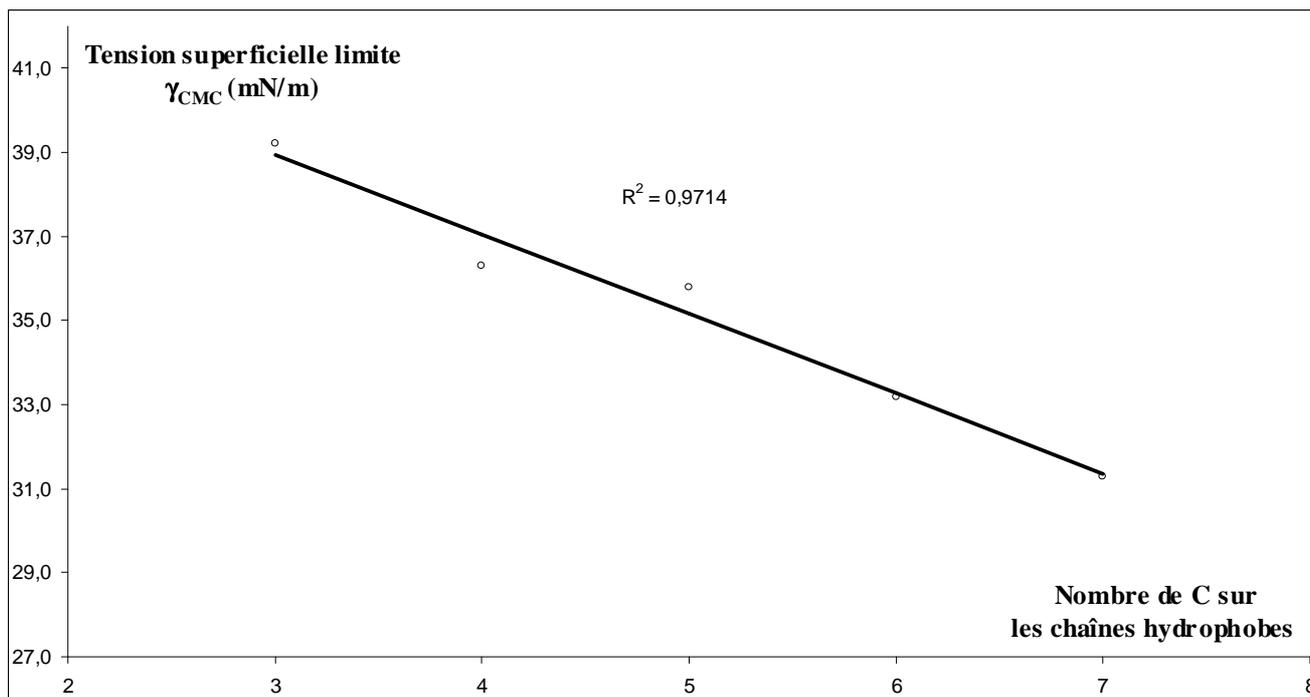


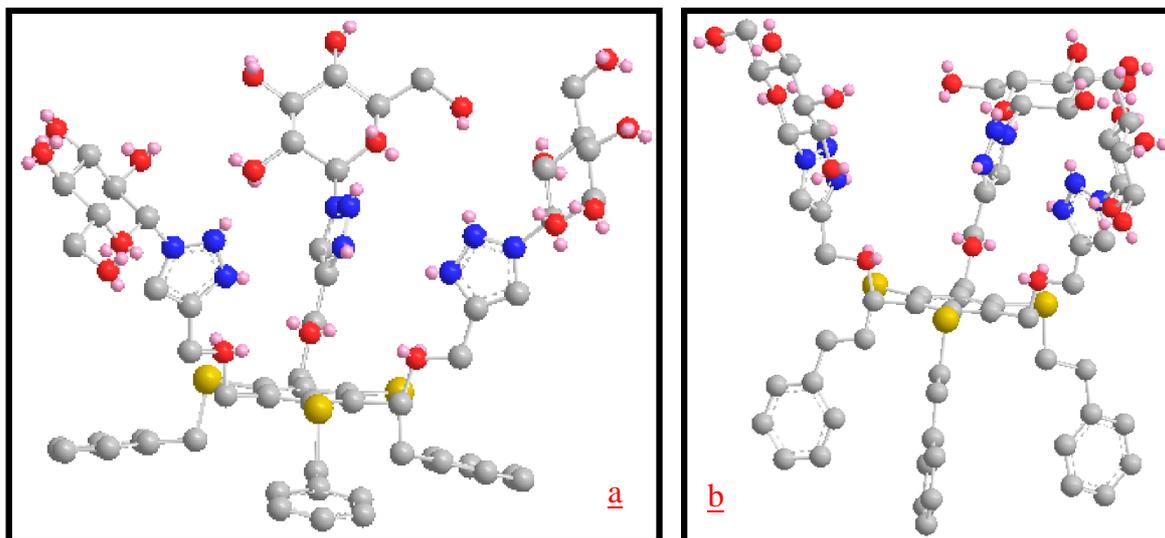
Figure 4-8 : Courbe de variation  $\gamma_{CMC} = f(nC)$  des tripodes amphiphiles faciaux.

On peut toutefois noter que la variation des  $\gamma_{CMC}$  entre le C3Glu3 et le C7Glu3 est très faible et inférieure à 10 mN/m. La tension superficielle limite du iC5Glu3 (35,3 mN/m) est comparable à celle du C5Glu3 (35,8 mN/m). Les glycodendrimères C8Glu6 et C8Glu9 abaissent très faiblement la tension superficielle de l'eau ( $\gamma_{CMC} = 41,2$  mN/m), ce qui peut parfaitement être corrélé à leur CMC élevé et leur grande solubilité dans l'eau.

La détermination des aires à l'interface dans la série de tripodes C3Glu3 à C7Glu3 montre, compte tenu des incertitudes sur la mesure, une stabilité des aires occupées  $A_{min}$  par les tripodes à l'interface C7Glu3 (150-210 Å<sup>2</sup>) dès l'instant où ils possèdent tous la même tête polaire. Dans une moindre mesure un phénomène analogue est observé sur les glycodendrimères C8Glu6 et C8Glu9 qui occupent des aires à peu près similaires (460-470 Å<sup>2</sup>) mais sensiblement deux fois plus importantes que les dérivés porteurs de seulement 3 motifs sucres

L'aire à l'interface est étroitement corrélée au volume occupé dans l'espace par les chaînes grasses et par les têtes polaires. Pour une tête polaire constante, c'est donc l'occupation des parties hydrophobes qui a une incidence directe sur cette aire. Cette valeur étant constante pour des chaînes variant de 3 à 7 carbones, on peut donc en déduire que l'allongement de ces dernières influencent peu cette aire, celle-ci étant contrôlée essentiellement par le volume occupé par la sphère polaire du tripode.

On peut également observer que les tripodes faciaux BnGlu3 et PhC2Glu3 constitués de noyaux aromatiques occupent globalement une aire plus importante (320-370 Å<sup>2</sup>) que la série de tripodes à chaîne linéaire. La modélisation de la conformation des molécules sous Chem3D Pro permet d'interpréter ces mesures expérimentales (Figure 4-9).



**Figure 4-9 :** Modélisation sous Chem3D Pro 11.0 des tripodes BnGlu3 (a) et PhC2Glu3 (b) expliquant la différence des aires occupées à l'interface air/eau par ces composés.

En effet, on peut observer que le dérivé BnGlu3 ne peut déployer ses attaches aromatiques que dans un positionnement strictement horizontal occupant donc une aire plus importante à l'interface. Le dérivé PhC2Glu3 a lui ses attaches aromatiques qui sont positionnées verticalement mais en déployant probablement ses parties hydrophobes de manière à limiter l'encombrement stérique. Quoi qu'il en soit, le volume occupé par les attaches aromatiques verticales du PhC2Glu3 (315 Å<sup>2</sup>) paraît plus faible que celui occupé par celles du BnGlu3 positionnées horizontalement (373 Å<sup>2</sup>), ce qui semble à priori en cohérence avec les images de modélisation.

Après avoir confirmé le caractère tensioactif de ces molécules et déterminé quelques caractéristiques essentielles comme la CMC, l'aire à l'interface et la tension superficielle limite nous avons cherché à déterminer l'évolution de la balance hydrophile de ces tensioactifs en mesurant la valeur relative de leur hydrophobie. Ceci peut être effectué par la mesure de leur coefficient de partition ( $\log k'_w$ ).

### **III. Mesures du coefficient de partition Log k'W**

#### **A. Définition**

Le coefficient de partition P parfois appelé coefficient de distribution correspond au rapport de concentrations d'un composé dans les phases d'un mélange de deux solvants non miscibles à l'équilibre, généralement un mélange octanol/eau<sup>10</sup> :

$$P = [S_{\text{octanol}}]/[S_{\text{eau}}]$$

Avec  $[S_{\text{octanol}}]$ , la concentration du soluté dans l'octanol

$[S_{\text{eau}}]$ , la concentration du soluté dans l'eau

Ce paramètre est très utilisé dans l'industrie pharmaceutique puisqu'il permet d'évaluer pour un médicament sa balance hydrophile/lipophile ainsi que son mode de distribution dans le corps. Un coefficient élevé indique que le composé est hydrophobe et une faible valeur que le composé est hydrophile. Cette donnée permet donc d'estimer le mode d'administration d'un principe actif et son mode d'action en évaluant sa faculté à traverser les bicouches lipidiques (compartiment hydrophobe) ou bien au contraire de se retrouver préférentiellement dans la circulation sanguine (compartiment hydrophile).

Classiquement, la détermination du coefficient P se fait à l'aide d'une ampoule de décantation, en dissolvant le soluté à étudier dans un mélange octanol/eau (v:v, 1:1). La solution est bien agitée, puis le système biphasique est équilibré avant de mesurer les concentrations du soluté dans chaque phase par spectroscopie UV/Visible. Cependant, cette méthode présente plusieurs inconvénients bien qu'elle soit précise. Elle nécessite des quantités importantes de composé dont il est difficile de vérifier visuellement si la solubilisation est complète dans le mélange. L'expérience nécessite de plus de pré-mixer le mélange et de laisser le système s'équilibrer sur une période longue d'au moins 24 h.

Il existe une alternative, qui permet de déterminer ce coefficient de partition de manière simple avec des quantités très faibles de composé, par chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase inverse<sup>11</sup>. Cette méthode est applicable à une large gamme de composés, et parfaitement adaptée aux molécules amphiphiles.

---

<sup>10</sup> A. Leo, C. Hansch and D. Elkins, *Chem. Rev.*, **1971**, 71, 525–616.

<sup>11</sup> W.J. Lambert, *J. Chromatogr.*, **1993**, 656, 469-484 ; J.G. Dorsey and. Khaledi, *J. Chromatogr.*, **1993**, 656, 485-499.

## **B. Principe de la méthode de détermination par HPLC**

Le principe de cette technique est basé sur les interactions du composé à étudier (notamment de sa partie hydrophobe) avec les chaînes octadécyles greffées sur la silice de la phase stationnaire inverse C18 lors de son élution avec une phase mobile polaire MeOH/H<sub>2</sub>O.

Cette méthode s'appuie sur le temps de rétention  $t_R$  du composé ainsi que de son coefficient de capacité  $k'$  associé obtenu avec différents mélanges d'élution MeOH/H<sub>2</sub>O :

$$k' = (t_R - t_0) / t_0$$

Avec  $t_0$ , temps de rétention de la phase mobile (MeOH)

Il a été démontré que la corrélation entre le coefficient de partage obtenu par la méthode « classique » dans un mélange eau/octanol et celle par HPLC avec le Log  $k'$  était la meilleure pour une concentration en eau importante<sup>12</sup>. Ainsi, en utilisant un mélange d'élution MeOH/H<sub>2</sub>O ayant une proportion en eau proche de 100%, le Log  $k'$  devient équivalent au coefficient de partition noté Log  $k'_w$ . La valeur Log  $k'_w$  est généralement extrapolée par régression linéaire en traçant la courbe Log  $k' = f$  (% en MeOH du mélange d'élution) étant donné que le temps de rétention  $t_R$  des composés hydrophobes est bien trop élevé avec une phase mobile d'eau pure.

## **C. Procédure et interprétation des résultats**

Nous avons dans un premier temps effectué le spectre UV-Visible du tripode C5Glu3 pris par défaut, pour déterminer la longueur d'onde adéquate à utiliser sur le détecteur UV-Visible en HPLC lors des injections (Figure 4-10). Les mesures seront réalisées à 220 nm.

Les tripodes amphiphiles faciaux sont dissous dans du méthanol à une concentration de 1 g/L et injectés sur une colonne phase inverse C18 (granulométrie 5  $\mu$ m, dimensions 250 x 4,6 mm) à température ambiante. Les composés sont élués dans au moins trois mélanges différents de MeOH/H<sub>2</sub>O dont les proportions varient de 95:5 à 65:35. Les mesures sont réalisées à une vitesse d'élution de la phase mobile de 0,8 mL/min et à une longueur d'onde de détection de 220 nm.

---

<sup>12</sup> K. Miyake, N. Miauno and H.J. Terada, *J. Chromatogr.*, **1988**, 439, 227-235.

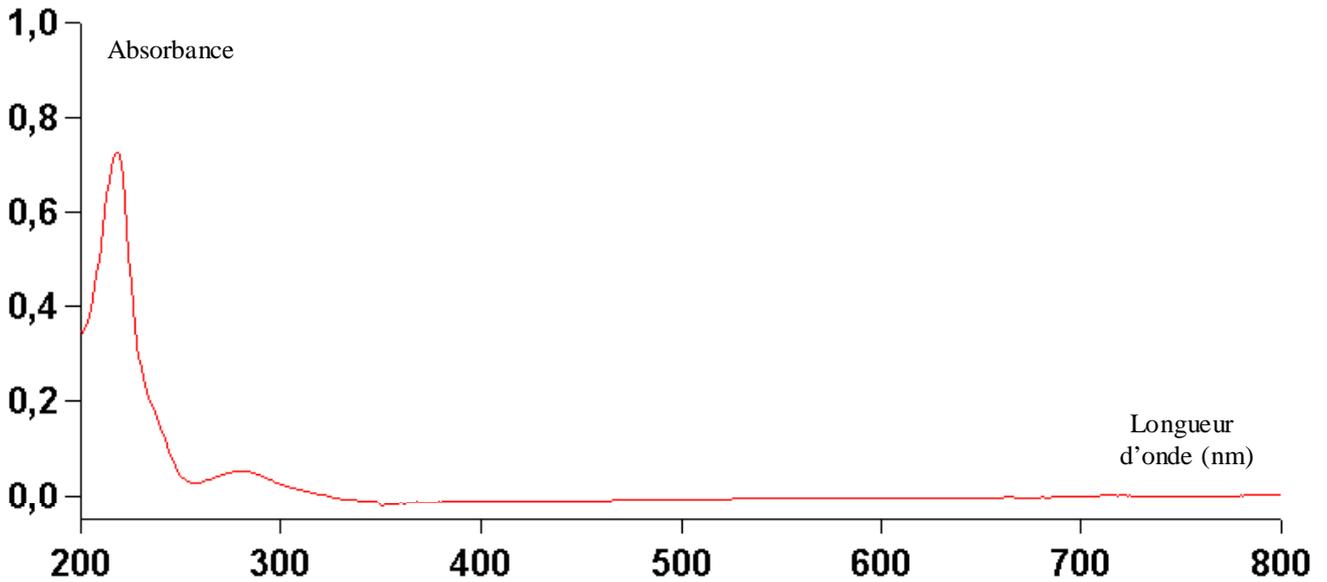


Figure 4-10 : Spectre UV-Visible du tripode C5GluOH3 ( $\lambda = 218$  nm,  $A = 0,727$  ;  $\lambda = 280$  nm,  $A = 0,053$ )

Suivant la méthodologie précédemment décrite, nous avons donc tracé pour chaque composé, les droites  $\text{Log } k' = f(\% \text{ en MeOH du mélange d'élution})$  via les coefficients de capacité  $k'$  calculés à différentes proportions volumiques du mélange d'élution MeOH/H<sub>2</sub>O. Cette méthode nous permet d'obtenir une droite d'équation du type  $y = ax + b$  dont l'ordonnée à l'origine  $b$  correspond au coefficient de partition  $\text{Log } k'_w$  (Figure 4-11).

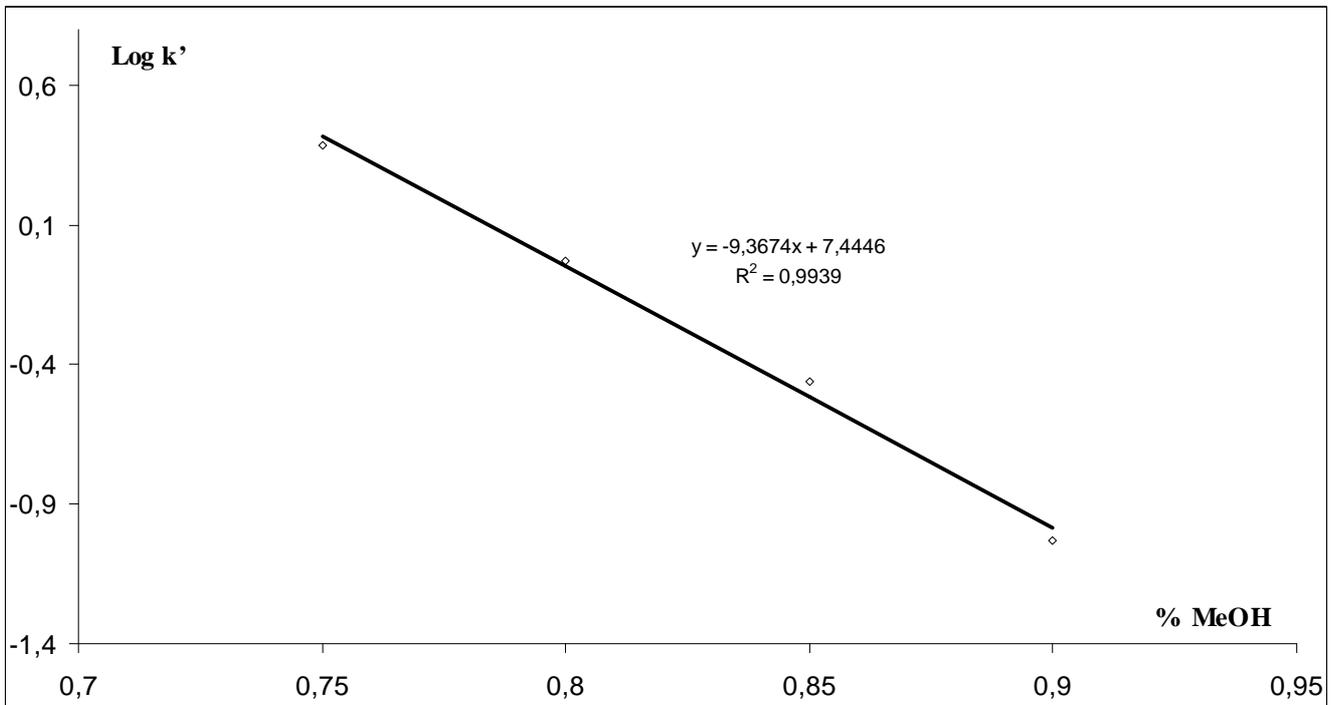


Figure 4-12 : Courbe  $\text{Log } k' = f(\% \text{ en MeOH})$  du tripode C5Glu3 permettant d'estimer le  $\text{Log } k'_w$  à partir de la valeur  $b$  de l'équation.

Les valeurs de  $\text{Log } k'_w$  obtenues pour les différents tripodes amphiphiles faciaux sont rassemblées dans le tableau 4-4.

Tripode amphiphile	$\text{Log } k'_w$	$R^2$
C3Glu3	6	0,9987
C4Glu3	5,9	0,9994
C5Glu3	7,4	0,9939
iC5Glu3	7,7	0,9828
C6Glu3	8,5	0,9984
C7Glu3	9,6	0,9988
C8Glu3	10,4	0,9963
BnGlu3	6,1	0,9998
PhC2Glu3	6,6	0,9999

Tableau 4-4 : Valeurs des coefficients de partition calculées expérimentalement.

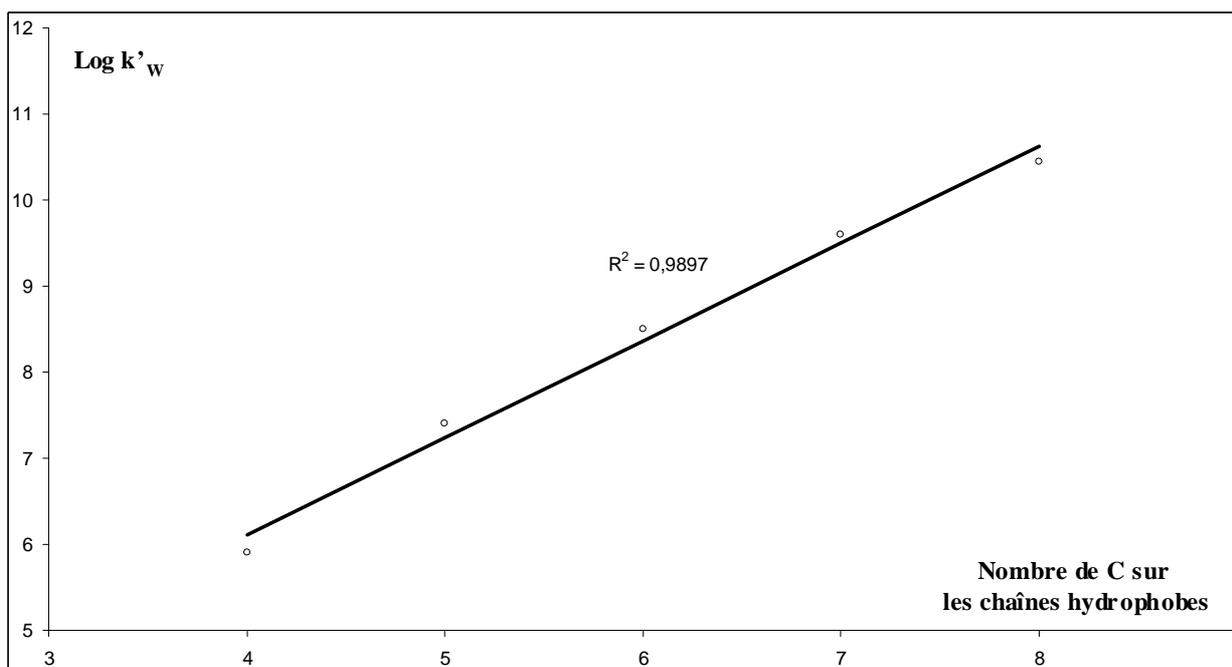


Figure 4-114 : Courbe  $\text{Log } k'_w = f(nC)$ .

On peut remarquer de manière surprenante que le coefficient de partition du tripode C3Glu3 est pratiquement égal à celui du C4Glu3. La contribution des 3 carbones supplémentaires reste donc marginale pour des chaînes très courtes. Cependant, on constate que le  $\text{Log } k'_w$  croît ensuite comme attendu de façon linéaire lorsque la longueur des chaînes hydrophobes augmente sur les composés (Figure 4-12).

On observe également une bonne corrélation entre le  $\text{Log CMC}$  et le  $\text{Log } k'_w$  des tripodes amphiphiles faciaux lorsque l'on trace la courbe  $\text{Log CMC} = f(\text{Log } k'_w)$ . En effet, le  $\text{Log CMC}$  diminue bien linéairement avec l'hydrophobie provoquée par l'allongement croissant des chaînes alkyles (Figure 4-13), ce qui confirme une corrélation entre la CMC et la balance hydrophile lipophile des tensioactifs.

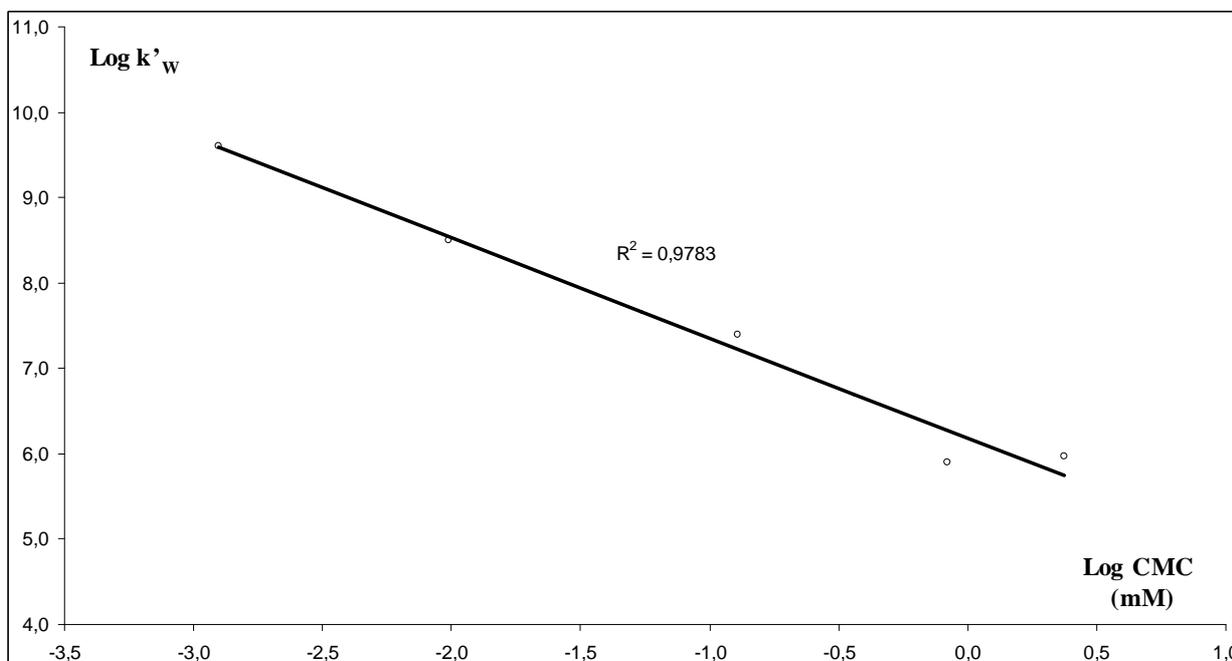


Figure 4-13 : Courbe  $\text{Log } k'_w = f(\text{Log CMC})$  des tripodes amphiphiles à chaînes linéaires.

Le tripode BnGlu3 a un coefficient de partition compris entre celui du C4Glu3 et du C5Glu3. Cette valeur est à comparer avec les valeurs relatives de CMC de ces trois composés qui étaient du même ordre de grandeur. Rappelons que la contribution à la CMC d'un noyau aromatique est de 3,5 méthylènes. Cette contribution semble être vérifiée pour les tripodes dans le cas de la mesure du coefficient de partition.

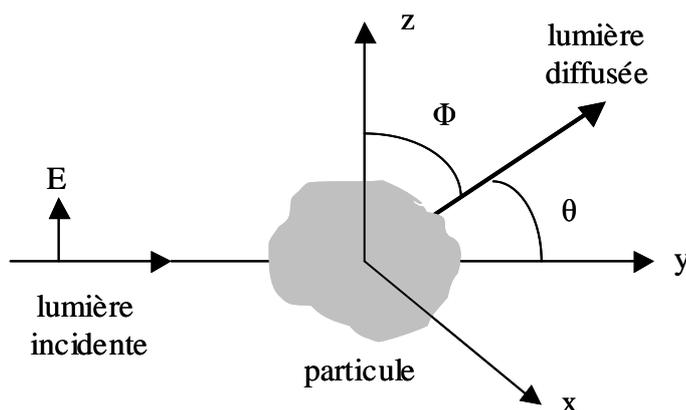
## IV. Mesures de la taille des auto-assemblages en solution aqueuse

Ayant pris connaissance des concentrations critiques d'agrégation de la série de tripodes amphiphiles faciaux, nous avons donc décidé d'étudier le comportement d'agrégation des tripodes faciaux en solution aqueuse avec un appareil à diffusion dynamique de la lumière. La technique de diffusion dynamique de la lumière, appelée en anglais Dynamic Light scattering (DLS), est une technique très puissante permettant d'apporter des informations sur la taille des macromolécules dispersées, la nature des interactions entre les molécules de soluté et la polydispersité des objets en solution<sup>13</sup>.

### A. Principe de la technique

Lorsqu'un faisceau de lumière est envoyé à travers une solution, la majeure partie de la lumière traverse le milieu mais une faible partie est diffusée. La lumière diffusée par une macromolécule en solution est observable si celle-ci a une polarisabilité différente (un indice de réfraction différent) de celle du solvant. Dans ce cas, le moment dipolaire oscillant induit par le champ électrique émet une onde dans toutes les directions de l'espace.

L'intensité de la lumière diffusée est fonction de la direction de la polarisation de la lumière incidente, de l'angle de diffusion et des paramètres de la solution (indice de réfraction, viscosité et température). Le faisceau est polarisé rectilignement avec des angles définis comme indiqués sur la figure 4-14.



**Figure 4-14 :** Schématisation de la lumière diffusée par une particule en solution. Le champ électrique du faisceau incident est orienté suivant la direction z et le faisceau incident se propage alors suivant la direction y. On définit les angles entre la direction de propagation du faisceau diffusé et les axes z et y respectivement par  $\Phi$  et  $\theta$ .

<sup>13</sup> B.J. Bruce, R. Pecora, « Dynamic light scattering with applications to chemistry, biology and physics », R.E. Krieger Pub. Co., Malabar, Florida., **1990**.

L'intensité de la lumière diffusée par une seule macromolécule en solution avec des dimensions plus petites que la longueur d'onde  $\lambda$  est donnée par la formule de Rayleigh :

$$I_s = \frac{4\pi^2 \cdot M^2 \cdot (\sin \phi)^2 \cdot (dn/dc)^2 \cdot I_o}{N_A^2 \cdot \lambda^4 \cdot R^2}$$

Avec  $M$  : masse molaire de la macromolécule (g/mol),

$dn/dc$  : incrément de l'indice de réfraction de la solution par rapport au solvant (mL/g),

$I_o$  : intensité de la lumière incidente,

$N_A$  : nombre d'Avogadro ( $6,022 \cdot 10^{23}$  mol),

$\lambda$  : longueur d'onde de la lumière dans la solution (cm),

$R$  : distance entre le point de diffusion et le point d'observation (cm).

### **B. Fluctuations de l'intensité diffusée et diffusion quasi-élastique de la lumière (DQEL)**

Contrairement à ce qui se passe dans un gaz où l'intensité diffusée est stationnaire dans le temps, l'intensité diffusée par un ensemble de macromolécules en solution fluctue dans le temps très rapidement et de manière irrégulière autour d'une valeur moyenne constante.

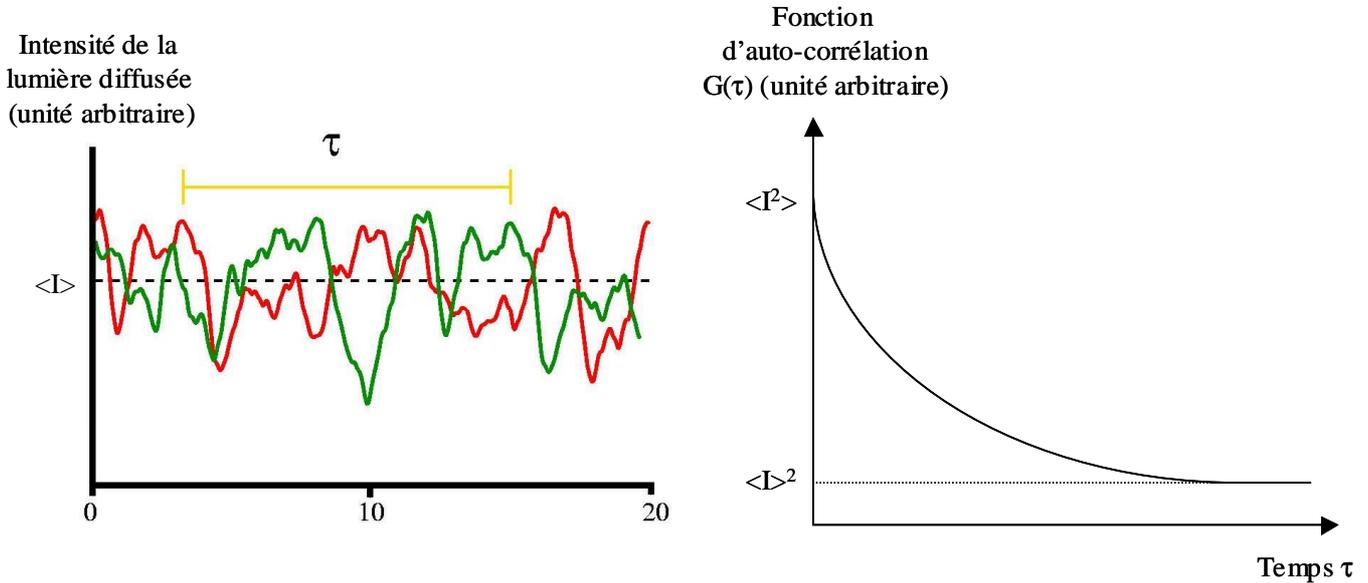
L'intensité diffusée par le solvant est très faible et les macromolécules qui y sont présentes, ont un mouvement aléatoire dû aux chocs entre les molécules de solvant et/ou des particules (mouvement Brownien), de sorte que le nombre  $n_i$  de particules contenues dans des volumes  $v_i$  de l'échantillon varient aléatoirement très rapidement.

Ainsi, la lumière diffusée par les volumes  $v_i$  adjacents fluctue en intensité de volume à volume mais aussi en phase. Ce sont ainsi les modifications perpétuelles des positions des macromolécules (sources diffusantes), qui causent les fluctuations d'intensité de la lumière diffusée, autour d'une valeur moyenne (signal stationnaire).

La méthode classique pour extraire des informations (propriétés dynamiques de la particule) d'une grandeur fluctuante consiste à calculer sa fonction d'autocorrélation. L'autocorrélation est une notion statistique qui mesure la régularité d'un signal lumineux d'intensité  $I(t)$ . La fonction d'autocorrélation pour un signal  $I(t)$  variant dans le temps s'écrit :

$$G(\tau) = \langle I(t) \cdot I(t+\tau) \rangle$$

A  $\tau = 0$ , les deux signaux  $I(t)$  et  $I(t+\tau)$  sont égaux, la fonction d'autocorrélation a alors une valeur maximale égale à  $\langle I^2 \rangle$  et cette valeur tend à diminuer lorsque  $\tau$  augmente, jusqu'à la valeur  $\langle I \rangle^2$  (Figure 4-15).



**Figure 4-15 :** Représentation graphique des fluctuations de l'intensité lumineuse autour d'une valeur moyenne  $\langle I \rangle$  et de la fonction d'autocorrélation d'une solution contenant des particules.

### 1. Macromolécules monodispersées sans interactions en solution

En absence d'interaction (solution idéale mais pouvant être rapprochée à une solution peu concentrée), une macromolécule se déplace librement et diffuse à travers la suspension sans interférences avec les autres macromolécules. Pour les macromolécules monodispersées en suspension ayant une taille petite comparée à  $q^{-1}$ , où  $q$  est le vecteur de diffusion c'est à dire la différence entre les vecteurs d'onde incident et diffusé (soit  $q.R \ll 1$ , avec  $R$  le rayon de la macromolécule), la fonction d'autocorrélation s'écrit :

$$G(\tau) = A \cdot \exp(-2D \cdot q^2 \cdot \tau) + B$$

- Avec
- A : constante de l'appareil,
  - D : coefficient de diffusion (en  $\text{cm}^2/\text{s}$ ),
  - B : ligne de base théoriquement égale à 1.

A partir de la connaissance du coefficient de diffusion translationnel (D), nous pouvons obtenir la taille de la macromolécule en solution dans un milieu donné. Pour des

macromolécules sphériques sans interactions dans un solvant homogène, le coefficient de diffusion translationnel est donné par la relation de Stokes-Einstein :

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R_h}$$

Avec  $k_B \cdot T$  qui représente l'énergie d'agitation thermique par molécule,

$R_h$  : rayon hydrodynamique apparent des macromolécules (m),

$T$  : température absolue (K)

$D$  : coefficient de diffusion translationnel ( $m^2/s$ )

$\eta$  : viscosité dynamique du milieu de dilution (Pa.s)

$k_B$  : constante de Boltzmann ( $1,38 \cdot 10^{-23}$  J/K)

Le rayon hydrodynamique  $R_h$  d'une macromolécule représente le rayon de la sphère dure qui diffuse en solution avec le même coefficient de diffusion translationnel. De plus, pour des macromolécules sphériques, la détermination du  $R_h$  et du volume spécifique partiel peut être utilisée pour calculer le degré de solvation de la macromolécule. Le volume de la sphère, calculé à partir de  $R_h$  et donné par la relation  $V_h = (4\pi R_h^3/3)$ , est un volume hydrodynamique, qui peut être différent du volume  $V$  calculé à partir du volume spécifique partiel de la macromolécule,  $V_{sp}$  ( $V = M \cdot V_{sp} / N_A$ ), considéré comme le volume non hydraté.

## **2. Macromolécules polydispersées sans interactions en solution**

La polydispersité d'une solution de macromolécules peut avoir plusieurs origines différentes :

- une polydispersité en taille ; toutes les macromolécules sont supposées être des sphères homogènes, la seule différence est leur taille.
- une polydispersité en composition : toutes les macromolécules sont des sphères homogènes mais ayant des compositions différentes.
- une polydispersité en forme : les macromolécules ont des formes différentes.

Dans ce cas précis, on ne considérera que la polydispersité en taille avec des macromolécules ayant des tailles petites comparées à la longueur d'onde du laser. Si plusieurs

espèces sont présentes en solution, la fonction d'autocorrélation est une somme discrète d'exponentielles qui peut être « approchée » par la distribution continue suivante :

$$G(\tau) = \int_0^{\infty} A(\Gamma) \cdot \exp(-\Gamma \cdot \tau) \cdot d\Gamma$$

Avec  $\int_0^{\infty} A(\Gamma) \cdot d\Gamma = 1$ ,  $A(\Gamma)$  représente la fonction de distribution normalisée.

### **3. Macromolécules polydispersées avec interactions en solution**

Les interactions en solution conduisent à des corrélations dans la position et le mouvement des macromolécules en solution. L'effet de cette corrélation sur la fonction d'autocorrélation est qu'elle peut perdre son caractère mono-exponentiel alors que la solution est constituée de macromolécules identiques. Un écart à une monoexponentielle parfaite n'est pas le signe automatique d'une polydispersité en taille dans la solution.

Le signal de diffusion d'une solution de macromolécules monodispersées sans interaction est une mono-exponentielle décroissante et la représentation de  $\ln G(\tau)$  en fonction de  $\tau$  est une droite. Si les éléments diffusants ne sont pas monodispersés ou s'ils interagissent, la fonction d'autocorrélation perd son caractère mono-exponentiel et peut être assimilée à une somme d'exponentielles. La courbe expérimentale ne permet plus de remonter de façon univoque à la répartition en taille des diffuseurs. La représentation de  $\ln G(\tau)$  en fonction de  $\tau$  n'est plus linéaire et l'écart par rapport à la pente initiale correspond au coefficient de polydispersité, Pdl.

De nombreuses méthodes de traitement mathématique du signal ont été développées afin de déterminer le coefficient de diffusion apparent  $D_{app}$  et le coefficient de polydispersité Pdl.

La première méthode est celle des cumulants, qui s'applique aussi bien aux systèmes monodispersés qu'aux systèmes polydispersés. C'est une méthode qui permet sans ambiguïté de déterminer le coefficient apparent des macromolécules monodispersées en solution alors qu'elle nous fournit un coefficient de diffusion moyen des macromolécules dans le cas où celles-ci sont polydispersées en solution. Cette méthode consiste à écrire la fonction d'autocorrélation en termes de cumulants suivant un développement limité :

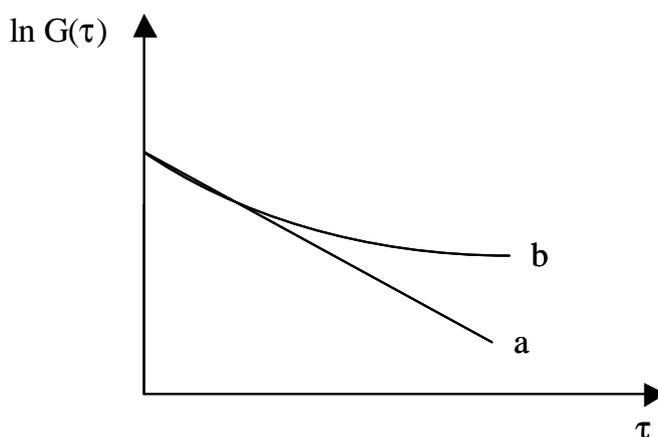
$$\ln[G(\tau)]_{(\tau \rightarrow 0)} \approx A_0 - A_1 \cdot \tau + A_2 \cdot (\tau^2/2)$$

La connaissance des trois premiers cumulants ( $A_0$ ,  $A_1$  et  $A_2$ ) permet d'obtenir un certain nombre d'informations essentielles comme la valeur à laquelle la distribution  $A(\Gamma)$  est centrée, sa largeur et son asymétrie.

Dans le cas d'une distribution gaussienne, la connaissance de  $A_1$  et  $A_2$  est suffisante car tous les cumulants d'ordre supérieur sont nuls :  $A_1$  est lié au coefficient de diffusion apparent et  $A_2$  représente la variance, c'est à dire l'écart par rapport à la mono-exponentielle pure caractérisée par  $D_{app}$  (Figure 4-16):

$$A_1 = \langle q^2 \cdot D_{app} \rangle$$

$$A_2 = \langle (q^2 \cdot D_{app})^2 \rangle - \langle q^2 \cdot D_{app} \rangle^2$$



**Figure 4-16 :** Représentation schématique de  $\ln G(\tau)$  en fonction de  $\tau$  dans le cas où la fonction d'autocorrélation,  $G(\tau)$  a un comportement de monoexponentiel pur (a) et dans le cas où la fonction d'autocorrélation,  $G(\tau)$ , s'écarte de la mono-exponentielle (b).

L'indice de polydispersité, Pdl est déterminé par le calcul du rapport  $Pdl = A_2/A_1^2$ . Ce coefficient représente la largeur de la distribution en taille des macromolécules en solution. C'est un nombre sans dimension qui caractérise l'écart à une monoexponentielle, caractéristique du comportement d'une solution idéale (monodisperses et sans interactions). Pour les systèmes de macromolécules que nous étudions, on estime que si la valeur de Pdl est inférieur à 20%, la solution est monodisperse. Si elle est supérieure à 40%, la solution est très polydispense. L'augmentation de l'indice de polydispersité est due soit à la dispersion en taille des macromolécules, soit à la non-idéalité de la solution.

La seconde méthode employée pour analyser des solutions polydispersées en taille et sans interaction est la méthode des moindres carrés (NNLS) ou la méthode de CONTIN.

Dans le cas d'une solution polydispense en taille, la fonction d'autocorrélation est une somme d'exponentielles dont la résolution est complexe car elle représente un problème sans solution unique.

Cette méthode va utiliser une méthode d'échantillonnage pour décomposer en valeurs propres la fonction d'autocorrélation avec un nombre de valeurs limité et déterminer le coefficient de diffusion (donc le rayon hydrodynamique  $R_h$ ) de chacune des espèces en solution.

### **C. Procédure et interprétation des résultats**

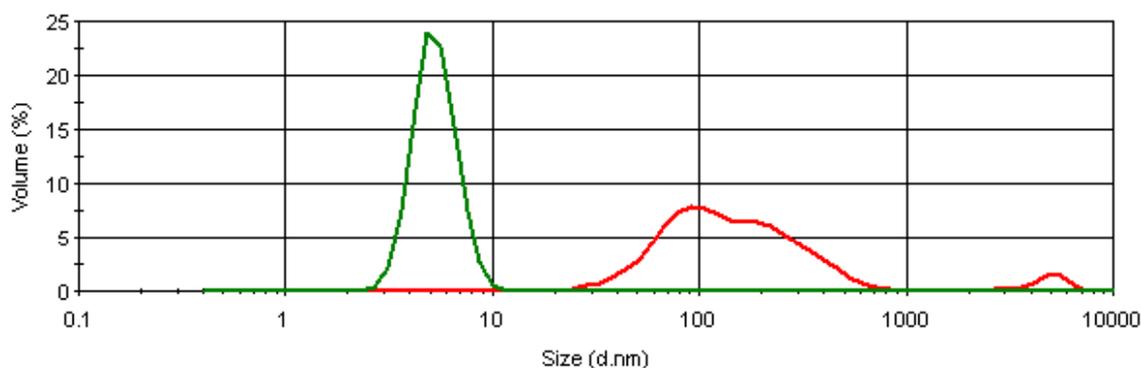
La polydispersité et la distribution de taille ont été mesurées à 25°C sur des solutions d'amphiphiles faciaux à des concentrations toujours supérieures à la CMC mais pouvant varier d'un produit à l'autre, afin d'obtenir la concentration nécessaire à l'obtention d'un signal suffisamment intense.

Les mesures sont réalisées avec un Zetasizer Nano-S modèle 1600 (Malvern Instruments Ltd. Angleterre) équipé d'un laser He-Ne pour produire la source lumineuse ( $\lambda = 633$  nm, 4mW). Le dispositif de diffusion de la lumière enregistre le signal en rétrodiffusion à un angle de  $\theta = 173^\circ$  avec un photomultiplicateur relié à un corrélateur. La valeur limite inférieure de détection en taille des particules est de l'ordre de 0,7 nm.

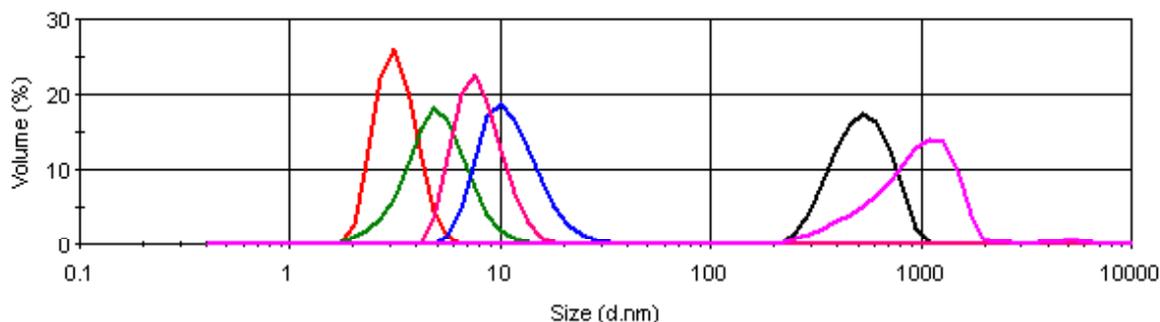
Les solutions sont préparées avec de l'eau ultra pure et stockées à température ambiante 1 h, filtrées à travers un filtre de 0,45  $\mu\text{m}$  et transvasées dans des cuvettes de 45  $\mu\text{L}$  pour effectuer l'expérience. Le temps d'acquisition est de 10 minutes et chaque donnée expérimentale correspond à une moyenne de 10 valeurs elles mêmes issues à chaque fois d'une moyenne de 10 mesures.

Nous avons fait varier les concentrations de chaque tripode au dessus de la CMC de façon à obtenir un signal suffisamment puissant mesuré par le détecteur et estimé en kilocoups (kcps). Les composés faiblement solubles sont chauffés à 40°C si besoin pour compléter la solubilisation des tripodes amphiphiles.

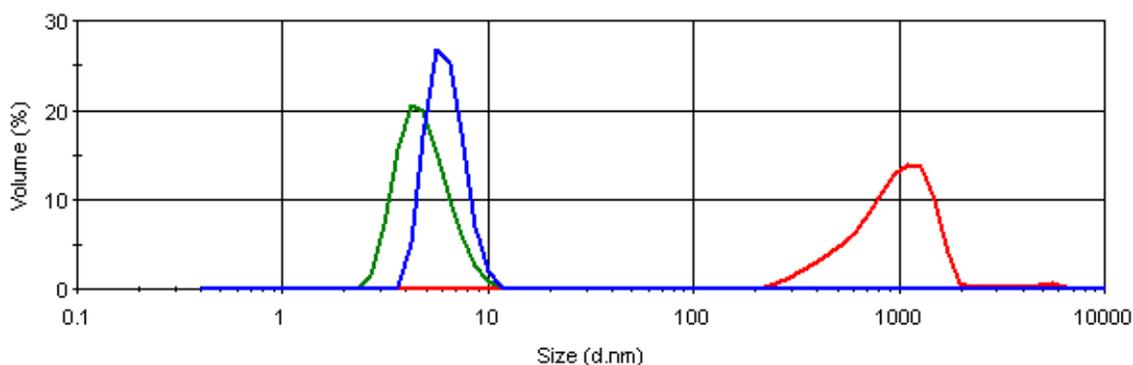
Les données expérimentales obtenues suivant cette méthodologie sont rassemblées dans le tableau 4-5, ainsi que les profils de distribution statistique du diamètre hydrodynamique  $d_H$  de l'ensemble des composés sur les figures 4-17 à 4-19.



**Figure 4-17 :** Distribution volumétrique du diamètre hydrodynamique des tripodes amphiphiles faciaux à chaînes hydrophobes constituées de résidus aromatiques : (vert) BnGlu3 à 15CMC, (rouge) PhC2Glu3 à 15CMC.



**Figure 4-18 :** Distribution volumétrique du diamètre hydrodynamique des tripodes amphiphiles faciaux à chaînes aliphatiques linéaires : (rouge) C3Glu3 à 15CMC, (vert) C4Glu3 à 15CMC, (rose foncé) C5Glu3 à 120CMC, (bleu) C6Glu3 à 15CMC, (noir) C7Glu3 à 120CMC et (rose clair) C8Glu3 à 120CMC.



**Figure 4-19 :** Distribution volumétrique du diamètre hydrodynamique des tripodes amphiphiles faciaux ayant une hydrophilie variable : (vert) C8Glu6 à 2CMC, (bleu) C8Glu9 à 2CMC et (rouge) C8Glu3 à 120CMC.

Tripodes	Diamètre hydrodynamique $d_H$ (nm)	$l$ 1/2 h <sup>a</sup> (nm)	Distribution volumétrique (%)	Nombre de coups <sup>b</sup> (kcps)	Concentration (mM)
C3Glu3	3,25	0,73	99,9	346	35,7 (~15CMC)
C4Glu3	5,21	1,02	99,8	142	12,5 (~15CMC)
C5Glu3	8,09	2,16	99,8	308	15,4 (~120CMC)
iC5Glu3	7,95	1,92	89,9	180	14,8 (~60CMC)
C6Glu3	11,52	4,02	99,8	209	0,15 (~15CMC)
C7Glu3	538,8	162,1	99,0	397	0,15 (~120CMC)
C8Glu3	975,5	229,7	98,1	473	0,28 (~120CMC)
BnGlu3	5,38	1,31	99,6	365	3,4 (~15CMC)
PhC2Glu3	172,8	130,0	95,2	295	1,8 (~15CMC)
C8Glu6	4,96	1,46	100	418	6,2 (~2CMC)
C8Glu9	6,25	1,32	99,9	222	1,3 (~2CMC)

**Tableau 4-6 :** Taille des agrégats mesurée dans l'eau pour la série de tripodes amphiphiles faciaux par diffusion dynamique de la lumière. <sup>a</sup> 1 1/2 h, ce paramètre correspond à la largeur du pic à mi-hauteur et reflète le degré de polydispersité de l'échantillon.

Lors de ces mesures, on a pu constater que la distribution volumétrique et la taille des agrégats varient en fonction de la concentration. En effet, il est nécessaire d'avoir une concentration suffisante dans la solution au minimum 15 fois supérieure à la CMC pour avoir une population d'agrégats monodisperse et suffisamment concentrée en particules pour l'ensemble des composés, à l'exception des glycodendrimères C8Glu6 et C8Glu9 pour lesquels une concentration deux fois supérieure à la CMC est suffisante (mais dans ce cas leur CMC comme on l'a vu est extrêmement élevée). Seul le composé à chaînes ramifiées iC5Glu3 possède une distribution volumétrique partielle proche de 90%.

La forme et le type d'auto-association générés par les tensioactifs en solution aqueuse peuvent être déterminés à priori de manière empirique en se basant sur le concept du

paramètre critique d'empilement (ou « Critical Packing Parameter »)<sup>14</sup> développé d'après les équations de Tanford. Ce paramètre, simple et intuitif, est défini comme étant le rapport du volume de la partie hydrophobe de la molécule ( $v_0$ ) sur le produit de la longueur maximale de cette partie par la surface optimale occupée par la molécule à l'interface entre l'agrégat et le solvant ( $a_l_0$ ). Il permet d'établir une forme des agrégats à partir de l'importance relative des parties hydrophobes et hydrophiles pour chaque lipide<sup>15</sup> (Tableau 4-6).

Valeur du paramètre critique d'empilement	Forme moléculaire	Phase	Lipides
$\frac{v_0}{a_l_0} < 1/3$ (sphère)	 <p>Cône inverse</p>	 <p>Phase micellaire (Micelles)</p>	lysophospholipides, détergents.
$1/3 < \frac{v_0}{a_l_0} < 1/2$ (tubules ou prolates)			
$1/2 < \frac{v_0}{a_l_0} < 1$ (oblates)			
$\frac{v_0}{a_l_0} \approx 1$	 <p>Cylindre</p>	 <p>Phase lamellaire (L) (Vésicules, feuillet)</p>	phosphatidylcholine, phosphatidylsérine (pH>4), phosphatidylinositol, phosphatidylglycérol, sphingomyéline, acide phosphatidique, digalactosyldiglycéride, cardiolipine.
$\frac{v_0}{a_l_0} > 1$	 <p>Cône</p>	 <p>Structures inversées (H) (courbure négative)</p>	phosphatidyléthanolamine (insaturée), acide phosphatidique (pH<3), phosphatidylsérine (pH<4), monogalactosyldiglycéride

Tableau 4-7 : Paramètre d'empilement et forme moléculaire de différents lipides.

Cependant, ces règles prédictives concernant les courbures à l'interface hydrophile-hydrophobe, basées sur la mécanique statistique, sont des règles empiriques. A ce titre, elles se doivent donc d'être utilisées avec précaution puisque de nombreux paramètres (concentration en tensioactif, force ionique, température, présence de mélanges,...) peuvent

<sup>14</sup> R. Nagarajan, *Langmuir*, **2002**, 18, 31-38.

<sup>15</sup> P.R. Cullis and B. De Kruijff, *Biochem.Biophys. Acta*, **1979**, 559, 399-420.

influer grandement sur l'auto-association. Il n'en reste pas moins qu'elles sont importantes en première approximation.

En considérant une importance relative équivalente, c'est-à-dire un paramètre d'empilement proche de l'unité, le lipide peut être schématisé par un cylindre et le type de phase adoptée sera lamellaire (L) (vésicule ou feuillet). C'est le cas pour une population homogène de molécules de phosphatidylcholine, par exemple, qui va s'agréger en bicouches.

Par contre, si la partie hydrophobe du lipide est plus importante que la partie hydrophile (paramètre d'empilement supérieur à l'unité), celui-ci pourra être schématisé par une forme conique avec la tête polaire au sommet du cône et une phase hexagonale (ou  $H_{II}$ ) ou micelle inverse sera préférentiellement adoptée. La phase micellaire, quant à elle, est associée à une forme conique inverse où la partie polaire est plus importante que la partie hydrophobe (paramètre d'empilement inférieur à 1/2).

Sur un autre plan, il est également admis que la longueur de la chaîne constituant le tensioactif a un impact sur le nombre d'agrégation de la micelle, c'est-à-dire le nombre de tensioactifs constituant la micelle. En effet, plus la chaîne est longue plus le facteur hydrophobe et par là plus le nombre d'agrégation croît et plus la taille de la micelle augmente.

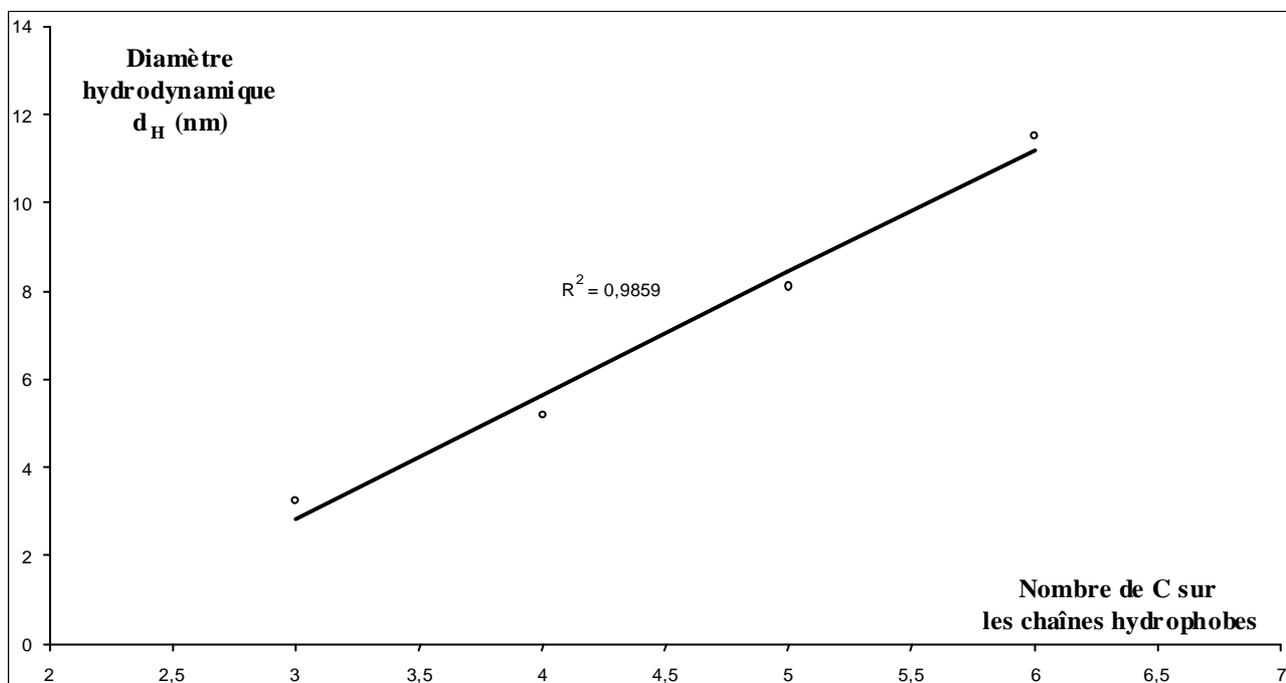


Figure 4-20 : Courbe  $d_H = f(n_C)$  des tripodes amphiphiles à chaînes linéaires.

Les résultats obtenus en diffusion de lumière indiquent clairement une augmentation de la taille des objets formés lorsque les chaînes qui les constituent s'allongent. Le diamètre des agrégats passe de 3,25 nm pour le C3Glu3 à 11,5 nm pour le C6Glu3. On note une relation linéaire du diamètre des particules en fonction du nombre de méthylènes constituant ces chaînes (Figure 4-20).

Ces objets sont de petites tailles inférieures à 15 nm. Ces tailles semblent indiquer une organisation de type micellaire, aucune conclusion sur la forme de ces objets ne pouvant être faite à ce stade de nos mesures expérimentales. En effet, les micelles peuvent être sphériques, légèrement allongées ou en forme de bâtonnet. Les indications sur la forme de ces micelles peuvent être obtenues par des méthodes puissantes comme la diffusion de neutrons (SANS) ou de rayons X (SAXS) aux petits angles.

Au-delà de 6 carbones présents dans la chaîne, les tripodes semblent s'associer sous la forme d'objets beaucoup plus volumineux. Il faut cependant se montrer prudent car compte tenu de la faible solubilité de ces substrats dans l'eau et ce malgré la procédure de préparation des échantillons adoptés, on peut être en présence ici d'un phénomène d'agrégation imputable uniquement à cette faible solubilité et la formation d'objets indépendants des propriétés tensioactives de ces substrats. La forme et la nature de ces agrégats peuvent être étudiées et précisées par des techniques microscopiques notamment la microscopie électronique par transmission après coloration négative.

Il est à noter que l'accroissement du volume occupé par la sphère hydrophile des tripodes en augmentant le nombre de résidus sucres (C8Glu6 et C8Glu9), mais également l'augmentation associée de la solubilité de ces produits, provoque des changements profonds de la taille des particules puisque le diamètre des agrégats diminue très fortement passant de 1  $\mu\text{m}$  à 5-6 nm (Figure 4-19). Cette dernière observation est en accord avec l'hypothèse que nous avons émise précédemment sur l'impact de la solubilité des dérivés C7Glu3 et C8Glu3 sur la forme des agrégats formés en solution et par voie de conséquence nous incline à nouveau à la prudence concernant l'interprétation de ces résultats.

Ce changement drastique du diamètre des particules obtenues est également notable lorsque on rajoute un méthylène (PhC2Glu3) sur les parties hydrophobes du BnGlu3 (Figure 4-17). Nous avons vu que cette addition entraînait un changement notable de la conformation de la partie hydrophobe, les groupes phényle constitutifs des trois chaînes passant d'une position horizontale à une position verticale. Ce changement semble entraîner ici également une profonde modification du paramètre d'empilement de la molécule puisqu'on observe une transition d'un système « micellaire » vers un système « membranaire ».

## V. Essais de préparation de liposomes

Comme nous l'avons vu, les tripodes amphiphiles faciaux PhC<sub>2</sub>Glu<sub>3</sub>, C<sub>7</sub>Glu<sub>3</sub> et C<sub>8</sub>Glu<sub>3</sub> forment en solution aqueuse des objets volumineux de respectivement 173, 539 et 976 nm. Etant donné les dimensions des objets, on peut supposer qu'ils s'organisent sous la forme de phases lamellaires en solution aqueuse (si les agrégats ne sont pas dus à un défaut de solubilité). Nous avons donc voulu voir s'il était possible, à partir de ces composés, de préparer des liposomes et de visualiser les préparations obtenues par microscopie électronique à transmission (MET) après coloration négative de l'échantillon.

Par définition, un liposome est une vésicule artificielle formée par des bicouches lipidiques concentriques, emprisonnant entre elles des compartiments aqueux, pouvant être obtenues à partir d'une grande variété d'agents amphiphiles. On distingue 3 types de classe selon leur taille et le nombre de compartiments :

- les liposomes multilamellaires ou MLV (Multi Lamellar Vesicle),
- les petits liposomes unilamellaires ou SUV (Small Unilamellar Vesicle),
- les gros liposomes unilamellaires ou LUV (Large Unilamellar Vesicle).

Les liposomes unicompartmentaux SUV peuvent atteindre des tailles de 50 nm. Ils sont obtenus à partir d'une suspension de vésicules multilamellaires. Les vésicules multilamellaires sont préparées à partir d'un film lipidique lui-même obtenu par évaporation d'un solvant organique dans lequel est dissout le lipide. Ce film lipidique est ensuite hydraté et dispersé en milieu aqueux pour conduire à des MLV de plusieurs micromètres.

L'apport d'une énergie externe, l'utilisation des ultrasons par exemple, que ce soit avec une sonde ou dans un bain, permet par leur fréquence, de rompre les MLV en suspension pour qu'ils subissent un réarrangement sous la forme de SUV homogènes et de petites tailles<sup>16</sup>. Bien entendu, la taille des liposomes va dépendre du temps et de la puissance des ultrasons ainsi que de la nature et la concentration de l'agent amphiphile.

On prépare pour chaque expérience un film dans un ballon forme « cœur » en solubilisant le composé à étudier dans du méthanol, en évaporant le solvant à l'évaporateur

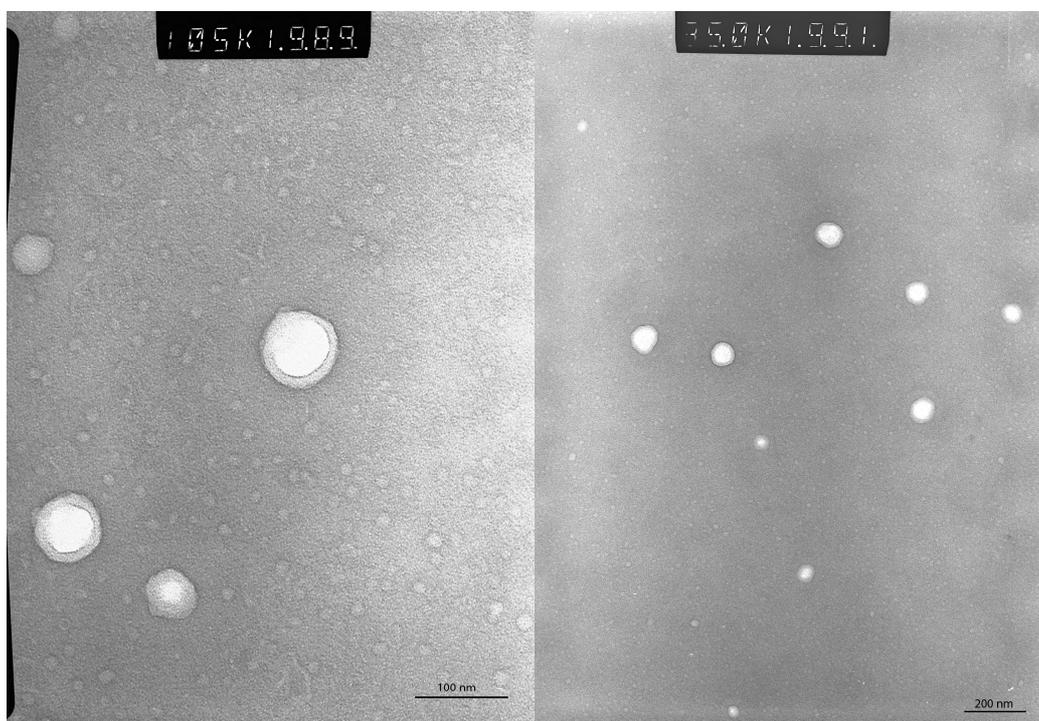
---

<sup>16</sup> J.H. Fuhrhop and J. Mathieu, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1984**, 23, 100-113.

rotatif et en séchant le film sous vide à la pompe. Le film est dispersé avec de l'eau ultra pure de manière à avoir une concentration finale de 10 mg/mL puis agité au vortex pendant environ une minute.

La suspension est soumise aux ultrasons dans un bain chauffé à 50°C pendant une heure. Les solutions légèrement bleutées sont filtrées à travers un filtre de 0,45 µm. Une goutte de la solution est déposée sur une grille métallique couverte d'un film carboné Formvar et l'excès de liquide est éliminé par capillarité avec un papier buvard. Ensuite, une goutte de solution de molybdate d'ammonium à 3% dans l'eau est déposée sur la grille. Après 30 secondes pour optimiser l'adsorption du colorant, la goutte est retirée à nouveau avec un papier buvard. La grille est prête à être visualisée par microscopie électronique sur le microscope électronique Philips CM/2.

Selon cette procédure, nous avons recueilli plusieurs clichés qui sont présentés sur les figures 4-21 à 4-23.



**Figure 4-21 :** Images obtenues pour le tripode PhC2Glu3.

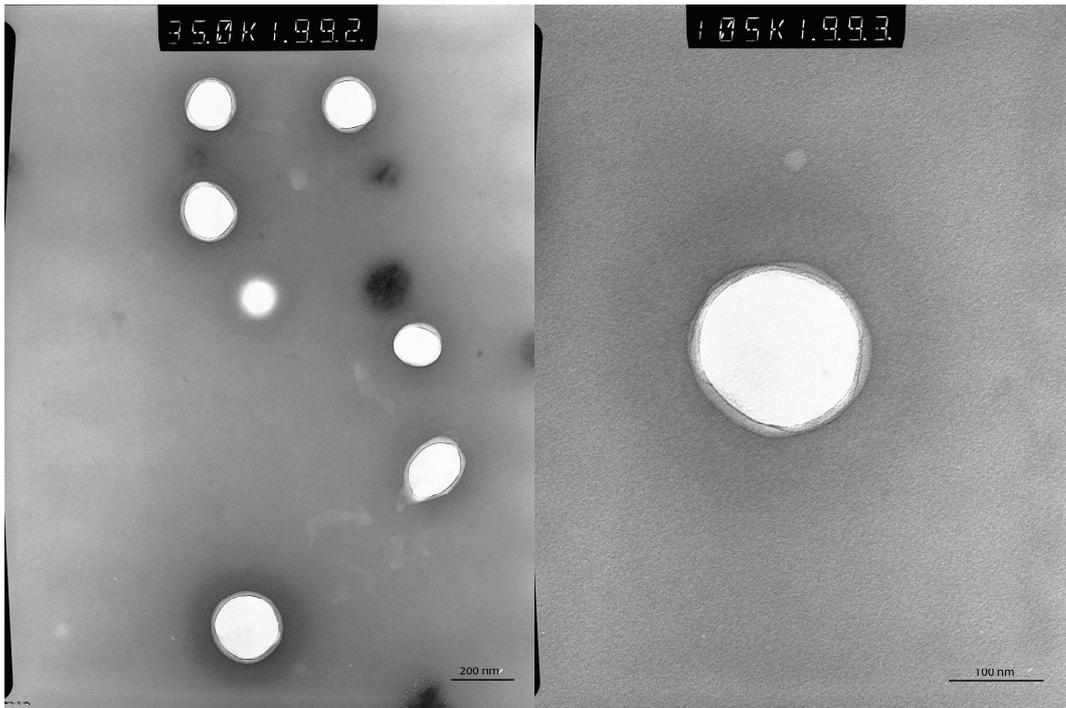


Figure 4-23 : Images obtenues pour le tripode C7Glu3.

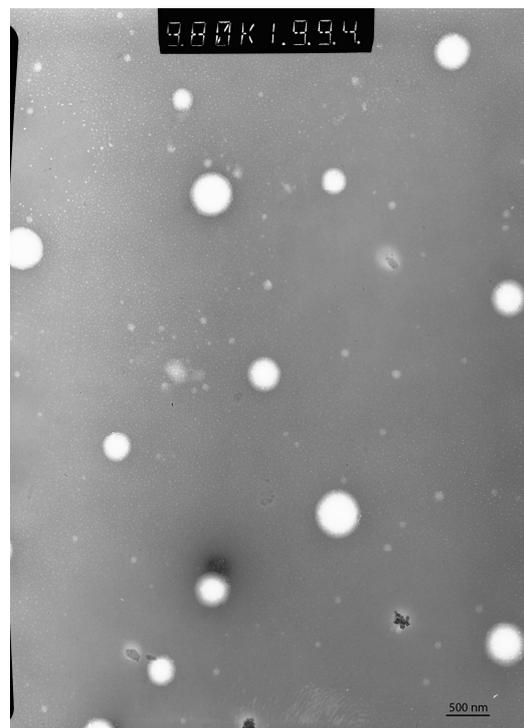


Figure 4-2325 : Images obtenues pour le tripode C8Glu3.

On observe dans tous les cas des objets sphériques blancs sur fond sombre. En microscopie électronique, le matériel observé apparaît blanc sur fond noir. Ces objets sont

entourés d'une couche grisâtre qui peut éventuellement correspondre à la membrane constituée d'une bicouche de tripodes.

Nous avons également mesuré en parallèle par DLS la taille des liposomes formés selon cette procédure afin de vérifier que ces objets n'étaient pas des artefacts. La synthèse des résultats obtenus par DLS et ceux mesurés sur les clichés de microscopie électronique, est présentée dans le tableau 4-7.

Tripode amphiphile	Diamètre hydrodynamique $d_H$ (nm)	1 1/2 h (nm)	Distribution volumétrique (%)	Nombre de coups (kcps)	Diamètre <sup>a</sup> mesurée par MET (nm)
PhC2Glu3	65,2	33,7	60	363	50-89
C7Glu3	243	150	52	270	167-233
C8Glu3	263	161	90	438	188-406

**Tableau 4-8 :** Tailles des liposomes comparées par DLS et MET. <sup>a</sup>Les valeurs correspondent à l'écart entre la plus petite et la plus grande particule mesurées grâce à l'échelle sur les images de microscopie électronique.

On peut observer une assez bonne corrélation entre les mesures de DLS et celles qui ont été faites systématiquement sur les clichés de microscopie. La polydispersité des échantillons obtenus à partir des tripodes C7Glu3 et C8Glu3 est importante. Elle est probablement due au mode de formation de ces liposomes, les bains de sonication apportent en effet une énergie faible par rapport à celle qu'on obtient par utilisation d'une microsonde de titane plongée dans une solution de lipides. Cependant, cette dernière méthode si elle permet l'obtention de liposomes de petites tailles et faiblement polydisperses présente le désavantage de contaminer la solution par du titane et d'être plus agressive vis-à-vis des tensioactifs.

Dans le cas présent il semblerait qu'un apport énergétique convenable puisse favoriser l'organisation de ces tripodes faciaux hydrophobes, comme cela se produit avec les phospholipides, et conduire à des systèmes vésiculaires de type liposomes. Ce dernier résultat ne contredit pas nos hypothèses précédentes et notre prudence lors de l'interprétation des résultats d'agrégation en absence d'énergie externe, mais peut ouvrir au contraire de nouvelles voies d'application de ces substrats pour l'encapsulation et mieux la vectorisation d'actifs...

On peut observer que le tripode PhC2Glu3 constitué de chaînes hydrophobes aromatiques forme de petits liposomes variant de 50 à environ 90 nm. Il est possible que la

plus faible longueur de ces chaînes qui correspondent, rappelons le, à 5,5 chaînons méthylène favorisent la formation de petites vésicules. De plus, l'orientation verticale de ces chaînes aromatiques assure un empilement efficace des tripodes par des interactions de type «  $\pi$ -stacking ».

## **VI. Conclusion**

En conclusion, nous avons détaillé dans cette partie une étude relativement complète des propriétés physico-chimiques de la gamme d'amphiphiles faciaux préparés. Nous avons pu estimer dans un premier temps la solubilité de chacun des composés dans l'eau et mis en évidence leurs propriétés moussantes pour les mieux solubles.

On a défini la notion de tension superficielle d'un liquide et utilisé cette caractéristique pour mesurer indirectement selon la méthode de Wilhelmy, les concentrations micellaires critiques (CMC) des tensioactifs en étudiant l'adsorption des amphiphiles faciaux à l'interface air/eau. On a pu voir que malgré leur topologie atypique, ces tripodes amphiphiles faciaux adoptent un comportement tensioactif et sont capables quelle que soit la longueur des chaînes hydrophobes, de s'adsorber à l'interface air/eau et d'abaisser la tension superficielle de l'eau jusqu'à une valeur limite significative à un phénomène d'auto-assemblage. Ces résultats ont permis de vérifier l'hypothèse émise au départ pour ces composés, concernant la ségrégation des parties polaires et apolaires sur les faces du noyau aromatique central plan.

On a vu que  $\log CMC$  et la tension superficielle limite  $\gamma_{CMC}$  variaient de façon linéaire bien cohérente en fonction de l'allongement des chaînes alkyles sur la face hydrophobe des tripodes amphiphiles faciaux comme pour une série homologue de tensioactifs monocaténaux classiques.

On a pu voir cependant que la CMC de ces composés diminuait d'un facteur moins important que celui observé pour les tensioactifs classiques lors de l'introduction supplémentaire de groupes méthylène sur les chaînes hydrophobes à cause de leur répartition sur les trois bras hydrophobes du tripode. On a vu cependant que même si l'allongement des chaînes avait une répercussion importante sur les valeurs de CMC, ces modifications conduisent à une variation des tensions superficielles limites  $\gamma_{CMC}$  très faible de seulement  $\sim 10$  mN/m. Les glycodendrimères ont eux une très faible activité de surface due à l'aire occupée importante par la tête polaire de ces composés à l'interface air/eau.

On a constaté une stabilité des aires occupées à l'interface air/eau (150-210 Å<sup>2</sup>) dans la série de tripodes à chaîne alkyle linéaire malgré le résultat anormal du composé C8Glu3

possédant lui une aire pratiquement 4 fois supérieure. Les glycodendrimères C8Glu6 et C8Glu9 occupent une aire plus importante à peu près similaire (460-470 Å<sup>2</sup>). Les tripodes amphiphiles à chaînes hydrophobes aromatiques ont une aire plus importante (BnGlu3 = 370 Å<sup>2</sup> et PhC2Glu3 = 320 Å<sup>2</sup>) qui peut s'interpréter d'après leur modélisation où l'on note que les groupements phényle sont verticaux pour le BnGlu3 et horizontaux pour le PhC2Glu3.

On a également pu évaluer l'hydrophobie de ces molécules à partir de leur coefficient de partage en utilisant une méthode basée sur la chromatographie liquide haute performance (CLHP). Les coefficients de partages Log k'<sub>w</sub> se sont d'ailleurs révélés bien en adéquation avec les valeurs de CMC d'après la courbe Log k'<sub>w</sub> = f (Log CMC). De la même façon, le Log k'<sub>w</sub> croît linéairement lorsque la longueur des chaînes hydrophobes augmente sur les tripodes amphiphiles faciaux.

La détermination des CMC par tensiométrie nous a également permis d'étudier les objets formés en solution aqueuse par diffusion dynamique de la lumière (DLS). On a pu voir que les glycodendrimères C8Glu6 et C8Glu9 forment une population bien monodisperse de petits agrégats (5 à 6,3 nm) à une concentration supérieure à leur CMC.

Les tailles mesurées par DLS sur la majorité des tripodes faciaux (hormis les substrats les plus hydrophobes C7Glu3 et C8Glu3, supposent ici la formation de systèmes micellaires. Cette hypothèse doit être confirmée par d'autres techniques d'investigation (SANS, SAXS) pour savoir si ces objets sont de forme sphériques, allongés ou pas, ou en forme de bâtonnets. On a pu établir une relation linéaire du diamètre des particules en fonction du nombre de méthylènes constituant ces chaînes sur la série de tripodes du C3Glu au C6Glu3. Le reste de la série (PhC2Glu3, C7Glu3 et C8Glu3) a tendance à former des phases lamellaires en solution aqueuse, ceci étant dû à leur mauvaise solubilité.

Enfin, on a pu préparer des liposomes de type SUV en dispersant les composés PhC2Glu3, C7Glu3 et C8Glu3 dans de l'eau sous l'effet des ultrasons. La polydispersité des échantillons obtenus à partir des tripodes C7Glu3 et C8Glu3 est cependant importante, ce résultat peut être corrélé avec leur faible solubilité et devrait être amélioré en augmentant l'énergie apportée. Le PhC2Glu3 forme des liposomes relativement petits moyennement monodisperse de 50-90 nm. On a pu constater une assez bonne corrélation entre les mesures de DLS et celles qui ont été faites systématiquement sur les clichés de microscopie.

Il serait intéressant d'étudier plus en détail à l'avenir les propriétés de ces objets en solution aqueuse (forme, nombre d'agrégation, rayon de giration,...) par ultracentrifugation analytique et diffusion de rayons X ou de neutrons aux petits angles. Ces informations seraient précieuses pour les études futures que nous allons poursuivre sur la mise en solution

des protéines membranaires. En raison de la taille des agrégats inférieure à 15 nm, les tripodes amphiphiles faciaux (C3Glu3 à C6Glu3 et BnGlu3) peuvent être considérés comme des candidats prometteurs au maintien de protéines membranaires en solution aqueuse.

Des essais futurs devraient permettre de vérifier l'hypothèse de départ sur la conception de nos tripodes amphiphiles faciaux, c'est-à-dire de préciser si effectivement la diminution de la longueur des chaînes hydrophobes et la rigidification de la partie hydrophobe favorisent la stabilisation des protéines membranaires en solution sans dénaturation. Ces essais permettraient également de voir si ces composés induisent une cristallisation 3D des micelles mixtes de protéine, notamment si les tripodes amphiphiles faciaux recouvrant le domaine transmembranaire ne masquent pas les parties hydrophiles extramembranaires des protéines et permettent les contacts favorables nécessaires entre ces parties pour développer un réseau cristallin.

## *Partie expérimentale*

## PROCEDURE GENERALE

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton ( $^1\text{H}$ ), du carbone ( $^{13}\text{C}$ ) et du fluor ( $^{19}\text{F}$ ) ont été enregistrés sur un appareil BRUCKER AC-250 à 250, 62,8 et 235 MHz respectivement pour l'acquisition des  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  et  $^{19}\text{F}$ . Les déplacements chimiques  $\delta$  sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au triméthylsilane (TMS) pris comme référence interne dans les solvants deutérés ( $\text{CDCl}_3$  ou DMSO), dans le cas du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ . En spectroscopie RMN  $^{19}\text{F}$ , les déplacements chimiques sont exprimés par rapport au trichlorofluorométhane pris comme référence interne. Les constantes de couplage  $J$  sont exprimées en Hertz (Hz). Les abréviations suivantes sont utilisées pour préciser la multiplicité des signaux : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), p (pentuplet), m (multiplet), dd (doublet de doublet),... Les séquences DEPT et les séquences de corrélation bidimensionnelles homonucléaires (COSY) et hétéronucléaires (HMQC) ont été employées pour caractériser complètement les composés dans certains cas.

Les chromatographies sur colonne de gel de silice ont été effectuées avec de la silice Merck 60 (0,063-0,2 mm). Les chromatographies d'exclusion de taille sur colonne ont été réalisées avec du gel de résine Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences). Le déroulement des réactions a été contrôlé par chromatographie sur couche mince Merck 60F254. La révélation des plaques CCM est réalisée par la lumière UV à 254 nm, puis par un spray d'une solution éthanolique d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 5%, d'une solution de ninhydrine à 5%, d'une solution aqueuse de  $\text{KMnO}_4$  à 0,05% ou bien d'une solution acide de cerium ammonium molhybdate (CAM) avant de chauffer la plaque.

Les points de fusion ( $P_f$ ) ont été mesurés à l'aide d'un appareil Eléctrothermal modèle 9100 et n'ont pas été corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés à  $25^\circ\text{C}$  avec un polarimètre PERKIN ELMER MC241. Les spectres UV-Visible ont été réalisés sur un spectromètre VARIAN modèle CARY 100. L'apport d'énergie par ultrasons pour la préparation des liposomes a été réalisé avec un bain à ultrasons Bransonic 2510 (100 Watts,  $42\text{ kHz} \pm 6\%$ ).

Les solvants utilisés sont redistillés sous atmosphère d'argon sur Na/benzophénone (THF, toluène), sur du sodium (MeOH, EtOH) ou sur de l'hydrure de calcium  $\text{CaH}_2$  (AcOEt,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , Cyclohexane). Le DMF est conservé sur du tamis moléculaire  $3\text{Å}$ .

Les spectres de masse HRMS ont été réalisés au Spectropole d'Aix-Marseille III par après ionisation chimique electrospray (ESI-MS) en mode positif. Le spectromètre de masse

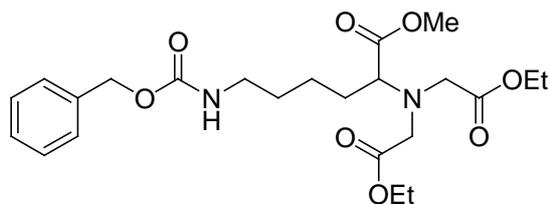
Qstar Elite (Applied Biosystems SCIEX) utilisé est équipé d'une source d'ionisation à pression atmosphérique (API) assistée pneumatiquement.

Le dosage des ions Ni<sup>2+</sup> par spectroscopie d'absorption atomique est réalisée sur un spectromètre AAnalyst 400 avec une flamme formée par flux d'air (10 L/min) et d'acétylène (2,5 L/min).

La tension superficielle à l'interface air/eau est déterminée suivant la méthode de Wilhelmy en utilisant un tensiomètre Krüss K100 (Krüss, Allemagne) contrôlé par le logiciel Labdesk. Chaque solution de tensioactif est préparée à une concentration supérieure à leur CMC au moins 12 h à l'avance avant le début des mesures avec de l'eau ultra pure (résistivité = 18,2 MΩ.cm, tension de surface = 72,8 mN/m à 20°C) purifiée avec un système Milli-Q. La plaque de platine est nettoyée avec de l'éthanol et brûlée avec une flamme avant les expériences.

Les mesures de polydispersité et distribution de taille ont été réalisées sur des solutions maintenues à 25°C avec un Zetasizer Nano-S modèle 1600 (Malvern Instruments Ltd. Angleterre) équipé d'un laser He-Ne ( $\lambda = 633$  nm, 4mW). La valeur limite inférieure de détection en taille des particules est de 0,7 nm.

La détermination des Log  $k'_w$  est réalisée par HPLC sur un appareil VARIAN Prostar équipé d'une colonne phase inverse C18 (granulométrie 5  $\mu$ m, dimensions 250 x 4,6 mm) à température ambiante. Les mesures sont réalisées avec des solutions de 1 g/L à une vitesse d'élution de la phase mobile de 0,8 mL/min et à une longueur d'onde de détection de 220 nm.



**2,2'-(6-(benzyloxycarbonylamino)-1-méthoxy-1-oxohexan-2-ylazanediyldiacétate**

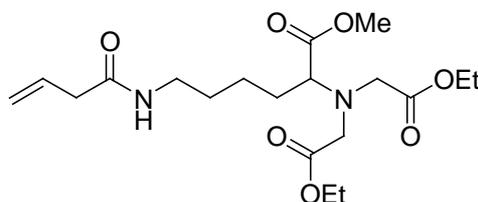
**d'éthyle (1).** A une suspension de 1 g du chlorhydrate de 2-amino-6-(benzyloxycarbonyl amino)hexanoate de méthyle (3,04 mmol ; 1 éq) dans 30 mL de CH<sub>3</sub>CN distillé est additionné 1,17 g de MeONa anhydre (21,7 mmol ; 7,1 éq) puis 1,68 mL de bromoacétate d'éthyle (15,1 mmol ; 4,97 éq). Le milieu réactionnel est porté au reflux pendant 24 h puis refroidi à TA. La solution est filtrée puis concentrée pour donner 2,7 g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:1) pour donner 1,27 g du composé **1** (2,72 mmol ; 89%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,38 avec AcOEt/Cyclohexane (1:1).

Formule brute : C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.

MM = 466,52 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 1,27 (t, <sup>3</sup>J = 7,13 Hz, 6H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,33-1,74 (m, 6H, CH<sub>2</sub> Lys); 3,22 (q, <sup>3</sup>J = 5,72 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>NHCO); 3,45 (t, <sup>3</sup>J = 7,23 Hz, 1H, CH Lys); 3,65 (s, 4H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 3,7 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,15 (q, <sup>3</sup>J = 7,12 Hz, 4H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4,97 (br s, 1H, NHCO); 5,11 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph); 7,33-7,38 (m, 5H, CH<sub>Ar</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 14,2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 23,0-29,3 (CH<sub>2</sub> Lys); 40,8 (CH<sub>2</sub>NHCO); 51,4 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 52,7 (CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 60,6 (CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 64,5 (CH Lys); 66,6 (CH<sub>2</sub>Ph); 128,1-128,5 (CH<sub>Ar</sub>); 136,7 (C<sup>IV</sup> Ph); 156,5 (CONH); 171,4 (CO<sub>2</sub>Et); 173,1 (CO<sub>2</sub>Me).



**2,2'-(6-but-3-èn-amido-1-méthoxy-1-oxohexan-2-ylazanediyldiacétate d'éthyle (2).** On dissout 235 mg du composé **1** (0,5 mmol ; 1 éq) dans 10 mL de MeOH et on ajoute 25 mg de Pd/C à 10%. La solution est mise sous une pression d'hydrogène de 7 bars pendant 3 h à température ambiante, filtrée sur célite puis concentrée pour donner 151 mg (0,45 mmol) de l'amine déprotégée sous la forme d'une huile jaune. L'amine intermédiaire est solubilisée dans 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puis mise en réaction avec 50 µL d'acide but-3-énoïque (0,59 mmol ; 1,3 éq) et 170 mg de DCC (1,34 mmol ; 1,8 éq). Le pH de la solution est ajusté à 8-9 avec 100

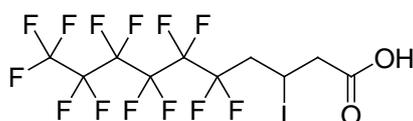
$\mu\text{L}$  de DIEA (0,61 mmol ; 1,4 éq) et on ajoute une pointe de spatule de HOBt. Le milieu réactionnel est agité à TA 24 h, filtré puis concentré. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (4:6) pour donner 96 mg du composé **2** (0,24 mmol ; 51%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,3 avec AcOEt/Cyclohexane (7:3).

Formule brute :  $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_7$ .

MM = 400,47  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 1,27 (t,  $^3J = 7,13$  Hz, 6H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1,38-1,55 (m, 4H,  $\text{CH}_2$  Lys); 1,66-1,74 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}$  Lys); 3,01 (d,  $^3J = 7,12$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 3,27 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHCO}$ ); 3,44 (t,  $^3J = 7,69$  Hz, 1H, CH Lys); 3,62 (s, 4H,  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ ); 3,69 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 4,15 (q,  $^3J = 7,12$  Hz, 4H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ); 5,18-5,23 (m, 2H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,9-6,04 (m, 2H,  $\text{NHCO}+\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 22,9-29,7 ( $\text{CH}_2$  Lys); 39,3 ( $\text{CH}_2\text{NHCO}$ ); 41,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 51,5 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 52,7 ( $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ ); 60,7 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ); 64,3 (CH Lys); 119,3 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 131,6 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 171,3 (CONH); 171,6 ( $\text{CO}_2\text{Et}$ ); 173,3 ( $\text{CO}_2\text{Me}$ ).



**Acide 5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,10-tridécafluoro-3-iododécanoïque (3)**. A 5 mL d'un mélange  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (4:1) est introduit 90  $\mu\text{L}$  d'acide but-3-énoïque (1,06 mmol ; 1 éq) et 454 mg de iodoperfluorohexane (1,02 mmol ; 1 éq). On fait passer un courant d'argon dans la solution et on additionne 174 mg de  $\text{NaHCO}_3$  (2,07 mmol ; 2 éq). La solution se trouble puis devient limpide au bout de 20 min. On additionne 41 mg de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  (0,24 mmol ; 0,2 éq) et le milieu réactionnel est agité 2 h à TA. La solution est acidifiée avec 5 mL d' $\text{HCl}$  1N, extraite avec de l'AcOEt (3x20 mL), lavée avec  $\text{H}_2\text{O}$  (10mL) puis de la saumure (10 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrées puis concentrées pour donner 526 mg d'une huile orange. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:1) et on obtient 344 mg du composé **3** (0,65 mmol ; 64%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,44 avec AcOEt/Cyclohexane (1:1).  $P_f$  52,4-53,1°C.

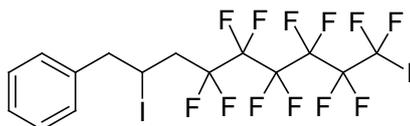
Formule brute :  $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{F}_{13}\text{IO}_2$ .

MM = 532,04  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 2,89-3,06 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 3,12-3,54 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 4,6 (m, 1H, CH); 9,15 (br s, 1H,  $\text{CO}_2\text{H}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :** -80,7 (3F,  $\text{CF}_3$ ); -114, 4/-114,9 (2F,  $\text{CF}_2\text{CH}_2$ ); -121,6 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -122,8 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -123,4 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -126,2 (2F,  $\text{CF}_2$ ).

**RMN  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :** -126,2 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -123,7 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -123,0 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -121,9 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -114,3/-111,7 (2F,  $\text{CF}_2\text{CH}_2$ ); -81,0 (3F,  $\text{CF}_3$ ).



**4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-dodécafluoro-2,9-diiodononylbenzène (4).** On dissout 5 g de 1,6-diiodoperfluorohexane (9,03 mmol ; 1 éq) dans 18 mL de  $\text{CH}_3\text{CN}$  distillé et on ajoute 1,08 g d'allylbenzène (9,14 mmol ; 1éq) en solution dans 2 mL de  $\text{CH}_3\text{CN}$  distillé. Le milieu réactionnel est purgé avec de l'argon puis chauffer au reflux et on ajoute de l'AIBN (0,2 éq). On poursuit le chauffage 48 h sous argon en ajoutant des fractions d'AIBN (0,2 éq) toutes les 4 h. La solution est concentrée pour donner 5,3 g de brut réactionnel qui est ensuite purifié par chromatographie flash sur gel de silice en faisant un gradient d'élution avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (Cyclohexane pur $\rightarrow$ 1:9). On obtient 3,07 g du composé **4** (4,56 mmol ; 51%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,6 avec AcOEt/Cyclohexane (1:9).  $P_f$  75,4-77,6°C.

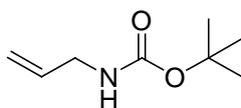
Formule brute :  $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{F}_{12}\text{I}_2$ .

MM = 671,02  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 2,82-3,02 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3,17-3,38 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 4,5 (m, 1H, CH); 7,22-7,42 (m, 5H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 19,7 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 40,9 (t,  $J^2 = 75$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 47,0 (CH); 127,4-129,0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 138,6 ( $\text{C}^{\text{IV}}$  Ph).

**RMN  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :** -123,6 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -121,5 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -121,0 (2F,  $\text{CF}_2$ ); -114,6/-112,8 (4F,  $\text{CF}_2\text{CH}_2 + \text{CF}_2\text{CF}_2\text{CH}_2$ ); -58,9 (2F,  $\text{CF}_2\text{I}$ ).



**allylcarbamate de tert-butyle (5).** On dissout 5,7 g de dicarbonate de tert-butyle (26,1 mmol ; 1,5 éq) dans 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et on ajoute 3,7 mL de TEA (26,6 mmol ; 1,52 éq).

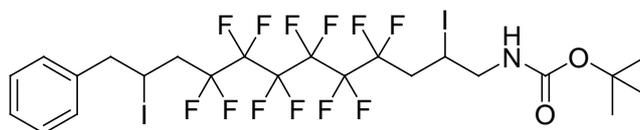
Une solution de 1 g d'allylamine (17,5 mmol ; 1 éq) dans 5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> est ajoutée goutte à goutte sur une période de 30 min et le milieu réactionnel est agité 14 h à TA. La solution est concentrée pour donner 4,1 g d'un liquide incolore. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:9) pour donner 1,88 g du composé **5** (12,0 mmol ; 68%) sous la forme d'un solide blanc. R<sub>f</sub> 0,39 avec AcOEt/Cyclohexane (1:9). P<sub>f</sub> 40,9-42,1°C.

Formule brute : C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>.

MM = 157,21 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 1,47 (s, 9H, *t*Bu); 3,76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>NHCO); 4,66 (br s, 1H, NHCO); 5,09-5,23 (m, 2H, CH=CH<sub>2</sub>); 5,8-5,91 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 28,3 (CH<sub>3</sub> *t*Bu); 43,0 (CH<sub>2</sub>NH); 79,2 (C<sup>IV</sup> *t*Bu); 115,5 (CH=CH<sub>2</sub>); 134,9 (CH=CH<sub>2</sub>); 155,8 (NHCO).



**4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-dodécafluoro-2,11-diiodo-12-phényldodécylcarbamate de**

***tert*-butyle (6).** Dans un mélange CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (3:1), on ajoute 1,3 g du composé **4** (1,93 mmol ; 1 éq), 300 mg du composé **5** (1,91 mmol ; 1 éq) puis 170 mg de NaHCO<sub>3</sub> (2,02 mmol ; 1,05 éq). Le montage est purgé avec de l'argon 15 min puis 340 mg de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (2 mmol ; 1,05 éq) est ajouté au milieu réactionnel. Au bout de 5 h d'agitation à TA, 10 mL d'H<sub>2</sub>O sont ajouté et la solution est extraite avec de l'AcOEt (3x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 1,55 g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:9) pour donner 950 mg du composé **6** (1,15 mmol ; 59%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,42 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8). P<sub>f</sub> 67,6-68,4°C.

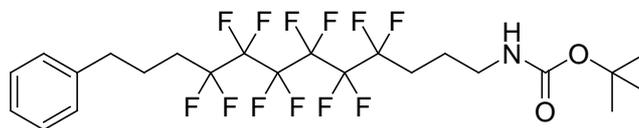
Formule brute : C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>F<sub>12</sub>I<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>.

MM = 827,22 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 1,49 (s, 9H, *t*Bu); 2,78-2,99 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NHCO); 3,16-3,38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph); 3,49-3,59 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>); 4,38-4,52 (m, 2H, CHI); 5,06 (t, <sup>3</sup>J = 6,27 Hz, 1H, NHCO); 7,21-7,41 (m, 5H, CH<sub>Ar</sub>).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 18,9-19,7 ( $\text{CH}$ ); 28,3 ( $\text{CH}_3$  *t*Bu); 38,7 ( $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 40,9 ( $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 47,0 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 48,9 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 80,1 ( $\text{C}^{\text{IV}}$  *t*Bu); 127,3-129,0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 138,6 ( $\text{C}^{\text{IV}}$  Ph); 155,3 (NHCO).

**RMN  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :** -123,7 (4F,  $\text{CF}_2$ ); -121,6 (4F,  $\text{CF}_2$ ); -114,4/-111,1 (4F,  $\text{CF}_2$ ).



**4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-dodécafluoro-12-phényldodécylcarbamate de *tert*-butyle (7).** On dissout 880 mg du composé **6** (1,06 mmol ; 1 éq) dans 9 mL de  $\text{CH}_3\text{CN}$  distillé. La solution est purgée avec de l'argon 15 min et chauffée au reflux. 690  $\mu\text{L}$  de tributylstannane (2,57 mmol ; 2,42 éq) en solution dans 1 mL de  $\text{CH}_3\text{CN}$  distillé sont additionnés au milieu réactionnel puis 180 mg d'AIBN (1,1 mmol ; 1 éq). La solution est chauffée au reflux sous argon pendant 24 h. Le milieu réactionnel est refroidi à TA et concentré pour donner 1,88 g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:9) et on récupère 415 mg du composé **7** (0,72 mmol ; 68%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,38 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8).  $P_f$  63,4-64,6°C.

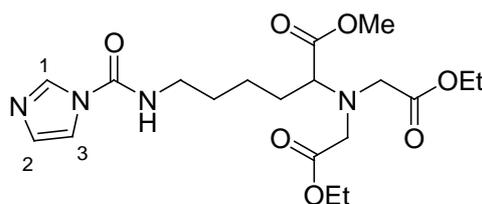
Formule brute :  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{F}_{12}\text{NO}_2$ .

MM = 577,45  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 1,48 (s, 9H, *t*Bu); 1,62-1,64 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ); 1,77-1,88 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 1,94-2,14 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 2,72 (q,  $^3J = 7,25$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHCO}$ ); 3,23 (t,  $^3J = 6,32$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4,26 (br s, 1H, NHCO); 7,2-7,37 (m, 5H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 21,3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ); 21,9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 28,0-28,7 ( $\text{CH}_3$  *t*Bu+ $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 29,7-30,7 ( $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 35,0 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 39,6 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 79,4 ( $\text{C}^{\text{IV}}$  *t*Bu); 126,3-129,0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 140,7 ( $\text{C}^{\text{IV}}$  Ph); 156,1 (NHCO).

**RMN  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :** -123,6 (4F,  $\text{CF}_2$ ); -121,9 (4F,  $\text{CF}_2$ ); -114,1 (4F,  $\text{CF}_2$ ).



**2,2'-(6-(1H-imidazole-1-carboxamido)-1-méthoxy-1-oxohexan-2-yl)zaniédyl)diacétate d'éthyle (8).** On dissout 1,16 g du composé **1** (2,49 mmol ; 1 éq) dans 10 mL de MeOH et on

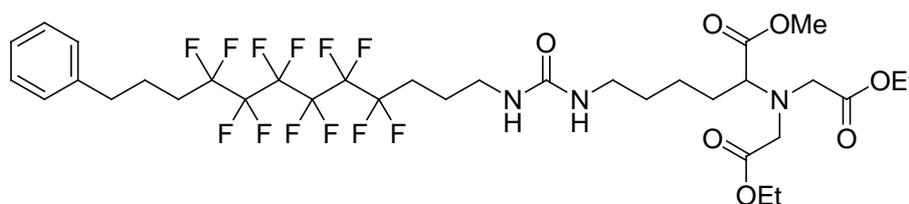
ajoute 152 mg de Pd/C à 10%. La solution est mise sous une pression d'hydrogène de 7 bars pendant 3 h à TA, filtrée sur célite et concentrée pour donner 800 mg (0,45 mmol) de l'amine déprotégée sous la forme d'une huile jaune. On prépare une solution contenant 1,5 g de CDI (9,25 mmol ; 3,7 éq) et 62 mg de DMAP (0,51 mmol ; 0,2 éq) dans 12 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à laquelle on additionne sous vive agitation goutte à goutte une solution de l'amine intermédiaire solubilisée dans 4 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sur une période de 30 min. Le milieu réactionnel est agité à TA 2 h puis concentré pour donner 2,7 g d'un solide orange. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8:2) pour donner 580 mg du composé **8** (1,36 mmol ; 59%) sous la forme d'une huile jaune. R<sub>f</sub> 0,32 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8:2).

Formule brute : C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.

MM = 426,46 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 1,22 (t, <sup>3</sup>J = 7,14 Hz, 6H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,6-1,78 (m, 6H, CH<sub>2</sub> Lys); 3,48 (t, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, 1H, CH Lys); 3,58 (s, 4H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 3,68 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,14 (q, <sup>3</sup>J = 7,14 Hz, 4H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 7,01 (s, 1H, CH<sup>2</sup> Imidazole); 7,36 (t, <sup>3</sup>J = 4,76 Hz, 1H, NHCO); 7,57 (s, 1H, CH<sup>3</sup> Imidazole); 8,25 (s, 1H, CH<sup>1</sup> Imidazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 22,4-29,2 (CH<sub>2</sub> Lys); 40,5 (CH<sub>2</sub>NHCO); 51,5 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 53,0 (CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 60,8 (CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 63,9 (CH Lys); 116,5 (C3 Imidazole); 129,6 (C2 Imidazole); 136,1 (C1 Imidazole); 149,3 (CONH); 171,8 (CO<sub>2</sub>Et); 173,3 (CO<sub>2</sub>Me).



**2,2'-(6-(3-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-dodécafluoro-12-phényldodécyl)uréido)-1-méthoxy-1-oxohexan-2-ylazanediyldiacétate d'éthyle (9)**. 392 mg du composé **7** (0,64 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 4 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puis 1 mL de TFA est ajouté. Le milieu réactionnel est agité 1 h à TA puis concentré. On ajoute 5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> au brut réactionnel puis 110 μL de TEA (0,79 mmol ; 1,2 éq) pour homogénéiser le milieu réactionnel et ajuster le pH à 9-10. On ajoute 17 mg de DMAP (0,14 mmol ; 0,2 éq) puis 314 mg du composé **8** (0,74 mmol ; 1,16 éq) en solution dans 6 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le milieu réactionnel est agité 20 h à TA puis concentré pour donner 1,18 g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (6:4) pour donner 370 mg du

composé **9** (0,44 mmol ; 69%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  : 0,36 avec AcOEt/Cyclohexane (6:4).

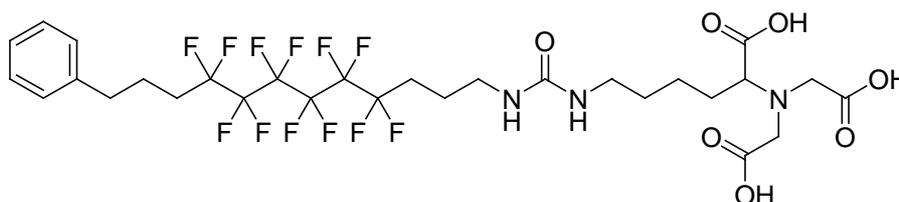
Formule brute :  $C_{34}H_{45}F_{12}N_3O_7$ .

MM = 835,72 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 1,28 (t, <sup>3</sup>J = 7,16 Hz, 6H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,45-1,54 (m, 4H, CH<sub>2</sub> Lys); 1,71-1,87 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH+CH<sub>2</sub> Lys), 1,93-2,21 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph); 2,73 (t, <sup>3</sup>J = 7,18 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>Ph); 3,16-3,33 (m, 4H, CH<sub>2</sub>NHCO); 3,48 (t, <sup>3</sup>J = 7,72 Hz, 1H, CH Lys); 3,61 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,7 (s, 4H, CH<sub>2</sub>COEt); 4,16 (q, <sup>3</sup>J = 7,72 Hz, 4H, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5,02 (br s, 1H, NHCO); 5,22 (br s, 1H, NHCO); 7,19-7,36 (m, 5H, CH<sub>Ar</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 14,0 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 21,5-21,8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH+CH<sub>2</sub> Lys); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph); 28,0-30,7 (CH<sub>2</sub> Lys+CH<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>); 34,9 (CH<sub>2</sub>Ph); 39,1-39,7 (CH<sub>2</sub>NHCO); 51,3 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 52,7 (CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 60,7 (CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 64,3 (CH Lys); 126,2-128,5 (CH<sub>Ar</sub>); 140,6 (C<sup>IV</sup> Ph); 159,0 (NHCO); 171,6 (CO<sub>2</sub>Et); 173,2 (CO<sub>2</sub>Me).

**RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>)** : -123,5 (4F, CF<sub>2</sub>); -121,9 (4F, CF<sub>2</sub>); -114,1 (4F, CF<sub>2</sub>).



**Acide 2,2'-(1-carboxy-5-(3-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-dodécafluoro-12-phényldodécyl)uréido)pentyl azanediyl)diacétique (10)**. On dissout 335 mg du composé **9** (0,4 mmol ; 1 éq) dans 10 mL de MeOH et on additionne 5 mL (2,5 mmol ; 6,3 éq) d'une solution de KOH/MeOH à 0,5 M. Le milieu réactionnel est agité 16 h à TA puis acidifié avec 20 mL l'HCl 1N jusqu'à obtenir un pH de 2 et la solution est extraite avec de l'AcOEt (2x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 308 mg d'une poudre jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) pour donner 302 mg du composé **10** (0,39 mmol ; 99%) sous la forme d'une poudre blanche.

Formule brute :  $C_{29}H_{35}F_{12}N_3O_7$ .

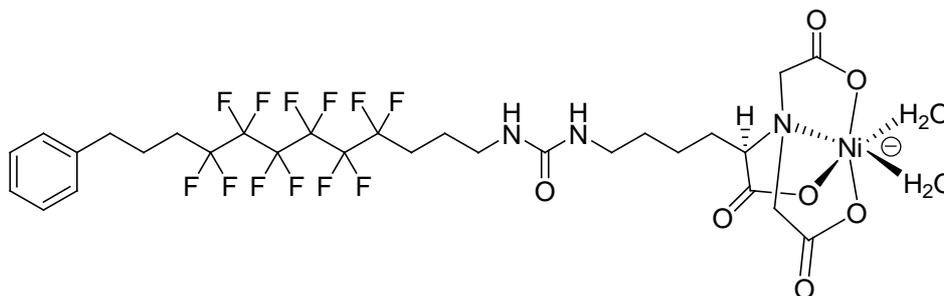
MM = 765,58 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 50°C)** :  $\delta$  (ppm) 1,36 (m, 4H, CH<sub>2</sub> Lys); 1,59-1,64 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO +CH<sub>2</sub> Lys); 1,83-1,92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph), 2,11-2,3 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>); 2,72 (t, <sup>3</sup>J = 7,58 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>Ph); 3,16-3,33 (m, 4H, CH<sub>2</sub>NHCO); 2,94 (t, <sup>3</sup>J = 5,96 Hz, 2H,

$\text{CH}_2\text{NHCO}$ ); 3,09 (t,  $^3J = 6,64$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHCO}$ ); 3,36 (t,  $^3J = 7,08$  Hz, 1H, CH Lys); 3,51 (s, 4H,  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 4,79 (br s, 3H,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 7,22-7,34 (m, 5H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 21,5-23,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH} + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph} + \text{CH}_2$  Lys); 28,1-30,2 ( $\text{CH}_2$  Lys +  $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ); 34,4 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 39,0-41,0 ( $\text{CH}_2\text{NHCO}$ ); 53,7 ( $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 64,7 (CH Lys); 126,6-128,9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 141,4 ( $\text{C}^{\text{IV}}\text{Ph}$ ); 158,6 (NHCO); 173,5 ( $\text{CO}_2\text{H}$ ); 174,3 ( $\text{CO}_2\text{H}$  Lys).

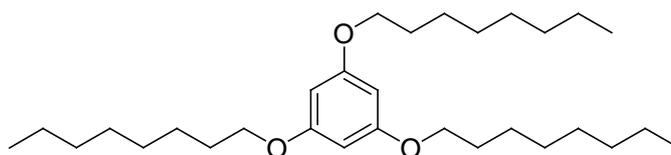
**RMN  $^{19}\text{F}$  (DMSO)** : -123,18 (4F,  $\text{CF}_2$ ); -121,7 (4F,  $\text{CF}_2$ ); -113,2 (4F,  $\text{CF}_2$ ).



**PhénylHFNTA- $\text{Ni}^{2+}$  (11).** On dissout 234 mg du composé **10** (0,31 mmol ; 1 éq) dans 20 mL de  $\text{CHCl}_3$  et on ajoute 10 mL d'une solution tampon TRIS à pH 8. Le milieu réactionnel est agité vigoureusement et 115 mg de  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,48 mmol ; 1,6 éq) est ajouté. La solution est agitée 24 h à TA et transvasée dans une ampoule à décanter. On étend le volume de la solution avec 50 mL de  $\text{CHCl}_3$  et 30 mL d' $\text{H}_2\text{O}$ . On laisse décanter puis la phase organique est isolée et concentrée pour donner 260 mg du composé **11** (0,3 mmol ; quantitatif) sous la forme d'une poudre verte.

Formule brute :  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{F}_{12}\text{N}_3\text{NiO}_9$ .

MM = 857,29  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .



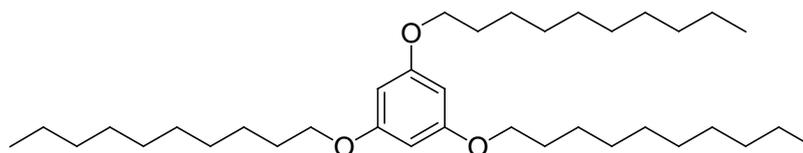
**1,3,5-tris(octyloxy)benzène (12).** 2 g de phloroglucinol dihydraté (12,34 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 10 mL de DMF puis 7 g de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (50,65 mmol ; 4,1 éq) et 13 mL de bromure d'octyle (74,72 mmol ; 6 éq) sont additionnés. Le milieu réactionnel est agité 6 jours à TA et versé dans 200 mL d' $\text{H}_2\text{O}$ . La solution est extraite avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x100 mL), séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrée et concentrée pour donner 10,1 g d'une huile brune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Cyclohexane (2:8) pour donner 4,14 g du composé **12** (8,95 mmol ; 73%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,36 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Cyclohexane (2:8).

Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{O}_3$

MM = 462,75 g.mol<sup>-1</sup>

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,91 (t, <sup>3</sup>J = 6,78 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,32-1,46 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,78 (p, <sup>3</sup>J = 6,58 Hz, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3,93 (t, <sup>3</sup>J = 6,57 Hz, 6H, ArOCH<sub>2</sub>); 6,09 (s, 3H, CH<sub>Ar</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 26,1-31,9 (CH<sub>2</sub>); 68,0 (OCH<sub>2</sub>); 93,7 (CH<sub>Ar</sub>); 161,0 (C<sub>Ar</sub>O).



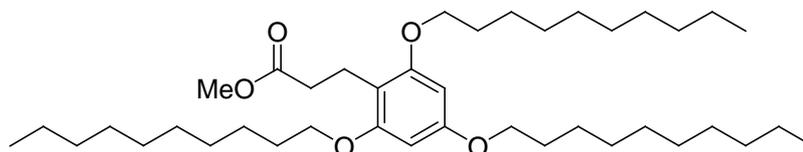
**1,3,5-tris(décyloxy)benzène (13)**. Même procédure que pour la synthèse de **12**. On récupère 4,5 g de composé **13** (8,23 mmol ; 67%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,36 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (2:8).

Formule brute : C<sub>36</sub>H<sub>66</sub>O<sub>3</sub>.

MM = 546,91 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,91 (t, <sup>3</sup>J = 6,0 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,3-1,45 (m, 42H, CH<sub>2</sub>); 1,78 (p, <sup>3</sup>J = 6,55 Hz, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3,93 (t, <sup>3</sup>J = 6,42 Hz, 6H, ArOCH<sub>2</sub>); 6,09 (s, 3H, CH<sub>Ar</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 26,1-31,9 (CH<sub>2</sub>); 68,0 (OCH<sub>2</sub>); 93,7 (CH<sub>Ar</sub>); 161,0 (C<sub>Ar</sub>O).



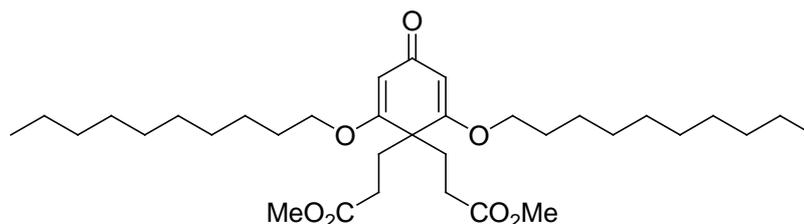
**3-(2,4,6-tris(décyloxy)phényl)propanoate de méthyle (14)**. 200 mg du composé **13** (0,37 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 2 mL de CCl<sub>4</sub> sous une atmosphère d'argon puis 200 mg d'AlCl<sub>3</sub> (1,5 mmol ; 4,1 éq) et 100 µL d'acrylate de méthyle (1,1 mmol ; 3 éq) sont ajoutés successivement. Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 4 h et 10 mL d'H<sub>2</sub>O sont additionnés. La solution est extraite avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x20 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec du NaHCO<sub>3</sub> saturé (2x10 mL) puis H<sub>2</sub>O (10 mL), séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 270 mg d'une huile incolore. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (6:4) pour donner 133 mg du composé **14** (0,21 mmol ; 57%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,62 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (7:3).

Formule brute : C<sub>40</sub>H<sub>72</sub>O<sub>5</sub>.

MM = 633 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,91 (t, <sup>3</sup>J = 5,88 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,3-1,47 (m, 42H, CH<sub>2</sub>); 1,79 (p, <sup>3</sup>J = 6,98 Hz, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,48 (t, <sup>3</sup>J = 7,55 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>); 2,93 (t, <sup>3</sup>J = 7,66 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>); 3,7 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,93 (t, <sup>3</sup>J = 6,39 Hz, 6H, ArOCH<sub>2</sub>); 6,1 (s, 2H, CH<sub>Ar</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 26,1-31,9 (CH<sub>2</sub>); 33,8 (ArCH<sub>2</sub>); 51,4 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 68,0-68,2 (OCH<sub>2</sub>); 91,6 (CH<sub>Ar</sub>); 109,5 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 158,2-159,0 (C<sub>Ar</sub>OR); 174,4 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).



**3,3'-(2,6-bis(décyloxy)-4-oxocyclohexa-2,5-diène-1,1-diyl)dipropanoate de méthyle (15).**

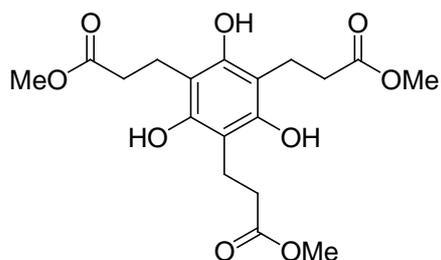
162 mg du composé **13** (0,3 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 2 mL de CCl<sub>4</sub> puis 160 µL d'acrylate de méthyle (1,77 mmol ; 5,9 éq) et 400 µL de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (3,16 mmol ; 10,5 éq) sont additionnés. Le milieu réactionnel est agité 18 h à TA et 10 mL d'H<sub>2</sub>O sont ajoutés pour « quencher » la réaction. On extrait la phase aqueuse avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x20 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 230 mg d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice pour donner 135 mg du composé **15** (0,22 mmol ; 74%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,27 avec AcOEt/Cyclohexane (3:7).

Formule brute : C<sub>34</sub>H<sub>58</sub>O<sub>7</sub>.

MM = 578,82 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,9 (t, <sup>3</sup>J = 6,04 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,29-1,44 (m, 28H, CH<sub>2</sub>); 1,76 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,04 (t, <sup>3</sup>J = 5,21 Hz, 4H, ArCH<sub>2</sub>); 2,2 (t, <sup>3</sup>J = 5,27 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>); 3,64 (s, 6H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,83 (t, <sup>3</sup>J = 6,35 Hz, 4H, ArOCH<sub>2</sub>); 5,58 (s, 2H, CH).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,0 (CH<sub>3</sub>); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 25,8-31,9 (CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>+C<sup>IV</sup>CH<sub>2</sub>); 49,6 (C<sup>IV</sup>); 51,5 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 68,9 (OCH<sub>2</sub>); 103,8 (CH); 171,2 (COR); 172,9 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 187,9 (CO).



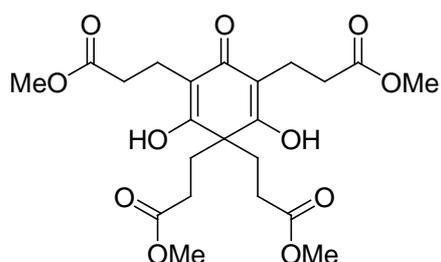
**3,3',3''-(2,4,6-trihydroxybenzène-1,3,5-triyl)tripropanoate de méthyle (16).** 500 mg de phloroglucinol dihydraté (3,08 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 5 mL d'acrylate de méthyle (55,2 mmol ; 18 éq) et 1,4 mL de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (11,05 mmol ; 3,6 éq). Le milieu réactionnel est agité 16 h à TA et 20 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  sont ajoutés. La solution est extraite avec de l'AcOEt (2x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrées et concentrées. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (4:6) pour donner 218 mg du composé **16** (0,56 mmol ; 18%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,65 avec AcOEt/Cyclohexane (1:1).

Formule brute :  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_9$ .

MM = 384,38  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 2,8 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ); 2,88 (m, 6H,  $\text{ArCH}_2$ ); 3,7 (s, 9H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 8,13 (s, 3H, OH).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 18,4 ( $\text{ArCH}_2$ ); 33,9 ( $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ); 52,3 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 108,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 152,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{OH}$ ); 178,2 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ).



**3,3',3'',3'''-(2,6-dihydroxy-4-oxocyclohexa-2,5-diène-1,1,3,5-tétrayl)tétrapropanoate de méthyle (17).** On dissout 500 mg de phloroglucinol dihydraté (3,08 mmol ; 1 éq) dans 8,4 mL d'acrylate de méthyle (92,7 mmol ; 30 éq). La solution est refroidie à  $0^\circ\text{C}$  et 2,8 mL de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (22,1 mmol ; 7,2 éq) sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 4 h à TA et versé dans 20 mL d' $\text{H}_2\text{O}$ . La solution est extraite avec de l'AcOEt (2x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrées et concentrées pour donner 2,7 g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice en faisant un gradient d'éluion avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:1→7:3) pour

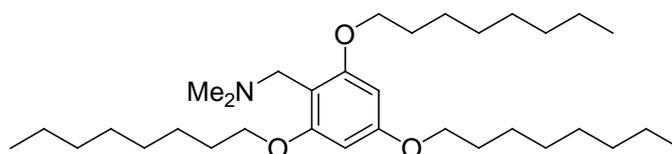
donner 410 mg du composé **17** (0,87 mmol ; 28%) sous la forme d'une huile orange.  $R_f$  0,28 avec AcOEt/Cyclohexane (1:1).

Formule brute :  $C_{22}H_{30}O_{11}$ .

MM = 470,47 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 1,92 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>); 2,27 (m, 4H, ArCH<sub>2</sub>); 2,61 (m, 8H, C<sup>IV</sup>CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>); 3,62 (s, 6H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,72 (s, 6H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 8,98 (s, 2H, OH).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 17,4 (ArCH<sub>2</sub>); 29,1 (C<sup>IV</sup>CH<sub>2</sub>); 32,7 (CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>); 48,7 (C<sup>IV</sup>); 51,8 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 115,9 (C<sub>sp</sub><sup>2</sup>CH<sub>2</sub>); 166,3 (C<sub>sp</sub><sup>2</sup>OH); 173,3 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 186,7 (CO).



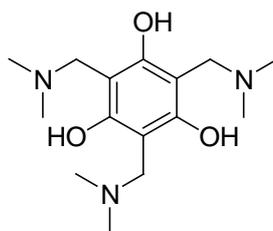
**N,N-diméthyl(2,4,6-tris(octyloxy)phényl)méthanamine (18)**. 516 mg du composé **12** (1,12 mmol ; 1 éq), 1,1 mL d'Et<sub>3</sub>N (7,9 mmol ; 7,1 éq), 636 mg de MgCl<sub>2</sub> (6,68 mmol ; 5,96) et 622 mg de sel d'Eschenmoser (3,36 mmol ; 3 éq) sont solubilisés dans 5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le milieu réactionnel est agité 16 h à TA puis 2 h au reflux. La solution est refroidie à TA et 20 mL d'H<sub>2</sub>O sont ajoutés. On extrait avec de l'AcOEt (3x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 850 mg d'une huile brune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5:95) pour donner 173 mg du composé **18** (0,33 mmol ; 30%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,34 avec MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5:95).

Formule brute :  $C_{33}H_{61}NO_3$ .

MM = 519,84 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 0,91 (t, <sup>3</sup>J = 6,78 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,31-1,49 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,78-1,84 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,28 (s, 6H, CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,5 (s, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3,95 (t, <sup>3</sup>J = 6,43 Hz, 6H, ArOCH<sub>2</sub>); 6,11 (s, 2H, CH<sub>Ar</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 26,1-31,8 (CH<sub>2</sub>); 43,6 (CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 50,0 (CH<sub>2</sub>N); 68,1-68,5 (OCH<sub>2</sub>); 91,4 (CH<sub>Ar</sub>); 100,2 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 159,6-161,9 (C<sub>Ar</sub>O).



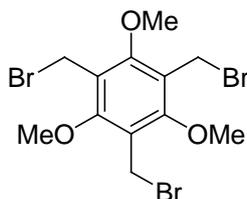
**1,3,5-trihydroxy-2,4,6-tris[(diméthylamino)méthyl]benzène (19).** On dissout 496 mg du sel d'Eschenmoser (2,68 mmol ; 3 équ) dans 2 mL d'un mélange MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) et on ajoute 145 mg de phloroglucinol dihydraté (0,89 mmol ; 1 équ). Le milieu réactionnel est agité 3 h à TA et 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont ajoutés. La solution est filtrée et on récupère 290 mg du composé **19** (0,98 mmol ; 91%) sous la forme d'une poudre blanche.

Formule brute : C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

MM = 510,94 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO) :** δ (ppm) 2,75 (s, 18H, CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,56 (br s, 3H, OH); 4,28 (s, 6H, CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO) :** δ (ppm) 42,9 (CH<sub>3</sub>); 50,5 (CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>); 99,6 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 159,4 (C<sub>Ar</sub>OH).



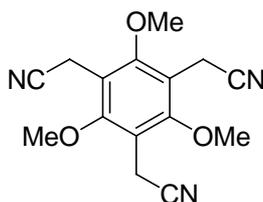
**1,3,5-tris(bromométhyl)-2,4,6-triméthoxybenzène (20).** 3,8 g de triméthoxybenzène (22,6 mmol ; 1 équ) sont dissous dans 8,5 mL d'acide acétique et 7,3 mL d'une solution de formaldéhyde à 37% dans H<sub>2</sub>O (97,4 mmol ; 4,3 équ) sont additionnés. La solution est agitée 1 h à TA et 23,6 mL d'une solution d'HBr à 33% (0,125 mol ; 5,5 équ) dans l'acide acétique sont ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à 70°C dans un tube scellé pendant 3 h, refroidi à TA et versé dans 150 mL d'H<sub>2</sub>O glacé. On extrait avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec du NaHCO<sub>3</sub> saturé (2x50mL) puis H<sub>2</sub>O (50mL), séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 4,6 g d'une huile orange. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/*n*-Hexane (1:20) et on récupère 1,9 g du composé **20** (4,25 mmol ; 19%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,56 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (1:1). P<sub>f</sub> 126,5-127,0°C.

Formule brute : C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

MM = 446,96 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 4,17 (s, 9H, OCH<sub>3</sub>); 4,63 (s, 6H, CH<sub>2</sub>Br).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 22,5 ( $\text{CH}_2\text{Br}$ ); 62,7 ( $\text{OCH}_3$ ); 123,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 160,1 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{OMe}$ ).



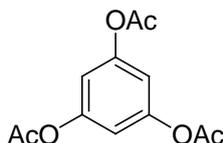
**1,3,5-triméthoxy-2,4,6-tris(cyanométhyl)benzène (21)**. 1,4 g du composé **20** (3,13 mmol ; 1 équ) sont dissous dans 5 mL de DMF et on additionne 730 mg de KCN (11,2 mmol ; 3,6 équ). Le milieu réactionnel est agité 20 h à TA et le DMF est distillé sous pression réduite. Le résidu est repris dans 50 mL d'AcOEt et la solution est filtrée pour éliminer les sels de KBr. Le filtrat est concentré et on récupère 1,41 g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5:95) pour donner 450 mg du composé **21** (1,58 mmol ; 50%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,62 avec AcOEt/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:9).  $P_f$  153,9-155,6°C.

Formule brute :  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ .

MM = 285,3  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 4,04 (s, 9H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,74 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 12,9 ( $\text{CH}_2\text{CN}$ ); 62,8 ( $\text{OCH}_3$ ); 116,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 117,7 ( $\text{C}\equiv\text{N}$ ); 158,5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{OMe}$ ).



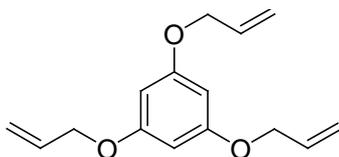
**1,3,5-tris(acétoxy)benzène (22)**. 4 g de phloroglucinol dihydraté (25 mmol ; 1 équ) sont solubilisés dans 40 mL d'anhydride acétique (426 mmol ; 17,2 équ). La solution est refroidie à 0°C et 32 mL de pyridine (392 mmol ; 15,7 équ) sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 1 h 30 à TA et versé dans 250 mL d'HCl 2N glacé. La solution est extraite avec de l'AcOEt (2x100 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrées et concentrées pour donner 10,3 g d'une poudre blanche. Le résidu est recristallisé dans EtOH à chaud pour donner 5,9 g du composé **22** (23,4 mmol ; 94%) sous la forme de cristaux blancs.  $R_f$  0,56 avec AcOEt/Cyclohexane (1:1).  $P_f$  107,5-109,0°C.

Formule brute :  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_6$ .

MM = 252,22  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 2,3 (s, 9H, OAc); 6,87 (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 21,0 (OAc); 112,8 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 151,1 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{OAc}$ ); 168,6 (CO).



**1,3,5-tris(allyloxy)benzène (23)**. 1 g de phloroglucinol dihydraté (6,17 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 5,5 mL de DMF et 4,4 g de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhydre (31,8 mmol ; 5,2 éq) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé 1h à  $50^\circ\text{C}$  et 2,8 mL de bromure d'allyle (32,2 mmol ; 5,2 éq) sont additionnés goutte à goutte. La solution est chauffée à  $65^\circ\text{C}$  pendant 48 h puis refroidie à TA et versée dans 70 mL d' $\text{H}_2\text{O}$ . On extrait avec de l' $\text{Et}_2\text{O}$  (3x20 mL). La phase organique est lavée avec  $\text{H}_2\text{O}$  (5x20 mL), séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrée et concentrée pour donner 1,6 g d'une huile brune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice en faisant un gradient d'éluion avec un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (3:7→4:6) pour donner 380 mg du composé **23** (1,54 mmol ; 25%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,29 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:1).

Formule brute :  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$ .

MM = 246,3  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 4,51 (m, 6H,  $\text{OCH}_2$ ); 5,29-5,48 (m, 6H,  $\text{CH}=\underline{\text{CH}}_2$ ); 5,99-6,13 (m, 3H,  $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}_2$ ); 6,15 (s, 3H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 68,9 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ); 94,5 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 117,8 ( $\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ); 133,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}_2$ ); 160,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{O}$ ).



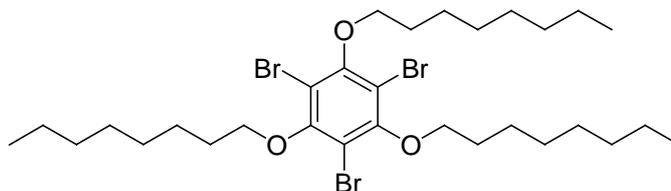
**2,4,6-tribromophloroglucinol (24)**. 500 mg de phloroglucinol dihydraté (3,08 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 60 mL d'un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (2:1) puis 3,6 g de tribromure de benzyltriméthylammonium (9,23 mmol ; 3 éq) sont additionnés. Le milieu réactionnel est agité 1 h à TA puis concentré. Le résidu est recristallisé dans un mélange  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  pour donner 1,1 g du composé **24** (3,03 mmol ; 98%) sous la forme de cristaux blancs.  $R_f$  0,54 avec  $\text{AcOEt}/\text{Cyclohexane}$  (1:1).  $P_f$  151,5-152,1 $^\circ\text{C}$ .

Formule brute :  $\text{C}_6\text{H}_3\text{Br}_3\text{O}_3$ .

MM = 362,8  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )** :  $\delta$  (ppm) 4,93 (br s, 3H, OH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  (ppm) 90,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{Br}$ ); 150,9 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{OH}$ ).



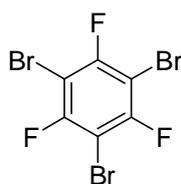
**1,3,5-tribromo-2,4,6-tris(octyloxy)benzène (25)**. 6,7 g du composé **12** (14,48 mmol ; 1 éq) est dissous dans 40 mL d'acide acétique et on ajoute 3,7 mL de  $\text{Br}_2$  (72,2 mmol ; 5 éq) goutte à goutte. Le milieu réactionnel est chauffé à  $50^\circ\text{C}$  pendant 16 h, refroidi à TA puis versé dans 300 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  glacé et la solution est extraite avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x80 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec  $\text{NaHCO}_3$  saturé (2x50mL) puis  $\text{H}_2\text{O}$  (50mL), séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrées et concentrées pour donner 9,9 g d'une huile orange. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9) pour donner 8,6 g du composé **25** (12,3 mmol ; 85%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,44 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).  $P_f$  36,2-36,9 $^\circ\text{C}$ .

Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{Br}_3\text{O}_3$ .

MM = 699,44 g.mol $^{-1}$ .

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 0,92 (t,  $^3J = 6,33$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,28-1,6 (m, 30H,  $\text{CH}_2$ ); 1,9 (p,  $^3J = 6,72$  Hz, 6H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ); 4,0 (t,  $^3J = 6,54$  Hz, 6H,  $\text{ArOCH}_2$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 25,9-31,9 ( $\text{CH}_2$ ); 73,6 ( $\text{OCH}_2$ ); 110,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{Br}$ ); 154,2 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{O}$ ).



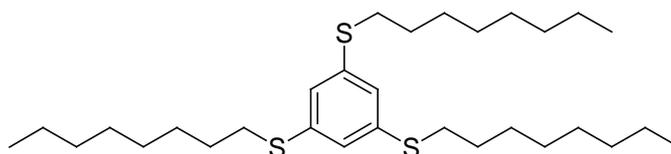
**1,3,5-tribromo-2,4,6-trifluorobenzène (26)**. On ajoute à  $0^\circ\text{C}$  par petites portions 140 mg d'une poudre d'aluminium (5,2 mmol ; 0,3 éq) dans 6,8 mL de  $\text{Br}_2$  (132,7 mmol ; 6,9 éq). La solution est chauffée à  $50^\circ\text{C}$  et on ajoute goutte à goutte 2 mL de trifluorobenzène (19,1 mmol ; 1 éq) sur une période de 15 min. Le milieu réactionnel est chauffé 18 h à  $50^\circ\text{C}$ , refroidi à TA et versé dans 100 mL d' $\text{Et}_2\text{O}$ . La phase organique est lavée avec  $\text{H}_2\text{O}$  (3x100 mL), séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrée et concentrée. Le résidu est repris dans  $\text{H}_2\text{O}$ , filtrée et le gâteau est lavé avec une solution de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  à 10% (2x100 mL) puis  $\text{H}_2\text{O}$  (2x100 mL) jusqu'à obtenir des cristaux très clairs. Le solide est séché sous vide à la pompe et on récupère 6,6 g du composé **26** (17,9 mmol ; 94%) sous la forme de cristaux blancs.  $P_f$  100,1-100,8 $^\circ\text{C}$ .

Formule brute :  $C_6Br_3F_3$ .

MM = 368,77 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 94,7 (td, <sup>2</sup>J<sub>C-F</sub> = 107,5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>C-F</sub> = 20 Hz, C<sub>Ar</sub>Br); 156,2 (dt, <sup>1</sup>J<sub>C-F</sub> = 975 Hz, <sup>3</sup>J<sub>C-F</sub> = 25 Hz, C<sub>Ar</sub>F).

RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>) : -95,3 (3F, C<sub>Ar</sub>F).



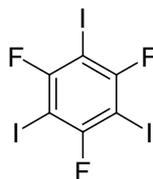
**1,3,5-tris(octylthio)benzène (27).** 460 mg de NaH à 60% (11,5 mmol ; 12,1 éq) sont mis en suspension dans 10 mL de DMI et 172 mg de 1,3,5-trichlorobenzène (0,95 mmol ; 1 éq) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est purgé avec de l'argon et 2 mL d'octanethiol (11,48 mmol ; 12,1 éq) en solution dans 5 mL de DMI sont additionnés goutte à goutte sous vive agitation. La solution est agitée 24 h à TA puis 16 h à 50°C et 50 mL d'AcOEt sont ajoutés. La phase organique est lavée avec de la saumure (3x100 mL), séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée pour donner 2 g d'une huile orange. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice en faisant un gradient d'éluion avec un mélange Cyclohexane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Cyclohexane pur→9 :1) pour donner 472 mg du composé **27** (0,92 mmol ; 97%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,33 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (1:9).

Formule brute :  $C_{30}H_{54}S_3$ .

MM = 510,94 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 0,88 (t, <sup>3</sup>J = 6,83 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,27-1,44 (m, 3H, CH<sub>2</sub>); 1,64 (p, <sup>3</sup>J = 7,82 Hz, 6H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,89 (t, <sup>3</sup>J = 7,23 Hz, 6H, SCH<sub>2</sub>); 6,99 (s, 3H, CH<sub>Ar</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,9-31,8 (CH<sub>2</sub>); 33,3 (ArSCH<sub>2</sub>); 125,1 (CH<sub>Ar</sub>); 138,5 (C<sub>Ar</sub>S).



**1,3,5-trifluoro-2,4,6-triiodobenzène (28).** 10,4 g d'acide périodique (45,6 mmol ; 3 éq) sont ajoutés par petites portions dans 150 mL d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. La solution est refroidie à 0°C puis 22,5 g de KI (135,5 mmol ; 9 éq) sont additionnés par petites portions ainsi que 2 g de 1,3,5-trifluorobenzène (15,1 mmol ; 1 éq) à une TA à 5°C. Le milieu réactionnel est agité 15 h à TA, versé dans 400 mL d'H<sub>2</sub>O glacé et filtré. Le gâteau est lavé avec H<sub>2</sub>O et recristallisé

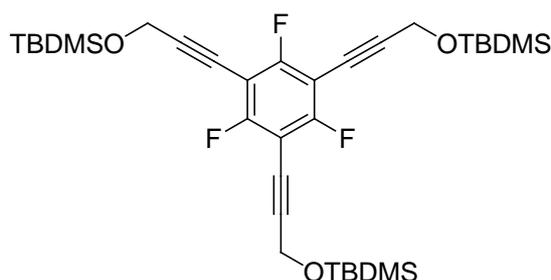
avec un mélange EtOH/H<sub>2</sub>O pour donner 5,7 g du composé **28** (11,2 mmol ; 74%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,55 avec AcOEt/Cyclohexane (1:9).

Formule brute : C<sub>6</sub>F<sub>3</sub>I<sub>3</sub>.

MM = 509,77 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 63,8 (t, <sup>2</sup>J<sub>C-F</sub> = 125 Hz, C<sub>Ar</sub>I); 162,3 (dt, <sup>1</sup>J<sub>C-F</sub> = 975 Hz, <sup>3</sup>J<sub>C-F</sub> = 25 Hz, C<sub>Ar</sub>F)

RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) -68,7 (C<sub>Ar</sub>F).



**1,3,5-tris[3-(tert-butyldiméthylsilyloxy)prop-1-ynyl]-2,4,6-trifluorobenzène (29)**. 500 mg du composé **28** (0,98 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 3 mL de diisopropylamine (21,3 mmol ; 21,7 éq). Le montage est purgé avec de l'argon et on additionne successivement 69 mg de dichloro-bis(triphénylphosphine)palladium (II) ( $9,8 \times 10^{-2}$  mmol ; 0,1 éq), 37 mg de CuI (0,19 mmol ; 0,2 éq), 890 mg de tert-butyldiméthyl(prop-2-ynyloxy)silane (5,23 mmol ; 5,3 éq). Le milieu réactionnel est chauffé à 50°C pendant 24 h sous une atmosphère d'argon, refroidi à TA, filtré et concentré pour donner 1,6 g d'une huile brune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur de silice en faisant un gradient d'élution avec un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (2:8→1:1) pour donner 100 mg du composé **29** (0,16 mmol ; 16%) sous la forme d'une huile jaune. R<sub>f</sub> 0,41 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (1:1).

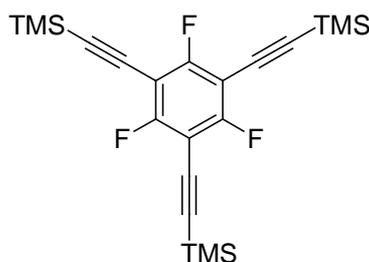
Formule brute : C<sub>33</sub>H<sub>51</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>3</sub>.

MM = 637,01 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 0,18 (s, 18H, CH<sub>3</sub>Si); 0,94 (s, 27H, tBu); 4,6 (CH<sub>2</sub>OSi).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 18,3 (C<sup>IV</sup>); 25,8 (CH<sub>3</sub> tBu); 29,7 (CH<sub>3</sub>Si); 52,2 (CH<sub>2</sub>OSi); 69,9 (C<sub>Ar</sub>C≡C); 77,0 (C≡CCH<sub>2</sub>); 98,8 (C<sub>Ar</sub>C≡C); 162,8 (dt, <sup>1</sup>J<sub>C-F</sub> = 1025 Hz, <sup>3</sup>J<sub>C-F</sub> = 25 Hz, C<sub>Ar</sub>F).

RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>) : -100,3 (3F, C<sub>Ar</sub>F).



**1,3,5-tris[(triméthylsilyl)éthynyl]-2,4,6-trifluorobenzène (30).** 500 mg du composé **28** (0,98 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 5 mL de TEA (35,9 mmol ; 36,6 éq). Le montage est purgé avec de l'argon et on additionne successivement 520 mg d'éthynyltriméthylsilane (5,29 mmol ; 5,4 éq), 67 mg de dichloro-bis(triphénylphosphine)palladium (II) ( $9,5 \times 10^{-2}$  mmol ; 0,1 éq) et 42 mg de CuI (0,22 mmol ; 0,2 éq). Le milieu réactionnel est agité 20 h à TA, filtré et concentré pour donner 550 mg d'un solide marron. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec du *n*-Hexane pour donner 135 mg du composé **30** (0,32 mmol ; 33%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,4 avec du *n*-Hexane.

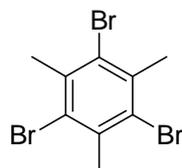
Formule brute :  $C_{21}H_{27}F_3Si_3$ .

MM = 420,69 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 0,28 (s, 27H, CH<sub>3</sub>Si).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 29,7 (CH<sub>3</sub>Si); 88,6 (C≡CTMS+C<sub>Ar</sub>C≡C); 106,7 (C<sub>Ar</sub>C≡C); 162,9 (dt, <sup>1</sup>J<sub>C-F</sub> = 1025 Hz, <sup>3</sup>J<sub>C-F</sub> = 25 Hz, C<sub>Ar</sub>F).

RMN <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>) : -99,3 (3F, C<sub>Ar</sub>F).



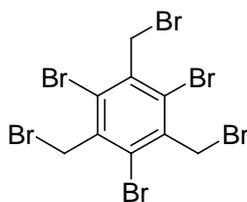
**1,3,5-tribromo-2,4,6-triméthylbenzène (31).** Dans 500 mL de 1,2-dichloroéthane, on ajoute 56 mL de mesitylène (0,4 mol ; 1 éq) et une quantité catalytique de FeCl<sub>3</sub>. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux et 80 mL de Br<sub>2</sub> (1,56 mol ; 3,9 éq) en solution dans 100 mL de 1,2-dichloroéthane sont ajoutés goutte à goutte sur une période de 2 h. La solution est chauffée 30 min au reflux, refroidie à TA et 100 mL de MeOH sont ajoutés. Le précipité formé est filtré, lavé avec MeOH et recristallisé à chaud dans du CHCl<sub>3</sub> et on récupère 109 g du composé **31** (0,31 mol ; 78%) sous la forme de cristaux blancs.  $P_f$  226,9-227,5°C.

Formule brute :  $C_9H_9Br_3$ .

MM = 356,88 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 2,68 (s, 9H, CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 26,3 (CH<sub>3</sub>); 125,0 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>3</sub>); 137,0 (C<sub>Ar</sub>Br).



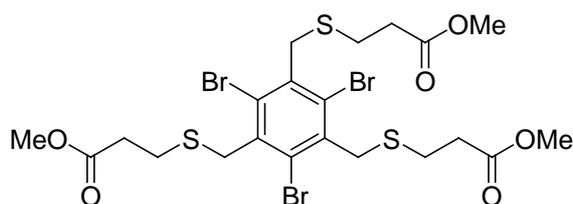
**1,3,5-tris(bromométhyl)-2,4,6-tribromobenzène (32).** 109 g du composé **31** (0,3 mol ; 1 éq) sont dissous dans 500 mL de 1,2-dibromoéthane puis on ajoute 80 mL de Br<sub>2</sub> (1,56 mol ; 5,2 éq). Le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant 48 h, refroidi à TA et versé dans EtOH (200 mL) pour faciliter la précipitation. Le solide est filtré puis recristallisé à chaud dans du CHCl<sub>3</sub> pour donner 148 g du composé **32** (0,25 mol ; 83%) sous la forme de cristaux blancs. R<sub>f</sub> 0,34 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (1:9). P<sub>f</sub> 217,5-218,1°C.

Formule brute : C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Br<sub>6</sub>.

MM = 593,57 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 4,87 (s, 6H, CH<sub>2</sub>Br).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 35,6 (CH<sub>2</sub>Br); 128,5 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>Br); 138,0 (C<sub>Ar</sub>Br).



**3,3',3''-(2,4,6-tribromobenzène-1,3,5-triyl)tris(méthylène)tris(sulfanediyl)tripropanoate de méthyle (33).** 1 g du composé **32** (1,68 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 15 mL de DMF. Le milieu réactionnel est purgé avec de l'argon et on ajoute 620 µL de 3-mercaptopropanoate de méthyle (5,6 mmol ; 3,3 éq) puis 630 mg de *tert*-butylate de potassium (5,6 mmol ; 3,3 éq). Le milieu réactionnel est chauffé 20 h à 80°C, refroidi à TA, versé dans 200 ml d'H<sub>2</sub>O et extrait avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 1,4 g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (3:7) pour donner 690 mg du composé **33** pur (0,97 mmol ; 58%) sous la forme d'une poudre jaune. R<sub>f</sub> 0,26 avec AcOEt/Cyclohexane (3:7).

Formule brute : C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>Br<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 711,34 g.mol<sup>-1</sup>.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 2,71 (t, <sup>3</sup>J = 7,16 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,96 (t, <sup>3</sup>J = 6,98 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>S); 3,73 (s, 9H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,29 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 27,8 ( $\text{SCH}_2$ ); 34,8 ( $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ); 40,0 ( $\text{ArCH}_2\text{S}$ ); 51,9 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 129,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{Br}$ ); 139,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2\text{S}$ ); 172,2 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ).



**1,3,5-tris(acétoxy-méthyl)-2,4,6-tribromobenzène (34)**. 148 g du composé **32** (0,25 mol ; 1 éq) sont solubilisés dans 800 mL de DMF et on ajoute 110 g d'acétate de potassium. Le milieu réactionnel est chauffé à 60°C pendant 5 jours, refroidi à TA et versé dans 1 L d' $\text{H}_2\text{O}$ . La suspension est filtrée et recristallisée dans EtOH à chaud pour donner 125 g du composé **34** (0,24 mol ; 96%) sous la forme de cristaux blancs.  $R_f$  0,53 avec AcOEt/Cyclohexane (4:6).  $P_f$  153,7-154,1°C.

Formule brute :  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{Br}_3\text{O}_6$ .

MM = 530,99  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 2,14 (s, 9H, OAc); 5,57 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** :  $\delta$  (ppm) 20,7 (OAc); 68,1 ( $\text{CH}_2\text{OAc}$ ); 131,5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 135,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{Br}$ ); 170,5 (CO).



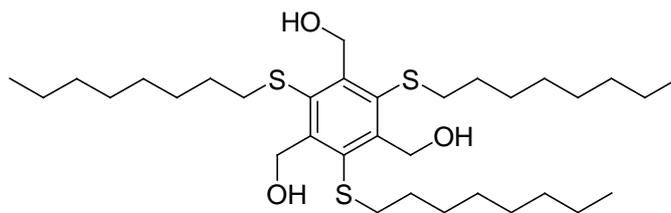
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tribromobenzène (35)**. 125 g du composé **34** (0,235 mol ; 1 éq) sont mis en suspension dans 800 mL de MeOH. On ajoute une quantité catalytique de MeONa pour avoir un pH de 9-10 et le milieu réactionnel est agité 48 h à TA. La suspension est filtrée et lavée avec du MeOH. Le filtrat est neutralisé avec de la résine acide IRC-50, filtré et concentré. Le résidu est rassemblé avec le gâteau et on récupère 95,8 g du composé **35** (0,235 mol ; quantitatif) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,67 avec MeOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:9).  $P_f$  265,4-265,8°C.

Formule brute :  $\text{C}_9\text{H}_9\text{Br}_3\text{O}_3$ .

MM = 404,88  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 4,89 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2$ ); 5,27 (s, 3H, OH).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 65,9 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 129,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{Br}$ ); 140,1 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ).



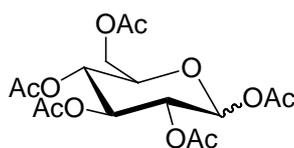
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (36).** 1 g de *t*BuOK (8,91 mmol ; 3,6 éq) sont mis en solution dans 15 mL de DMI. Le système est purgé avec de l'argon et 1,7 mL d'octanethiol (9,76 mmol ; 3,9 éq) sont additionnés goutte à goutte. La solution est agitée 10 min puis 1 g du composé **35** (2,47 mmol ; 1 éq) sont ajoutés en une fois et le milieu réactionnel est agité 16 h à TA. La solution est versée dans 200 mL d'H<sub>2</sub>O et extraite avec de l'AcOEt (3x100 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec H<sub>2</sub>O (2x50 mL) puis de la saumure (50 mL), séchées sur MgSO<sub>4</sub> et concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (2:8) pour donner 1,43 g du composé **36** (2,38 mmol ; 96%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,39 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8).

Formule brute : C<sub>33</sub>H<sub>60</sub>O<sub>3</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 601,02 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,9 (t, <sup>3</sup>J = 6,88 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,28-1,45 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,61 (p, <sup>3</sup>J = 6,42 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,89 (t, <sup>3</sup>J = 7,51 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,0 (t, <sup>3</sup>J = 7,21 Hz, 3H, OH); 5,32 (d, <sup>3</sup>J = 6,98, 6H, CH<sub>2</sub>OH).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 28,8-31,7 (CH<sub>2</sub>); 38,8 (CH<sub>2</sub>S); 63,3 (CH<sub>2</sub>OH); 137,3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,7 (C<sub>Ar</sub>S).



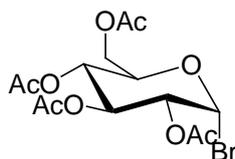
**Penta-O-acétyl-β-D-glucopyranose (37).** Dans 200 mL d'anhydride acétique (2,13 mol ; 7,5 éq) et 1,2 mL d'une solution d'acide perchlorique à 60% (11 mmol ; 0,1 éq) sont ajoutés par petites portions 50 g de D-glucose (0,28 mol ; 1 éq) à une température inférieure à 40°C. Le milieu réactionnel est agité 1 h puis 250 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont additionnés. La phase organique est lavée avec du NaHCO<sub>3</sub> saturé (4x150 mL), H<sub>2</sub>O (100 mL), séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée. Le résidu est recristallisé dans un mélange Et<sub>2</sub>O/*n*-Hexane pour donner 103 g de l'anomère α (>95%) du composé **37** (0,26 mol ; 95%) sous la forme de cristaux blancs. R<sub>f</sub> 0,49 avec AcOEt/Cyclohexane (7:3). P<sub>f</sub> 140,9-141,7°C.

Formule brute : C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>.

MM = 390,34g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 1,99-2,24 (m, 15H, OAc); 4,07-4,17 (m, 2H, H5+H6'); 4,26-4,32 (m, 1H, H6); 5,09-5,2 (m, 2H, H2+H4); 5,49 (t, <sup>3</sup>J = 9,88 Hz, 1H, H3); 6,34 (d, <sup>3</sup>J = 3,65 Hz, 1H, H1 β).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 20,5-20,9 (OAc); 61,4 (C6); 67,8 (C4); 69,1 (C3); 69,8 (C2+C5); 89,0 (C1); 168,8-170,7 (CO).



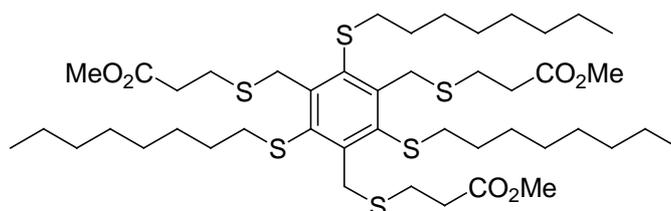
**1-bromo-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl)-α-D-glucopyranose (38)**. On ajoute en une fois 94 g du composé **37** (0,24 mol ; 1 éq) à une solution contenant 190 mL d'acide acétique et 180 mL d'une solution d'HBr à 30% (0,95 mol ; 3,9 éq) dans l'acide acétique. Le milieu réactionnel est agité 2 h à TA et 300 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont ajoutés. La phase organique est lavée avec du NaHCO<sub>3</sub> saturé (4x100 mL), H<sub>2</sub>O (100 mL), de la saumure (100 mL), séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée. Le résidu est recristallisé dans un mélange Et<sub>2</sub>O/*n*-hexane et on récupère 88 g du composé **38** (0,21 mmol ; 89%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,63 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1). P<sub>f</sub> 86,3-87,1°C.

Formule brute : C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>BrO<sub>9</sub>.

MM = 411,2 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 2,01-2,14 (m, 12H, OAc); 4,1-4,28 (dd, <sup>3</sup>J = 3,79 Hz, <sup>2</sup>J = 12,43 Hz 1H, H6'); 4,28-4,38 (m, 2H, H5+H6); 4,85 (dd, <sup>3</sup>J<sub>H1-H2</sub> = 4,05 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H2-H3</sub> = 9,99 Hz, 1H, H2); 5,17 (t, <sup>3</sup>J = 10,11 Hz, 1H, H4); 5,57 (t, <sup>3</sup>J = 9,71 Hz, 1H, H3); 6,62 (d, <sup>3</sup>J = 4,02 Hz, 1H, H1 β).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 20,6-20,7 (OAc); 60,9 (C6); 67,1 (C4); 70,1 (C3); 70,6 (C2); 72,1 (C5); 86,6 (C1); 169,5-170,5 (CO).



**3,3',3''-(2,4,6-tris(octylthio)benzène-1,3,5-triyl)tris(méthylène)tris(sulfanediyl)tripropionate de méthyle (39)**. 510 mg du composé **40** (0,78 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 5 mL de DMF. On ajoute 260 μL de 3-mercaptopropanoate de méthyle (2,35 mmol ; 3 éq) puis 260 mg

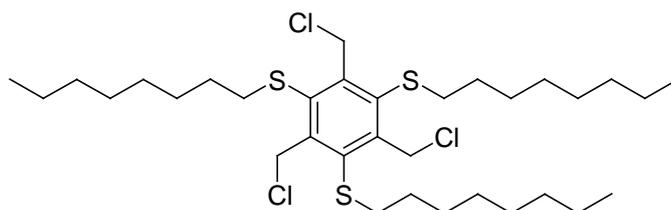
de *t*BuOK (2.3 mmol ; 3 éq) par petites portions et le milieu réactionnel est agité 48 h à TA. La solution est versée dans 100 mL d'H<sub>2</sub>O et extraite avec de l'AcOEt (2x50 mL). La phase organique est lavée de la saumure (2x50 mL), séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée pour donner 900 mg d'une huile jaune. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:9) et on récupère 280 mg du composé **39** (0,31 mmol ; 40%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,52 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8).

Formule brute : C<sub>45</sub>H<sub>78</sub>O<sub>6</sub>S<sub>6</sub>.

MM = 907,49 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,88 (t, <sup>3</sup>J = 6,34 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,26-1,44 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,58 (p, <sup>3</sup>J = 7,43 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,69 (t, <sup>3</sup>J = 8,03 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,8 (t, <sup>3</sup>J = 7,48 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 2,89 (t, <sup>3</sup>J = 8,06 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,69 (s, 9H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,55 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 27,8 (SCH<sub>2</sub>); 29,1-31,8 (CH<sub>2</sub>); 35,0 (CH<sub>2</sub>CO); 36,3 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,2 (ArSCH<sub>2</sub>); 51,8 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 136,3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,3 (C<sub>Ar</sub>S); 172,5 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).



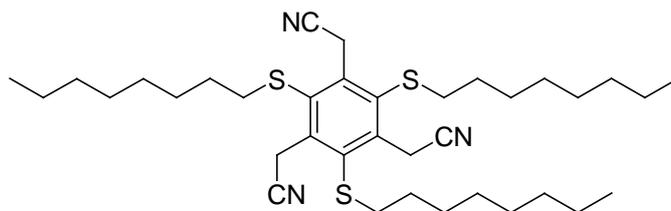
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (40)**. 1,2 g du composé **36** (2 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 30 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> distillé. La solution est purgée avec de l'argon puis refroidie à 5°C et 1,25 mL d'Et<sub>3</sub>N (9 mmol ; 4,5 éq) sont additionnés goutte à goutte. 610 μL de chlorure de méthanesulfonyle (7,8 mmol ; 3,9 éq) sont ajoutés goutte à goutte à 5°C et le milieu réactionnel est agité 48 h à TA. La solution est concentrée et le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (1:9) pour donner 1,09 g du composé **40** (1,66 mmol ; 83%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,74 avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Cyclohexane (1:9).

Formule brute : C<sub>33</sub>H<sub>57</sub>Cl<sub>3</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 656,36 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,91 (t, <sup>3</sup>J = 6,29 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,29-1,45 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,7 (p, <sup>3</sup>J = 7,84 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 3,02 (t, <sup>3</sup>J = 6,23 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 5,51 (s, 6H, CH<sub>2</sub>Cl).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,0-31,8 (CH<sub>2</sub>); 39,0 (CH<sub>2</sub>S); 46,2 (CH<sub>2</sub>Cl); 140,0 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 149,5 (C<sub>Ar</sub>S).



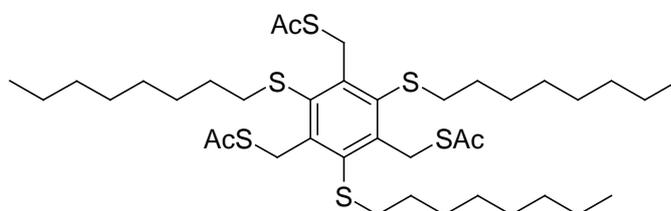
**2,2',2''-(2,4,6-tris(octylthio)benzène-1,3,5-triyl)triacétonitrile (41).** 200 mg du composé **40** (0,305 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 4 mL de DMF puis 70 mg de NaCN (1,43 mmol ; 4,5 éq) sont additionnés. Le milieu réactionnel est agité 1 h à TA, versé dans 100 mL d'H<sub>2</sub>O et extrait avec de l'AcOEt (2x50 mL). La phase organique est lavée avec H<sub>2</sub>O (30 mL) puis de la saumure (30 mL), séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et concentrée pour donner 168 mg du composé **41** (0,267 mmol ; 88%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,38 avec AcOEt/Cyclohexane (1:9).

Formule brute : C<sub>36</sub>H<sub>57</sub>N<sub>3</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 628,05 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,88 (t, <sup>3</sup>J = 6,82 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,28-1,47 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,7 (p, <sup>3</sup>J = 7,77 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,95 (t, <sup>3</sup>J = 7,52 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,64 (s, 6H, CH<sub>2</sub>CN).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 24,7 (CH<sub>2</sub>CN); 28,9-31,8 (CH<sub>2</sub>); 38,0 (CH<sub>2</sub>S); 117,8 (C≡N); 138,8 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,3 (C<sub>Ar</sub>S).



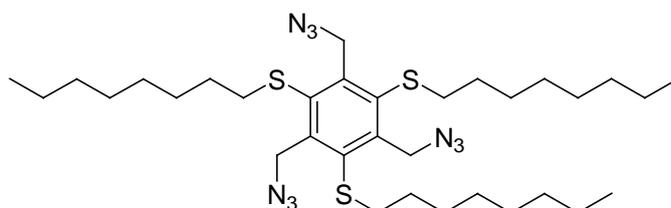
**1,3,5-tris(thioacétoxyméthyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (42).** A 2,47 g du composé **40** (3,76 mmol ; 1 éq) solubilisé dans 20 mL de DMF sont additionnés 1,54 g de thioacétate de potassium (13,49 mmol ; 3,6 éq) sous une atmosphère d'argon. Le milieu réactionnel est agité 16 h à TA, versé dans 250 mL d'H<sub>2</sub>O et extrait avec de l'AcOEt (3x100 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec H<sub>2</sub>O (2x50 mL) puis de la saumure (50 mL), séchées sur MgSO<sub>4</sub> et concentrées. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:9) pour donner 2,49 g du composé **42** (3,21 mmol ; 85%) sous la forme d'une huile orange. R<sub>f</sub> 0,25 avec CHCl<sub>3</sub>/Cyclohexane (2:8).

Formule brute : C<sub>39</sub>H<sub>66</sub>O<sub>3</sub>S<sub>6</sub>.

MM = 775,33 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,91 (t,  $^3J = 6,87$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,29 (m, 30H,  $\text{CH}_2$ ); 1,62 (m, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,37 (s, 9H, SAc); 2,76 (t,  $^3J = 7,67$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 4,94 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{S}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,7 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$ ); 29,0-31,8 ( $\text{CH}_2+\text{SAc}$ ); 34,7 ( $\text{ArCH}_2\text{S}$ ); 38,8 ( $\text{ArSCH}_2$ ); 138,0 ( $\underline{\text{C}}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 148,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ); 194,8 (CO).



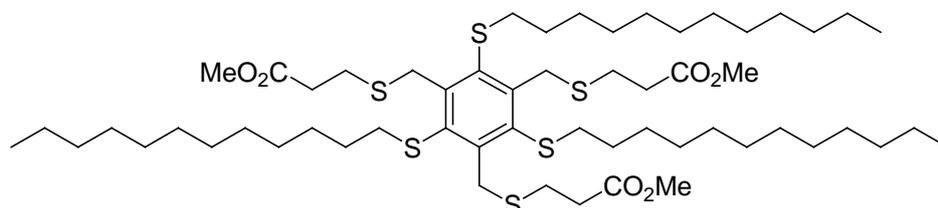
**1,3,5-tris(azidométhyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (43).** 326 mg du composé **40** (0,497 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 5 mL de DMF puis 160 mg d'azoture de sodium (2,46 mmol ; 4,9 éq) sont additionnés. Le milieu réactionnel est agité 16 h à TA, versé dans 100 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  et extrait avec de l'AcOEt (2x50 mL). La phase organique est lavée avec  $\text{H}_2\text{O}$  (2x30 mL) puis de la saumure (30 mL), séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et concentrée pour donner 326 mg du composé **43** (0,482 mmol ; 97%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,38 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).

Formule brute :  $\text{C}_{33}\text{H}_{57}\text{N}_9\text{S}_3$ .

MM = 676,06  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,9 (t,  $^3J = 6,77$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,29-1,45 (m, 30H,  $\text{CH}_2$ ); 1,63 (p,  $^3J = 7,5$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,85 (t,  $^3J = 7,46$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 5,29 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,7 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$ ); 29,0-31,8 ( $\text{CH}_2$ ); 38,9 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 53,6 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ); 140,3 ( $\underline{\text{C}}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 147,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



**3,3',3''-(2,4,6-tris(dodécylthio)benzène-1,3,5-triyl)tris(méthylène)tris(sulfanediyl)tripropanoate de méthyle (44).** 235 mg de 1,3,5-tris(thioacetoxy-méthyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (0,28 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 5 mL d'un mélange anhydre de THF/MeOH (2:3) et le milieu réactionnel est purgé avec de l'argon. On ajoute 65 mg de  $\text{NaBH}_4$  (1,72 mmol ; 6,3 éq) et on agite 5 min puis 160  $\mu\text{L}$  d'acrylate de méthyle (1,76 mmol ; 7 éq) sont

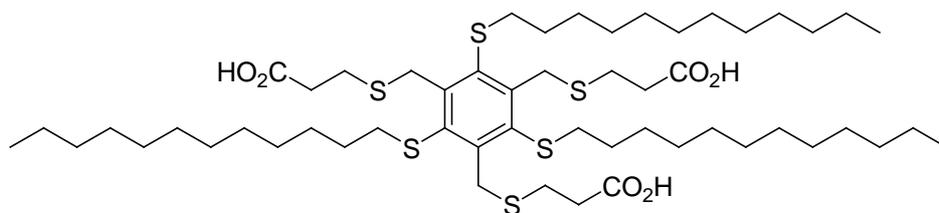
additionnés. La solution est agitée 4 h à TA et concentrée pour donner 790 mg d'une huile incolore. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:9) pour donner 183 mg du composé **44** (0,17 mmol ; 61%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,32 avec AcOEt/Cyclohexane (1:9).

Formule brute :  $C_{57}H_{102}O_6S_6$ .

MM = 1075,81 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 0,87 (t, <sup>3</sup>J = 6,19 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,25 (m, 54H, CH<sub>2</sub>); 1,56 (m, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 2,67 (t, <sup>3</sup>J = 7,45 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,79 (t, <sup>3</sup>J = 7,35 Hz, 6H, SCH<sub>2</sub>); 2,87 (t, <sup>3</sup>J = 7,45 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,68 (s, 9H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,55 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 27,8 (CH<sub>2</sub>S); 29,0-31,9 (CH<sub>2</sub>); 35,0 (CH<sub>2</sub>CO); 36,3 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,2 (ArSCH<sub>2</sub>); 51,7 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 136,3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,3 (C<sub>Ar</sub>S); 172,4 (CO<sub>2</sub>Me).



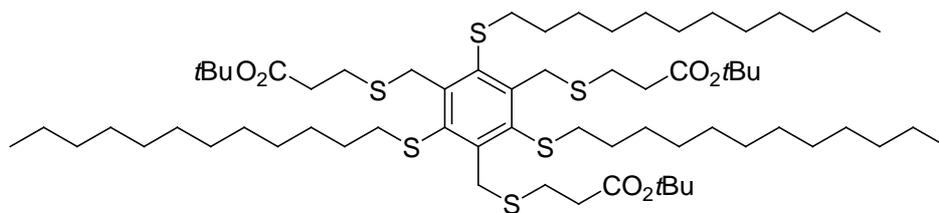
**Acide 3,3',3''-(2,4,6-tris(dodécylthio)benzène-1,3,5-triyl)tris(méthylène)tris(sulfanediy) tripropanoïque (45)**. 230 mg du composé **46** (0,19 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 8 mL d'un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/acide formique (1:3) puis le milieu réactionnel est agité 18 h à TA. La solution est concentrée et on purifie le brut réactionnel par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (3:7) pour donner 96 mg du composé **45** (0,09 mmol ; 47%) sous la forme d'une huile incolore.

Formule brute :  $C_{54}H_{96}O_6S_6$ .

MM = 1033,73 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 0,9 (t, <sup>3</sup>J = 6,33 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,27-1,35 (m, 54H, CH<sub>2</sub>); 1,45-1,57 (m, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 2,63-2,78 (m, 18H, SCH<sub>2</sub>+ArSCH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>CO); 4,55 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S); 9,63 (br s, 3H, CO<sub>2</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 26,4 (CH<sub>2</sub>S); 29,0-31,9 (CH<sub>2</sub>); 35,3 (CH<sub>2</sub>CO); 35,8 (ArCH<sub>2</sub>S); 38,9 (ArSCH<sub>2</sub>); 136,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,3 (C<sub>Ar</sub>S); 178,4 (CO<sub>2</sub>H).



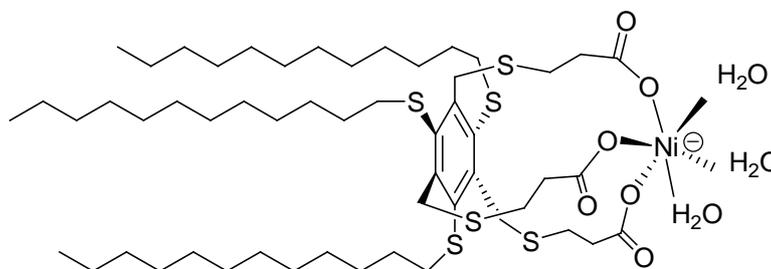
**3,3',3''-(2,4,6-tris(dodécylthio)benzène-1,3,5-triyl)tris(méthylène)tris(sulfanediyl)tripropanoate de *tert*-butyle (46).** 235 mg de 1,3,5-tris(thioacetoxyméthyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (0,28 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 5 mL d'un mélange anhydre de THF/MeOH (2:3) et le milieu réactionnel est prugé avec de l'argon. On ajoute 65 mg de NaBH<sub>4</sub> (1,72 mmol ; 6,1 éq) et on agite 5 min puis 250 µL d'acrylate de méthyle (1,76 mmol ; 7 éq) sont additionnés. La solution est chauffé au reflux 20 h, refroidie à température ambiante, versée dans 20 mL d'H<sub>2</sub>O et extraite avec de l'AcOEt (2x100 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec de la saumure (30 mL), séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées pour donner 740 mg d'une huile incolore. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange Et<sub>2</sub>O/Cyclohexane (5:95) pour donner 245 mg du composé **46** (0,2 mmol ; 71%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,41 avec Et<sub>2</sub>O/Cyclohexane (5:95).

Formule brute : C<sub>66</sub>H<sub>120</sub>O<sub>6</sub>S<sub>6</sub>.

MM = 1202,05 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,9 (t, <sup>3</sup>J = 6,91 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,27-1,68 (m, 87H, CH<sub>2</sub>+CH<sub>3</sub> *t*Bu); 2,6 (t, <sup>3</sup>J = 7,44 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,8-2,9 (m, 12H, SCH<sub>2</sub>+ArSCH<sub>2</sub>); 4,57 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S).

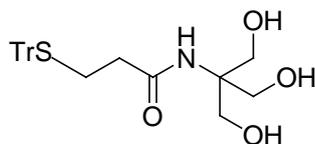
**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,1-28,3 (CH<sub>2</sub>S+CH<sub>3</sub> *t*Bu); 29,1-31,9 (CH<sub>2</sub>); 35,0 (CH<sub>2</sub>CO); 36,3-36,5 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,3 (ArSCH<sub>2</sub>); 80,6 (C<sup>IV</sup> *t*Bu); 136,3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,3 (C<sub>Ar</sub>S); 171,3 (CO<sub>2</sub>*t*Bu).



**Tripode C12tricarboxylate-Ni (47).** Le composé **47** est synthétisé de la même façon que le composé **11** à partir de 96 mg du composé **45** (0,09 mmol) et on récupère 108 mg du composé **47** (0,09 mmol ; quantitatif) sous la forme d'une poudre verte.

Formule brute :  $C_{57}H_{108}NiO_9S_6^-$ .

MM = 1188,55  $g \cdot mol^{-1}$ .



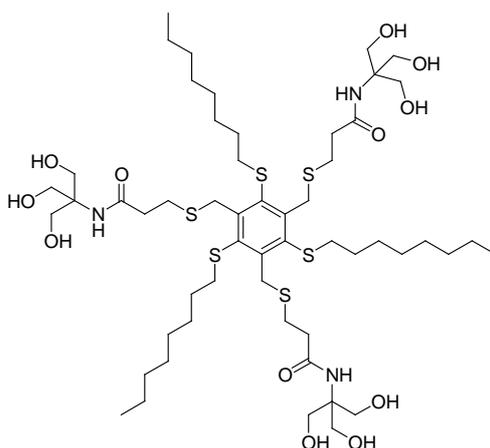
**N-(1,3-dihydroxy-2-(hydroxyméthyl)propan-2-yl)-3-(tritylthio)propanamide (48).** 4 g d'acide 3-(tritylthio)propanoïque (11,5 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 120 mL d'EtOH. On ajoute 1,5 g de trishydroxyméthylaminométhane (12,4 mmol ; 1,1 éq) puis 3,4 g de EEDQ (13,7 mmol ; 1,2 éq) et le milieu réactionnel est chauffé 24 h à 50°C. La solution est refroidie à TA, neutralisée avec de l'IRC-50 pour ajuster le pH à 7, filtrée et concentrée. Le résidu est repris dans du MeOH puis ajouté goutte à goutte dans 300 mL d'Et<sub>2</sub>O glacé. Le précipité est filtré et on récupère 4,3 g du composé **48** (9,5 mmol ; 83%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,36 avec AcOEt.  $P_f$  212,1-214,5°C.

Formule brute :  $C_{26}H_{29}NO_4S$ .

MM = 451,58  $g \cdot mol^{-1}$ .

**RMN<sup>1</sup>H (DMSO) :**  $\delta$  (ppm) 2,23 (s, 4H, SCH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>CO); 3,5 (d, <sup>3</sup>J = 5,67 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>OH); 4,68 (t, <sup>3</sup>J = 5,75 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 7,15 (s, 1H, NHCO); 7,23-7,39 (m, 15H, CH<sub>Ar</sub> Ph).

**RMN<sup>13</sup>C (DMSO) :**  $\delta$  (ppm) 20,2 (SCH<sub>2</sub>); 40,9 (CH<sub>2</sub>CO); 59,4 (C<sup>IV</sup>); 63,8 (CH<sub>2</sub>O); 66,2 (Ph<sub>3</sub>CS); 126,8-129,6 (CH<sub>Ar</sub> Ph); 144,1 (C<sup>IV</sup> Ph); 171,1 (NHCO).



**1,3,5-tris[N-[1,3-dihydroxy-2-(hydroxyméthyl)propan-2-yl]amidéthylthiométhyl]-2,4,6-tris(octylthio)benzène (49).** 508 mg du composé **42** (0,66 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 10 mL d'un mélange anhydre de THF/MeOH (3:2). Le milieu réactionnel est purgé avec de l'argon et on ajoute 112 mg de NaBH<sub>4</sub> (2,96 mmol ; 4,5 éq). La solution est agitée 10 min puis 450 mg de THAM (2,38 mmol ; 3,6 éq) sont ajoutés et on laisse tourner la réaction 16 h à

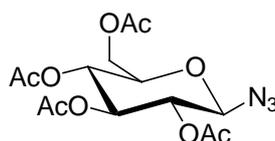
TA. Le milieu réactionnel est concentré et on purifie le résidu par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 avec MeOH pour donner 470 mg du composé **49** (0,4 mmol ; 67%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,33 avec MeOH/AcOEt (2:8).  $P_f$  98,3-99,7°C.

Formule brute :  $C_{54}H_{99}N_3O_{12}S_6$ .

MM = 1174,77 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 0,83 (t,  $^3J = 6,82$  Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,21-1,34 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,5 (m, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 2,52 (t,  $^3J = 6,64$  Hz, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,77-2,86 (m, 12H, CH<sub>2</sub>S+ArSCH<sub>2</sub>); 3,55 (d,  $^3J = 5,74$  Hz, 18H, CH<sub>2</sub>OH); 4,91 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S); 4,73 (t,  $^3J = 5,79$  Hz, 9H, CH<sub>2</sub>OH); 7,26 (s, 3H, NHCO).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 14,3 (CH<sub>3</sub>); 22,2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,0-31,0 (CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>S); 36,9 (CH<sub>2</sub>CO); 38,5 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,2 (CH<sub>2</sub>SAr); 61,0 (C<sup>IV</sup>NHCO); 62,9 (CH<sub>2</sub>O); 135,7 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,7 (C<sub>Ar</sub>S); 172,3 (CONH).



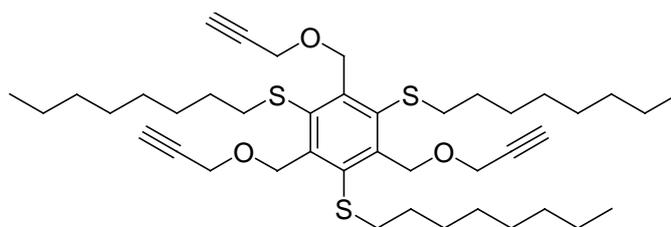
**1-azido-1-déoxy-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl)- $\beta$ -D-glucopyranose (**50**)**. 8 g d'azoture de sodium (123 mmol ; 2 éq) sont ajoutés à une solution contenant 25 g du composé **38** (61 mmol ; 1 éq) dans 30 mL de DMF et le milieu réactionnel est agité 24 h à TA. La solution est versée dans 250 mL d'H<sub>2</sub>O puis extraite avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x100 mL). La phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée. Le résidu est recristallisé avec de l'*i*Pr<sub>2</sub>O et on récupère 15,7 g du composé **50** (42 mmol ; 69%) sous la forme de cristaux jaunes.  $P_f$  127,8-128,1°C.  $R_f$  0,52 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1).  $[\alpha]_D^{25} = -44,5$  (*c* 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute :  $C_{14}H_{19}N_3O_9$ .

MM = 373,32 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 2,0-2,14 (m, 12H, OAc); 3,81 (ddd,  $^3J = 2,28$  Hz,  $^3J = 4,63$  Hz,  $^3J = 9,81$  Hz, 1H, H5); 4,19 (dd,  $^3J = 2,26$  Hz,  $^2J = 12,47$  Hz, 1H, H6'); 4,3 (dd,  $^3J = 4,68$  Hz,  $^2J = 12,48$  Hz, 1H, H6); 4,67 (d,  $^3J = 8,83$  Hz, 1H, H1); 4,98 (t,  $^3J = 9,21$  Hz, 1H, H2); 5,13 (t,  $^3J = 9,06$  Hz, 1H, H4); 5,24 (t,  $^3J = 9,39$  Hz, 1H, H3).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 20,6-20,8 (OAc); 61,6 (C6); 67,8 (C4); 70,6 (C2); 72,6 (C3); 74,0 (C5); 87,9 (C1); 169,3-170,7 (CO).



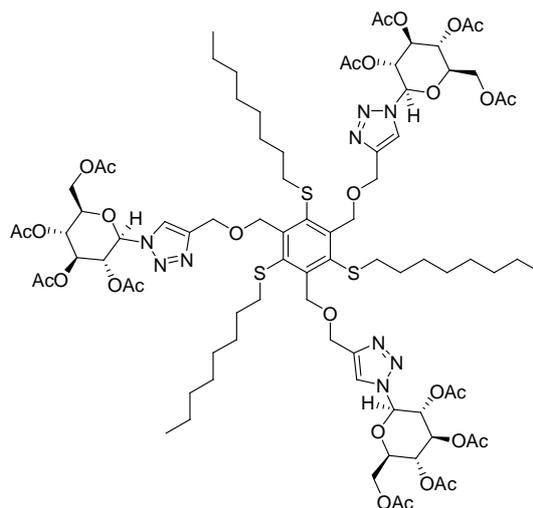
**1,3,5-tris(prop-2-ynyloxyméthyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (51).** 210  $\mu\text{L}$  d'alcool propargylique (3,6 mmol ; 3,6 éq) sont introduit dans 5 mL de DMF anhydre. La solution est refroidie à 0°C sous une atmosphère d'argon et 144 mg de NaH à 60% (3,6 mmol ; 3,6 éq) sont ajoutés par petites portions. Le milieu réactionnel est agité 10 min puis 656 mg du composé **40** (1 mmol ; 1 éq) en solution dans 5 mL de THF sont additionnés lentement à 0°C. L'agitation est poursuivie 18 h à TA et on ajoute de la glace pour neutraliser le milieu basique. La solution est versée dans 50 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  et extraite avec de l'AcOEt (3x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec  $\text{H}_2\text{O}$  (2x30 mL) puis de la saumure (30 mL), séchées sur  $\text{MgSO}_4$ , filtrées et concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (6:4) pour donner 466 mg du composé **51** (0,65 mmol ; 65%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,45 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (6:4).

Formule brute :  $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 715,17  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,9 (t,  $^3J = 6,86$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,26-1,43 (m, 30H,  $\text{CH}_2$ ); 1,59 (p,  $^3J = 7,44$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,49 (t,  $^4J = 2,38$  Hz, 3H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 2,89 (t,  $^3J = 7,5$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 4,33 (d,  $^4J = 2,38$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 5,3 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{O}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 28,7-31,5 ( $\text{CH}_2$ ); 39,0 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 58,1 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 71,6 ( $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 74,4 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 79,9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 141,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 147,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



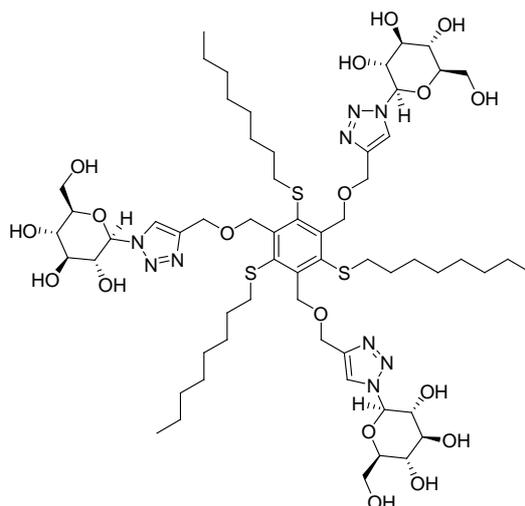
**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(octylthio)benzène (52).** A 358 mg du composé **51** (0,5 mmol ; 1 éq) solubilisé dans 15 mL de THF sont additionnés 672 mg du composé **50** (1,8 mmol ; 3,6 éq), 520 μL de DIEA (2,98 mmol ; 6 éq) et 29 mg de CuI (0,15 mmol ; 0,3 éq). La solution verte est agitée 24 h à TA puis 60 mL d'AcOEt sont ajoutés. La phase organique est lavée avec une solution de NH<sub>4</sub>Cl saturé (3x20 mL) puis de la saumure (20 mL), séchée sur MgSO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un gradient d'éluion dans un mélange AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9→4:6) pour donner 652 mg du composé **52** (0,36 mmol ; 72%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,66 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:6). P<sub>f</sub> 141,4-142,2°C. [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -39,8 (c 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>84</sub>H<sub>123</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1835,11 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,88 (t, <sup>3</sup>J = 6,87 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,25-1,3 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,47 (p, <sup>3</sup>J = 7,14 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,89 (s, 9H, OAc); 2,04-2,11 (3s, 27H, OAc); 2,78 (t, <sup>3</sup>J = 7,14 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,02 (ddd, <sup>3</sup>J = 1,99 Hz, <sup>3</sup>J = 5,27 Hz, <sup>3</sup>J = 10,17 Hz, 3H, H5); 4,14 (dd, <sup>3</sup>J = 1,95 Hz, <sup>2</sup>J = 12,54 Hz, 3H, H6'); 4,3 (dd, <sup>3</sup>J = 4,97 Hz, <sup>2</sup>J = 12,63 Hz, 3H, H6); 4,81 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,22-5,28 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+H4); 5,4-5,53 (m, 6H, H2+H3); 5,9 (d, <sup>3</sup>J = 8,98 Hz, 3H, H1); 7,83 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 20,2-20,7 (OAc); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,9-29,7 (CH<sub>2</sub>); 31,7 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,9 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C6); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,2 (C2); 71,9 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,8 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,2 (CH triazole); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 146,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,0 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,5 (CO).



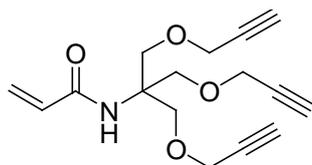
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxymethyl]-2,4,6-tris(octylthio)benzene (53).** 550 mg du composé **52** (0,3 mmol ; 1 éq) sont solubilisés dans 50 mL d'un mélange de THF/MeOH distillé (1:4) sous une atmosphère d'argon. Une quantité catalytique de MeONa est ajoutée pour ajuster le pH à 9-10 et le milieu réactionnel est agité pendant 24 h à TA. La solution est neutralisée avec de la résine acide IRC-50, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 avec du MeOH pour donner 369 mg du composé **53** (0,28 mmol ; 93%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,63 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  181,6-184,3°C.  $[\alpha]_D^{25} = -6,9$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>60</sub>H<sub>100</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ([M+H]<sup>+</sup>) : 1330,6343; trouvé 1330,6325.

Formule brute : C<sub>60</sub>H<sub>99</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1330,67 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO)** : δ (ppm) 0,86 (t, <sup>3</sup>J = 6,89 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,22-1,4 (m, 36H, CH<sub>2</sub>); 2,78 (t, <sup>3</sup>J = 6,47 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,21-3,27 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,35-3,47 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>); 3,67-3,77 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,61 (t, <sup>3</sup>J = 5,73 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 4,68 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,16 (2s, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+OH); 5,28 (d, <sup>3</sup>J = 4,65 Hz, 3H, OH); 5,35 (d, <sup>3</sup>J = 6,02 Hz, 3H, OH); 5,52 (d, <sup>3</sup>J = 9,22 Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 8,24 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO)** : δ (ppm) 14,4 (CH<sub>3</sub>); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,7-31,7 (CH<sub>2</sub>); 38,3 (CH<sub>2</sub>S); 61,3 (C<sub>6</sub>); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C<sub>4</sub>); 71,7 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,6 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,4 (C<sub>3</sub>); 87,9 (C<sub>1</sub>); 123,5 (CH triazole); 140,3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,2 (C<sub>Ar</sub>S).



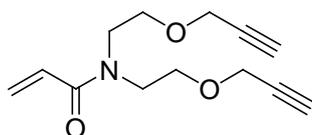
**N-Acryloyltris[(propargyloxy)méthyl]aminométhane (54).** On prépare le tris(hydroxyméthyl)acrylamidométhane (THAM) de la même façon que le N,N-bis(2-hydroxyéthyl)acrylamide dans la procédure décrite du composé **55**. Le THAM est recristallisé dans EtOH à chaud et à partir de 2 g de THAM (11,4 mmol), on garde les mêmes conditions que dans la synthèse du composé **55** à l'exception que les quantités de bromure de propargyle et de KOH correspondent à 4,5 éq par rapport à celle du THAM. Le brut réactionnel obtenu après traitement est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:1) suivi d'une recristallisation dans un mélange AcOEt/*n*-hexane pour donner 2,1 g du composé **54** (7,2 mmol ; 63%) sous la forme de cristaux blancs.  $R_f$  0,5 avec AcOEt/Cyclohexane (1:1).

Formule brute :  $C_{16}H_{19}NO_4$ .

MM = 289,33 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :**  $\delta$  (ppm) 2,47 (t, <sup>4</sup> $J$  = 2,35 Hz, 3H, C≡CH); 3,92 (s, 6H, CH<sub>2</sub>O); 4,18 (t, <sup>4</sup> $J$  = 2,37 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>C≡CH); 5,63 (dd, <sup>2</sup> $J$  = 1,74 Hz, <sup>3</sup> $J_{cis}$  = 9,91 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>); 5,88 (br s, 1H, NHCO); 6,1 (dd, <sup>3</sup> $J_{cis}$  = 9,91 Hz, <sup>3</sup> $J_{trans}$  = 16,88 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>); 6,3 (dd, <sup>2</sup> $J$  = 1,73 Hz, <sup>3</sup> $J_{trans}$  = 16,87 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :**  $\delta$  (ppm) 58,7 (CH<sub>2</sub>C≡CH); 59,4 (CNHCO); 68,5 (CH<sub>2</sub>O); 74,7 (C≡CH); 79,5 (C≡CH); 126,4 (CH=CH<sub>2</sub>); 131,4 (CH=CH<sub>2</sub>); 165,4 (CO).



**N,N-bis[2-(prop-2-ynoxy)éthyl]acrylamide (55).** Une solution contenant 3 mL de diéthanolamine (31,1 mmol ; 1 éq) dans 20 mL de MeOH est introduite dans un ballon tricol surmonté de deux ampoules de coulée, l'une contenant 4 mL de chlorure d'acryloyle (49,23 mmol ; 1,6 éq) et l'autre une solution de KOH/MeOH à 2 N. Le milieu réactionnel est refroidi à 0°C puis on ajoute lentement le chlorure d'acryloyle à un pH maintenu vers 8-9 par l'addition de la solution basique. La solution est agitée 1 h à TA, filtrée pour éliminer les sels de KCl et concentrée pour donner 6,47 g de l'intermédiaire N,N-bis(2-hydroxyéthyl)acrylamide sous la forme d'une huile incolore. Le résidu est dissous dans 50 mL de DMF

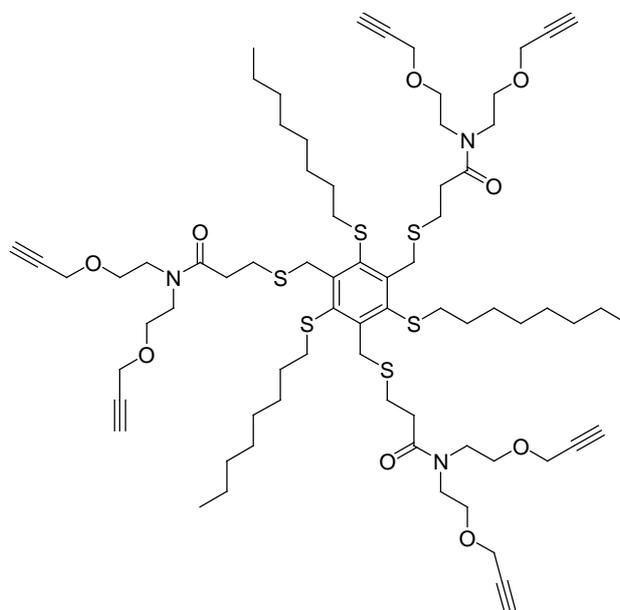
avec du tamis moléculaire 3 Å et la solution est refroidie à 0°C sous une atmosphère d'argon. On ajoute 10,4 mL d'une solution de bromure de propargyle à 80% dans le toluène (93,3 mmol ; 3 éq) lentement à 0°C puis 5,2 g d'une poudre fine de KOH (92,7 ; 3 éq) par petites portions toujours à 0°C sur une période de 1 h. Le milieu réactionnel est agité 14 h à TA, versé dans 500 mL d'H<sub>2</sub>O et extrait avec de l'AcOEt (3x150 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec H<sub>2</sub>O (2x100 mL) puis de la saumure (100 mL), séchée sur MgSO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée pour donner 4,97 g d'une huile brune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange AcOEt/Cyclohexane (1:1) pour donner 3,53 g du composé **55** (15 mmol ; 48%) sous la forme d'une huile jaune. R<sub>f</sub> 0,34 avec AcOEt/Cyclohexane (1:1).

Formule brute : C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>.

MM = 235,28 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 2,41 (2t, <sup>4</sup>J = 2,3 Hz, <sup>4</sup>J = 2,33 Hz, 2H, C≡CH); 3,6 (m, 8H, CH<sub>2</sub>N+CH<sub>2</sub>O); 4,05 (t, <sup>4</sup>J = 2,59 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>C≡CH); 5,58 (dd, <sup>2</sup>J = 2,17 Hz, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10,42 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>); 6,22 (dd, <sup>2</sup>J = 2,15 Hz, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 16,73 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>); 6,58 (dd, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10,41 Hz, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 16,74 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 47,0-48,8 (CH<sub>2</sub>N); 58,4-58,2 (CH<sub>2</sub>C≡CH); 68,1-68,5 (CH<sub>2</sub>O); 74,7-75,0 (C≡CH); 79,3-79,5 (C≡CH); 127,8 (CH=CH<sub>2</sub>); 128,0 (CH=CH<sub>2</sub>); 166,7 (CO).



**1,3,5-tris{N,N-bis[2-(prop-2-ynyloxy)éthyl]amidéthylthiométhyl}-2,4,6-tris(octylthio)benzène (56)**. Une solution contenant 497 mg du composé **42** (0,64 mmol ; 1 éq) dans 12 mL d'un mélange anhydre de MeOH/DMF (2:1) est chauffée à 50°C sous atmosphère d'argon et

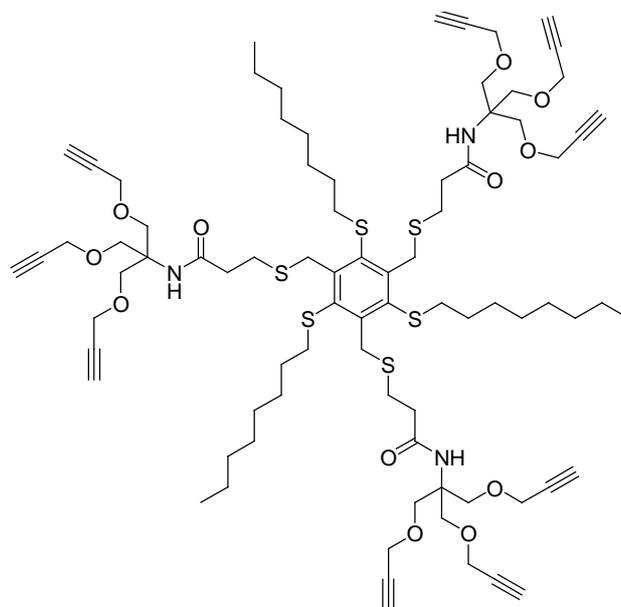
145 mg de borohydrure de sodium (3,83 mmol ; 6 éq) sont additionnés au milieu réactionnel. La solution est agitée 5 min et une solution contenant 546 mg du composé **55** (2,32 mmol ; 3,6 éq) dans 2 mL de MeOH est ajoutée. La solution est chauffée à 50°C pendant 20 h, refroidie à température ambiante, versée dans 100 mL d'H<sub>2</sub>O et extraite avec de l'AcOEt (3x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec H<sub>2</sub>O (50 mL) puis de la saumure (50 mL), séchées sur MgSO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 avec un mélange MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) pour donner 931 mg du composé **56** (0,69 mmol ; quantitatif) sous la forme d'une huile jaune. R<sub>f</sub> 0,47 avec AcOEt/Cyclohexane (6:4).

Formule brute : C<sub>72</sub>H<sub>111</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>S<sub>6</sub>.

MM = 1355,06 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,9 (t, <sup>3</sup>J = 6,87 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,28 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,6 (p, <sup>3</sup>J = 7,17 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,47 (2t, <sup>4</sup>J = 2,35 Hz, <sup>4</sup>J = 2,37 Hz, 6H, C≡CH); 2,81 (m, 12H, CH<sub>2</sub>CO+CH<sub>2</sub>S); 2,98 (t, <sup>3</sup>J = 6,69 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,39 (m, 24H, CH<sub>2</sub>N+CH<sub>2</sub>O); 4,16 (m, 12H, CH<sub>2</sub>C≡CH); 4,58 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,0-31,9 (CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>S); 33,9 (CH<sub>2</sub>CO); 37,0 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,3 (CH<sub>2</sub>SAr); 46,5-48,8 (CH<sub>2</sub>N); 58,3-58,5 (CH<sub>2</sub>C≡CH); 67,9-68,7 (CH<sub>2</sub>O); 74,5-75,0 (C≡CH); 79,3-79,6 (C≡CH); 136,2 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,4 (C<sub>Ar</sub>S); 172,0 (CO).



**1,3,5-tris{N-[1,3-bis(prop-2-ynyloxy)-2-(prop-2-ynyloxyméthyl)propan-2-yl]amidéthylthiométhyl}-2,4,6-tris(octylthio)benzène (57)**. Une solution contenant 502 mg du composé **42** (0,65 mmol ; 1 éq) dans 12 mL d'un mélange anhydre MeOH/DMF (2:1) est chauffée à

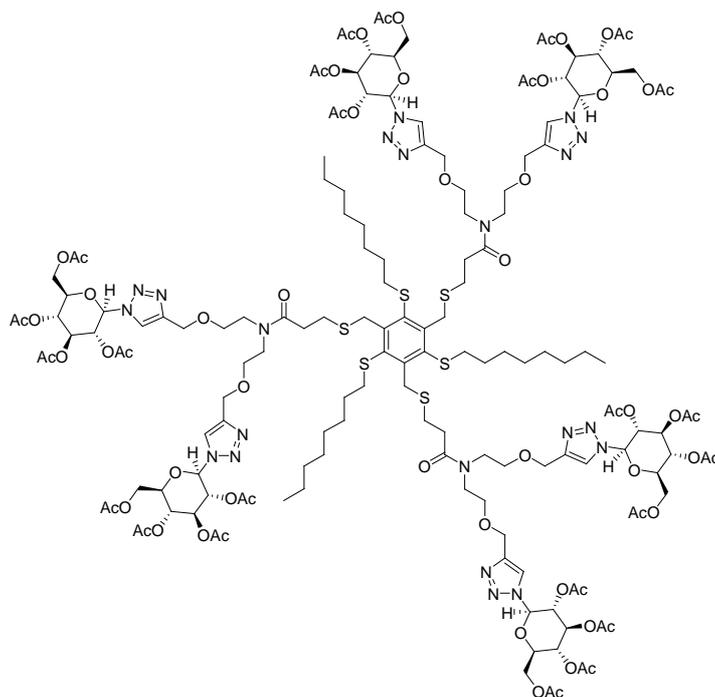
50°C sous une atmosphère d'argon et 153 mg de borohydrure de sodium (4,1 mmol ; 6,3 éq) sont ajoutés au milieu réactionnel. La solution est agitée 5 min et une solution contenant 674 mg du composé **54** (2,33 mmol ; 3,6 éq) dans 2 mL de MeOH est ajoutée. La solution est chauffée à 50°C pendant 22 h, refroidie à TA, versée dans 100 mL d'H<sub>2</sub>O et extraite avec de l'AcOEt (3x50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec H<sub>2</sub>O (40 mL) puis de la saumure (40 mL), séchées sur MgSO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 avec un mélange MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) pour donner 671 mg du composé **57** (0,44 mmol ; 68%) sous la forme d'une huile jaune. R<sub>f</sub> 0,42 avec AcOEt/Cyclohexane (4:6).

Formule brute : C<sub>81</sub>H<sub>117</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>S<sub>6</sub>.

MM = 1517,2 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 0,9 (t, <sup>3</sup>J = 6,88 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,28-1,38 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,56-1,65 (m, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,48 (t, <sup>4</sup>J = 2,33 Hz, 9H, C≡CH); 2,52 (t, <sup>3</sup>J = 7,94 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,82 (t, <sup>3</sup>J = 7,57 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 2,9 (t, <sup>3</sup>J = 7,11 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>S); 3,88 (s, 18H, CH<sub>2</sub>O); 4,18 (d, <sup>4</sup>J = 2,36 Hz, 18H, CH<sub>2</sub>C≡CH); 4,56 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S); 5,92 (br s, 3H, NHCO).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,2 (CH<sub>3</sub>); 22,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,9-31,8 (CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>S); 36,6 (CH<sub>2</sub>CO); 37,8 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,2 (ArSCH<sub>2</sub>); 58,7 (CH<sub>2</sub>C≡CH); 59,4 (C<sup>IV</sup>NHCO); 68,5 (CH<sub>2</sub>O); 74,7 (C≡CH); 79,6 (C≡CH); 136,2 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,3 (C<sub>Ar</sub>S); 171,5 (CO).



**1,3,5-tris(N,N-bis{2-[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxy]éthyl}amidéthylthiométhyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (58)**. A 869 mg du composé **56** (0,64 mmol ; 1 éq) solubilisé dans 30 mL de THF sont additionnés successivement 1,9 g du composé **50** (4,62 mmol ; 7,2 éq), 1,3 mL de DIEA (7,44 mmol ; 11,6 éq) et 73 mg de CuI (0,38 mmol ; 0,6 éq). Le milieu réactionnel est agité 24 h à TA et on ajoute 200 mL d'AcOEt. La phase organique est lavée avec une solution de NH<sub>4</sub>Cl saturé dans H<sub>2</sub>O (3x50 mL) puis de la saumure (50 mL), séchée sur MgSO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée pour donner 3,1g d'une huile jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 avec un mélange MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) pour donner 1,73 g du composé **58** (0,48 mmol ; 75%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,4 avec AcOEt. P<sub>f</sub> 131,2-133,6°C. [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -21,1 (c 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

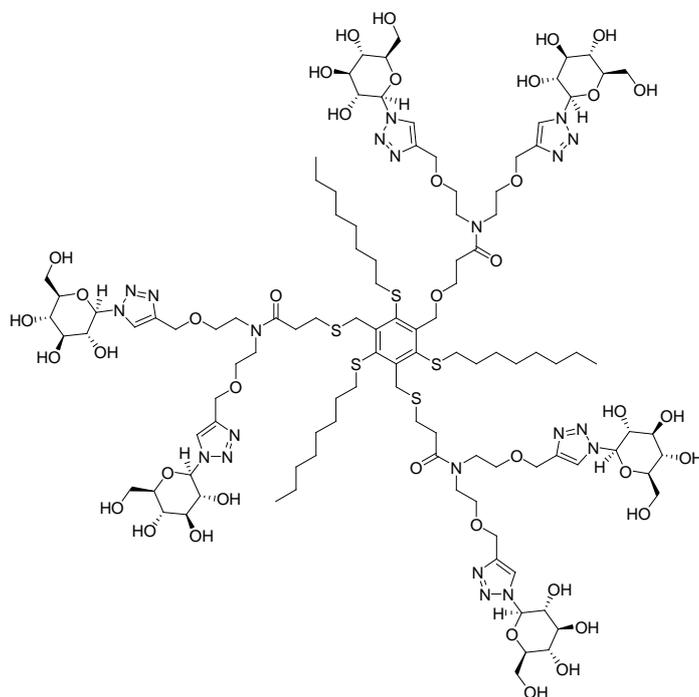
Formule brute : C<sub>156</sub>H<sub>225</sub>N<sub>21</sub>O<sub>63</sub>S<sub>6</sub>.

MM = 3594,95 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 50°C)** : δ (ppm) 0,82 (t, <sup>3</sup>J = 6,54 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,21 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,47 (m, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,79 (s, 18H, OAc); 1,92-2,04 (3s, 56H, OAc); 2,71 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,82 (m, 12H, CH<sub>2</sub>S+ArSCH<sub>2</sub>); 3,5-3,58 (m, 24H, CH<sub>2</sub>N+CH<sub>2</sub>O); 4,14 (m, 12H, H<sub>6</sub>); 4,36 (m, 6H, H<sub>5</sub>); 4,53 (s, 12H, OCH<sub>2</sub>triazole); 4,57 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S); 5,19 (t, <sup>3</sup>J = 9,29 Hz, 6H, H<sub>2</sub>); 5,51-5,56 (m, 12H, H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>); 6,3 (d, <sup>3</sup>J = 8,48 Hz, 6H, H<sub>1</sub>); 8,33 (s, 6H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 20,1-20,7 (OAc); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,9-31,8 (CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>S); 33,9 (CH<sub>2</sub>CO); 36,9 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,2 (ArSCH<sub>2</sub>); 46,6-48,6 (CH<sub>2</sub>N); 61,5 (C<sub>6</sub>); 64,1-

64,2 (CH<sub>2</sub>O); 68,7-69,1 (OCH<sub>2</sub>triazole); 70,2-70,3 (C<sub>4</sub>); 72,7 (C<sub>2</sub>); 75,0 (C<sub>5</sub>); 77,3 (C<sub>3</sub>); 85,6 (C<sub>1</sub>); 121,4-121,6 (CH triazole); 136,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 145,3-145,6 (C<sup>IV</sup> triazole); 150,4 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-171,8 (CO).



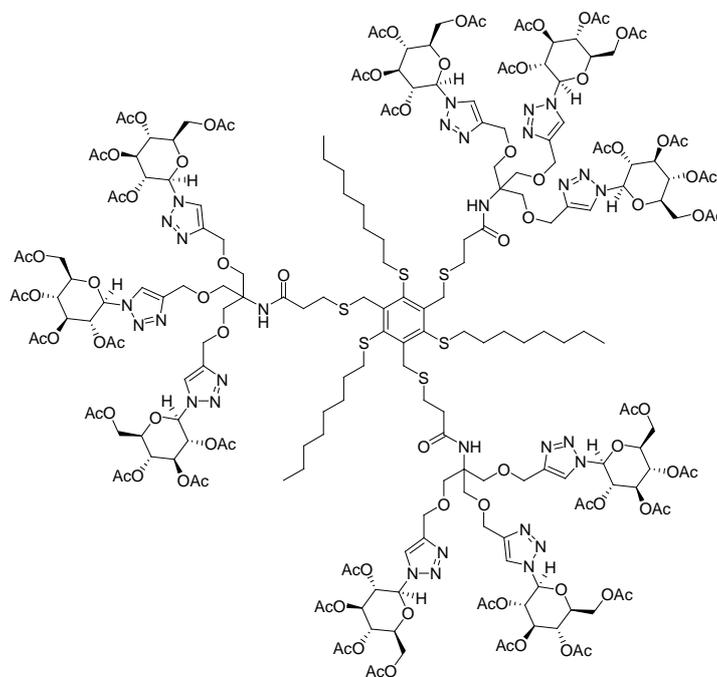
**1,3,5-tris(N,N-bis{2-[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxy]éthyl}amidéthylthio méthyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (59).** 1,63 g du composé **58** (0,45 mmol ; 1 équ) sont solubilisés dans 30 mL de MeOH distillé sous une atmosphère d'argon. Une quantité catalytique de MeONa est ajoutée pour ajuster le pH à 9-10 et le milieu réactionnel est agité pendant 16 h à TA. La solution est neutralisée avec de la résine acide IRC-50, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 avec du MeOH pour donner 924 mg du composé **59** (0,36 mmol ; 80%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,42 avec BuOH/EtOH/H<sub>2</sub>O (5:4:3).  $P_f$  198,1-200,7°C .  $[\alpha]_D^{25} = -2,7$  (*c* 1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>108</sub>H<sub>179</sub>N<sub>21</sub>O<sub>39</sub>S<sub>6</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>) : 1293,5506; trouvé 1293,5509 et pour C<sub>108</sub>H<sub>185</sub>N<sub>23</sub>O<sub>39</sub>S<sub>6</sub> ([M+2NH<sub>4</sub>]<sup>2+</sup>) : 1310,5771; trouvé 1310,5777.

Formule brute : C<sub>108</sub>H<sub>177</sub>N<sub>21</sub>O<sub>40</sub>S<sub>5</sub>.

MM = 2570 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 50°C) :** δ (ppm) 0,85 (t, <sup>3</sup>J = 6,64 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,23 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,49 (m, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,71 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,81 (m, 12H, CH<sub>2</sub>S+ArSCH<sub>2</sub>); 3,21-3,79 (m, 66H, H<sub>2</sub>+H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>+CH<sub>2</sub>O+CH<sub>2</sub>N); 4,49-4,58 (m, 24H, ArCH<sub>2</sub>S+OCH<sub>2</sub>triazole+CH<sub>2</sub>OH); 4,99 (d, <sup>3</sup>J = 5,28 Hz, 6H, OH); 5,10 (d, <sup>3</sup>J = 4,55 Hz, 6H, OH); 5,24 (d, <sup>3</sup>J = 5,77 Hz, 6H, OH); 5,53 (d, <sup>3</sup>J = 9,19 Hz, 6H, H<sub>1</sub>); 8,22 (s, 6H, CH triazole).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO) :**  $\delta$  (ppm) 14,3 ( $\text{CH}_3$ ); 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 28,8-31,7 ( $\text{CH}_2+\text{CH}_2\text{S}$ ); 33,8 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 36,9 ( $\text{ArCH}_2\text{S}$ ); 38,6 ( $\text{ArSCH}_2$ ); 46,1-48,3 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ); 61,4 (C6); 64,0-64,2 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ); 68,2-68,8 ( $\text{OCH}_2\text{triazole}$ ); 70,2 (C4); 72,7 (C2); 77,5 (C5); 80,4 (C3); 88,1 (C1); 123,5 (CH triazole); 135,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 144,2-144,3 ( $\text{C}^{\text{IV}}$  triazole); 150,8 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ); 171,3 (CO).



**1,3,5-tris(N-{1,3-bis[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yl oxy]-2-[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-propan-2-yl}amidéthylthiométhyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (60).** A 658 mg du composé **57** (0,43 mmol ; 1 éq) solubilisé dans 30 mL de THF sont additionnés successivement 1,93 g du composé **50** (4,69 mmol ; 10,8 éq), 1,4 mL de DIEA (8,02 mmol ; 18,7 éq) et 74 mg de CuI (0,39 mmol ; 0,9 éq). Le milieu réactionnel est agité 24 h à TA et on ajoute 150 mL d'AcOEt. La phase organique est lavée avec une solution de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturé dans  $\text{H}_2\text{O}$  (3x50 mL) puis de la saumure (50 mL), séchée sur  $\text{MgSO}_4$ , filtrée et concentrée pour donner 3,1 g d'une poudre jaune. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie d'exclusion de taille Sephadex LH-20 avec un mélange  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:1) pour donner 1,4 g du composé **60** (0,29 mmol ; 67%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,36 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (95:5).  $P_f$  159,6-161,3°C.  $[\alpha]_D^{25} = -24,3$  ( $c$  1,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

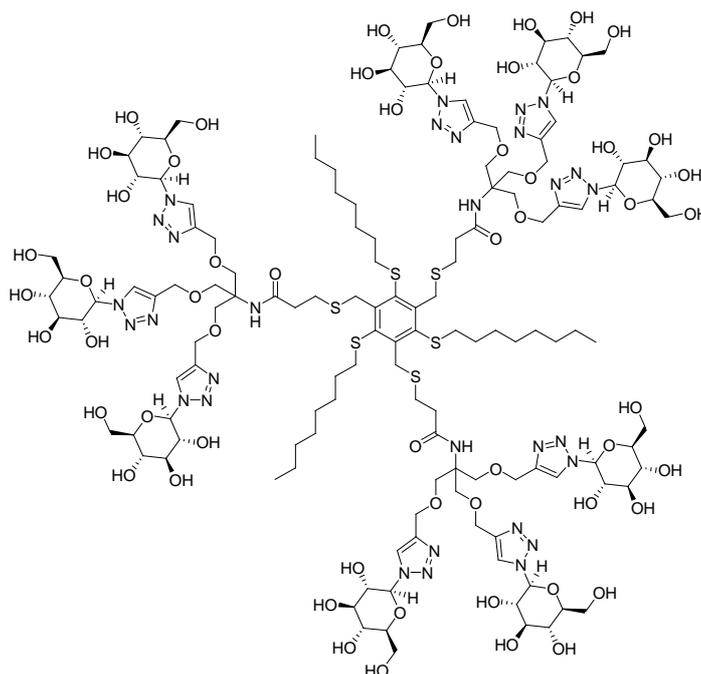
Formule brute :  $\text{C}_{207}\text{H}_{288}\text{N}_{30}\text{O}_{93}\text{S}_6$ .

MM = 4877,04  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  (DMSO, 50°C) :**  $\delta$  (ppm) 0,82 (br s, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,2 (m, 30H,  $\text{CH}_2$ ); 1,48 (m, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 1,7 (s, 27H, OAc); 1,97-2,04 (3s, 81H, OAc); 2,47 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 2,81 (m,

12H, CH<sub>2</sub>S+ArSCH<sub>2</sub>); 3,69 (m, 18H, CH<sub>2</sub>O); 4,13 (m, 18H, H<sub>6</sub>); 4,36 (m, 9H, H<sub>5</sub>); 4,53 (s, 24H, OCH<sub>2</sub>triazole+ArCH<sub>2</sub>S); 5,19 (t, <sup>3</sup>J = 9,49 Hz, 9H, H<sub>2</sub>); 5,5-5,68 (m, 18H, H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>); 6,32 (d, <sup>3</sup>J = 8,85 Hz, 9H, H<sub>1</sub>); 8,32 (s, 9H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 20,1-20,6 (OAc); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,2-31,8 (CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>S); 36,8 (CH<sub>2</sub>CO); 37,4 (ArCH<sub>2</sub>S); 39,0 (ArSCH<sub>2</sub>); 46,6-48,6 (CH<sub>2</sub>N); 59,8 (C<sup>IV</sup>NHCO); 61,6 (C<sub>6</sub>); 64,6 (CH<sub>2</sub>O); 67,8 (OCH<sub>2</sub>triazole); 70,3 (C<sub>4</sub>); 72,8 (C<sub>2</sub>); 74,9 (C<sub>5</sub>); 77,2 (C<sub>3</sub>); 85,5 (C<sub>1</sub>); 121,6 (CH triazole); 136,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 145,5 (C<sup>IV</sup> triazole); 150,3 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-171,6 (CO).



**1,3,5-tris(N-{1,3-bis[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxy]-2-[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-propan-2-yl}amidéthylthiométhyl)-2,4,6-tris(octylthio)benzène (61)**. On réalise le même protocole que pour la synthèse du composé **59** à partir de 1,4 g du composé **60** (0,29 mmol) et on obtient 685 mg du composé **61** (0,2 mmol ; 70%) sous la forme d'une poudre blanche. R<sub>f</sub> 0,33 avec BuOH/EtOH/H<sub>2</sub>O (5:4:3). P<sub>f</sub> 195,4-197,6°C. [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -2,8 (c 1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>135</sub>H<sub>219</sub>N<sub>30</sub>O<sub>57</sub>S<sub>6</sub> ([M+3H]<sup>3+</sup>) : 1122,1170; trouvé 1122,1168.

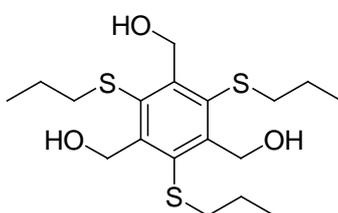
Formule brute : C<sub>135</sub>H<sub>216</sub>N<sub>30</sub>O<sub>57</sub>S<sub>6</sub>.

MM = 3363,72 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 50°C)** : δ (ppm) 0,83 (t, <sup>3</sup>J = 6,6 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,19 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 1,42 (m, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,47 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CO); 2,77 (m, 12H, CH<sub>2</sub>S+ArSCH<sub>2</sub>); 3,16-3,81 (m, 90H, H<sub>2</sub>+H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>+CH<sub>2</sub>O); 4,53 (m, 24H, ArCH<sub>2</sub>S+OCH<sub>2</sub>triazole); 4,69 (m, 9H,

CH<sub>2</sub>OH), 5,21 (d, <sup>3</sup>J = 5,0 Hz, 9H, OH); 5,34 (d, <sup>3</sup>J = 4,25 Hz, 9H, OH); 5,45 (d, <sup>3</sup>J = 5,28 Hz, 9H, OH); 5,55 (d, <sup>3</sup>J = 9,16 Hz, 9H, H1); 7,52 (br s, 3H, NHCO); 8,3 (s, 9H, CH triazole).  
**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 14,4 (CH<sub>3</sub>); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,9-29,4 (CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>S); 31,7 (CH<sub>2</sub>); 36,8 (CH<sub>2</sub>CO); 38,3 (ArCH<sub>2</sub>S); 38,9 (ArSCH<sub>2</sub>); 60,4 (C<sup>IV</sup>NHCO); 61,2 (C6); 64,6 (CH<sub>2</sub>O); 68,6 (OCH<sub>2</sub>triazole); 70,0 (C4); 72,5 (C2); 77,4 (C5); 80,4 (C3); 87,9 (C1); 123,7 (CH triazole); 135,5 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,3 (C<sup>IV</sup> triazole); 150,7 (C<sub>Ar</sub>S); 171,35(CO).

Les composés **62a-h** sont obtenus selon la même procédure que pour la synthèse du composé **36** à partir de 2,47 mmol du composé **35** mais en utilisant le thiol correspondant à la place de l'octanethiol.



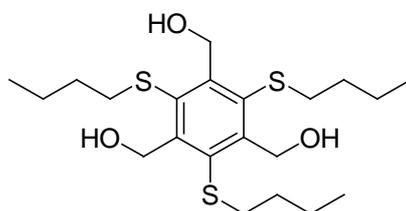
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(propylthio)benzène (62a)**. On récupère 769 mg du composé **62a** (1,97 mmol ; 80%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,24 avec AcOEt/Cyclohexane (3:7).

Formule brute : C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 390,62 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 1,03 (t, <sup>3</sup>J = 7,34 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,65 (six, <sup>3</sup>J = 7,39 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,89 (t, <sup>3</sup>J = 7,55 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 2,9 (br s, 3H, OH); 5,31 (s, 6H, CH<sub>2</sub>OH).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 13,5 (CH<sub>3</sub>); 23,0 (CH<sub>2</sub> β du S); 40,7 (CH<sub>2</sub>S); 63,3 (CH<sub>2</sub>OH); 137,2 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 150,7 (C<sub>Ar</sub>S).



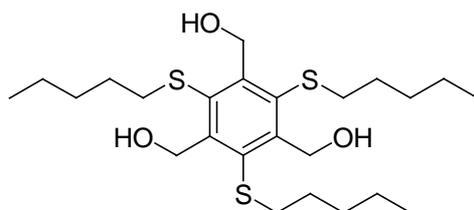
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(butylthio)benzène (62b)**. On récupère 985 mg du composé **62b** (2,27 mmol ; 92%) sous la forme d'une huile incolore. R<sub>f</sub> 0,37 avec AcOEt/Cyclohexane (3:7).

Formule brute : C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 432,7 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,93 (t,  $^3J = 7,16$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,43 (m, 6H,  $\text{CH}_2$   $\gamma$  du S); 1,61 (m, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,91 (t,  $^3J = 7,51$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 2,99 (t,  $^3J = 7,56$ , 3H, OH); 5,33 (d,  $^3J = 7,54$ , 6H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 13,7 ( $\text{CH}_3$ ); 22,1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 31,7 ( $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 38,5 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 63,3 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 137,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 150,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



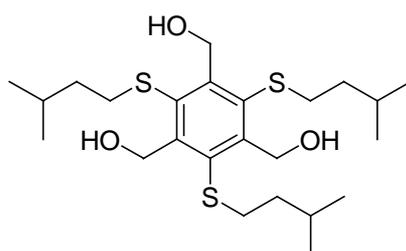
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(pentylthio)benzène (62c).** On récupère 1,04 g du composé **62c** (2,19 mmol ; 89%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,3 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8).

Formule brute :  $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 474,78 g.mol $^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,93 (t,  $^3J = 7,16$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,43 (m, 6H,  $\text{CH}_2$   $\gamma$  du S); 1,61 (m, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,91 (t,  $^3J = 7,51$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 2,99 (t,  $^3J = 7,56$ , 3H, OH); 5,33 (d,  $^3J = 7,54$ , 6H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,0 ( $\text{CH}_3$ ); 22,3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 29,3-31,1 ( $\text{CH}_2$ ); 38,8 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 63,4 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 137,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 150,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



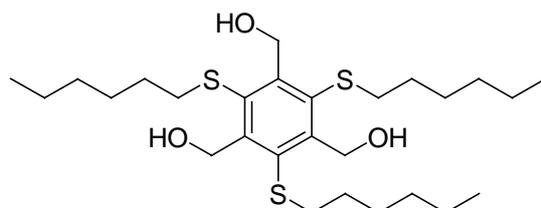
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(isopentylthio)benzène (62d).** On récupère 971 mg du composé **62d** (2,04 mmol ; 83%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,31 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8).

Formule brute :  $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 474,78 g.mol $^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,93 (d,  $^3J = 6,55$  Hz, 18H,  $\text{CH}_3$ ); 1,5 (q,  $^3J = 6,7$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 1,7 (m, 3H, CH); 2,92 (t,  $^3J = 7,82$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 2,96 (t,  $^3J = 7,44$ , 3H, OH); 5,32 (d,  $^3J = 7,37$ , 6H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 22,3 ( $\text{CH}_3$ ); 27,5 (CH); 36,9 ( $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 38,5 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 63,3 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 137,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 150,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



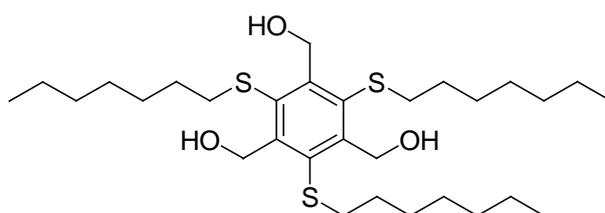
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(hexylthio)benzène (62e).** On récupère 1,1 g du composé **62e** (2,05 mmol ; 89%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,36 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8).

Formule brute :  $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 516,86  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,89 (t,  $^3J = 6,79$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,25-1,43 (m, 18H,  $\text{CH}_2$ ); 1,61 (p,  $^3J = 7,84$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,89 (t,  $^3J = 7,48$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 3,0 (t,  $^3J = 7,45$  Hz, 3H, OH); 5,32 (d,  $^3J = 7,43$ , 6H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,0 ( $\text{CH}_3$ ); 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 28,6-31,4 ( $\text{CH}_2$ ); 38,8 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 63,3 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 137,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 150,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



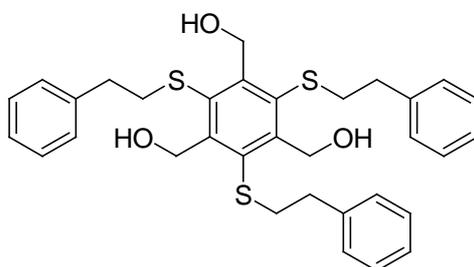
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(heptylthio)benzène (62f).** On récupère 1,34 g du composé **62f** (2,4 mmol ; 97%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,38 avec AcOEt/Cyclohexane (2:8).

Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 558,94  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,83 (t,  $^3J = 6,86$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,22-1,38 (m, 24H,  $\text{CH}_2$ ); 1,54 (p,  $^3J = 7,48$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,83 (t,  $^3J = 7,46$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 3,15 (br s, 3H, OH); 5,24 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 28,6-31,4 ( $\text{CH}_2$ ); 38,8 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 63,3 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 137,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 150,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



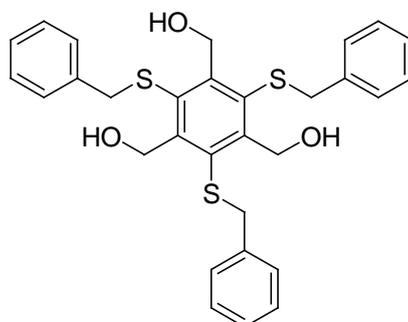
**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(phényléthanethio)benzène (62g).** On récupère 1,35 g du composé **62h** (2,34 mmol ; 95%) sous la forme d'une poudre jaune.  $R_f$  0,44 avec AcOEt/Cyclohexane (3:7).  $P_f$  84,1-84,3°C.

Formule brute :  $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 576,83  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 2,78 (br s, 3H, OH); 2,91 (t,  $^3J = 7,4$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 3,2 (t,  $^3J = 8,05$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 5,22 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 7,18-7,35 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 35,8 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 39,6 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 63,4 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 126,7 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}\text{Ph}$ ); 128,5-128,6 ( $\text{CH}_{\text{Ar},\text{o,m}}\text{Ph}$ ); 137,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 139,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}\text{Ph}$ ); 150,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



**1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(benzylthio)benzène (62h).** On récupère 1,24 g du composé **62h** (2,32 mmol ; 94%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,28 avec AcOEt/Cyclohexane (3:7).  $P_f$  125,1-125,4°C.

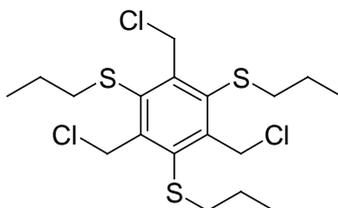
Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 534,75  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 2,37 (br s, 3H, OH); 4,02 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4,98 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 7,07-7,11 (m, 6H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 7,27-7,29 (m, 9H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 42,6 ( $\text{PhCH}_2\text{S}$ ); 63,1 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 127,6-128,8 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}\text{Ph}$ ); 136,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 137,6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}\text{Ph}$ ); 151,8 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).

Les composés **63a-h** sont obtenus selon la même procédure que pour la synthèse du composé **40** mais en utilisant 2 mmol du composé 1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-2,4,6-tris(alkylthio)benzène **62a-h** correspondant à la place du composé **36**.



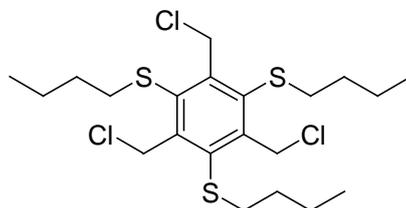
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(propylthio)benzène (63a)**. On récupère 702 mg du composé **63a** (1,57 mmol ; 79%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,53 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).  $P_f$  88,7-89,1°C.

Formule brute :  $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 445,96 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 1,07 (t,  $^3J = 7,36$  Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,72 (six,  $^3J = 7,36$  Hz, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 3,02 (t,  $^3J = 7,36$  Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 5,51 (s, 6H, CH<sub>2</sub>Cl).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 13,6 (CH<sub>3</sub>); 23,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 40,9 (CH<sub>2</sub>S); 46,2 (CH<sub>2</sub>Cl); 139,9 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 149,5 (C<sub>Ar</sub>S).



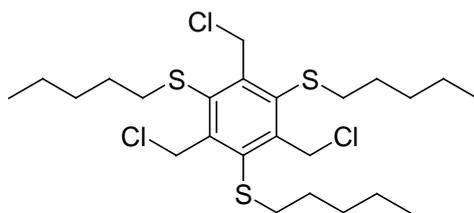
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(butylthio)benzène (63b)**. On récupère 865 mg du composé **63b** (1,77 mmol ; 89%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,5 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).

Formule brute :  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 488,04 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 0,96 (t,  $^3J = 7,32$  Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,49 (six,  $^3J = 7,3$  Hz, 6H, CH<sub>2</sub>  $\gamma$  du S); 1,69 (six,  $^3J = 6,73$  Hz, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 3,04 (t,  $^3J = 7,53$  Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 5,51 (s, 6H, CH<sub>2</sub>Cl).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 13,7 (CH<sub>3</sub>); 22,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 31,6 (CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 38,7 (CH<sub>2</sub>S); 46,2 (CH<sub>2</sub>Cl); 140,0 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 149,5 (C<sub>Ar</sub>S).



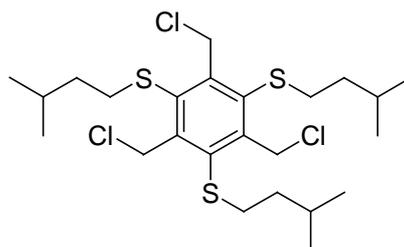
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(pentylthio)benzène (63c).** On récupère 925 mg du composé **63c** (1,74 mmol ; 87%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,56 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).

Formule brute :  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 530,12  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,93 (t,  $^3J = 7,12$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,32-1,46 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ ); 1,71 (p,  $^3J = 7,49$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2 \beta$  du S); 3,03 (t,  $^3J = 7,63$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 5,51 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,0 ( $\text{CH}_3$ ); 22,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$ ); 29,3 ( $\text{CH}_2$ ); 31,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2 \beta$  du S); 39,0 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 46,2 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 140,0 ( $\underline{\text{C}}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 149,5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



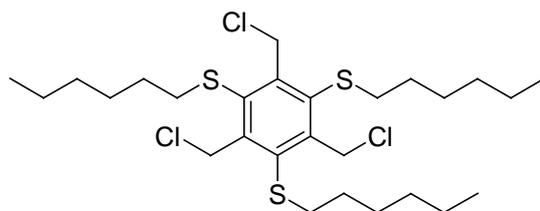
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(isopentylthio)benzène (63d).** On récupère 924 mg du composé **63d** (1,74 mmol ; 88%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,63 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).  $P_f$  85,2-85,5°C.

Formule brute :  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 530,12  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,93 (t,  $^3J = 7,12$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,32-1,46 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ ); 1,71 (p,  $^3J = 7,49$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2 \beta$  du S); 3,03 (t,  $^3J = 7,63$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 5,51 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 22,4 ( $\text{CH}_3$ ); 27,7 ( $\text{CH}$ ); 37,2 ( $\text{CH}_2 \beta$  du S); 38,4 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 46,2 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 140,0 ( $\underline{\text{C}}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 149,5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



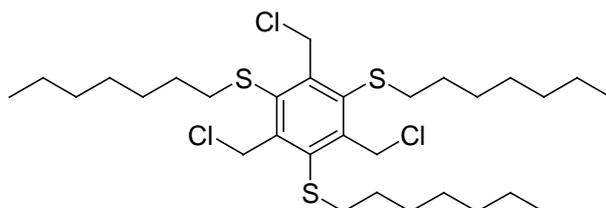
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(hexylthio)benzène (63e).** On récupère 1,03 g du composé **63e** (1,8 mmol ; 90%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,66 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).

Formule brute :  $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 572,2  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,91 (t,  $^3J = 6,73$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,29-1,47 (m, 18H,  $\text{CH}_2$ ); 1,7 (p,  $^3J = 7,8$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2 \beta$  du S); 3,02 (t,  $^3J = 7,4$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 5,51 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,5 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$ ); 28,6-31,4 ( $\text{CH}_2$ ); 39,0 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 46,2 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 140,0 ( $\underline{\text{C}}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 149,5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



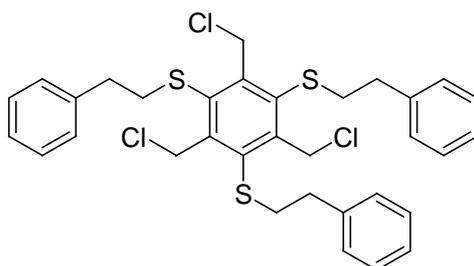
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(heptylthio)benzène (63f).** On récupère 993 mg du composé **63g** (1,62 mmol ; 81%) sous la forme d'une huile incolore.  $R_f$  0,7 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).

Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 614,28  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,91 (t,  $^3J = 6,73$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,31-1,44 (m, 24H,  $\text{CH}_2$ ), 1,71 (p,  $^3J = 7,65$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2 \beta$  du S); 3,03 (t,  $^3J = 7,63$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 5,51 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,7 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$ ); 28,6-31,8 ( $\text{CH}_2$ ); 39,0 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 46,2 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 140,0 ( $\underline{\text{C}}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 149,5 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



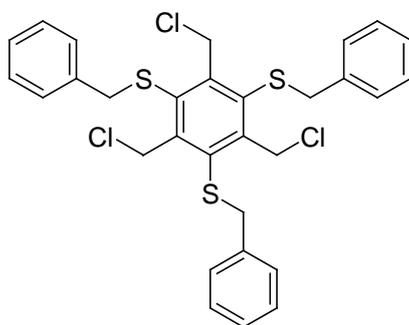
**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(phényléthanothio)benzène (63g).** On récupère 1,71 g du composé **63g** (1,83 mmol ; 81%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,47 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).  $P_f$  125,4-126°C.

Formule brute :  $\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 632,17  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 3,05 (t,  $^3J = 7,63$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3,36 (t,  $^3J = 8,16$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{SAr}$ ); 5,45 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 8,0-8,18 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 35,9 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 39,8 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 46,3 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 126,7 ( $\text{CH}_{\text{Arp}}$  Ph); 128,6 ( $\text{CH}_{\text{ArO,m}}$  Ph); 139,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}$  Ph); 139,8 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 149,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



**1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(benzylthio)benzène (63h).** On récupère 1,12 g du composé **63h** (1,9 mmol ; 95%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,34 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (3:7).  $P_f$  165,1-165,7°C.

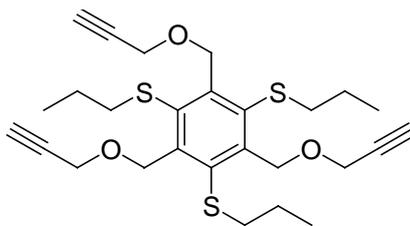
Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{Cl}_3\text{S}_3$ .

MM = 590,09  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 4,18 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5,2 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 7,19-7,23 (m, 6H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 7,31-7,34 (m, 9H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 42,8 ( $\text{SCH}_2\text{Ph}$ ); 46,0 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 127,8 ( $\text{CH}_{\text{Arp}}$  Ph); 128,8-129,1 ( $\text{CH}_{\text{ArO,m}}$  Ph); 136,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}$  Ph); 138,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 151,1 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).

Les composés **64a-h** sont obtenus selon la même procédure que pour la synthèse du composé **51** mais en utilisant 1 mmol du composé 1,3,5-tris(chlorométhyl)-2,4,6-tris(alkylthio)benzène **63a-h** correspondant à la place du composé **40**.



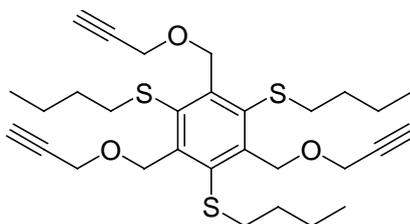
**1,3,5-tris(prop-2-ynyloxyméthyl)-2,4,6-tris(propylthio)benzène (64a).** On récupère 329 mg du composé **64a** (0,65 mmol ; 65%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,36 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (8:2).

Formule brute :  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 504,77  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 1,02 (t,  $^3J = 7,34$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,6 (p,  $^3J = 7,34$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,5 (t,  $^4J = 2,38$  Hz, 3H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 2,88 (t,  $^3J = 7,24$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 4,34 (d,  $^4J = 2,35$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 5,33 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{O}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 13,6 ( $\text{CH}_3$ ); 23,0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 41,0 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 58,1 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 71,6 ( $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 74,4 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 79,9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 141,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 147,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



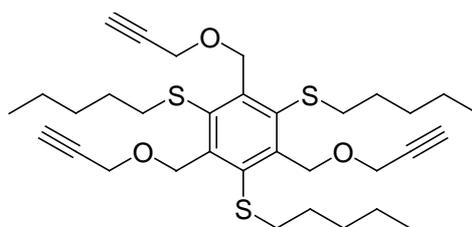
**1,3,5-tris(prop-2-ynyloxyméthyl)-2,4,6-tris(butylthio)benzène (64b).** On récupère 339 mg du composé **64b** (0,62 mmol ; 62%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,43 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (7:3).

Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 546,85  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,92 (t,  $^3J = 7,2$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,44 (six,  $^3J = 8,0$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\gamma$  du S); 1,57 (p,  $^3J = 7,01$  Hz, 3H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,49 (t,  $^4J = 2,37$  Hz, 3H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 2,9 (t,  $^3J = 7,5$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 4,33 (d,  $^4J = 2,39$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 5,3 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{O}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 29,6 ( $\text{CH}_2$ ); 39,1 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 58,1 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 71,6 ( $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 74,4 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 79,9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 141,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 147,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



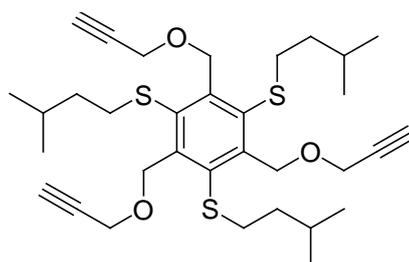
**1,3,5-tris(prop-2-ynylloxyméthyl)-2,4,6-tris(pentylthio)benzène (64c).** On récupère 492 mg du composé **64c** (0,62 mmol ; 84%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,45 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (6:4).

Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 546,85 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 0,9 (t, <sup>3</sup>J = 7,06 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,29-1,42 (m, 12H, CH<sub>2</sub>); 1,58 (m, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 2,49 (t, <sup>4</sup>J = 2,32 Hz, 3H, C $\equiv$ CH); 2,89 (t, <sup>3</sup>J = 7,49 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,33 (d, <sup>4</sup>J = 2,36 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>C $\equiv$ CH); 5,3 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 14,0 (CH<sub>3</sub>); 22,3 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,4 (CH<sub>2</sub>); 31,2 (CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 39,0 (CH<sub>2</sub>S); 58,1 (CH<sub>2</sub>C $\equiv$ CH); 71,6 (ArCH<sub>2</sub>O); 74,4 (C $\equiv$ CH); 79,9 (C $\equiv$ CH); 141,4 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 147,0 (C<sub>Ar</sub>S).



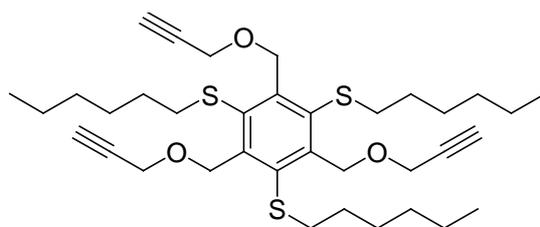
**1,3,5-tris(prop-2-ynylloxyméthyl)-2,4,6-tris(isopentylthio)benzène (64d).** On récupère 373 mg du composé **64d** (0,62 mmol ; 68%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,53 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (6:4).

Formule brute :  $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 546,85 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 0,9 (d, <sup>3</sup>J = 6,56 Hz, 18H, CH<sub>3</sub>); 1,59 (q, <sup>3</sup>J = 6,74 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 1,69 (m, 3H, CH); 2,49 (t, <sup>4</sup>J = 2,37 Hz, 3H, C $\equiv$ CH); 3,04 (t, <sup>3</sup>J = 7,71 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 2,9 (t, <sup>3</sup>J = 7,89 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,33 (d, <sup>4</sup>J = 2,36 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>C $\equiv$ CH); 5,3 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 22,4 (CH<sub>3</sub>); 27,7 (CH); 37,1 (CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 38,6 (CH<sub>2</sub>S); 58,1 (CH<sub>2</sub>C $\equiv$ CH); 71,6 (ArCH<sub>2</sub>O); 74,4 (C $\equiv$ CH); 79,9 (C $\equiv$ CH); 141,4 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 147,0 (C<sub>Ar</sub>S).



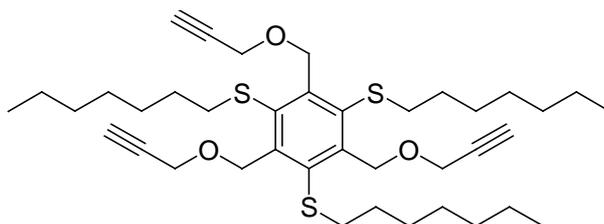
**1,3,5-tris(prop-2-ynylloxyméthyl)-2,4,6-tris(hexylthio)benzène (64e).** On récupère 488 mg du composé **64e** (0,77 mmol ; 77%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,45 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (6:4).

Formule brute :  $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 631,01  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,9 (t,  $^3J = 6,81$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,26-1,43 (m, 18H,  $\text{CH}_2$ ); 1,59 (p,  $^3J = 8,88$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,49 (t,  $^4J = 2,37$  Hz, 3H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 2,89 (t,  $^3J = 7,5$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 4,33 (d,  $^4J = 2,39$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 5,3 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{O}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 28,7-31,5 ( $\text{CH}_2$ ); 39,1 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 58,1 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 71,6 ( $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 74,4 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 79,9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 141,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 147,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



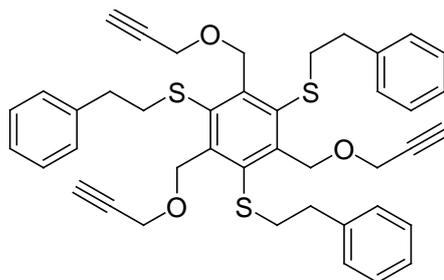
**1,3,5-tris(prop-2-ynylloxyméthyl)-2,4,6-tris(heptylthio)benzène (64f).** On récupère 452 mg du composé **64f** (0,67 mmol ; 67%) sous la forme d'une huile jaune.  $R_f$  0,45 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (6:4).

Formule brute :  $\text{C}_{39}\text{H}_{60}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 673,09  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 0,9 (t,  $^3J = 6,88$  Hz, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,27-1,4 (m, 24H,  $\text{CH}_2$ ); 1,59 (p,  $^3J = 8,88$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2$   $\beta$  du S); 2,49 (t,  $^4J = 2,37$  Hz, 3H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 2,89 (t,  $^3J = 7,5$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 4,33 (d,  $^4J = 2,39$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 5,3 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{O}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 14,1 ( $\text{CH}_3$ ); 22,6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 28,7-31,5 ( $\text{CH}_2$ ); 39,1 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 58,1 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 71,6 ( $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 74,4 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 79,9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 141,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 147,0 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



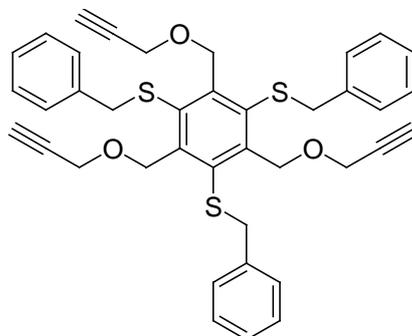
**1,3,5-tris(prop-2-ynyloxyméthyl)-2,4,6-tris(phényléthanethio)benzène (64g).** On récupère 490 mg du composé **64g** (0,71 mmol ; 71%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,51 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (1:9).  $P_f$  126,3-126,8°C.

Formule brute :  $\text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 690,98  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 2,5 (t,  $^4J = 2,36$  Hz, 3H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 2,9 (t,  $^3J = 7,45$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3,2 (t,  $^3J = 8,29$  Hz, 6H,  $\text{ArSCH}_2$ ); 4,3 (d,  $^4J = 2,39$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 5,24 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 7,21-7,33 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 35,9 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ); 39,8 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 58,1 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 71,6 ( $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 74,7 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 79,9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 126,3 ( $\text{CH}_{\text{Arp}}$  Ph); 128,4-128,6 ( $\text{CH}_{\text{ArO,m}}$  Ph); 140,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}$  Ph); 141,1 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 147,2 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).



**1,3,5-tris(prop-2-ynyloxyméthyl)-2,4,6-tris(benzylthio)benzène (64h).** On récupère 506 mg du composé **64h** (0,78 mmol ; 78%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,38 avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexane}$  (7:3).  $P_f$  102,1-102,7°C.

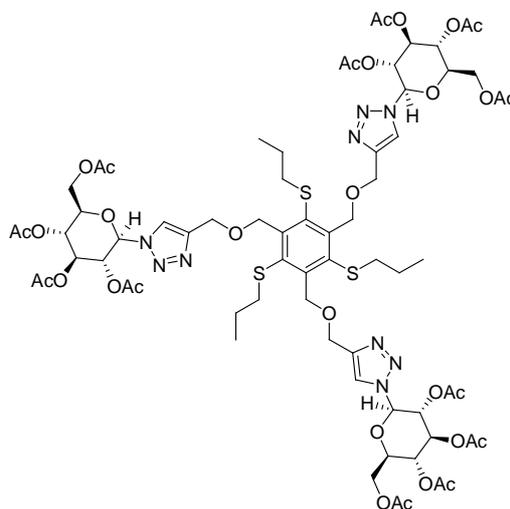
Formule brute :  $\text{C}_{39}\text{H}_{36}\text{O}_3\text{S}_3$ .

MM = 648,9  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 2,55 (t,  $^4J = 2,39$  Hz, 3H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 4,09 (s, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4,34 (d,  $^4J = 2,38$  Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 5,11 (s, 6H,  $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 7,22-7,32 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  (ppm) 43,3 ( $\text{SCH}_2\text{Ph}$ ); 58,1 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 71,3 ( $\text{ArCH}_2\text{O}$ ); 74,8 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 80,0 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 127,3 ( $\text{CH}_{\text{Arp}}$  Ph); 128,5-129,1 ( $\text{CH}_{\text{ArO,m}}$  Ph); 137,7 ( $\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}$  Ph); 140,4 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_2$ ); 148,3 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{S}$ ).

Les composés **65a-h** sont obtenus selon la même procédure que pour la synthèse du composé **52** mais en utilisant 0,5 mmol du composé 1,3,5-tris(prop-2-ynyloxyméthyl)-2,4,6-tris(alkylthio)benzène **64a-h** correspondant à la place du composé **51**.



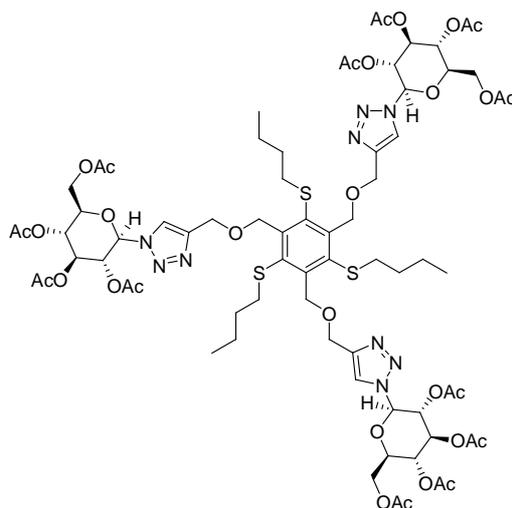
**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(propylthio)benzène (65a)**. On récupère 677 mg du composé **65a** (0,42 mmol ; 84%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,26 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:6).  $P_f$  190,1-192,9°C.  $[\alpha]_D^{25} = -56,2$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>69</sub>H<sub>93</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1624,71 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 0,92 (t, <sup>3</sup> $J$  = 7,41 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,53 (six, <sup>3</sup> $J$  = 7,4 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,88 (s, 9H, OAc); 2,05-2,09 (3s, 27H, OAc); 2,79 (t, <sup>3</sup> $J$  = 7,41 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,02 (ddd, <sup>3</sup> $J$  = 2,82 Hz, <sup>3</sup> $J$  = 4,76 Hz, <sup>3</sup> $J$  = 9,98 Hz, 3H, H5); 4,14 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 2 Hz, <sup>2</sup> $J$  = 12,53 Hz, 3H, H6'); 4,3 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 4,95 Hz, <sup>2</sup> $J$  = 12,56 Hz, 3H, H6); 4,82 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,21-5,33 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+H4); 5,4-5,53 (m, 6H, H2+H3); 5,9 (d, <sup>3</sup> $J$  = 9,0 Hz, 3H, H1); 7,83 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 14,0 (CH<sub>3</sub>); 20,2-20,7 (OAc); 23,0 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 40,8 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C6); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,2 (C2); 72,0 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,8 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,1 (CH triazole); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 146,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,1 (C<sub>Ar</sub>S); 168,9-170,6 (CO).



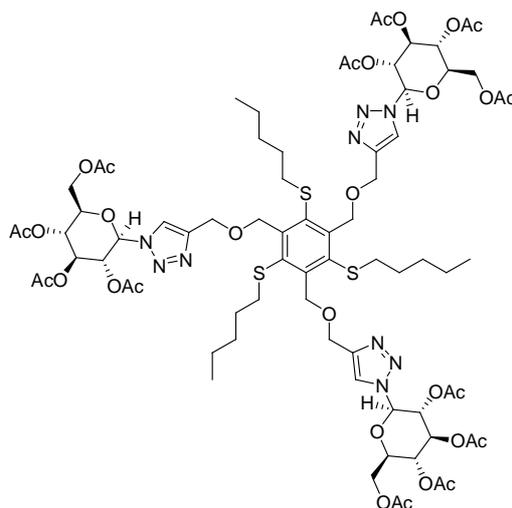
**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(butylthio)benzène (65b).** On récupère 627 mg du composé **65b** (0,38 mmol ; 76%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,32 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:6).  $P_f$  194,3-195,9°C.  $[\alpha]_D^{25} = -54,9$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>72</sub>H<sub>99</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1666,79 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,86 (t, <sup>3</sup>J = 7,12 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>); 1,34 (six, <sup>3</sup>J = 7,65 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> γ du S); 1,45-1,68 (m, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,9 (s, 9H, OAc); 2,04-2,09 (3s, 27H, OAc); 2,81 (t, <sup>3</sup>J = 7,41 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,02 (m, 3H, H5); 4,14 (dd, <sup>3</sup>J = 1,73 Hz, <sup>2</sup>J = 12,55Hz, 3H, H6'); 4,3 (dd, <sup>3</sup>J = 4,85 Hz, <sup>2</sup>J = 12,62 Hz, 3H, H6); 4,83 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,22-5,33 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+H4); 5,4-5,53 (m, 6H, H2+H3); 5,9 (d, <sup>3</sup>J = 8,75 Hz, 3H, H1); 7,84 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 13,7 (CH<sub>3</sub>); 20,2-20,7 (OAc); 22,1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 31,7 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,6 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C6); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,3 (C2); 72,0 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,8 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,1 (CH triazole); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 146,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,1 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,5 (CO).



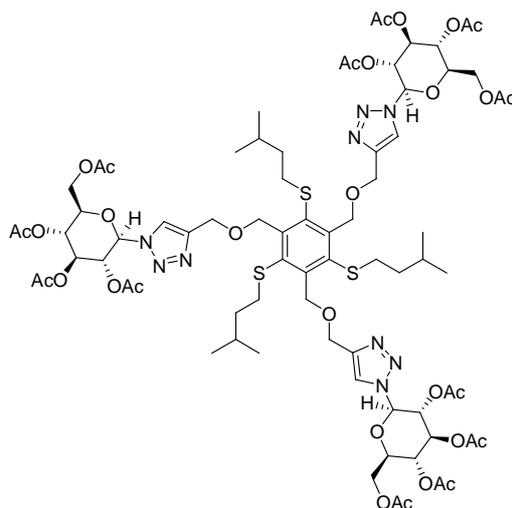
**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(pentylthio)benzène (65c).** On récupère 685 mg du composé **65c** (0,4 mmol ; 80%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,42 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:6).  $P_f$  179,5-181,2°C.  $[\alpha]_D^{25} = -55,9$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>75</sub>H<sub>105</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1708,87 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :**  $\delta$  (ppm) 0,86 (t, <sup>3</sup>J = 7,1 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,25-1,31 (m, 12H, CH<sub>2</sub>); 1,5 (p, <sup>3</sup>J = 7,26 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 1,88 (s, 9H, OAc); 2,05-2,08 (3s, 27H, OAc); 2,8 (t, <sup>3</sup>J = 7,41 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,02 (m, 3H, H5); 4,14 (dd, <sup>3</sup>J = 1,98 Hz, <sup>2</sup>J = 12,55 Hz, 3H, H6'); 4,3 (dd, <sup>3</sup>J = 4,83 Hz, <sup>2</sup>J = 12,52 Hz, 3H, H6); 4,81 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,21-5,32 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+H4); 5,39-5,52 (m, 6H, H2+H3); 5,9 (d, <sup>3</sup>J = 8,93 Hz, 3H, H1); 7,83 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :**  $\delta$  (ppm) 14,0 (CH<sub>3</sub>); 20,2-20,7 (OAc); 22,3 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,3 (CH<sub>2</sub>); 31,1 (CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 38,9 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C6); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,2 (C2); 71,9 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,7 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,1 (CH triazole); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 146,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,1 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,6 (CO).



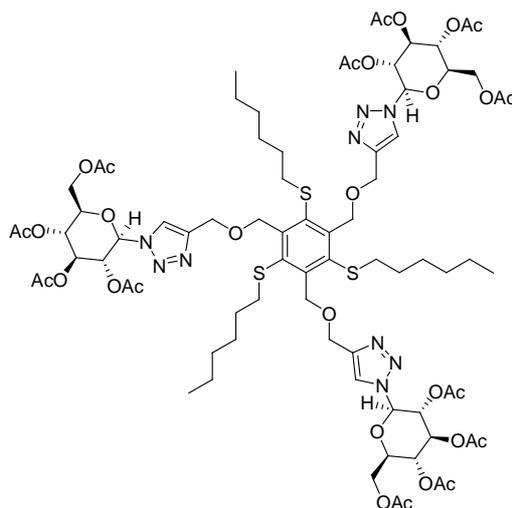
**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(isopentylthio)benzène (65d).** On récupère 658 mg du composé **65d** (0,39 mmol ; 78%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,44 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:6).  $P_f$  196,9-198,4°C.  $[\alpha]_D^{25} = -51,1$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>75</sub>H<sub>105</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1708,87 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,83 (d, <sup>3</sup>J = 6,54 Hz, 18H, CH<sub>3</sub>); 1,4 (q, <sup>3</sup>J = 7,95 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,59 (m, 3H, CH); 1,88 (s, 9H, OAc); 2,05-2,09 (3s, 27H, OAc); 2,82 (t, <sup>3</sup>J = 7,85 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,02 (m, 3H, H5); 4,14 (dd, <sup>3</sup>J = 1,91 Hz, <sup>2</sup>J = 12,52 Hz, 3H, H6'); 4,3 (dd, <sup>3</sup>J = 4,83 Hz, <sup>2</sup>J = 12,52 Hz, 3H, H6); 4,82 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,22-5,33 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+H4); 5,4-5,49 (m, 6H, H2+H3); 5,9 (d, <sup>3</sup>J = 8,92 Hz, 3H, H1); 7,83 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 20,3-20,7 (OAc); 22,3 (CH<sub>3</sub>); 27,6 (CH); 37,0 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,5 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C6); 64,3 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,3 (C2); 72,0 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,8 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,1 (CH triazole); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 146,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,1 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,5 (CO).



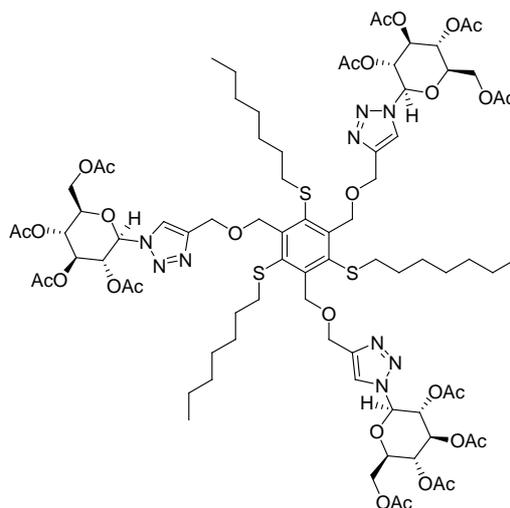
**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(hexylthio)benzène (65e).** On récupère 643 mg du composé **65e** (0,37 mmol ; 74%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,47 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:6).  $P_f$  123,7-125,4°C.  $[\alpha]_D^{25} = -54,8$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>78</sub>H<sub>111</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1750,95 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,87 (t, <sup>3</sup>J = 7,0 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,25-1,35 (m, 18H, CH<sub>2</sub>); 1,47 (p, <sup>3</sup>J = 7,38 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,89 (s, 9H, OAc); 2,05-2,11 (3s, 27H, OAc); 2,79 (t, <sup>3</sup>J = 7,28 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,02 (m, 3H, H5); 4,14 (dd, <sup>3</sup>J = 1,75 Hz, <sup>2</sup>J = 12,53 Hz, 3H, H6'); 4,3 (dd, <sup>3</sup>J = 4,96 Hz, <sup>2</sup>J = 12,71 Hz, 3H, H6); 4,81 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,22-5,28 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+H4); 5,39-5,53 (m, 6H, H2+H3); 5,9 (d, <sup>3</sup>J = 8,85 Hz, 3H, H1); 7,83 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 20,2-20,7 (OAc); 22,5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,6-29,6 (CH<sub>2</sub>); 31,4 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,9 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C6); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,2 (C2); 71,9 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,8 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,1 (CH triazole); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 146,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,0 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,5 (CO).



**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(heptylthio)benzène (65f).** On récupère 645 mg du composé **65f** (0,37 mmol ; 74%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,54 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4:6).  $P_f$  134,2-136,7°C.

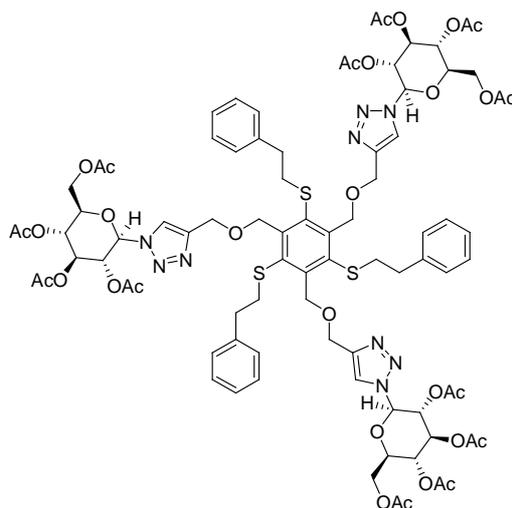
$[\alpha]_D^{25} = -50,8$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>78</sub>H<sub>111</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1750,95 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 0,88 (t, <sup>3</sup>J = 6,9 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,25 (m, 24H, CH<sub>2</sub>); 1,47 (p, <sup>3</sup>J = 7,54 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,89 (s, 9H, OAc); 2,05-2,11 (3s, 27H, OAc); 2,79 (t, <sup>3</sup>J = 7,3 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 4,02 (ddd, <sup>3</sup>J = 1,99 Hz, <sup>3</sup>J = 5,27 Hz, <sup>3</sup>J = 10,17 Hz, 3H, H5); 4,14 (dd, <sup>3</sup>J = 1,95 Hz, <sup>2</sup>J = 12,54 Hz, 3H, H6'); 4,3 (dd, <sup>3</sup>J = 4,97 Hz, <sup>2</sup>J = 12,63 Hz, 3H, H6); 4,81 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,22-5,28 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+H4); 5,4-5,53 (m, 6H, H2+H3); 5,9 (d, <sup>3</sup>J = 8,98 Hz, 3H, H1); 7,83 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) :** δ (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 20,2-20,7 (OAc); 22,6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,9-29,7 (CH<sub>2</sub>); 31,7 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,9 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C6); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,2 (C2); 71,9 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,8 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,2 (CH triazole); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 146,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,0 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,5 (CO).



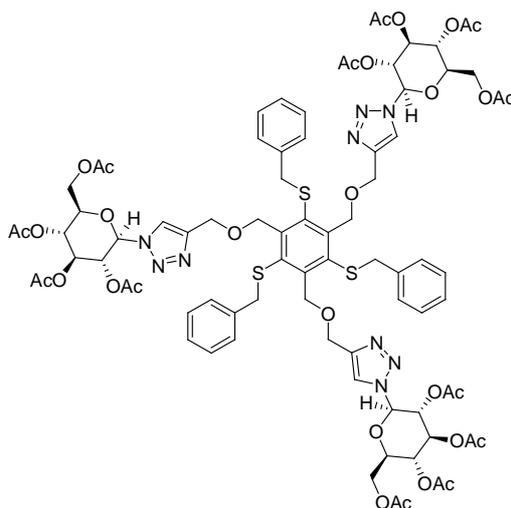
**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(phényléthanethio)benzène (65g).** On récupère 733 mg du composé **65g** (0,4 mmol ; 80%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,44 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:8).  $P_f$  175,1-176,6°C.  $[\alpha]_D^{25} = -41,2$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Formule brute : C<sub>84</sub>H<sub>99</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1810,92 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 1,84 (s, 9H, OAc); 2,04-2,12 (3s, 27H, OAc); 2,8 (t, <sup>3</sup> $J$  = 7,31 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>Ph); 3,13 (t, <sup>3</sup> $J$  = 8,07 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,96 (m, 3H, H5); 4,11 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 2,69 Hz, <sup>2</sup> $J$  = 12,45 Hz, 3H, H6'); 4,28 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 5,08 Hz, <sup>2</sup> $J$  = 12,67 Hz, 3H, H6); 4,73 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,17 (s, 6H, OCH<sub>2</sub>triazole); 5,23 (2t, <sup>3</sup> $J$  = 9,87 Hz, 3H, H4); 5,42 (2d, <sup>3</sup> $J$  = 6,71 Hz, 6H, H2+H3); 5,84 (2d, <sup>3</sup> $J$  = 9,24 Hz, 3H, H1); 7,1-7,29 (m, 15H, CH<sub>Ar</sub>); 7,65 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 20,2-20,7 (OAc); 35,8 (CH<sub>2</sub>S); 39,5 (CH<sub>2</sub>Ph); 61,6 (C6), 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,2 (C2); 72,0 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,8 (C3); 75,0 (C5); 85,6 (C1); 121,1 (CH triazole); 126,4 (CH<sub>Arp</sub> Ph); 128,4-128,5 (CH<sub>Ar</sub>o,m Ph); 140,4 (C<sub>Ar</sub><sup>IV</sup> Ph); 141,1 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 145,8 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,2 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,5 (CO).



**1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(benzylthio)benzène (65h).** On récupère 733 mg du composé **65h** (0,41 mmol ; 82%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,5 avec AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1).  $P_f$  121,6-123,9°C.  $[\alpha]_D^{25} = -45,0$  ( $c$  1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

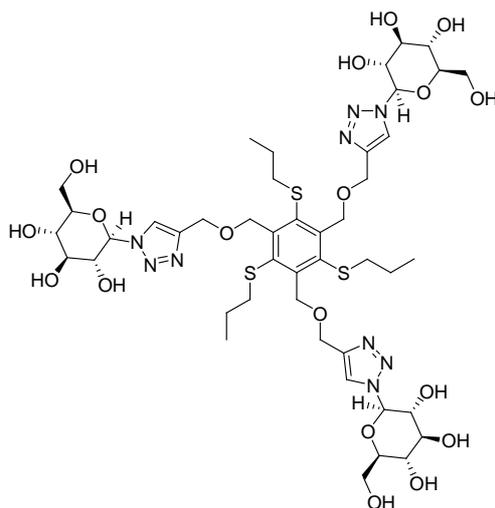
Formule brute : C<sub>81</sub>H<sub>93</sub>N<sub>9</sub>O<sub>30</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1768,84 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 1,77 (s, 9H, OAc); 2,04-2,12 (3s, 27H, OAc); 2,8 (t, <sup>3</sup> $J$  = 7,31 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>Ph); 3,93 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>S); 4,01 (m, 3H, H5); 4,12 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 1,93 Hz, <sup>2</sup> $J$  = 12,45 Hz, 3H, H6'); 4,29 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 4,84 Hz, <sup>2</sup> $J$  = 12,62 Hz, 3H, H6); 4,78 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 4,96 (s, 6H, OCH<sub>2</sub>triazole); 5,28 (m, 3H, H4); 5,44 (m, 6H, H2+H3); 5,88 (d, <sup>3</sup> $J$  = 9,08 Hz, 3H, H1); 7,03-7,07 (m, 6H, CH<sub>Ar</sub>); 7,22-7,25 (m, 9H, CH<sub>Ar</sub>); 7,79 (s, 3H, CH triazole).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  (ppm) 20,1-20,7 (OAc); 43,1 (SCH<sub>2</sub>Ph); 61,6 (C6); 64,1 (ArCH<sub>2</sub>O); 67,7 (C4); 70,2 (C2); 71,4 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,7 (C3); 75,0 (C5); 85,7 (C1); 121,2 (CH triazole); 127,2 (CH<sub>Ar,p</sub> Ph); 128,5-129,0 (CH<sub>Ar,o,m</sub> Ph); 137,7 (C<sub>Ar</sub><sup>IV</sup> Ph); 139,9 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 145,8 (C<sup>IV</sup> triazole); 148,5 (C<sub>Ar</sub>S); 168,8-170,5 (CO).

Les composés **66a-h** sont obtenus selon la même procédure que pour la synthèse du composé **53** mais en utilisant 0,3 mmol du composé 1,3,5-tris[1-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(alkylthio)benzène **65a-h** correspondant à la place du composé **52**.



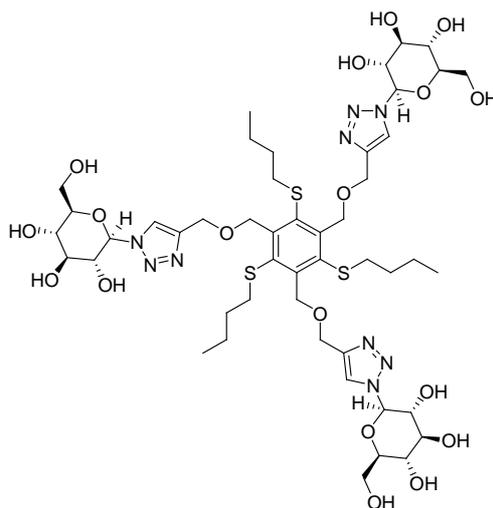
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yl]oxy-2,4,6-tris(propylthio)**

**benzène (66a).** On récupère 246 mg du composé **66a** (0,22 mmol ; 73%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,18 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  182,8-184,1°C.  $[\alpha]_D^{25} = -8,0$  (*c* 1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>45</sub>H<sub>71</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>) : 560,7034; trouvé 560,7033. Formule brute : C<sub>45</sub>H<sub>69</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1120,27 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO) :** δ (ppm) 0,90 (t, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,45 (six, <sup>3</sup>J = 7,23 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,79 (t, <sup>3</sup>J = 7,28 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,23 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,37-3,48 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>); 3,66-3,77 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,63 (t, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 4,69 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,18 (d, <sup>3</sup>J = 5,36 Hz, 3H, OH); 5,19 (s, 6H, OCH<sub>2</sub>triazole); 5,3 (d, <sup>3</sup>J = 4,81 Hz, 3H, OH); 5,37 (d, <sup>3</sup>J = 6,06 Hz, 3H, OH); 5,53 (d, <sup>3</sup>J = 9,23 Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 8,27 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO) :** δ (ppm) 13,8 (CH<sub>3</sub>); 22,9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 39,0 (CH<sub>2</sub>S); 61,6 (C<sub>6</sub>); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C<sub>4</sub>); 71,8 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,5 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,4 (C<sub>3</sub>); 87,9 (C<sub>1</sub>); 123,6 (CH triazole); 140,4 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,1 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,3 (C<sub>Ar</sub>S).



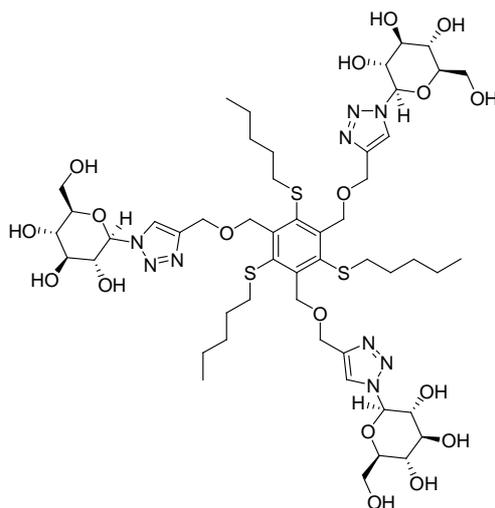
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(butylylthio)**

**benzène (66b).** On récupère 289 mg du composé **66b** (0,25 mmol ; 83%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,4 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  184,3-186,0°C.  $[\alpha]_D^{25} = -8,4$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>48</sub>H<sub>77</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ( $[M+2H]^{2+}$ ) : 581,7269; trouvé 581,7275. Formule brute : C<sub>48</sub>H<sub>75</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1162,35 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 0,82 (t, <sup>3</sup> $J$  = 7,03 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,26-1,41 (m, 12H, CH<sub>2</sub>); 2,81 (t, <sup>3</sup> $J$  = 6,91 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,22 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,37-3,46 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6'</sub>); 3,67-3,79 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,63 (t, <sup>3</sup> $J$  = 5,09 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 4,69 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,19 (s, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+OH); 5,31 (d, <sup>3</sup> $J$  = 4,49 Hz, 3H, OH); 5,36 (d, <sup>3</sup> $J$  = 5,96 Hz, 3H, OH); 5,53 (d, <sup>3</sup> $J$  = 9,2 Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 8,25 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 14,1 (CH<sub>3</sub>); 21,9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 31,7 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,0 (CH<sub>2</sub>S); 61,2 (C<sub>6</sub>); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C<sub>4</sub>); 71,8 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,6 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,4 (C<sub>3</sub>); 87,9 (C<sub>1</sub>); 123,5 (CH triazole); 140,4 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,1 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,3 (C<sub>Ar</sub>S).



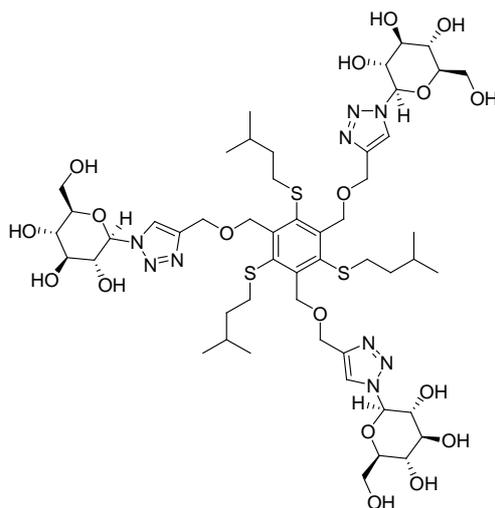
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(pentylthio)**

**benzène (66c).** On récupère 346 mg du composé **66c** (0,287 mmol ; 96%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,46 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  187,8-189,3°C.  $[\alpha]_D^{25} = -7,7$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>51</sub>H<sub>83</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ( $[M+2H]^{2+}$ ) : 602,7504; trouvé 602,7506. Formule brute : C<sub>51</sub>H<sub>81</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1204,43 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 0,82 (t,  $^3J = 6,96$  Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,18-1,25 (m, 12H, CH<sub>2</sub>); 1,42 (m, 6H, CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 2,79 (t,  $^3J = 7,24$  Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,19-3,26 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,34-3,45 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6'</sub>); 3,66-3,78 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,62 (t,  $^3J = 5,56$  Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 4,68 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,18 (2s, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+OH); 5,31 (d,  $^3J = 4,67$  Hz, 3H, OH); 5,36 (d,  $^3J = 6,03$  Hz, 3H, OH); 5,53 (d,  $^3J = 9,23$  Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 8,23 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO)** :  $\delta$  (ppm) 14,3 (CH<sub>3</sub>); 22,2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,2 (CH<sub>2</sub>); 30,9 (CH<sub>2</sub>  $\beta$  du S); 38,2 (CH<sub>2</sub>S); 61,2 (C<sub>6</sub>); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C<sub>4</sub>); 71,8 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,6 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,4 (C<sub>3</sub>); 87,9 (C<sub>1</sub>); 123,5 (CH triazole); 140,4 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,1 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,3 (C<sub>Ar</sub>S).



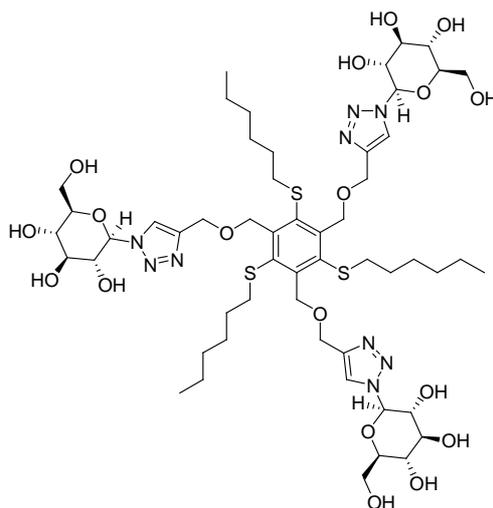
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(isopentylthio)benzène (66d).** On récupère 334 mg du composé **66d** (0,277 mmol ; 92%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,44 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  195,2-196,7°C.  $[\alpha]_D^{25} = -7,7$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>51</sub>H<sub>83</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ( $[M+2H]^{2+}$ ) 602,7504; trouvé 602,7515.

Formule brute : C<sub>51</sub>H<sub>81</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1204,43 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO) :** δ (ppm) 0,8 (d, <sup>3</sup>J = 6,57 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,27-1,36 (q, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 1,56 (m, 3H, CH); 2,81 (t, <sup>3</sup>J = 7,77 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,17-3,24 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,34-3,45 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>'); 3,66-3,76 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,62 (t, <sup>3</sup>J = 5,65 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 4,69 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,18 (2s, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+OH); 5,31 (d, <sup>3</sup>J = 4,78 Hz, 3H, OH); 5,36 (d, <sup>3</sup>J = 6,09 Hz, 3H, OH); 5,53 (d, <sup>3</sup>J = 9,23 Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 8,23 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO) :** δ (ppm) 22,6 (CH<sub>3</sub>); 27,5 (CH); 36,4 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,6 (CH<sub>2</sub>S); 61,3 (C<sub>6</sub>); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C<sub>4</sub>); 71,8 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,6 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,4 (C<sub>3</sub>); 87,9 (C<sub>1</sub>); 123,5 (CH triazole); 140,4 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,3 (C<sub>Ar</sub>S).



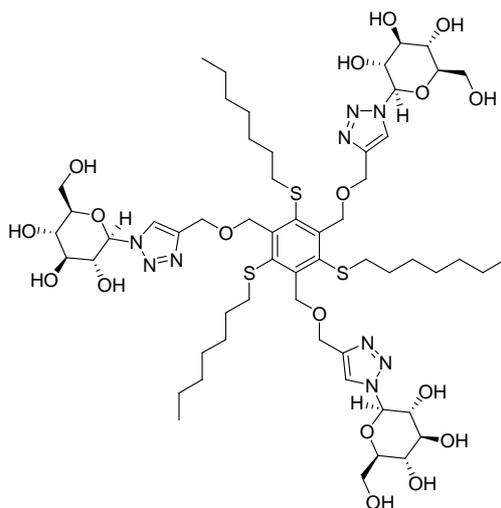
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(hexylthio)**

**benzène (66e).** On récupère 347 mg du composé **66e** (0,278 mmol ; 93%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,46 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  186,8-188,1°C.  $[\alpha]_D^{25} = -8,2$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>54</sub>H<sub>89</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>) : 623,7738; trouvé 623,7739  
Formule brute : C<sub>54</sub>H<sub>87</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1246,51 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO) :** δ (ppm) 0,82 (t, <sup>3</sup>J = 6,96 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,18-1,25 (m, 12H, CH<sub>2</sub>); 1,42 (m, 6H, CH<sub>2</sub> β du S); 2,79 (t, <sup>3</sup>J = 7,24 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,19-3,26 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,34-3,45 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>); 3,66-3,78 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,62 (t, <sup>3</sup>J = 5,56 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 4,68 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,18 (2s, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+OH); 5,31 (d, <sup>3</sup>J = 4,67 Hz, 3H, OH); 5,36 (d, <sup>3</sup>J = 6,03 Hz, 3H, OH); 5,53 (d, <sup>3</sup>J = 9,23 Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 8,23 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO) :** δ (ppm) 14,3 (CH<sub>3</sub>); 22,2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,2 (CH<sub>2</sub>); 30,9 (CH<sub>2</sub> β du S); 38,2 (CH<sub>2</sub>S); 61,2 (C<sub>6</sub>); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C<sub>4</sub>); 71,8 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,6 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,4 (C<sub>3</sub>); 87,9 (C<sub>1</sub>); 123,5 (CH triazole); 140,4 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,1 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,3 (C<sub>Ar</sub>S).



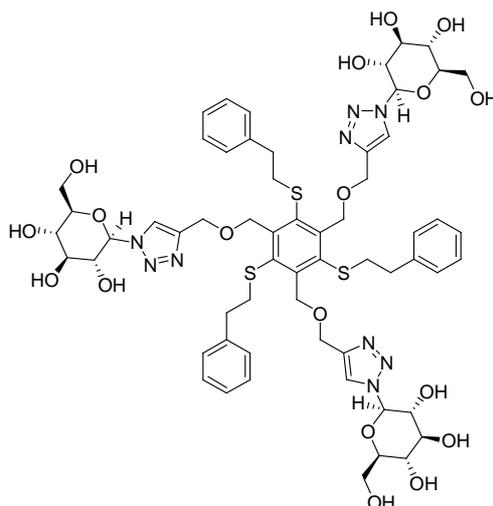
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(heptylthio)**

**benzène (66f).** On récupère 341 mg du composé **66f** (0,264 mmol ; 88%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,53 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  183,0-184,7°C.  $[\alpha]_D^{25} = -7,4$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>57</sub>H<sub>95</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>) : 644,7973; trouvé 644,7978  
Formule brute : C<sub>57</sub>H<sub>93</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1288,59 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO) :** δ (ppm) 0,85 (t, <sup>3</sup>J = 6,95 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,22-1,41 (m, 30H, CH<sub>2</sub>); 2,79 (t, <sup>3</sup>J = 6,77 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,17-3,27 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,36-3,45 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>); 3,67-3,76 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,62 (t, <sup>3</sup>J = 5,54 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 4,68 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 5,17 (2s, 9H, OCH<sub>2</sub>triazole+OH); 5,3 (d, <sup>3</sup>J = 4,73 Hz, 3H, OH); 5,35 (d, <sup>3</sup>J = 6,06 Hz, 3H, OH); 5,53 (d, <sup>3</sup>J = 9,21 Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 8,24 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO) :** δ (ppm) 14,4 (CH<sub>3</sub>); 22,5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 28,7-31,6 (CH<sub>2</sub>); 38,3 (CH<sub>2</sub>S); 61,3 (C<sub>6</sub>); 64,2 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C<sub>4</sub>); 71,7 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,6 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,4 (C<sub>3</sub>); 87,9 (C<sub>1</sub>); 123,5 (CH triazole); 140,3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,2 (C<sub>Ar</sub>S).



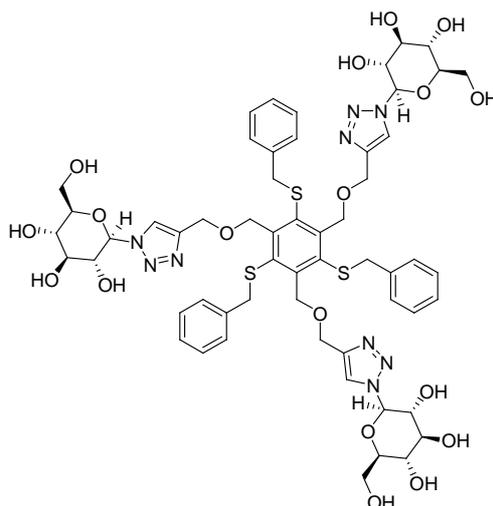
**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(phényléthane thio)benzène (66g).** On récupère 352 mg du composé **66g** (0,269 mmol ; 90%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,25 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  201,6-202,3°C.  $[\alpha]_D^{25} = -9,0$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>60</sub>H<sub>77</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>) : 653,7269; trouvé 653,7284.

Formule brute : C<sub>60</sub>H<sub>75</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

MM = 1306,48 g.mol<sup>-1</sup>.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO) :** δ (ppm) 2,74 (t, <sup>3</sup>J = 7,37 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>Ph); 3,11 (t, <sup>3</sup>J = 7,51 Hz, 6H, ArSCH<sub>2</sub>); 3,25 (m, 3H, H<sub>4</sub>); 3,37-3,47 (m, 9H, H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6'</sub>); 3,67-3,8 (m, 6H, H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>); 4,59 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 4,65 (t, <sup>3</sup>J = 5,55 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>OH); 5,05 (s, 6H, OCH<sub>2</sub>triazole); 5,2 (d, <sup>3</sup>J = 5,32 Hz, 3H, OH); 5,33 (d, <sup>3</sup>J = 4,58 Hz, 3H, OH); 5,39 (d, <sup>3</sup>J = 6,03 Hz, 3H, OH); 5,53 (d, <sup>3</sup>J = 9,22 Hz, 3H, H<sub>1</sub>); 7,14-7,27 (m, 15H, CH<sub>Ar</sub>); 8,13 (s, 3H, CH triazole).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO) :** δ (ppm) 35,6 (CH<sub>2</sub>Ph); 39,4 (CH<sub>2</sub>S); 61,2 (C<sub>6</sub>); 63,6 (ArCH<sub>2</sub>O); 69,7 (C<sub>4</sub>); 71,7 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,9 (C<sub>2</sub>); 77,4 (C<sub>5</sub>); 80,0 (C<sub>3</sub>); 88,4 (C<sub>1</sub>); 123,4 (CH triazole); 126,2 (CH<sub>Arp</sub> Ph); 128,4-128,6 (CH<sub>ArO,m</sub> Ph); 140,5 (C<sub>Ar</sub><sup>IV</sup> Ph); 140,9 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,7 (C<sup>IV</sup> triazole); 147,3 (C<sub>Ar</sub>S).



**1,3,5-tris[1-(β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazole-4-yloxyméthyl]-2,4,6-tris(benzylthio)**

**benzène (66h).** On récupère 356 mg du composé **66h** (0,282 mmol ; 94%) sous la forme d'une poudre blanche.  $R_f$  0,28 avec AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2:1).  $P_f$  200,8-201,7°C.  $[\alpha]_D^{25} = -9,4$  ( $c$  1, MeOH). HRMS (ESI+) calculé pour C<sub>57</sub>H<sub>71</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub> ([M+2H]<sup>2+</sup>) : 632,7034; trouvé 632,7031.

Formule brute : C<sub>57</sub>H<sub>69</sub>N<sub>9</sub>O<sub>18</sub>S<sub>3</sub>.

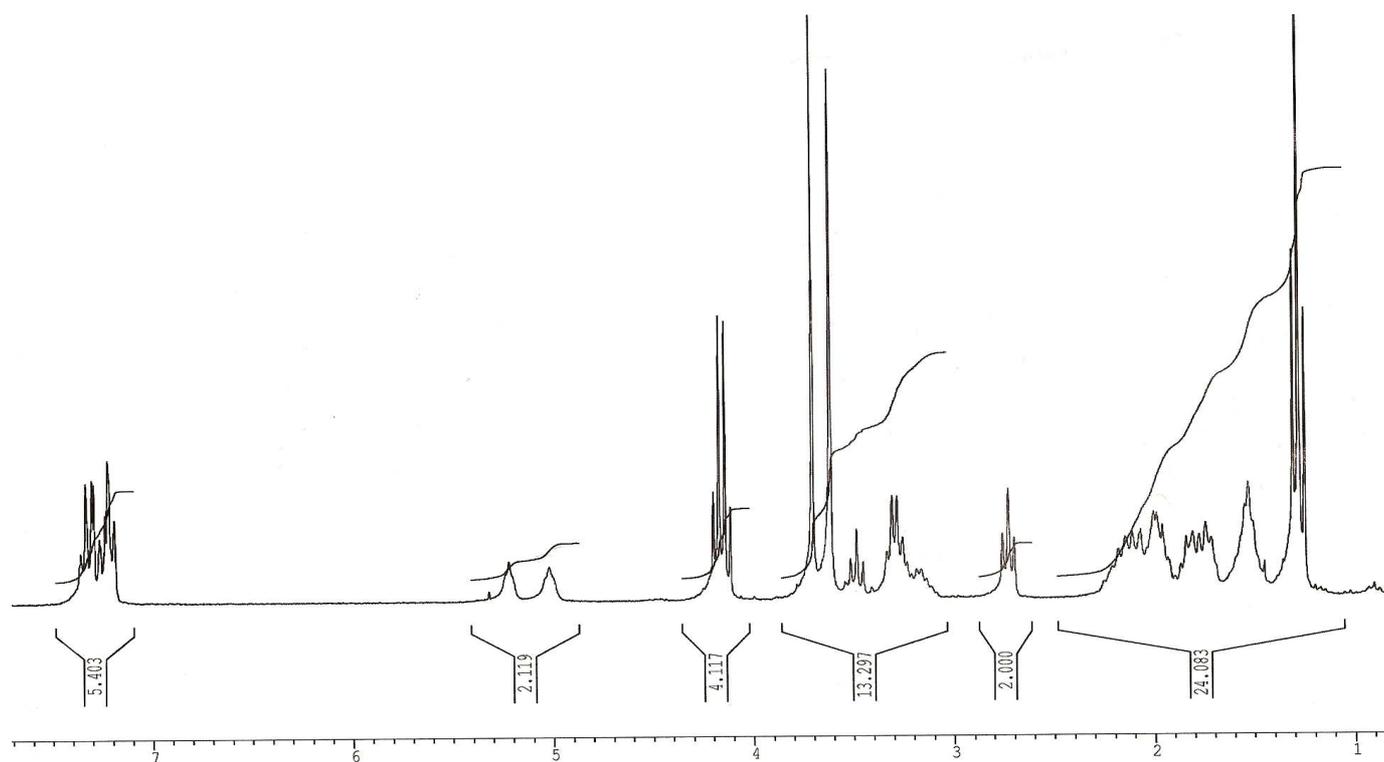
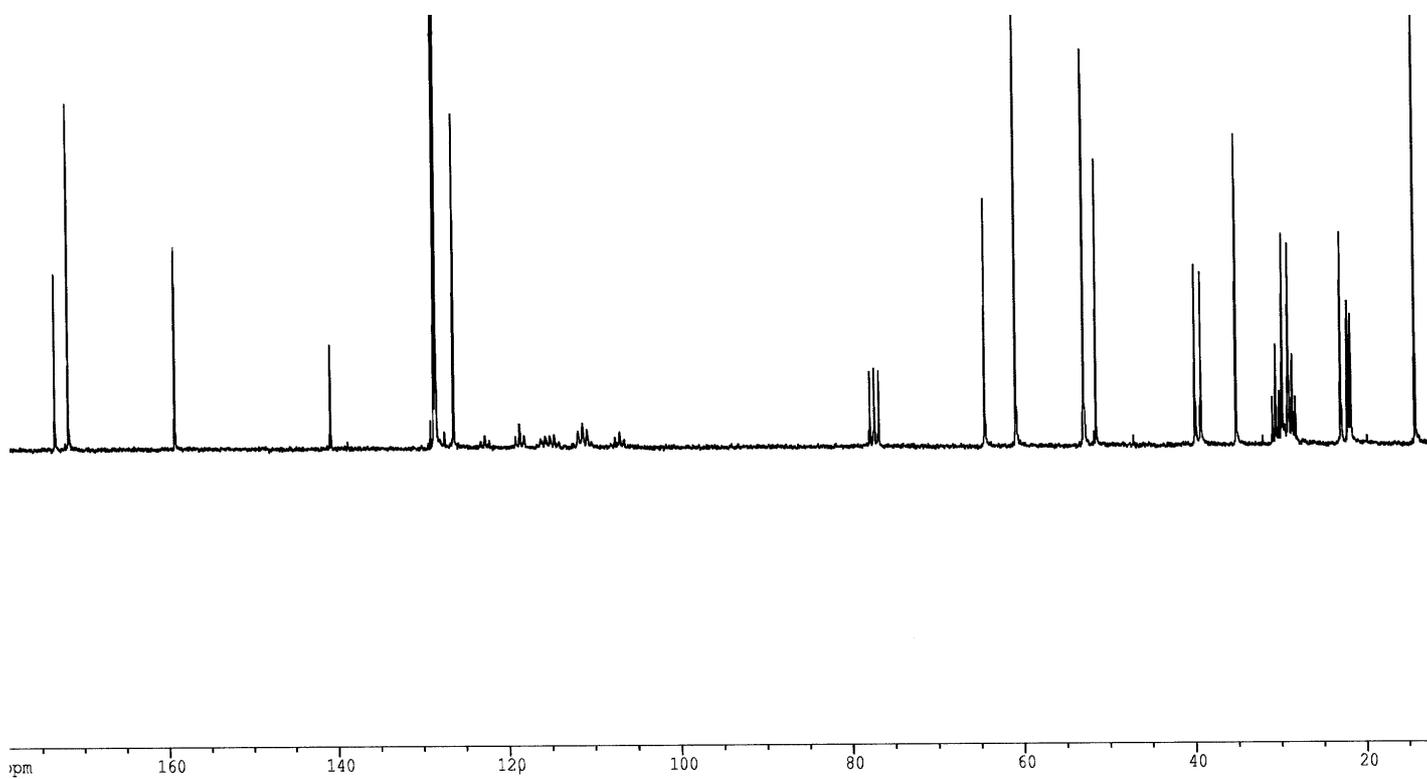
MM = 1264,4 g.mol<sup>-1</sup>.

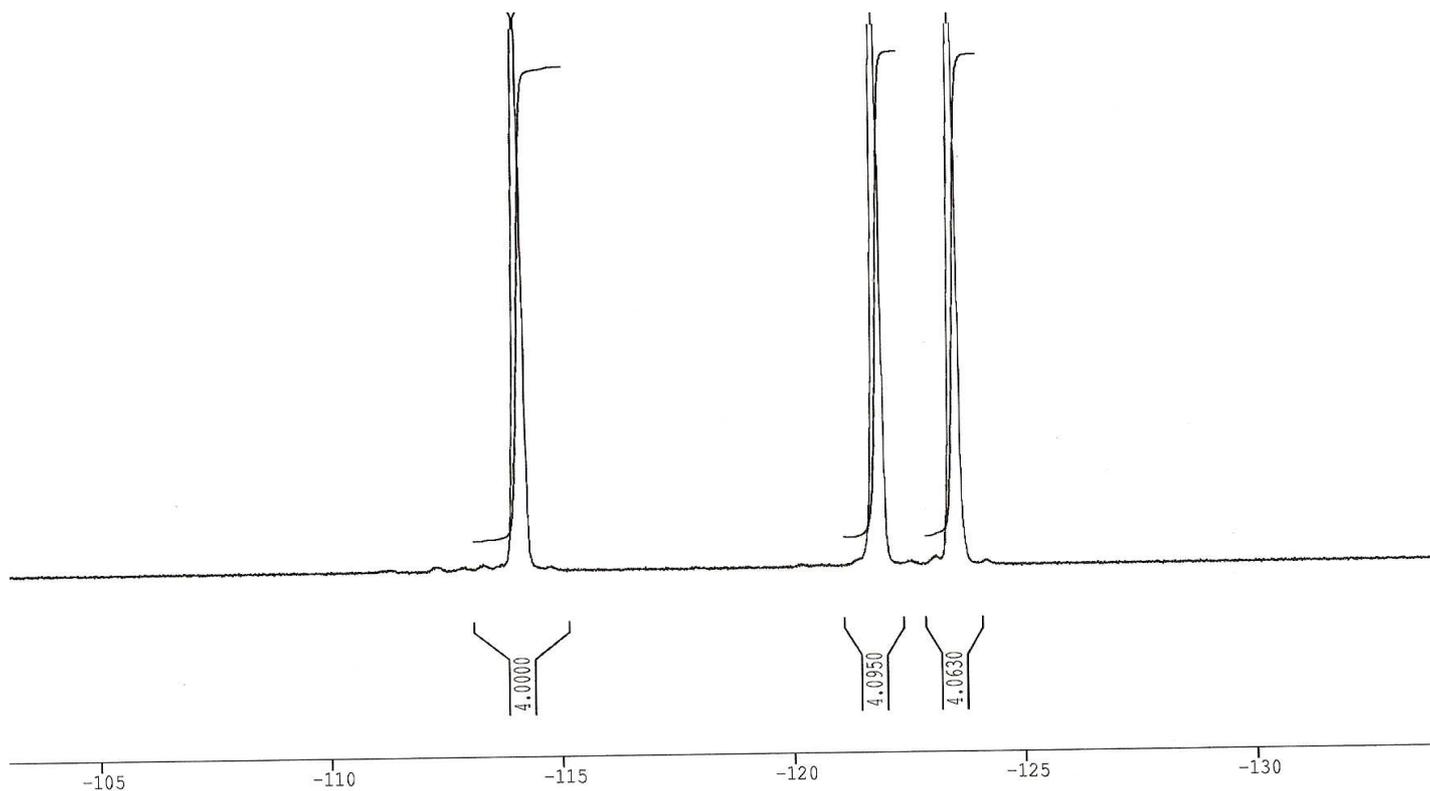
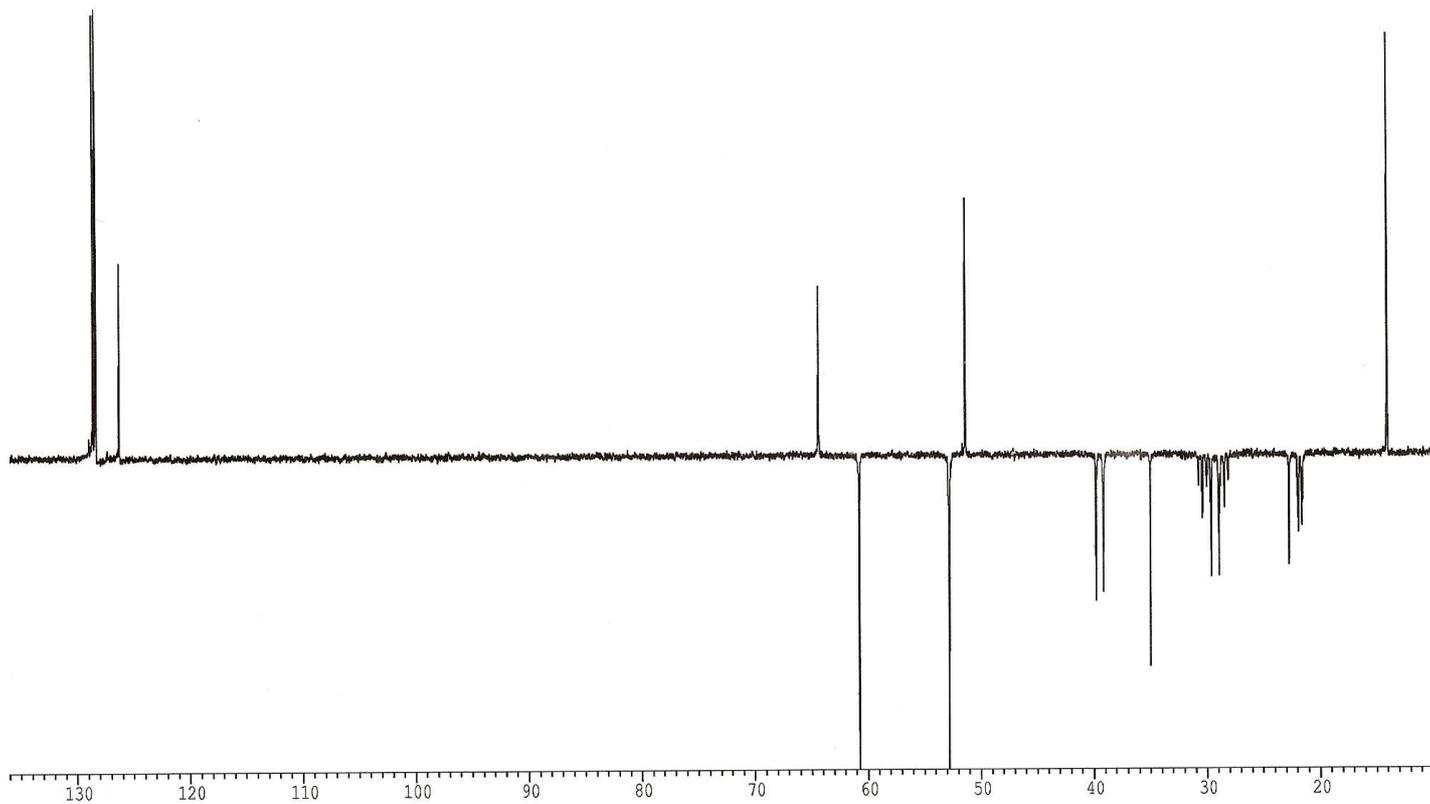
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO) :** δ (ppm) 3,24 (m, 3H, H4); 3,35-3,47 (m, 9H, H3+H5+H6'); 3,67-3,78 (m, 6H, H2+H6); 3,95 (s, 6H, SCH<sub>2</sub>Ph); 4,65 (s, 6H, ArCH<sub>2</sub>O); 4,87 (s, 6H, OCH<sub>2</sub>triazole); 5,19 (d, <sup>3</sup>J = 5,34 Hz, 3H, OH); 5,31 (d, <sup>3</sup>J = 4,98 Hz, 3H, OH); 5,4 (d, <sup>3</sup>J = 6,02 Hz, 3H, OH); 5,55 (d, <sup>3</sup>J = 9,21 Hz, 3H, H1); 7,09-7,11 (m, 6H, CH<sub>Ar</sub>); 7,23-7,28 (m, 9H, CH<sub>Ar</sub>); 8,28 (s, 3H, CH triazole).

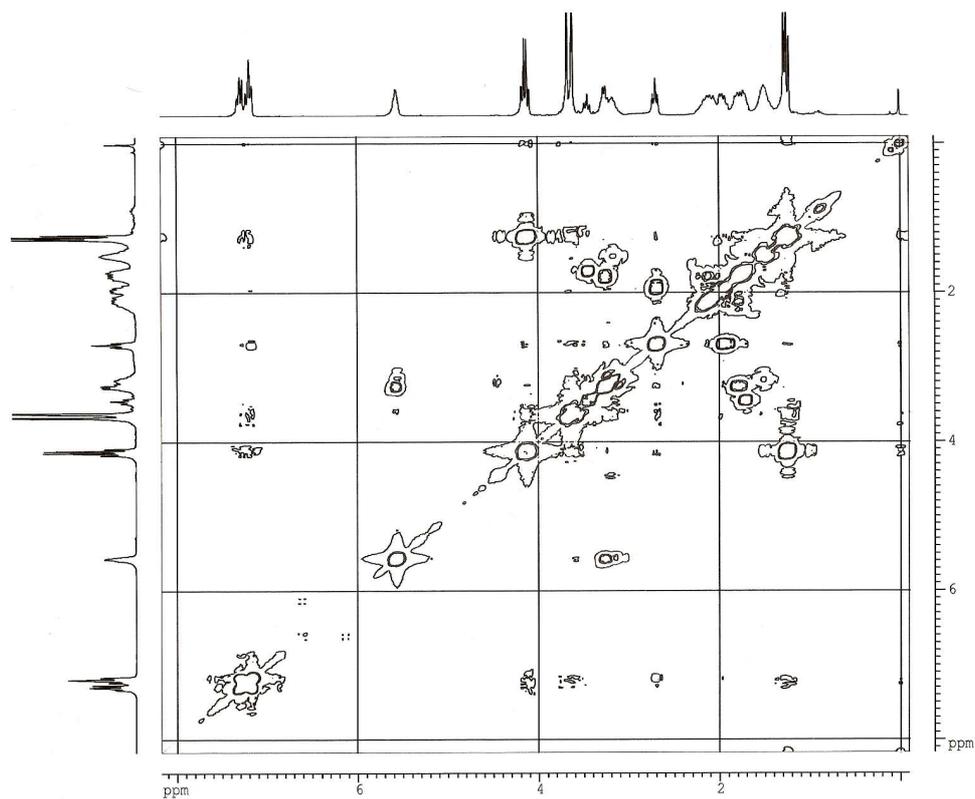
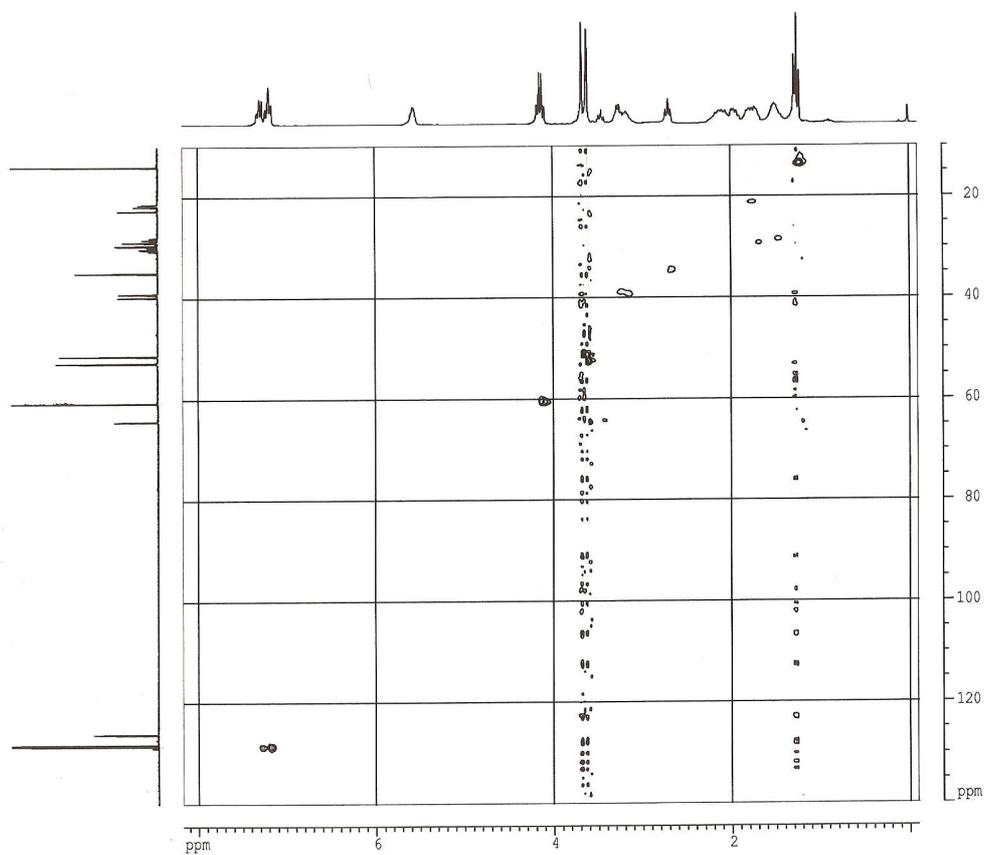
**RMN <sup>13</sup>C (DMSO) :** δ (ppm) 42,5 (SCH<sub>2</sub>Ph); 61,2 (C6); 64,1 (ArCH<sub>2</sub>O); 70,0 (C4); 71,3 (OCH<sub>2</sub>triazole); 72,5 (C2); 77,4 (C5); 80,4 (C3); 87,9 (C1); 123,8 (CH triazole); 127,5 (CH<sub>Arp</sub> Ph); 128,9-129,4 (CH<sub>Ar,o,m</sub> Ph); 138,0 (C<sub>Ar</sub><sup>IV</sup> Ph); 139,3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>2</sub>); 144,0 (C<sup>IV</sup> triazole); 148,5 (C<sub>Ar</sub>S).

# *Annexes*

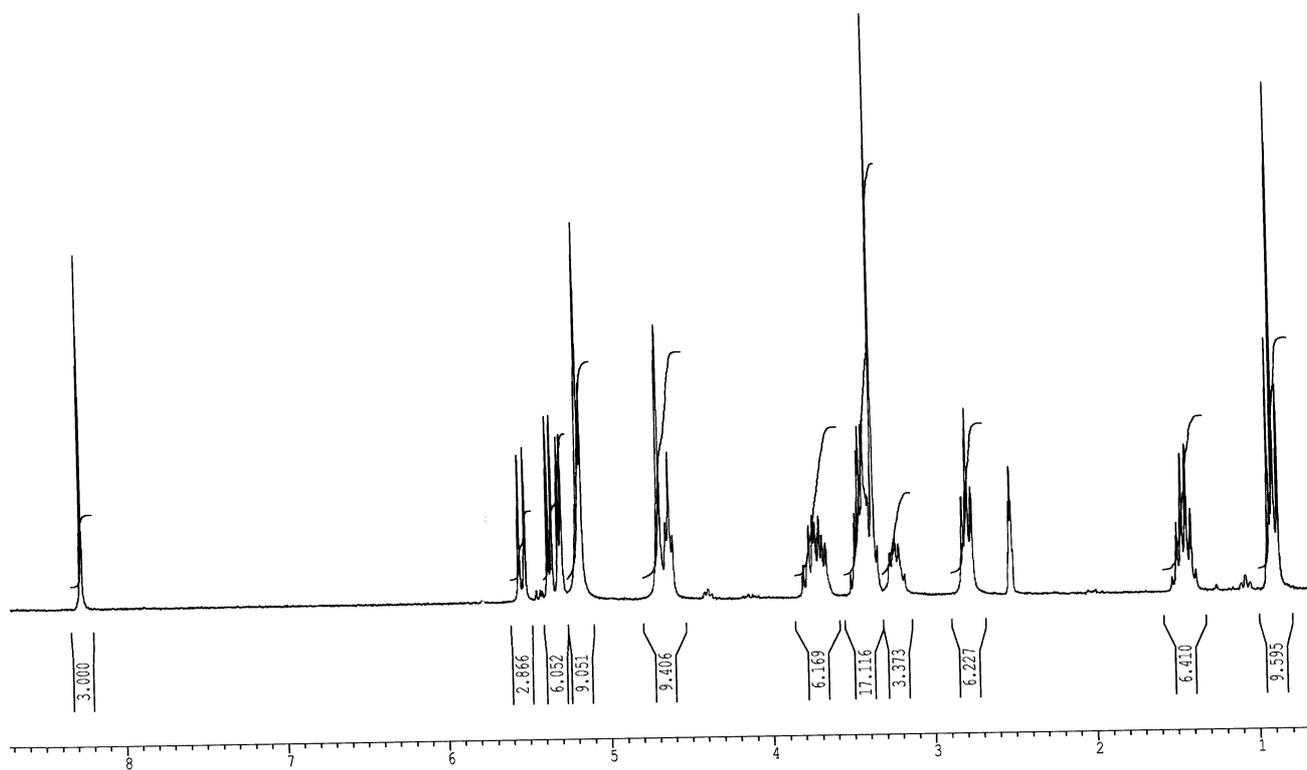
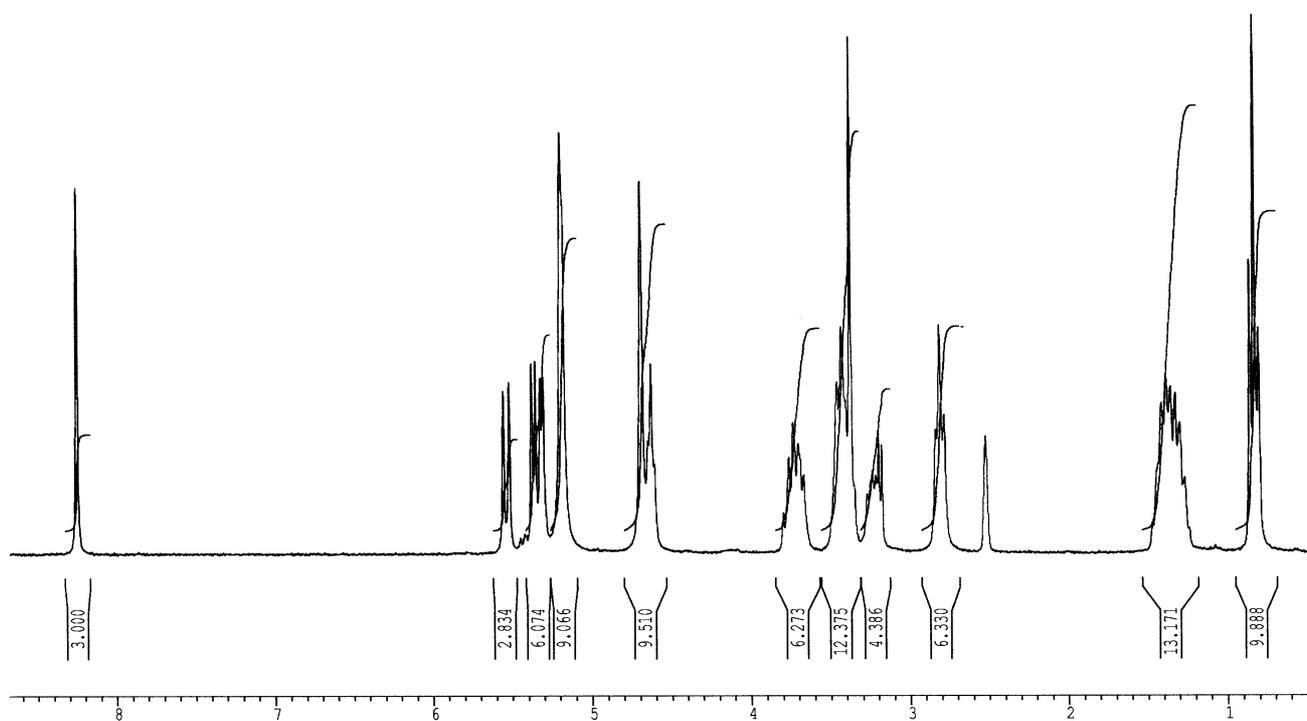
## ANNEXE 1

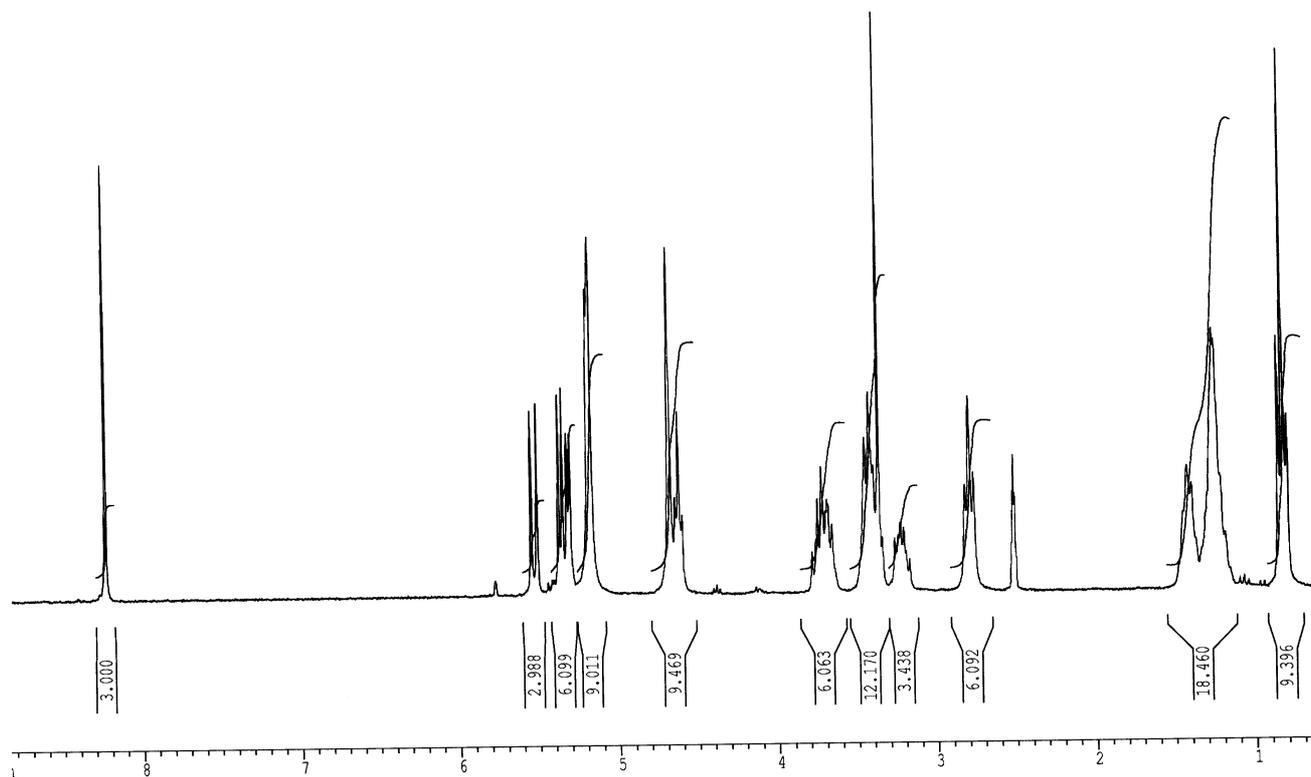
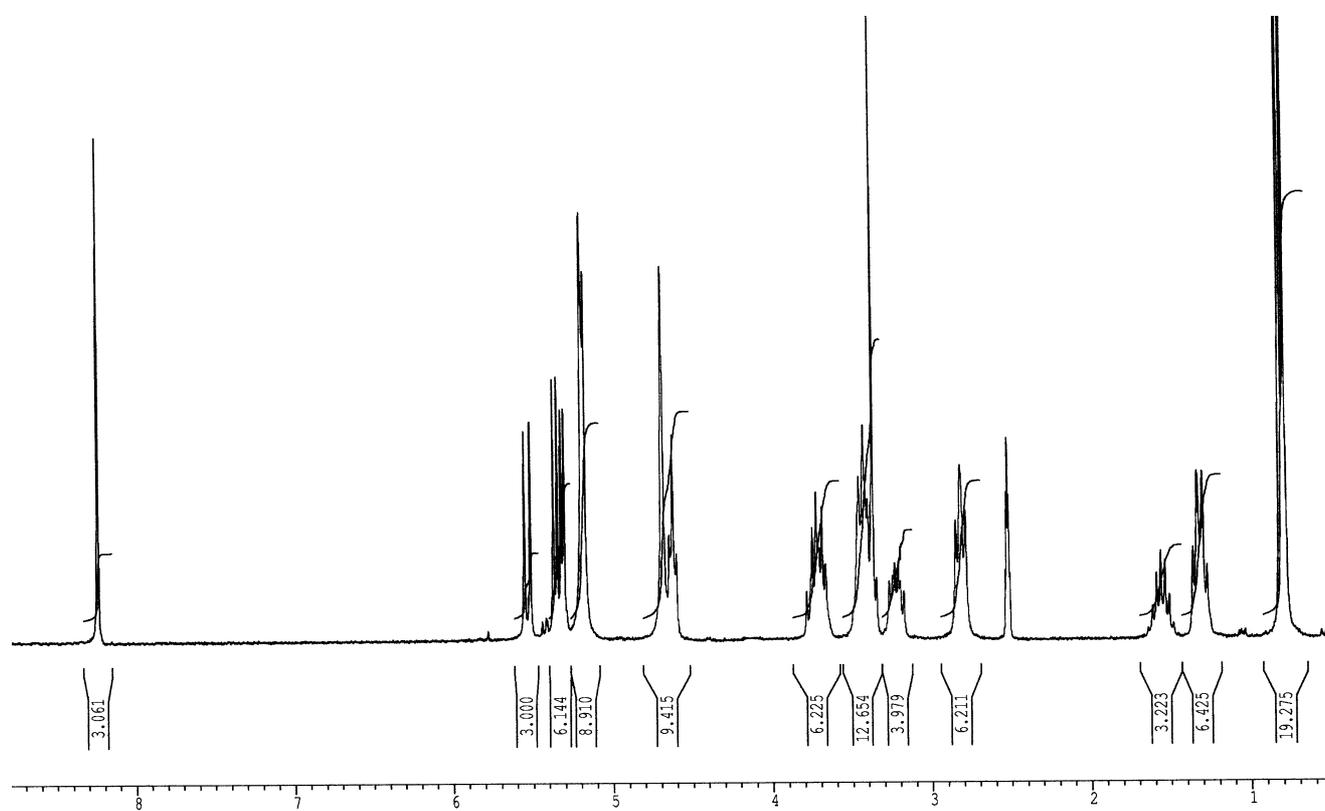
Spectre RMN  $^1\text{H}$  du triester hémifluoré **9** dans le  $\text{CDCl}_3$ .Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du triester hémifluoré **9** dans le  $\text{CDCl}_3$ .

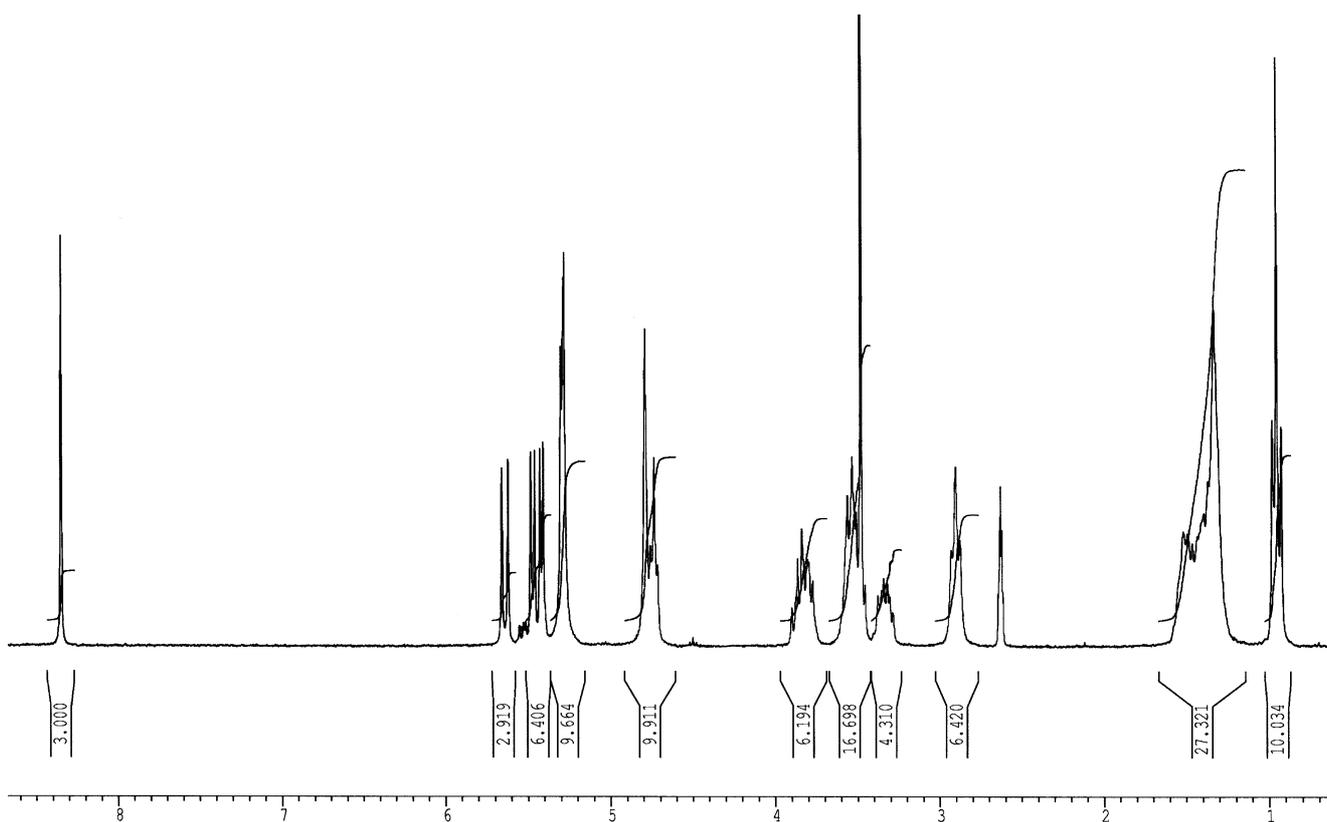
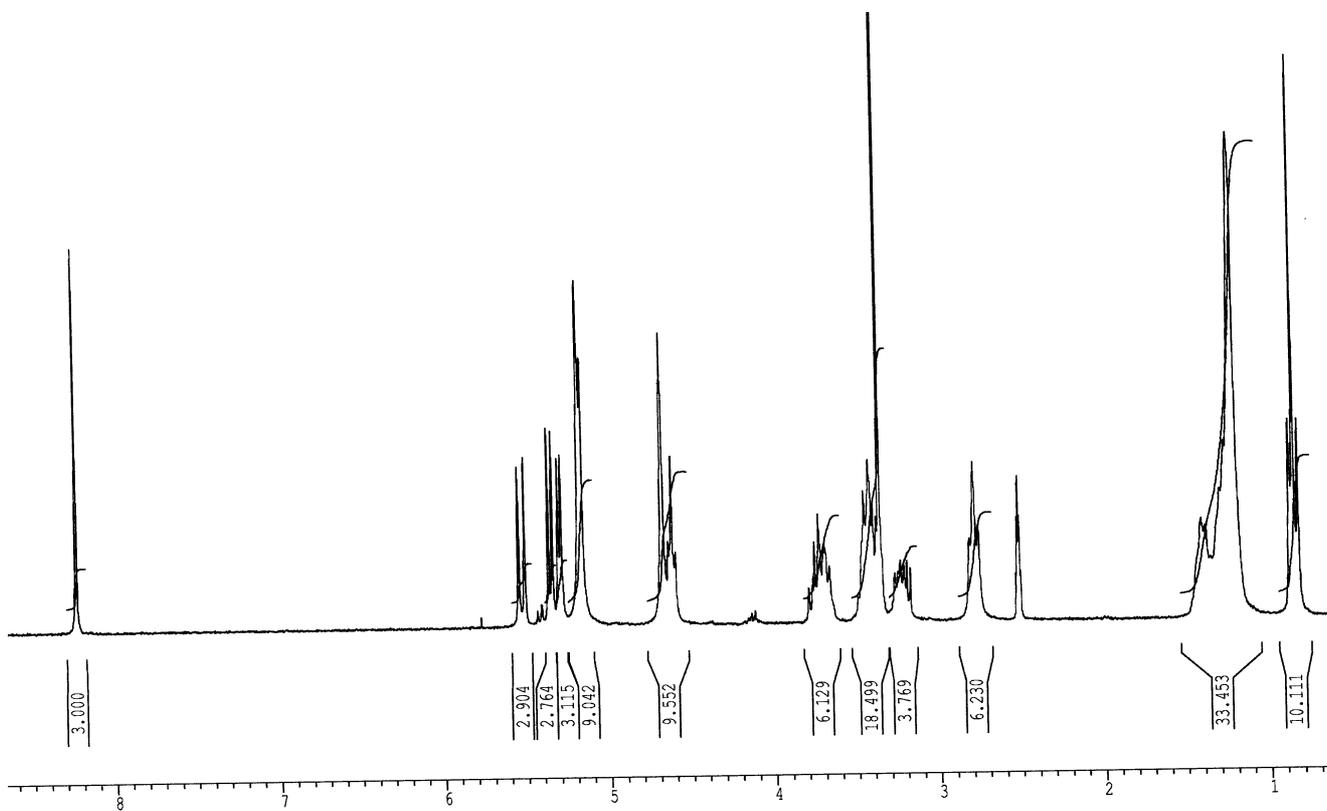
Spectre RMN  $^{19}\text{F}$  du triester hémifluoré **9** dans le  $\text{CDCl}_3$ .Spectre RMN DEPT 135 du triester hémifluoré **9** dans le  $\text{CDCl}_3$ .

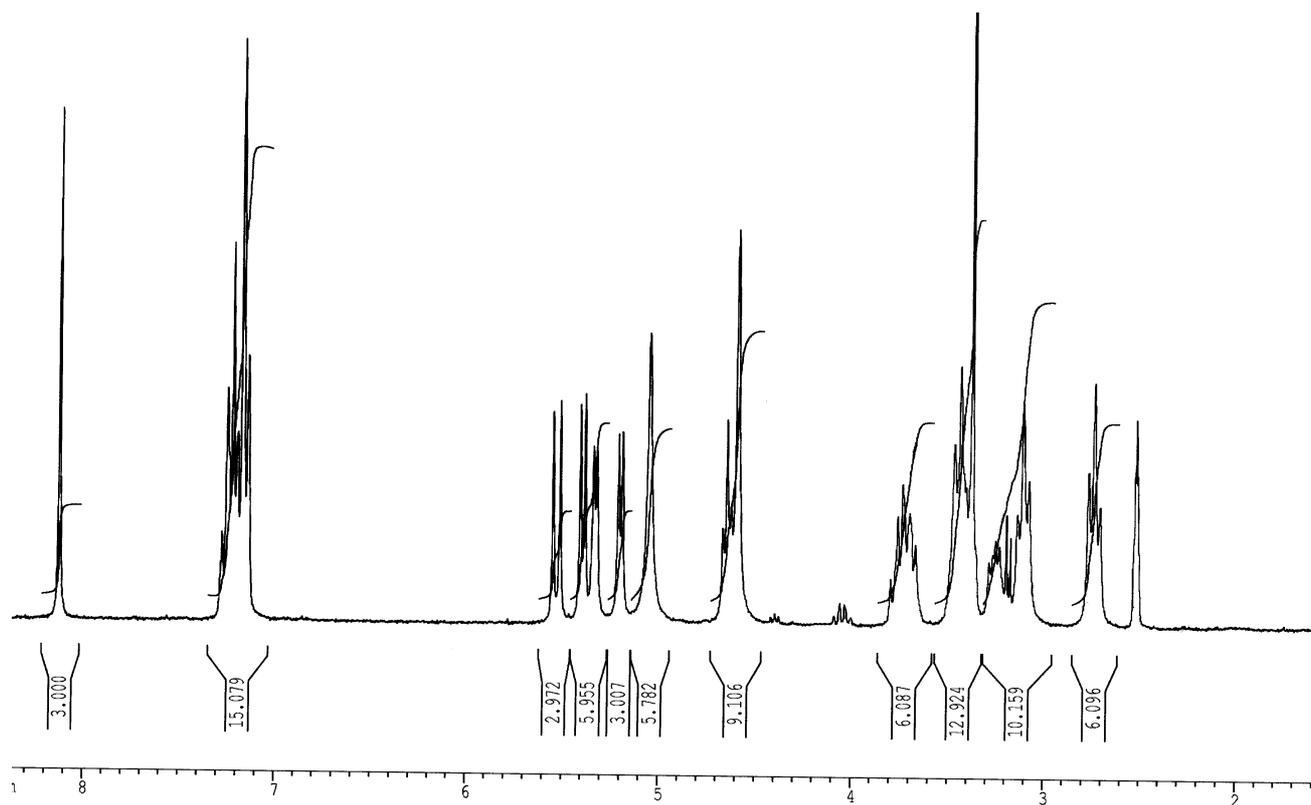
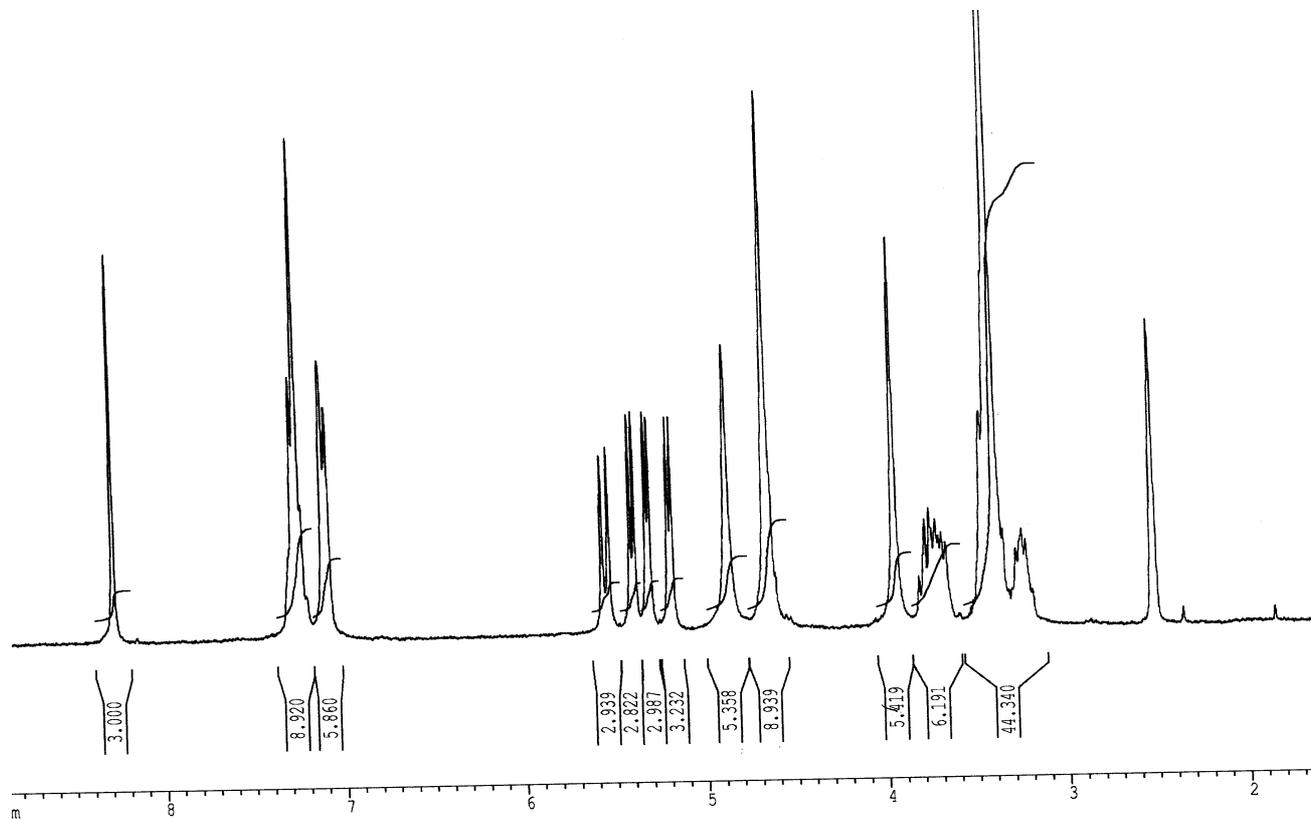
Spectre RMN COSY du triester hémifluoré **9** dans le CDCl<sub>3</sub>.Spectre RMN HMQC du triester hémifluoré **9** dans le CDCl<sub>3</sub>.

## ANNEXE 2

Spectre RMN <sup>1</sup>H du tripode **66a** (C3Glu3) solubilisé dans le DMSO deutéré.Spectre RMN <sup>1</sup>H du tripode **66b** (C4Glu3) solubilisé dans le DMSO deutéré.

Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode **66c** (C5Glu3) solubilisé dans le DMSO deutéré.Spectre RMN  $^1\text{H}$  du tripode **66d** (iC5Glu3) solubilisé dans le DMSO deutéré.

Spectre RMN <sup>1</sup>H du tripode **66e** (C6Glu3) solubilisé dans le DMSO deutéré.Spectre RMN <sup>1</sup>H du tripode **66f** (C7Glu3) solubilisé dans le DMSO deutéré.

Spectre RMN <sup>1</sup>H du tripod **66g** (PhC<sub>2</sub>Glu<sub>3</sub>) solubilisé dans le DMSO deutéré.Spectre RMN <sup>1</sup>H du tripod **66h** (BnGlu<sub>3</sub>) solubilisé dans le DMSO deutéré.

## Résumé

Ce manuscrit décrit la synthèse et l'étude physico-chimique de tensioactifs innovants utilisés comme outils biochimiques pour le maintien et la cristallisation de protéines membranaires en solution aqueuse. Un premier chapitre présente les moyens techniques actuels à disposition pour la manipulation et l'étude des protéines membranaires ainsi que les problèmes rencontrés concernant leur inactivation et les alternatives actuelles. Une seconde partie décrit la synthèse d'un lipide hémifluoré possédant un ligand métallique spécifique, qui a été utilisé pour la formation d'un film de Langmuir. Les propriétés du film lipidique (stabilité et fluidité) ont été étudiées et des essais de cristallisation 2D suivant le concept interfacial ont été réalisés sur une protéine recombinante SUR1 « his tag » solubilisée dans des micelles de détergents hydrocarbonés. Le troisième chapitre aborde la notion d'amphiphilie faciale et décrit la synthèse de tensioactifs glucosidiques par « click chemistry » basés sur corps aromatique central. La persubstitution sélective de têtes hydrophiles sur les positions 1,3,5 et de parties hydrophobes sur les positions 2,4,6 apporte une amphiphilie aux molécules via une ségrégation faciale. Enfin, le dernier chapitre est dédié à l'étude du comportement et des propriétés physico-chimiques des tripodes amphiphiles faciaux en solution aqueuse grâce à différentes techniques : tensiométrie, diffusion de la lumière, CPLH,...

Mots clés : protéine membranaire, tensioactif hémifluoré, amphiphile facial, click chemistry, cristallisation 2D, tensiométrie, aromatique persubstitué.

## Abstract

This thesis deals with the synthesis and the physico-chemical study of new surfactants used as tools for holding membrane proteins in aqueous media. A first part presents the existing methods that allow the manipulation of the membrane proteins and describes the current issues encountered which lead to its denaturation. In a second chapter, the synthesis of a hemifluorinated lipid with a specific ligand is presented in order to form a film of Langmuir. The stability and fluidity of the monolayer lipid is monitored and used in experiments of cristallisation 2D following the interfacial concept on the recombinant membrane protein SUR1 « his tag » keep soluble in water with hydrocarbonated detergents. The third part defines the term associated to facial amphiphile and presents a synthesis by « click chemistry » of glucosidic surfactants with an aromatic core persubstitued. The alternated and selective substitution on 1,3,5 and 2,4,6 positions of the aromatic ring by respectively hydrophilic heads and hydrophobic tails induces a facial segregation. The last chapter concerns the study of facial amphiphiles behavior and its physico-chemical properties in aqueous solution by using several methods : tensiometry, dynamic diffusion light scattering, HPLC,...

Key words : membrane protein, hemifluorinated surfactant, facial amphiphile, click chemistry, cristallisation 2D, tensiometry, aromatic persubstitued

---