



Université de Reims  
Champagne-Ardenne

## THESE DE DOCTORAT\*

Présentée par

**Anas ALLAM**

En vue d'obtenir le grade de  
Docteur en Sciences de l'Université de Reims Champagne-Ardenne

Spécialité Chimie

**NOUVEAUX LIGANDS URONAMIDES DERIVES DE L'ACIDE D-  
GALACTURONIQUE : SYNTHÈSE, PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES  
ET ETUDES DE COMPLEXATION AVEC LES IONS CUIVRE (II)**

Soutenue le 07 décembre 2009 devant la Commission d'Examen :

<b>M. José KOVENSKY</b> , Professeur, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	Rapporteur
<b>M. Bernard HENRY</b> , Professeur, Université Henri Poincaré, Nancy	Rapporteur
<b>Mme. Clotilde POLICAR</b> , Professeur, Ecole Normale Supérieure (ENS), Paris	Examineur
<b>M. Jean-Bernard BEHR</b> , Maître de Conférences (HDR), Université de Reims Champagne-Ardenne	Examineur
<b>M. Richard PLANTIER-ROYON</b> , Professeur, Université de Reims Champagne-Ardenne	Directeur de Thèse
<b>M. Laurent DUPONT</b> , Professeur, Université de Reims Champagne-Ardenne	Directeur de Thèse

\*Arrêté du 30 Mars 1992



# Remerciements

A mes parents

A mes frères

...

## *Remerciements*

Je tiens tout d'abord à remercier mes directeurs de thèse Richard Plantier-Royon et Laurent Dupont de m'avoir accueilli au sein de leurs équipes, et de m'avoir guidé à travers leurs discussions, et de m'avoir apporté une compréhension plus approfondie des divers aspects du sujet de thèse. Je salue aussi leur ouverture d'esprit, leur bonne humeur, et le fait de m'avoir laissé une large marge de liberté pour mener à bien mon projet de recherche.

Je remercie vivement les membres du jury pour avoir accepté de juger mon travail de recherche, et pour l'intérêt qu'ils y ont manifesté. J'adresse mes sincères remerciements à Messieurs les Professeurs José Kovensky et Bernard Henry pour avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse, ainsi qu'à Madame le Professeur Clotilde Policar pour avoir accepté d'examiner ce travail de recherche.

Toute ma gratitude et mes sincères remerciements à Jean-Bernard Behr de m'avoir encadré et guidé dans ma recherche, Merci de m'avoir fait profiter de tes connaissances et de tes conseils très précieux, sans oublié ta bonne humeur et ton esprit de gaieté qui rendent le travail au laboratoire plus agréable.

Je voudrais remercier également le Pr. Véronique Rataj pour la partie physico-chimie réalisée dans son laboratoire, Merci de m'avoir accueilli au sein de ton équipe, et merci à toutes les personnes là-bas qui m'ont accueilli chaleureusement, et avec lesquels j'ai passé un agréable séjour.

Je remercie Murielle Muzard pour sa sympathie et ses qualités humaines, Marie Buchotte pour sa bonne humeur, sa complicité et pour son esprit de gaieté, et Hanaa Taghzouti pour la bonne ambiance qu'elle fait régner au sein du groupe.

## Remerciements

Je remercie les membres du Groupe de Chimie de Coordination, Monsieur Michel Aplincourt auquel j'exprime mes sincères compliments, Emmanuel Guillon pour ses encouragements, Isabelle Deschamps pour son aide précieuse en RPE, Cyril et Juliette pour leurs conseils et leur bonne humeur, Aminou, Françoise, Jean-Claude Pierrard, Stephanie Sayen et Boudesoque, Giles Lemercier et Christian Gérard pour leurs conseils précieux et leur sympathie.

Je remercie tous les membres de la plateforme analytique, en RMN Agathe pour sa sympathie, et Aurélien pour son aide en RMN ainsi que les matchs de foot les dimanches après midi. Merci à Dominique pour les analyses de spectrométrie de masse, à Sylvie pour les analyses élémentaires. Un grand merci à Bernadette et José pour leur aide et leur bonne humeur dans le laboratoire, ainsi qu'à Jaqueline et Christian pour leur soutien technique.

J'adresse également mes remerciements et mes amitiés à tous les doctorants et les docteurs de l'ICMR, Achouak, Ziad, Abir, Caroline, Chahinez, Sanaa, Sylvain, Ahmed, Thomas, Leslie, Anne, Saskia, Emilie, Claire, Marjorie, Sophie, Sonia, Céline, Marion, Christelle, Jean, Benjamin, Pierrot, Antoine, Jean-Luc, Vincent, Nicolas P., Nicolas C., Guillaume, Loïc, Rabih, Ali, Fabien, et tous les membres de l'ICMR.

Un grand Merci à M'hamed avec lequel j'ai passé des moments agréables et à qui j'exprime toute mon amitié, merci d'être à l'écoute, et toujours partant pour regarder des matchs de foot à la télé ou au stade.

Je remercie également mes amis Hussein, Abdelmalek, Anouar & Isabelle, mohamed, amine, Wisam et Léo et tous mes autres amis avec lesquels j'ai passé d'agréables moments.

Enfin, Un grand Merci à ma famille qui représente tout pour moi, et sans laquelle je ne saurais exister, Merci à mes parents Abdelhay et Naima de m'avoir aimé et de m'avoir tout offert, aucun mot ne saurait exprimer mon grand amour et mon immense gratitude que j'ai pour vous, Merci à mes frères Zakaria et Tarik pour leur grand cœur et leur amour, Un grand Merci à ma grand-mère pour son soutien inconditionnel, que ferais-je sans toi !, Merci à Ahmed pour son amitié et ses sentiments, et à toute ma famille pour leur soutien.





<b>Abréviations .....</b>	<b>13</b>
<b>Introduction générale.....</b>	<b>15</b>
<b>I L'acide D-galacturonique, une ressource naturelle abondante à valoriser.....</b>	<b>23</b>
<b><i>I-1) Généralités sur les betteraves et les pulpes de betterave</i></b>	<b>23</b>
<b><i>I-2) Les pectines</i></b>	<b>26</b>
I-2-1) Définition .....	26
I-2-2) Structure et propriétés physicochimiques des pectines.....	26
I-2-3) Obtention de l'acide D-galacturonique par hydrolyse des substances pectiques .....	31
I-2-3-1) Hydrolyse chimique des substances pectiques.....	31
I-2-3-1-a) Hydrolyse acide .....	31
I-2-3-1-b) Hydrolyse alcaline.....	31
I-2-3-2) Hydrolyse enzymatique des substances pectiques.....	32
<b><i>I-3) Acide D-galacturonique : propriétés et applications</i></b>	<b>33</b>
I-3-1) Généralités sur l'acide D-galacturonique .....	33
I-3-1-1) Les équilibres tautomériques de l'acide D-galacturonique en solution .....	33
I-3-1-2) Etude de dégradation de l'acide D-galacturonique dans l'anhydride acétique en présence de base .....	36
I-3-2) Etudes de complexation de l'acide D-galacturonique par les ions métalliques .....	37
I-3-3) Dérivés d'acide D-galacturonique biologiquement actifs .....	42
I-3-3) Synthèses de fragments pectiques dérivés d'acide D-galacturonique .....	49
<b><i>I-4) Projet de thèse</i></b>	<b>55</b>
<b>II Synthèse et caractérisation physico-chimique des ligands <i>n</i>-octyl-D-galactoside uronamides.....</b>	<b>59</b>
<b><i>II-1) Réaction de glycosylation et généralités sur les PolyGlycosides d'Alkyle (APGly)</i></b>	<b>59</b>
II-1-1) Réaction de glycosylation .....	59
II-1-1-1) Introduction.....	59
II-1-1-2) Réaction de glycosylation sur des sucres protégés .....	60
II-1-1-2-a) Principales méthodes de synthèse des glycosides d'alkyle par voie chimique.....	60
II-1-1-2-b) Orientation de la sélectivité .....	61
II-1-1-2-c) Différentes méthodes de glycosylation stéréo-contrôlées .....	62
II-1-1-3) Réaction de glycosylation sur des sucres libres .....	64
II-1-1-4) Cas de l'acide D-galacturonique .....	66
II-1-2) Synthèse des PolyGlycosides d'alkyle (APGly) .....	73
II-1-2-1) Introduction aux APGly.....	73
II-1-2-2) Synthèse des APGly .....	74
II-1-3) Synthèse et applications de certains dérivés glucidiques à chaîne amphiphile .....	77

<b>II-2) Etude de la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique</b>	<b>81</b>
II-2-1) Méthodologie de synthèse du <i>n</i> -octyl D-galactoside uronate de <i>n</i> -octyle à partir de l'acide D-galacturonique par voie thermique classique.....	81
II-2-2) Activation de la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique par les micro-ondes.....	87
II-2-2-1) Introduction aux micro-ondes .....	87
II-2-2-2) Action des micro-ondes sur les composés chimiques .....	88
II-2-2-3) Réaction d'estérification-O-glycosylation par le biais des micro-ondes.....	90
II-2-2-4) Méthodologie de synthèse du <i>n</i> -octyl D-galactoside uronate de <i>n</i> -octyle à partir de l'acide D-galacturonique par activation micro-ondes .....	91
II-2-2-5) Réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec différents alcools linéaires par activation micro-ondes.....	95
II-2-2-6) Conclusion .....	96
<b>II-3) Synthèse des ligands <i>n</i>-octyl D-galactoside uronamides</b>	<b>97</b>
II-3-1) Introduction .....	97
II-3-2) Synthèse des ligands <i>n</i> -octyl D-galactoside uronamides en mode thermique classique ...	98
II-3-3) Synthèse des ligands <i>n</i> -octyl D-galactoside uronamides par activation micro-ondes .....	101
<b>II-4) Caractérisation physico-chimique des produits synthétisés</b>	<b>104</b>
II-4-1) Généralités sur les tensioactifs .....	104
II-4-1-1) Définition et classification des tensioactifs .....	104
II-4-1-2) Paramètres de micellisation .....	105
II-4-1-2-a) Micellisation .....	105
II-4-1-2-b) Détermination expérimentale de la CMC .....	106
II-4-1-3) Facteurs influençant la CMC .....	108
II-4-1-3-a) La structure du tensioactif .....	108
II-4-1-3-b) La température de la solution.....	110
II-4-1-3-c) La présence de composés organiques .....	112
II-4-1-3-d) La présence d'électrolytes .....	112
II-4-1-3-e) L'influence du pH .....	113
II-4-1-4) Agrégation des tensioactifs en solution aqueuse.....	113
II-4-2) Propriétés physico-chimiques des APGly .....	115
II-4-3) Mesures des Concentrations Micellaires Critiques (CMC) des composés <i>n</i> -octyl D-galactoside uronamides ( <b>3-6</b> ) .....	118
II-4-4) Etude de la solubilité des composés <i>n</i> -octyl D-galactoside uronamides ( <b>3-6</b> ) dans l'eau	121
II-4-5) Mesure de la taille des micelles des composés synthétisés.....	123
II-4-6) Conclusion .....	124
<b>II-5) Partie Expérimentale</b>	<b>125</b>
<b>III Etude de la complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications</b>	<b>137</b>
<b>III-1) Complexes métalliques avec des ligands à base sucre</b>	<b>137</b>

<b>III-2) Propriétés complexantes des ligands dérivés de l'acide D-galacturonique</b>	<b>140</b>
III-2-1) Etude protométrique et constantes d'acidité des ligands .....	141
III-2-2) Etude de la complexation en solution des ligands D-galacturonamides avec les ions de Cuivre (II) .....	144
III-2-2-1) Etude du système Cu (II) / <i>n</i> -octyl (β-D-galactofuranoside methyl [1-pyridinyl]) uronamide (OGMPU).....	144
III-2-2-1-a) Etude protométrique du système Cu / OGMPU.....	144
III-2-2-1-b) Etude RPE du système Cu / OGMPU.....	145
III-2-2-1-c) Modélisation thermodynamique du système OGMPU / Cu (II).....	147
III-2-2-1-d) Courbe de répartition des espèces pour le système Cu / OGMPU .....	148
III-2-2-2) Etude des systèmes Cu (II) / <i>n</i> -octyl (β-D-galactofuranoside éthylamino-[N-hydroxyéthyl]) uronamide (OGEHU) et Cu (II) / <i>n</i> -octyl (β-D-galactofuranoside éthyl-[2-piperazin-1-yl]) uronamide (OGEPU) .....	149
III-2-2-2-a) Protocole expérimental.....	149
III-2-2-2-b) Etude protométrique des systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPU).....	149
III-2-2-2-c) Etude spectrophotométrique UV-visible des systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPU).....	150
III-2-2-2-d) Etude RPE des systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPU).....	151
III-2-2-2-e) Modélisation thermodynamique des systèmes OGEHU et OGEPU / Cu (II) .....	152
III-2-2-2-f) Courbe de répartition des espèces.....	154
III-2-3) Caractérisation spectroscopique des complexes Cu (II) / <i>n</i> -octyl (β-D-galactofuranoside) uronamide en solution .....	155
III-2-3-1) Spectrophotométrie UV-Visible .....	155
III-2-3-2) Résonance paramagnétique électronique .....	157
III-2-3-3) Discussion générale .....	159
<b>III-3) Synthèse et caractérisation des complexes cuivriques à l'état solide</b>	<b>160</b>
III-3-1) Synthèse des complexes cuivriques.....	160
III-3-2) Caractérisation des complexes cuivriques synthétisés .....	161
<b>III-4) Applications : Utilisation des complexes cuivriques dans la catalyse asymétrique et enzymatique</b>	<b>162</b>
III-4-1) Tyrosinase / Catéchol oxydase : Principe et Activation .....	162
III-4-1-1) Introduction .....	162
III-4-1-2) Synthèse des mélanines .....	163
III-4-1-3) Principe d'action de la tyrosinase.....	164
III-4-1-4) Approche biomimétique de l'activité tyrosinase ou catécholase.....	167
III-4-2) Catalyse de l'oxydation du 3,5 di- <i>tert</i> -butyl catéchol (DTBC) en 3,5 di- <i>tert</i> -butyl quinone (DTBQ) dans le méthanol en présence des complexes métalliques synthétisés .....	170
III-4-2-1) Généralités.....	170
III-4-2-2) Résultats et discussion .....	171
III-4-2-2-a) Interaction des complexes cuivriques synthétisés avec le tétrachloro catéchol (TCC) .....	171
III-4-2-2-b) Suivi de la réaction d'oxydation en milieu méthanolique .....	173
III-4-3) Catalyse de l'oxydation du 3,5 di- <i>tert</i> -butyl catéchol DTBC en 3,5 di- <i>tert</i> -butyl quinone DTBQ en milieu aqueux micro-hétérogène en présence des complexes métalliques synthétisés .....	177
III-4-3-1) Généralités.....	177

III-4-3-2) Catalyse de l'oxydation du DTBC en DTBQ en milieu aqueux micro-hétérogène CTAB .....	178
III-4-3-2) Conclusion .....	180
III-4-4) Action des ligands et des complexes synthétisés sur la tyrosinase.....	180
III-4-4-1) Mise au point du test d'activité de la tyrosinase .....	181
III-4-4-2) Influence des ligands et complexes cuivriques sur l'activité de la tyrosinase .....	183
III-4-4-2-a) Inhibition de la tyrosinase par les ligands D-galactoside uronamides .....	183
III-4-4-2-b) Evolution de l'activité tyrosinase en présence des complexes cuivriques .....	185
III-4-4-2-c) Conclusion .....	186
III-4-5) Réaction de Henry .....	187
III-4-5-1) Introduction à la réaction de Henry .....	187
III-4-5-2) Catalyse de la réaction de Henry en présence du complexe métallique $Cu_2OGMPU_2$ ..	189
III-4-6) Conclusion générale .....	191
<b>III-5) Partie expérimentale</b>	<b>192</b>
<b>IV Synthèse et caractérisation de glyco-cryptands à base sucre .....</b>	<b>209</b>
<b>IV-1) Introduction</b>	<b>209</b>
<b>IV-2) Molécules macrocycliques à base sucre : Synthèses et applications</b>	<b>209</b>
IV-2-1) Molécules macrocycliques à base sucre à visée biologique .....	211
IV-2-2) Molécules macrocycliques à base sucre pour la complexation des cations.....	212
IV-2-3) Objectif du travail .....	213
<b>IV-3) Synthèse et caractérisation de glyco-cryptands à partir de l'acide D-galacturonique</b>	<b>214</b>
IV-3-1) Ligation par cycloaddition 1,3-dipolaire .....	214
IV-3-1-1) Méthodologie de synthèse du glyco-cryptand <b>A</b> .....	214
IV-3-1-2) Synthèse de l'ester glycoside <b>10</b> .....	215
IV-3-1-3) Synthèse du composé <b>14</b> .....	217
IV-3-1-4) Synthèse du glyco-cryptand <b>A</b> .....	218
IV-3-1-4-a) Généralités sur la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire.....	218
IV-3-1-4-b) Essais de synthèse du glyco-cryptands <b>A</b> par cycloaddition 1,3-dipolaire suivie d'une lactamisation.....	219
IV-3-1-4-c) Synthèse du glyco-cryptand <b>A</b> par une réaction d'aminolyse suivie d'une cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire .....	220
IV-3-2) Stratégie de synthèse du glyco-cryptand <b>B</b> .....	222
IV-3-2-1) Méthodologie de synthèse du glyco-cryptand <b>B</b> .....	222
IV-3-2-2) Synthèse de l'amine <i>O</i> -allylée <b>18</b> .....	224
IV-3-2-3) Tentatives de synthèse du glyco-cryptand <b>B</b> .....	224
IV-3-2-3-a) Généralités sur la réaction de métathèse ènyne .....	224
IV-3-2-3-b) Tentatives de synthèse du glyco-cryptand <b>B</b> par la voie (1) .....	225
IV-3-2-3-c) Tentatives de synthèse du glyco-cryptand <b>B</b> par la voie (2) .....	226
<b>IV-4) Conclusion</b>	<b>227</b>
<b>IV-5) Partie Expérimentale</b>	<b>229</b>

***Conclusion Générale* ..... 243**

**Résumé..... 247**

**Abstract..... 249**

***Tables des illustrations* ..... 269**





## Abréviations

Ac <sub>2</sub> O	: anhydride acétique
APGly	: polyglycoside d'alkyle
APTS	: acide <i>p</i> -toluènesulfonique
BINOL	: 1,1'-Bi-2-naphtol
Boc	: <i>tert</i> -butyloxycarbonyle
CCM	: chromatographie sur couche mince
COs	: catéchol oxydases
CTAB	: bromure d'hexadécyltriméthylammonium
Cu (II)	: cuivre (II)
DBU	: 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ène
DIEA	: <i>N,N</i> -diisopropyléthylamine
DM	: degré de méthylation
DMF	: diméthylformamide
DMSO	: diméthylsulfoxyde
DPPA	: azoture du diphenyl phosphoryle
DTBC	: 3,5-di- <i>tert</i> -butyl catéchol
DTBQ	: 3,5-di- <i>tert</i> -butyl quinone
Équiv.	: équivalent
Et <sub>3</sub> N	: triéthylamine
EtOH	: éthanol
GalA	: acide galacturonique
GlcA	: acide glucuronique
Hcs	: hémocyanines
IC <sub>50</sub>	: <i>inhibition concentration 50%</i>
L-DOPA	: 3,4-dihydroxyphényl-L-alanine
MeOH	: méthanol
OGEHU	: <i>n</i> -octyl (β-D-galactofuranoside éthylamino-[ <i>N</i> -hydroxyéthyl])uronamide
OGEPU	: <i>n</i> -octyl (β-D-galactofuranoside éthyl-[2-pipérazin-1-yl])uronamide
OGMPU	: <i>n</i> -octyl (β-D-galactofuranoside méthyl [1-pyridinyl])uronamide
RCM	: <i>ring closing metathesis</i> (fermeture de cycle par métathèse)
Rdt	: rendement
R <sub>f</sub>	: rapport frontal
RMN	: résonance magnétique nucléaire
RPE	: résonance paramagnétique électronique
T.A.	: température ambiante
TCC	: tétrachloro catéchol
THF	: tétrahydrofurane
Ty	: tyrosinase
UV-vis	: ultraviolet-visible



INTRODUCTION GENERALE





Depuis quelques années, la valorisation non alimentaire des ressources d'origine végétale s'est considérablement développée pour répondre à la demande socio-économique et aux exigences de la logique du développement durable. Dans l'optique d'une substitution progressive des produits d'origine fossile par des ressources renouvelables, les objectifs visent la mise en place de nouveaux débouchés agro-industriels pour les productions agricoles.

La région Champagne-Ardenne, une des plus importantes régions agricoles de France, est impliquée directement dans le domaine de la valorisation des agro-ressources au travers de divers contrats de recherche tels que le Contrat Plan Etat-Région (CPER). Dans ce contexte, la proposition conjointe des régions Champagne-Ardenne et Picardie d'un Pôle de Compétitivité baptisé « Industries et Agro-Ressources », a été agréée par le Comité Interministériel de l'Aménagement et du Développement du Territoire (C.I.A.D.T.) le 12 juillet 2005, comme un pôle à vocation mondiale qui rassemble les acteurs de la recherche, de l'enseignement et de l'industrie de Champagne-Ardenne et de Picardie autour d'un axe commun intitulé : les valorisations non alimentaires du végétal.

La finalité et la stratégie du pôle Industries et Agro-Ressources est de réunir et de fédérer les compétences des différents acteurs dans les technologies d'extraction, de transformation et de formulation des composants de la biomasse, permettant ainsi d'effectuer toutes les étapes d'un projet innovant depuis le laboratoire jusqu'au développement industriel en s'inscrivant dans une perspective de développement durable. Les principaux thèmes développés concernent : les bioénergies, les agro-matériaux, les biomolécules ou les ingrédients végétaux.

L'Institut de Chimie Moléculaire de Reims (I.C.M.R.) est largement impliqué depuis plusieurs années dans les programmes de recherche régionaux concernant les agro-ressources. Plusieurs équipes de recherche ont montré leurs compétences, leur dynamisme ainsi que leur motivation dans ce domaine, en particulier, par l'élaboration du contrat d'objectifs Glycoval (2000-2006) qui a concerné la valorisation des glucides issus des coproduits des agro-ressources régionales (pentoses issus de l'hydrolyse des hémicelluloses de la paille, du son de blé et acide L-tartrique issu de l'industrie vinicole), sans oublier le programme PentoRaf (Contrat de projets Etat-Région 2007-2013) qui vise la valorisation des molécules issues de la biomasse lignocellulosique : pentoses (xylose et arabinose), furfural, ou certains acides tels que l'acide D-galacturonique, itaconique, malique, succinique...

Ces projets de recherche ont permis la mise en place de plusieurs collaborations entre les chimistes organiciens et inorganiciens pour la conception et la synthèse de nouvelles molécules, et l'étude conjointe de leurs propriétés physicochimiques et complexantes.

Ainsi, une première collaboration fructueuse avait été mise en place lors du programme d'objectifs « Glycoval » entre deux équipes, d'une part celle du Pr. C. Portella et R. Plantier-Royon de l'ancien groupe « Réactions Sélectives et Applications » (RSA) et d'autre part celle du Pr. M. Aplincourt et L. Dupont de l'ancien groupe « Groupe de Recherche en Chimie Inorganique » (GRECI), qui concernait la synthèse et l'étude des propriétés complexantes de ligands bisamides dérivés de l'acide tartrique.<sup>1</sup>

Dans le prolongement de ces travaux, nous souhaitons à présent étudier de nouvelles voies de valorisation d'un autre composé issu de la biomasse : l'acide D-galacturonique.

Plus précisément, mon projet de recherche consistera à synthétiser de nouveaux ligands amphiphiles dérivés de l'acide D-galacturonique, puis à étudier les propriétés physico-chimiques ainsi que les propriétés complexantes de ces ligands. La synthèse des ligands devra respecter au maximum les principes fondamentaux de la chimie verte (nombre d'étapes de synthèse minimal et utilisation de techniques éco-compatibles).

Une des premières applications visées consiste en l'élaboration de molécules pouvant activer certains processus enzymatiques tels que la catécholase ou la tyrosinase. Ces enzymes à cuivre jouent un rôle dans l'initiation de la chaîne de production des mélanines responsables du brunissement de la peau, des yeux et des cheveux. Des travaux ont montré qu'un apport exogène de cuivre a permis de démontrer une augmentation de l'activité de la tyrosinase,<sup>2</sup> et de favoriser ainsi le déclenchement du cycle de la mélanogénèse. Certaines formulations contenant des chélatants et des sels de cuivre ont été identifiées comme activateurs de la tyrosinase. Leur efficacité est attribuée à la capacité des ligands à acheminer les ions Cu (II) jusqu'aux sites enzymatiques.

Nos objectifs s'appuient sur ces observations, il s'agit de synthétiser des complexants spécifiques des ions Cu (II) permettant une vectorisation directe du métal à travers les différentes couches de l'épiderme pour activer ces processus enzymatiques. Ce projet est en accord avec la société Agro-industrie Recherches et Développement A.R.D., impliquée via sa filiale SOLIANCE, dans le développement de nouveaux agents auto-bronzants.

Ainsi, notre travail vise la préparation de ligands comportant :

---

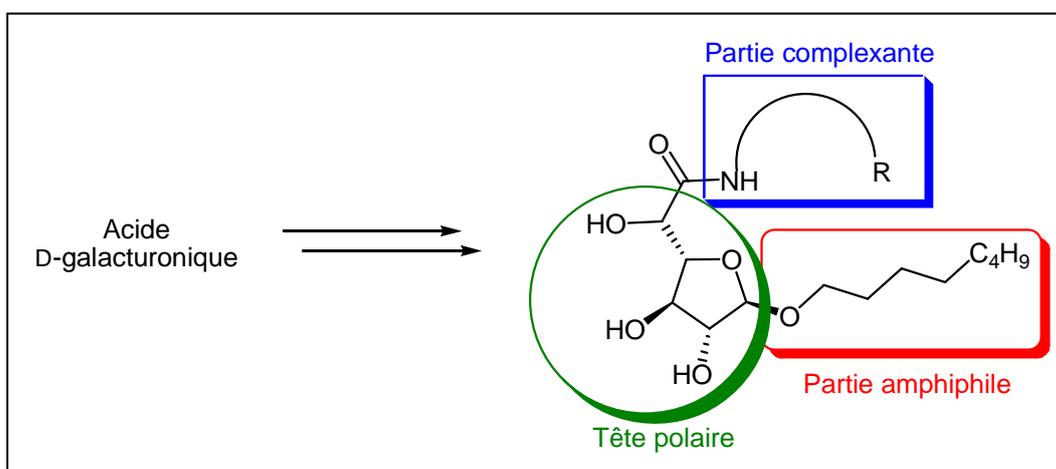
<sup>1</sup> (a) Tounsi, N.; Dupont, L.; Mohamadou, A.; Cadiou, C.; Aplincourt, M.; Plantier-Royon, R.; Massicot, F.; Portella, C. *New. J. Chem.* **2004**, *28*, 785. (b) Tounsi, N.; Dupont, L.; Mohamadou, A.; Aplincourt, M.; Plantier-Royon, R.; Massicot, F.; Harakat, D.; Portella, C. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 2423. (c) Tounsi, N.; Dupont, L.; Mohamadou, A.; Aplincourt, M.; Plantier-Royon, R.; Massicot, F.; Portella, C. *Actual. Chim.* **2006**, *293*, 12. (d) Tounsi, N.; Dupont, L.; Guillon, E.; Aplincourt, M. *Inorg. Chim. Acta.* **2007**, *360*, 2598.

<sup>2</sup> Gupta, S. K. *Skin darkening (sunless tanning) compositions based on enhancement of melanin synthesis by tyrosinase promoters*. Etats Unis, US 2005/0175556 A1. **2005-08-11**.

- une tête polaire hydrophile à base d'acide D-galacturonique,
- une chaîne lipophile sur la position anomérique du sucre,
- une partie complexante comportant des atomes donneurs sur la position 6 du sucre.

Ces composés amphiphiles permettront la formation d'auto-assemblages moléculaires, ainsi que la chélation, puis la vectorisation des ions métalliques à travers l'épiderme afin d'activer la tyrosinase et la catéchol oxydase.

La structure générale des molécules ciblées est décrite sur le schéma suivant.



Transformation faisant l'objet du projet de valorisation de l'acide D-galacturonique

1<sup>er</sup> Chapitre : Acide D-galacturonique, une ressource naturelle abondante à valoriser

*ACIDE D-GALACTURONIQUE, UNE RESSOURCE NATURELLE  
ABONDANTE A VALORISER*



## **I L'acide D-galacturonique, une ressource naturelle abondante à valoriser**

Le sujet de ma thèse concerne le développement de nouvelles voies de valorisation de l'acide D-galacturonique, composant essentiel des pectines, qu'on retrouve en particulier dans les pulpes de betteraves. Ce co-produit de l'industrie sucrière est une matière première abondante, bon marché, multifonctionnelle et qui est peu valorisée à l'heure actuelle.

Je commencerai tout d'abord par détailler la provenance de l'acide D-galacturonique à partir des pectines présentes dans les pulpes de betteraves.

### **I-1) Généralités sur les betteraves et les pulpes de betterave**

La betterave est une plante cultivée pour sa racine charnue utilisée comme légume dans l'alimentation humaine, comme plante fourragère, et pour la production du sucre. Il existe trois types de betteraves : la betterave sucrière qui est riche en sucre, de couleur blanche et très enterrée (Figure I-1), la betterave fourragère qui existe sous différentes couleurs et qui est classée principalement selon sa teneur en matière sèche, et enfin la betterave potagère également appelée betterave rouge, carotte rouge ou racine rouge.



*Figure I-1 : Betterave sucrière*

La production de betterave (à 16 % de teneur en sucre) en France se situe autour de 29,5 millions de tonnes, générant ainsi pour les producteurs français un chiffre d'affaire d'environ 750 millions d'euros.<sup>3</sup>

La France occupe la première place mondiale en production de sucre alimentaire avec 2,960 millions de tonnes, dont environ 1 million sont exportées au sein de l'union européenne.

---

<sup>3</sup> Portail de la betterave, *Site de la betterave.com*, <http://www.labetterave.com>, page consultée le 08 Juillet 2009.

La région Champagne-Ardenne et la région Picardie sont deux grandes régions françaises productrices de betteraves à sucre avec une contribution d'environ 50 % de la production nationale.

Ainsi, cette grande production en betterave à sucre permet à la France de subvenir, aux besoins de consommation de sucre alimentaire dans le pays, à la production nationale d'alcool, ainsi qu'aux besoins des industries chimiques et pharmaceutiques en France.

La transformation industrielle des betteraves consiste essentiellement à en extraire un jus sucré qui deviendra du sucre ou de l'alcool. Cette opération entraîne l'apparition d'un co-produit dénommé « pulpe de betterave ». Celui-ci représente un tonnage important puisque le traitement d'une tonne de betteraves produit environ 500 kg de pulpe (à 90% d'humidité).

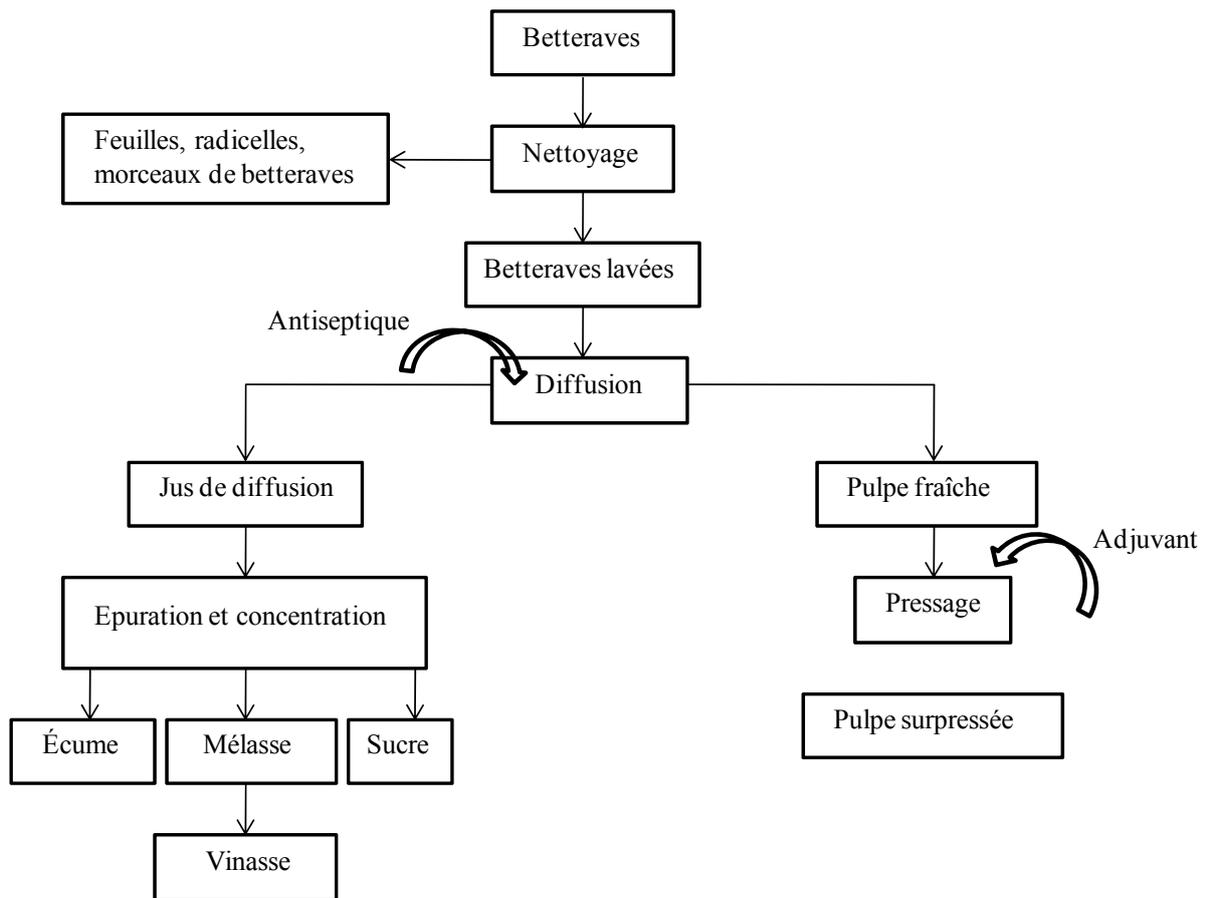
Actuellement ce co-produit est valorisé essentiellement dans le domaine de l'alimentation animale (chevaux, moutons, bœufs...) grâce à ses propriétés particulières :

- ✓ une bonne digestibilité d'environ 85% grâce à ses parois cellulaires peu lignifiées,
- ✓ une forte valeur énergétique provenant pour une bonne part de la richesse en composés glucidiques digestibles (cellulose, hémicelluloses, pectines..),
- ✓ apport d'acides aminés indispensables tels la lysine et la thréonine, ainsi qu'une bonne partie de protéines directement absorbée par l'intestin.

La pulpe peut également être valorisée à d'autres fins :

- ✓ c'est une source importante de pectines, utilisées en cosmétique ou pour le traitement des effluents,
- ✓ les différents acides constitutifs des pectines sont la matière de base pour la synthèse de tensio-actifs biodégradables,
- ✓ de la vanilline naturelle peut être obtenue par transformation de la pulpe,
- ✓ on peut l'utiliser également en surpressée ou déshydratée dans l'industrie papetière,
- ✓ comme « déchet » ultime, la pulpe peut être épandue ou brûlée.

Le processus général d'obtention des pulpes de betteraves est illustré dans le schéma suivant (Schéma I-1) :



*Schéma I-1 : Processus de production des pulpes de betteraves*

En premier lieu, les betteraves sont lavées afin de les débarrasser des résidus de terre qui augmentent la teneur en matière minérale de la pulpe, et diminuent ainsi sa qualité.

Après le lavage, les betteraves sont découpées en cossettes (fines lanières). Puis, le sucre contenu dans les cellules de la betterave est alors extrait à l'eau chaude selon le principe de « diffusion ». Outre un jus brut contenant le sucre et des impuretés, il en résulte la pulpe fraîche qui ne contient que 2 à 4% de sucre par kilogramme de matière sèche.

La diffusion s'effectue à des températures élevées de l'ordre de 60 à 70 °C, ce qui peut favoriser le développement de micro-organismes indésirables. Il est alors parfois nécessaire d'apporter au cours de ce processus un agent antiseptique.

Afin de favoriser le pressage des pulpes, il est de pratique courante d'ajouter des adjuvants tels des sulfates d'aluminium et/ou de calcium qui, en se liant aux pectines, permettent de rigidifier les parois cellulaires et d'augmenter le rendement de l'opération.

## **I-2) Les pectines**

### **I-2-1) Définition**

Le nom « pectine » (du grec pektos signifiant « prise en gelée » en grec) a été attribué en 1825 par le chimiste français Henri Braconot aux substances extraites de fruits et qui gélifient en milieu sucré et acide. Depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle, les pectines sont produites industriellement et utilisées comme agent gélifiant des denrées alimentaires (N° de code européen : E440).

### **I-2-2) Structure et propriétés physicochimiques des pectines**

Les pectines sont des polyosides complexes (pKa 3-4) d'un poids moléculaire situé entre 50000 et 150000 Da (Tableau I-1) entrant dans la composition des parois cellulaires de la plupart des végétaux supérieurs.<sup>4</sup> Elles sont majoritairement présentes dans la lamelle moyenne de la paroi primaire. Elles participent à la cohésion de la cellule et au maintien des parois par le biais d'interactions mécaniques et chimiques avec les autres constituants de la paroi.<sup>5</sup> La quantité de substances pectiques dans le végétal varie fortement en fonction de son origine botanique et de son histoire (mode de culture, période de croissance...). Bien que les pectines puissent être extraites d'un grand nombre de végétaux, les sources industrielles principales sont le marc de pomme et les écorces d'agrumes (citron, orange).

Le tableau suivant illustre à titre indicatif les différentes estimations de la masse molaire moyenne en poids ( $M_w$ ) trouvées dans la littérature pour des échantillons de pectines de provenances différentes en utilisant des techniques analytiques différentes.<sup>6</sup>

---

<sup>4</sup> Whistler, R. L.; BeMiller, J. N. *Pectins*, dans *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*, Eagan Press, St. Paul, Minnesota, **1997**, 203.

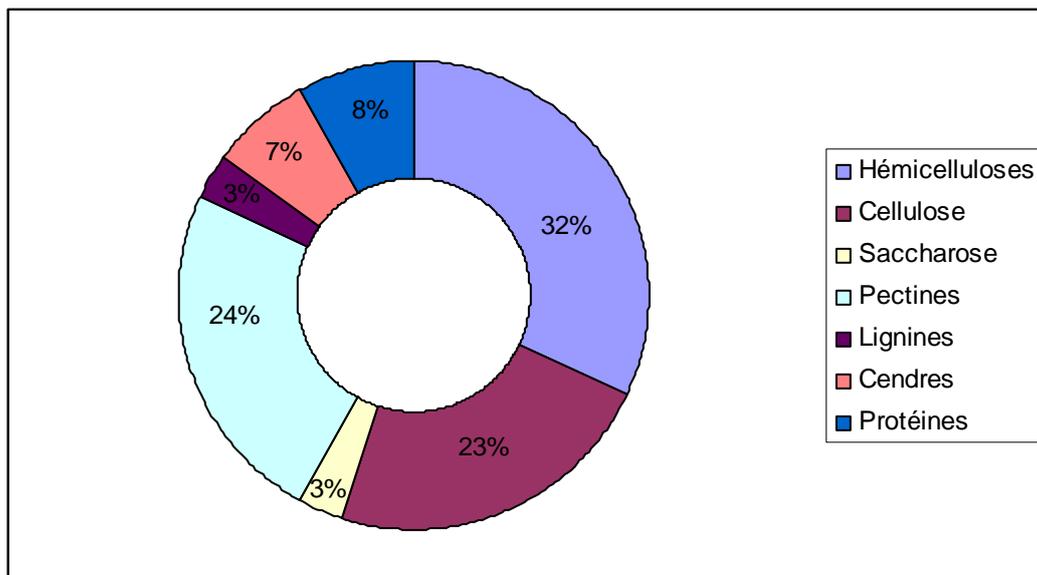
<sup>5</sup> Sakai, T.; Sakamoto, T.; Hallaert, J.; Vandamme E. J. *Adv. Appl. Microbiol.* **1993**, 39, 213.

<sup>6</sup> Donato, L. *Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques*, Thèse de l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires, **2004**.

*Tableau I-1 : Exemples de masses molaires moyennes mesurées pour différentes pectines*

Origine	M <sub>w</sub> (kDa)	Technique analytique	Source
Betterave	10 à 25	Chromatographie d'exclusion stérique	Courtois et <i>al.</i> , 2002 <sup>7</sup>
Pomme	70	Diffusion de la lumière	Malovikova et <i>al.</i> , 1993 <sup>8</sup>
Pomme	34,8	Chromatographie d'exclusion stérique	Malovikova et <i>al.</i> , 1993 <sup>8</sup>
Citron	21 à 250	Diffusion de la lumière	Ousalem et <i>al.</i> , 1993 <sup>9</sup>
Citron	32 à 336	Chromatographie d'exclusion stérique	Ousalem et <i>al.</i> , 1993 <sup>9</sup>
Orange	84,5 à 102,8	Diffusion de la lumière	Kar et Arslan, 1999 <sup>10</sup>

La composition moyenne des pulpes de betteraves est représentée sur la figure suivante :



*Figure I-2 : Composition moyenne des pulpes de betteraves résiduelles*

Les pulpes de betterave contiennent 24% de substances pectiques qui constituent donc l'un des trois composants majoritaires des pulpes des betteraves avec la cellulose et l'hémicellulose.

D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau. Plusieurs effets bénéfiques pour la santé ont été

<sup>7</sup> Courtois, J.; Sasia, G. *AVH Association 9<sup>th</sup> Symposium*, Reims, **Mars 2002**.

<sup>8</sup> Malovikova, A.; Rinaudo, M.; Milas, M. *Carbohydr. Polym.* **1993**, *22*, 92.

<sup>9</sup> Ousalem, M.; Busnel, J. P.; Nicolai, T. *Int. J. Biol. Macromol.* **1993**, *15*, 209.

<sup>10</sup> Kar, F.; Arslan, N. *Carbohydr. Polym.* **1999**, *40*, 277.

rapportés, en particulier l'élimination des métaux lourds et la diminution du taux de cholestérol plasmatique.<sup>11</sup>

La structure chimique des pectines est variable selon la source, la localisation et la méthode d'extraction.<sup>12</sup> Cependant, le modèle communément admis présente la pectine comme une chaîne principale d'acide galacturonique (200 à 1000 unités), dans laquelle s'intercale régulièrement des molécules de rhamnose (1 à 4%) pour former des coudes pectiques.

La proportion d'acide D-galacturonique est variable selon l'espèce végétale considérée et il convient de noter que pour une même espèce, la concentration mesurée dépend de la méthode d'extraction employée.<sup>13</sup>(Tableau I-2).

*Tableau I-2 : Composition en sucre des pectines de betteraves « Résultats donnés en pourcentage molaire »*

Sucres	Extraction des pectines en milieu :			
	aqueux neutre	oxalate	acide	basique
GalA	80	92	77	72
Rha + Fuc	1,08	1,20	2,65	3,35
Ara	11,33	2,68	13,11	14,66
Xyl	0,20	0,26	0,23	0,27
Man	0,19	0,16	0,13	0
Gal	7,10	3,07	6,35	7,75
Glc	0,43	0,28	0,34	0,29

*GalA : Acide D-galacturonique, Rha : L-rhamnose, Fuc : L-fucose, Ara : L-arabinose, Xyl : D-xylose, Man : D-mannose, Gal : D-galactose, Glc : D-glucose*

Une représentation schématique de la structure des pectines dévoile la présence de deux régions, la première dite région « lisse » homogalacturonique, et la seconde « chevelue » contenant les parties rhamnogalacturoniques (Figure I-3).

<sup>11</sup> Voragen, A.; Thibault, J. F.; Pilnik, W.; Axelos, M. A. V.; Renard, C. M. G. C. **1995**, *Pectins*, dans *Food Polysaccharides and their Applications*. Editeur : Stephen, A. M.; NewYork; Marcel Dekker : 287.

<sup>12</sup> Thakur, B. R.; Rakesh, K. S.; Handa, K. H. *Critical Reviews in Food Science and nutrition* **1997**, 37, 47.

<sup>13</sup> Rhombouts, F. M.; Thibault, J. F. *Carbohydr. Res.* **1986**, 154, 189.

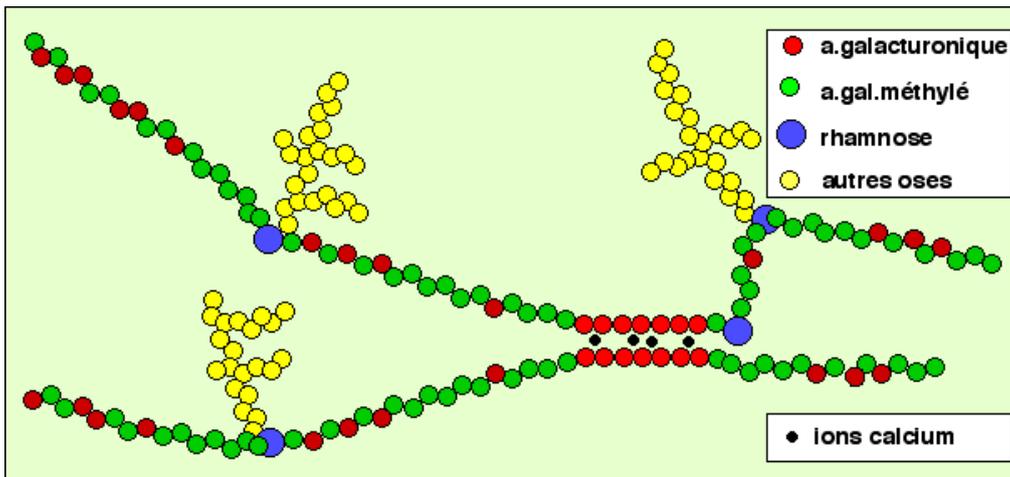


Figure I-3 : Représentation schématique des zones « lisses » et « chevelues » des pectines

La chaîne principale des pectines est constituée d'unités acides  $\alpha$ -D-galacturonique liées entre elles par des liaisons  $\alpha$ -(1,4). Certains de ces monomères d'acide galacturonique sont présents sous forme d'esters méthyliques. Les fonctions hydroxyles secondaires (en position O-2 et O-3), peuvent être estérifiées par l'acide acétique. On définit le degré de méthylation « DM » comme étant le rapport entre les carboxylates méthylés et le nombre total des carboxyles présents. De même, on définit le degré d'acétylation « DAC » comme étant le pourcentage de résidus galacturosyloxy estérifiés par un groupement acétyle.

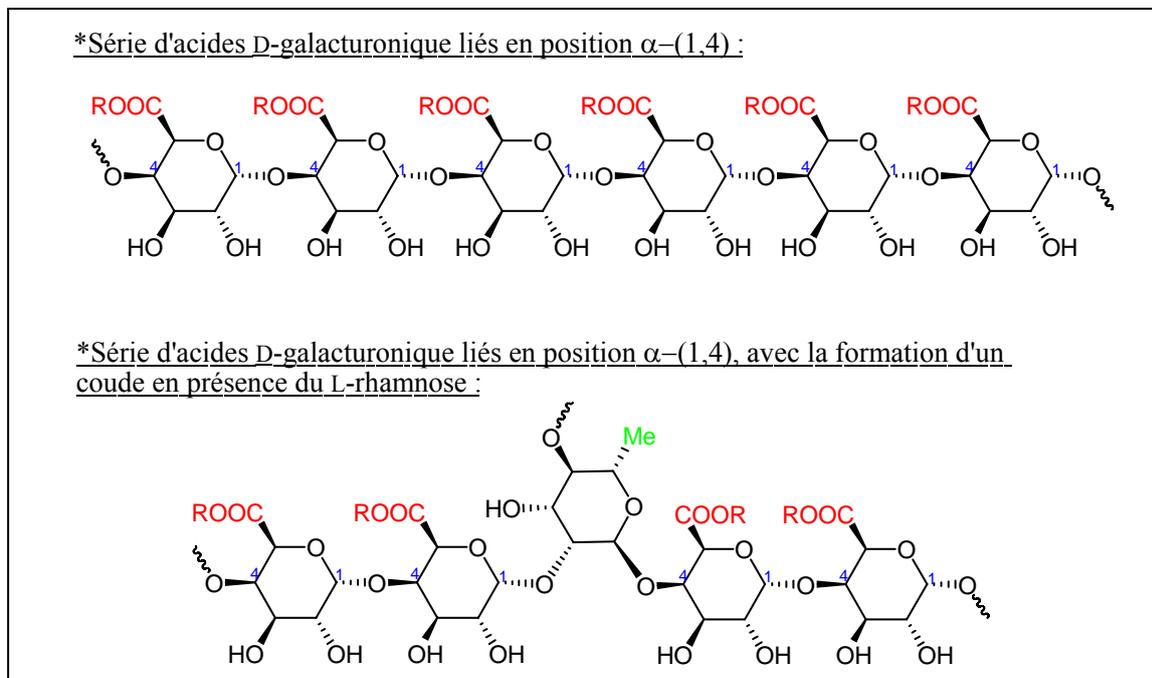


Schéma I-2 : Deux séries de chaînes majoritairement rencontrées dans les substances pectiques

Les fonctions esters méthyliques jouent un rôle majeur dans les propriétés des pectines. On distingue ainsi deux grandes catégories :

- les pectines hautement méthylées « HM » (High methoxyl), ayant un DM > 50, majoritairement présentes dans la nature.
- les pectines faiblement méthylées « LM » (Low methoxyl), ayant un DM < 50, qui sont obtenues à partir des pectines HM par différentes réactions chimiques.

La chaîne rhamnogalacturonique est constituée par un enchaînement répétitif de deux unités polyosidiques : (1-2) L-rhamnosyle- (1-2)-acide-D-galactosyluronique.<sup>14</sup>

De nombreux oses peuvent se lier sur les résidus rhamnosyle en O-4 ou sur les chaînes galacturoniques. La proportion des résidus rhamnosyles branchés varie suivant la provenance des pectines. On retrouve principalement trois oses majoritaires (L-arabinose, D-galactose et D-xylose), et d'autres minoritaires (D-glucose, D-mannose, L-fucose, acide D-glucuronique).

Le D-galactose et le L-arabinose donnent lieu à de longues chaînes latérales. L'arrangement moléculaire entre les divers composés pectiques entre eux est résumé dans la figure suivante.

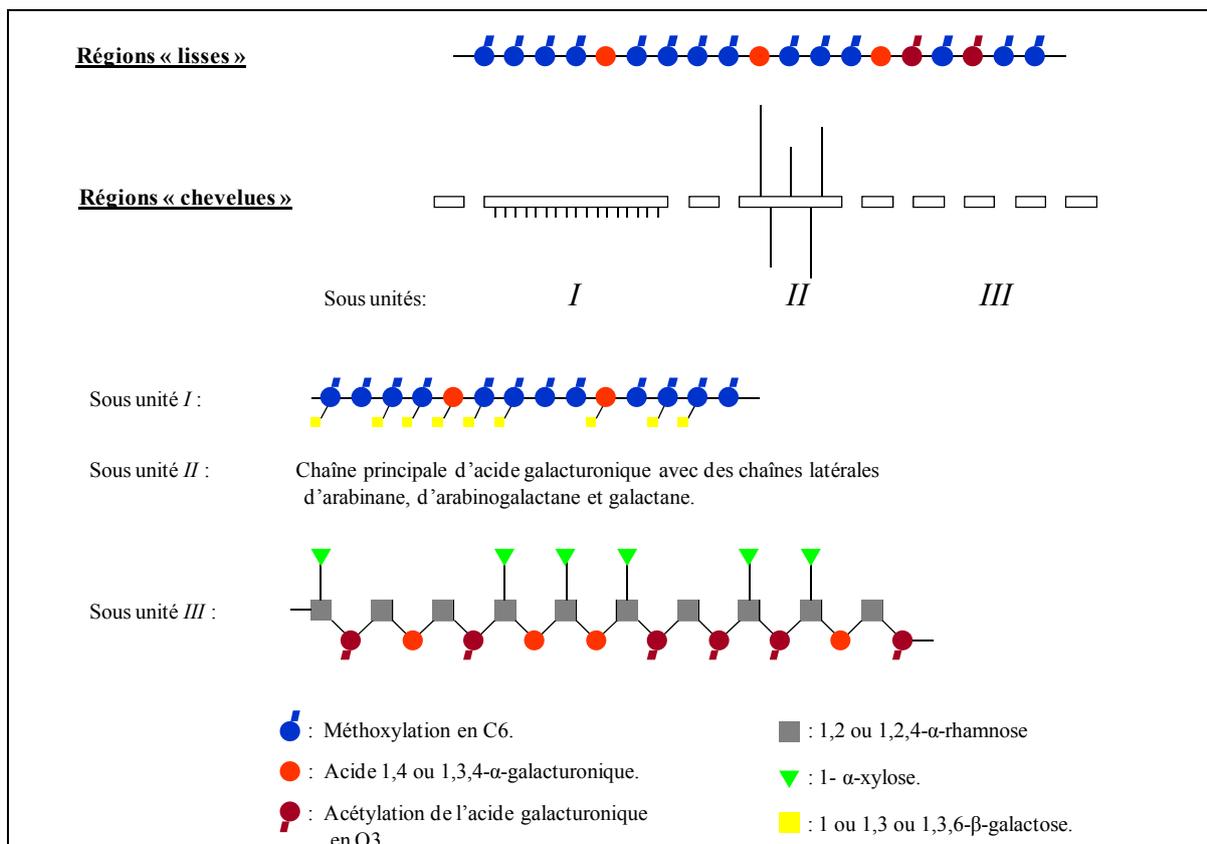


Figure I-4 : Composition chimique des différentes parties structurales de la chaîne pectique

<sup>14</sup> Lau, J.; McNeil, M.; Darvill, A. G.; Alberstsheim, P. *Carbohydr. Res.* **1985**, *137*, 111.

Ces structures sont stables dans les zones de pH comprises entre 3 et 4. En dehors de cette zone de pH, elles subissent différentes transformations :

- À pH < 2, la pectine se décompose en gaz carbonique, en furfural et en d'autres produits de dégradation.
- Entre pH 2 et 3, les groupements méthoxyles et acétyles sont éliminés et les sucres neutres hydrolysés.
- À pH neutre, les pectines subissent une dépolymérisation liée à l'hydrolyse des liaisons glycosidiques.<sup>11</sup>
- en milieu alcalin, les groupements esters de la pectine sont saponifiés.

### **I-2-3) Obtention de l'acide D-galacturonique par hydrolyse des substances pectiques**

L'hydrolyse des substances pectiques permet la libération des unités d'acide D-galacturonique. Elle peut se faire soit par un processus chimique soit par un processus enzymatique.

#### **I-2-3-1) Hydrolyse chimique des substances pectiques**

##### I-2-3-1-a) Hydrolyse acide

L'hydrolyse acide des pectines conduit de façon conjointe à une déprotection des groupements méthoxyles et à une dépolymérisation partielle. Le degré d'estérification des pectines passe de 83 à 60% en milieu acide (pH = 1) à 85 °C en 90 minutes.<sup>15</sup> Il faut noter que la présence des groupements esters méthyliques facilite la dépolymérisation des acides galacturoniques.<sup>16</sup>

##### I-2-3-1-b) Hydrolyse alcaline

Le traitement basique des substances pectiques permet également leur dépolymérisation, qui résulte dans ce cas d'une  $\beta$ -élimination, accompagnée de la formation d'acide galacturonique insaturé au niveau des carbones 4 et 5 de l'entité pyranosique (Schéma I-3).

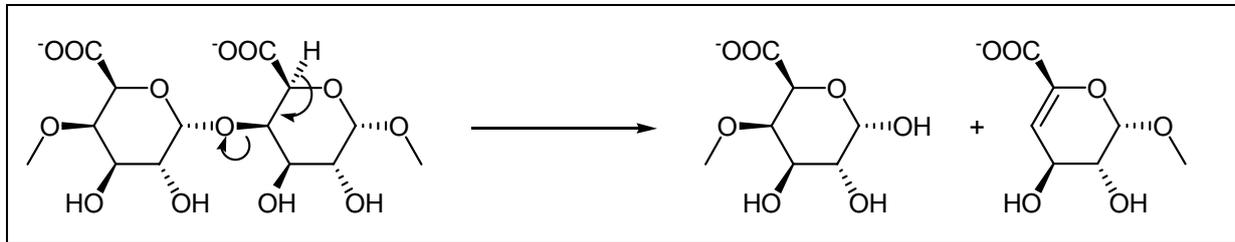
La réaction de  $\beta$ -élimination se produit préférentiellement dans une région de la chaîne rhamnogalacturonane où la densité des groupements esters méthyliques est relativement élevée, c'est-à-dire où la densité des charges négatives est faible.<sup>17</sup> L'hydrolyse peut être

<sup>15</sup> Doesburg J. J. *Pectic substances in fresh and preserved fruits and vegetables*, 1965, I. B. V. T. Commun.; 25, Institute for research on storage and processing of horticultural produce; p 40-50; Wageningen, Pays-Bas.

<sup>16</sup> Albersheim, P. *Sci. Am.* 1975, 3, 81.

<sup>17</sup> Kiss, J. *Adv. Carb. Chem. Biochem.* 1974, 29, 230.

inhibée par la déméthylation du substrat. Grâce à la petite taille des ions hydroxydes, l'attaque ne peut pas être gênée par les chaînes latérales ou par les autres substituants.



*Schéma I-3 : Hydrolyse alcaline des pectines*

### **I-2-3-2) Hydrolyse enzymatique des substances pectiques**

Les enzymes pectinolytiques catalysent l'hydrolyse des substances pectiques, elles sont divisées en deux grandes catégories : les pectinestérases et les dépolymérases.<sup>18</sup>

Les pectinestérases et les pectines méthylestérases sont des enzymes de saponification qui hydrolysent les fonctions esters méthyliques en libérant du méthanol et en formant des pectates. Elles sont inhibées par les groupes acides qu'elles produisent, cette rétroinhibition peut être levée par addition de cations divalents.<sup>19</sup>

Les dépolymérases produisent une dépolymérisation des pectines, en agissant au niveau des liaisons  $\alpha$ -(1,4) des unités d'acides galacturoniques soit par hydrolyse (galacturonase), soit par  $\beta$ -élimination (lyase).

La classification des enzymes de dépolymérisation repose sur trois critères (*Tableau I-3*).

- Le substrat préférentiel,
- Le mode d'action : endoenzyme (action au hasard) ou exoenzyme (action récurrente à partir de l'extrémité réductrice du substrat),
- Et le type de réaction mise en jeu : hydrolyse ou  $\beta$ -élimination.

<sup>18</sup> Rombouts, F. M.; Thibault, J. F. dans *Economic Microbiology*, **1980**, Vol 5, Ed Rose, A. H.; Academic Press, N-Y.

<sup>19</sup> Baron, A., *Contribution à l'étude du mécanisme d'action de la pectinestérase d'Aspergillus niger*, **1978**, Thèse de doctorat de l'université de Rennes.

*Tableau I-3 : Classification des enzymes pectinolytiques dépolymérisantes selon Neukom<sup>20</sup>*

Réaction mise en jeu	Substrat préférentiel	Mode d'action	
		Hasard	Terminal
Hydrolyse	Acide polygalacturonique	Endopolygalacturonase	Exopolygalacturonase
	Pectine	Endopolyméthylgalacturonase	
$\beta$ -élimination	Acide polygalacturonique	Endopectate lyase	Exopectate lyase
	Pectine	Endopectine lyase	Exopectine lyase

### **I-3) Acide D-galacturonique : propriétés et applications**

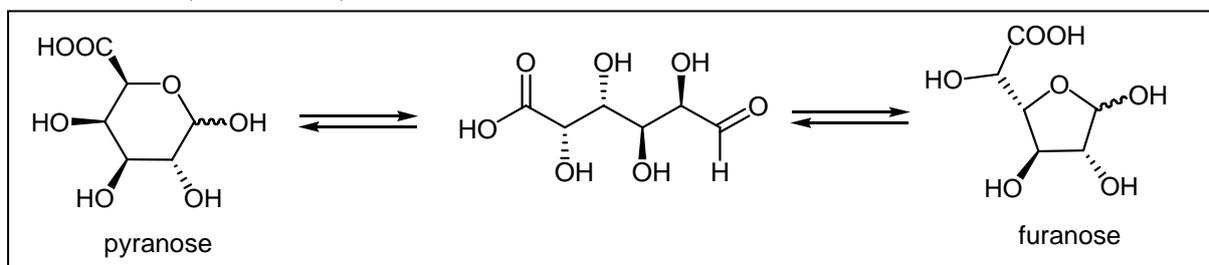
#### **I-3-1) Généralités sur l'acide D-galacturonique**

Le caractère polyfonctionnel de l'acide D-galacturonique rend cette molécule très attractive pour un chimiste de synthèse. Cependant, la présence du groupement carboxyle induit une réactivité particulière pour ce composé, assez différente de celle des aldoses ou cétooses classiques.

Quelques caractéristiques chimiques de l'acide D-galacturonique sont décrites ci-dessous.

#### **I-3-1-1) Les équilibres tautomériques de l'acide D-galacturonique en solution**

L'acide D-galacturonique peut se présenter comme les sucres réducteurs à l'état libre, sous deux formes anomères  $\alpha$  et  $\beta$ . D'autre part, en solution il s'établit un équilibre de tautomérisation entre les formes pyranosique et furanosiques conduisant ainsi à un mélange de 4 isomères (Schéma I-4).



*Schéma I-4 : Isomérisation de l'acide D-galacturonique en solution*

<sup>20</sup> Neukom, H. *Schweitz. Landwirtsch. Forsch.* **1963**, 2, 112.

L'isomérisation de l'acide D-galacturonique a fait l'objet d'une étude par RMN menée par l'équipe de Plusquellec<sup>21</sup> dans différents solvants. Les déplacements chimiques ainsi que les constantes de couplage des protons des différentes formes existantes ont été déterminés en solution. Les valeurs correspondantes sont reportées dans le tableau ci-dessous.

*Tableau I-4 : Déplacements chimiques et constantes de couplage des protons anomériques des différentes formes isomères de l'acide D-galacturonique*

Solvant		Forme pyranosique		Forme furanosique	
		$\alpha$	$\beta$	$\alpha$	$\beta$
D <sub>2</sub> O	$\delta$ (ppm)	5,27	4,56	5,21	5,16
	$^3J_{H1-H2}$ (Hz)	3,8	7,9	4,8	3,6
DMSO-d <sub>6</sub>	$\delta$ (ppm)	4,99	4,26	4,95	4,88
	$^3J_{H1-H2}$ (Hz)	3,2	7,5	4,5	3,4

A partir de ces données, une étude visant le suivi de l'isomérisation de l'acide D-galacturonique en fonction du temps et de la nature de solvant a été réalisée, les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

*Tableau I-5 : Pourcentage des différentes formes isomères de l'acide D-galacturonique en fonction du temps et du solvant*

Solvant	Temps	Forme pyranosique		Forme furanosique	
		$\alpha$	$\beta$	$\alpha$	$\beta$
D <sub>2</sub> O	10 min	55	40	2	3
	24 heures	40	50	4	6
DMSO-d <sub>6</sub> ou DMF-d <sub>7</sub>	10 min	90	3	1	6
	24 heures	20	20	15	45

Ces résultats laissent supposer que l'acide D-galacturonique:

- s'anomérisé très rapidement dans D<sub>2</sub>O alors que l'équilibre tautomère reste très favorable aux formes pyranosiques,

<sup>21</sup> Bertho, J.-N. *Glycosylations sélectives à partir d'acides uroniques libres: Applications à la synthèse de nouvelles molécules amphiphiles*, 1994, Thèse de doctorat de l'université de Rennes 1.

- s'anomérise et s'isomérise en formes furanosiques majoritaires dans les solvants aprotiques polaires tels que le DMSO ou encore le DMF.

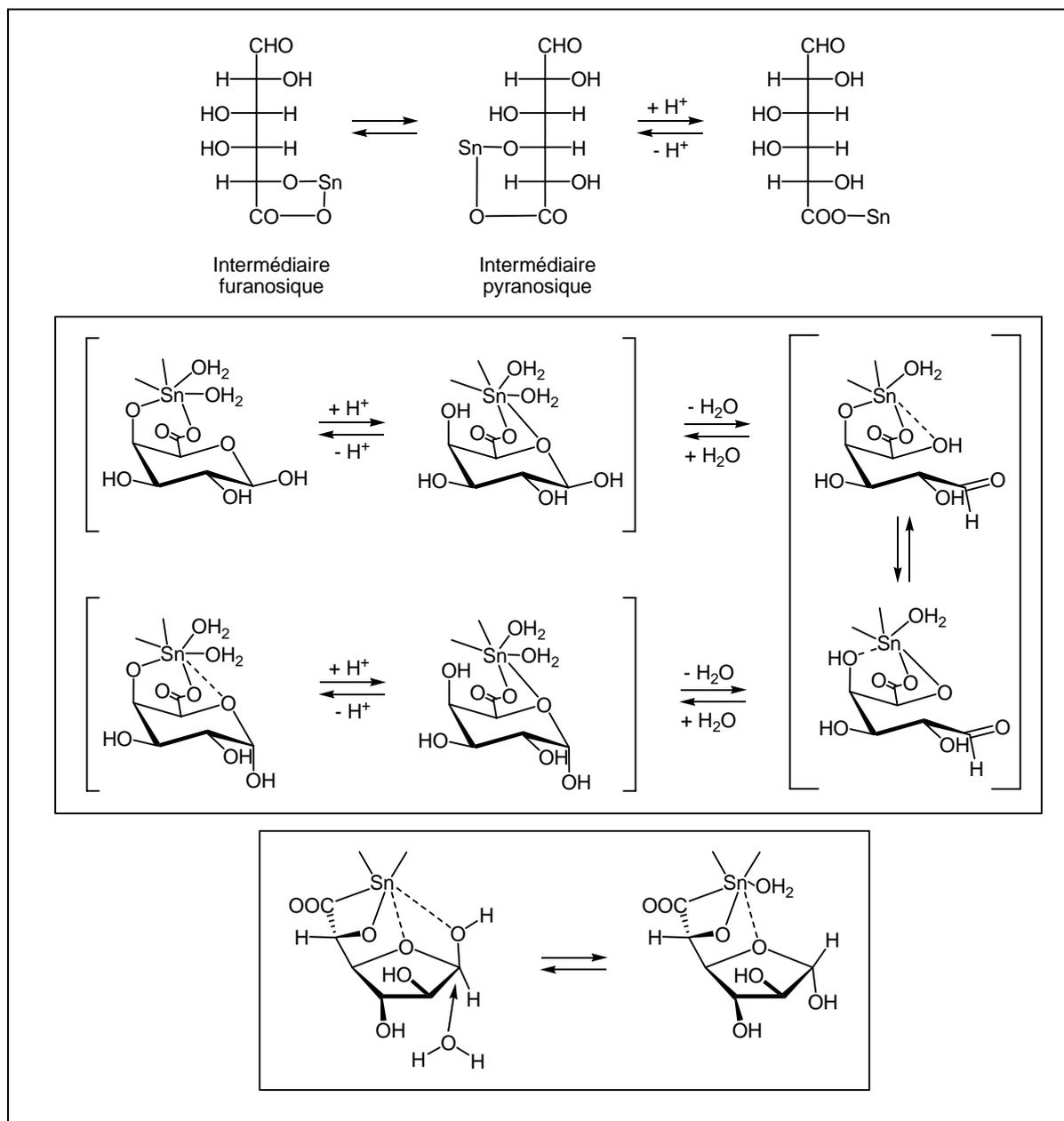
D'autre part, des études similaires réalisés en RMN <sup>13</sup>C dans la pyridine, le méthanol et le THF deutérés ont montré que l'acide D-galacturonique s'isomérise beaucoup plus rapidement dans ces solvants pour conduire à des mélanges des quatre formes isomères.

Le suivi cinétique des quatre formes isomères des dérivés de sucre s'avère souvent difficile à réaliser<sup>22</sup> pour plusieurs raisons. La difficulté persistante lors du suivi des réactions multiples et simultanées qui génèrent différentes formes dans le milieu avec des concentrations différentes, et aussi la cinétique ouverture – fermeture de cycle, avec l'existence possible de plusieurs conformations de sucre qui rendent le système encore plus complexe. La coordination des sucres avec un métal peut s'avérer importante pour l'étude et l'analyse cinétique du phénomène d'anomérisation.

A titre d'exemple, nous reportons les résultats d'une étude effectuée par l'équipe de Grasso<sup>23</sup> sur le suivi cinétique de l'anomérisation de l'acide D-galacturonique en présence des ions étain (IV) en fonction du pH. Dans ce cas, un mécanisme de mutarotation a été proposé pour les formes pyranosiques ainsi que les formes furanosiques présentes à pH 4,5 dans le milieu (Schéma I-5).

<sup>22</sup> (a) Sneyder, G. R.; Serianni, A. S. *Carbohydr. Res.* **1991**, *210*, 21. (b) Sneyder, G. R.; Serianni, A. S. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2694.

<sup>23</sup> Rotondo, A.; Rotondo, E.; Casella, G. A.; Grasso, G. *Dalton Trans.* **2008**, 596.



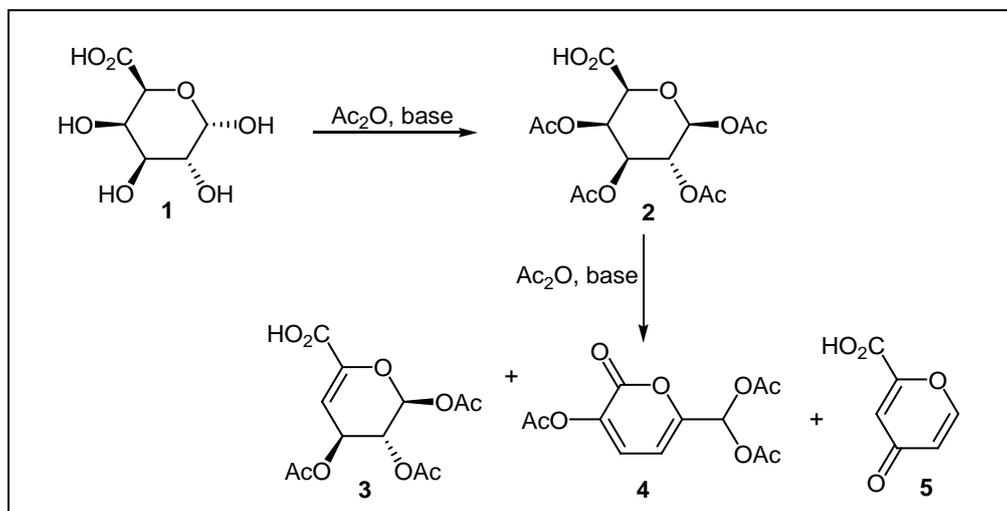
*Schéma I-5 : Mécanisme supposé pour la mutarotation ( $\alpha/\beta$ ) pyranose, et ( $\alpha/\beta$ ) furanose en présence des ions Sn (IV)*

**I-3-1-2) Etude de dégradation de l'acide D-galacturonique dans l'anhydride acétique en présence de base**

Une étude de dégradation de l'acide D-galacturonique dans l'anhydride acétique en présence d'une base a été réalisée en 1985 par Tajima.<sup>24</sup> Cette étude a montré qu'en plus du produit peracétylé **2**, différents produits de dégradation sont obtenus en fonction de la température, du

<sup>24</sup> Tajima, K. *Chem. Lett.* **1985**, 49.

temps et de la base utilisée pour cette transformation (Schéma I-6). Le tableau suivant résume les résultats obtenus lors de cette méthodologie :



*Schéma I-6 : Dégradation de l'acide D-galacturonique dans un système anhydride acétique /  
base*

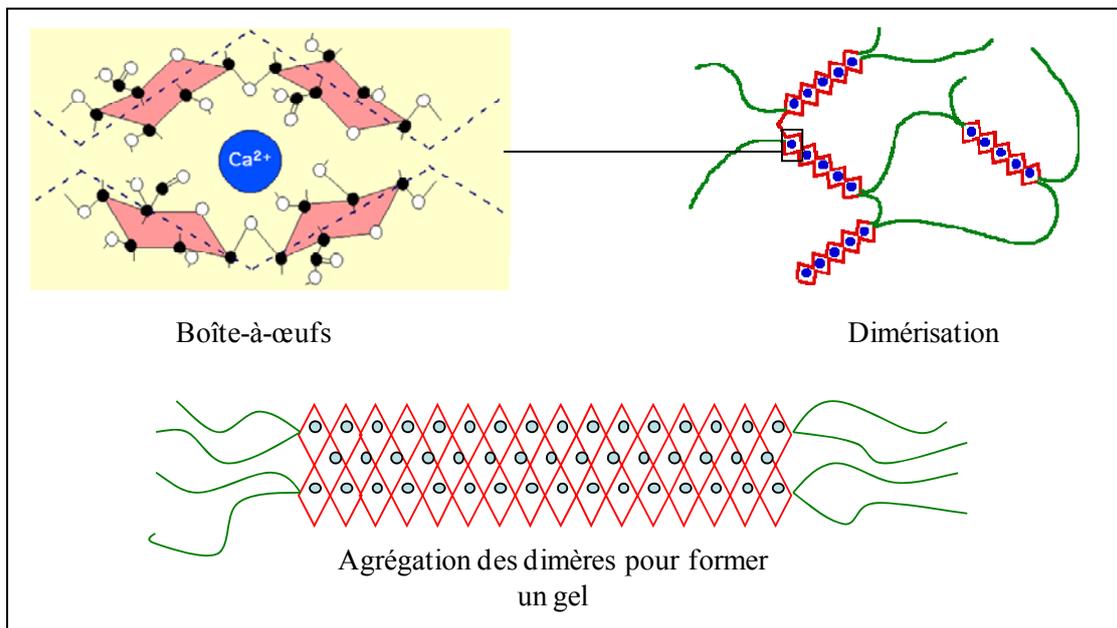
*Tableau I-6 : Produits issus de la dégradation de l'acide D-galacturonique dans l'anhydride acétique en fonction de la base, du temps et de la température*

Base	Produit de départ	T (°C)	Temps (h)	Rendement (%)		
				3	4	5
Et <sub>3</sub> N	1	T.A	24	11,1	7,0	-
	1	T.A	24	94,5	Traces	-
	1	100	25	Traces	37,0	Traces
Et <sub>3</sub> N	2	T.A	24	82,0	5,7	-

### **I-3-2) Etudes de complexation de l'acide D-galacturonique par les ions métalliques**

Le calcium est le principal ion utilisé pour la gélification des pectines car il est naturellement présent dans les fruits ou ajouté artificiellement. La gélification des alginate a également lieu en présence de calcium. L'agrégation des chaînes d'alginate a été présentée comme un

phénomène électrostatique suivant le modèle de la « boîte-à-œufs » proposé par Grant et collaborateurs (Schéma I-7).<sup>25</sup>



*Schéma I-7 : Représentation schématique de la gélification des pectines*

Le modèle de la boîte-à-œuf est basé sur la formation de cavités électronégatives entre deux chaînes pectiques pouvant accommoder les ions divalents. Les zones de jonction s'établissent dans les régions galacturoniques par des liaisons ioniques au niveau des fonctions carboxyliques. Outre les deux oxygènes carboxyliques, deux atomes d'oxygène d'origine hydroxylique, deux oxygènes cycliques ainsi que deux autres atomes participant aux liaisons entre unités galacturoniques contribuent à la liaison du calcium grâce à leur paire d'électrons libres. Il a été suggéré que sept fonctions acides consécutives sur les chaînes galacturoniques participant à la zone de jonction sont nécessaires à la formation d'une zone de jonction stable.<sup>26</sup>

La gélification du système se fait en deux temps. Dans un premier temps, les zones de jonction entre segments de chaînes galacturoniques en présence de calcium se forment, conduisant ainsi à une dimérisation des chaînes polymériques. Dans un second temps, une agrégation des dimères formés a lieu pour mettre en place le réseau gélifié.

<sup>25</sup> Grant, G. T.; Morris, E. R.; Rees, D. A.; Smith, P. J. S.; Thom, D. *FEBS Lett.* **1973**, *32*, 195.

<sup>26</sup> Axelos, M. A. V.; Thibault, J.-F. The chemistry of low-methoxyl pectin gelation. Dans *The Chemistry and Technology of Pectin*. Editeur: Walter, R. H. **1991**; New York, Academic Press: p 109.

Ce modèle d'association moléculaire a été mis en cause en 2001 par Braccini et Perez dans une étude de modélisation moléculaire.<sup>27</sup> Les données énergétiques obtenues pour le modèle boîte-à-œufs indiquent qu'il ne permet pas une association efficace avec le calcium. L'appariement des chaînes galacturoniques serait de faible énergie et les cavités créées par les chaînes pectiques constitueraient des espaces trop grands pour que des interactions avec le calcium aient lieu. L'arrangement antiparallèle des acides galacturoniques avec la conformation en hélice  $2_1$  serait plus favorable d'un point de vue structural et énergétique pour l'appariement des chaînes avec le calcium. Ce modèle suppose également que les chaînes se dimérisent puis s'assemblent pour former des agrégats plus grands avec une forte contribution des forces de Van der Waals et des liaisons Hydrogène.

Les groupements carboxyliques libres dans les pectines jouent un grand rôle dans la complexation des cations métalliques.<sup>28</sup> Cette propriété est importante, non seulement, dans le cas de la complexation des ions  $Ca^{2+}$  qui influent sur la qualité de gélification des pectines selon le taux de présence des groupements méthoxy<sup>29</sup> dans ces dernières, mais aussi, dans le phénomène d'élimination des métaux toxiques du corps humain par le biais des fibres pectiques indigestibles.<sup>30</sup>

L'acide D-galacturonique ainsi que ses oligomères ont été souvent utilisés comme des modèles simplifiés des pectines afin d'étudier leurs interactions biologiques avec différents cations métalliques.<sup>31</sup> D'un autre côté, l'acide D-galacturonique lui-même présente de bonnes propriétés complexantes.<sup>32</sup>

L'acide D-galacturonique possède une fonction acide carboxylique dont la constante d'acidité a été déterminée par plusieurs auteurs ;<sup>33</sup> elle est comprise entre 3,25 et 3,35. Selon certains auteurs, une seconde acidité peut être décelé en milieux aqueux, elle correspond à la déprotonation d'un des groupements hydroxyles présents sur le sucre. Il subsiste une ambiguïté concernant la position du groupement hydroxyle déprotoné. Certains auteurs

---

<sup>27</sup> Braccini, I.; Perez, S. *Biomacromolecules* **2001**, 2, 1089.

<sup>28</sup> (a) Dronnet, V. M.; Renard, C. M. G. C.; Axelos, M. A. V.; Thibault, J.-F. *Carbohydr. Polym.* **1996**, 30, 253.  
(b) Kartel, M. T.; Kupchik, L. A.; Veisov, B. K. *Chemosphere* **1999**, 38, 2591.

<sup>29</sup> Thom, D.; Grant, G. T.; Morris, E. R.; Rees, D. A. *Carbohydr. Res.* **1982**, 100, 29.

<sup>30</sup> Kohnova, Z.; Kohn, R. *Chem. Listy* **1981**, 75, 1051.

<sup>31</sup> (a) Kohn, R. *Carbohydr. Res.* **1987**, 160, 343. (b) Branca, M.; Micera, G.; Dessi, A. *Inorg. Chim. Acta* **1988**, 153, 61.

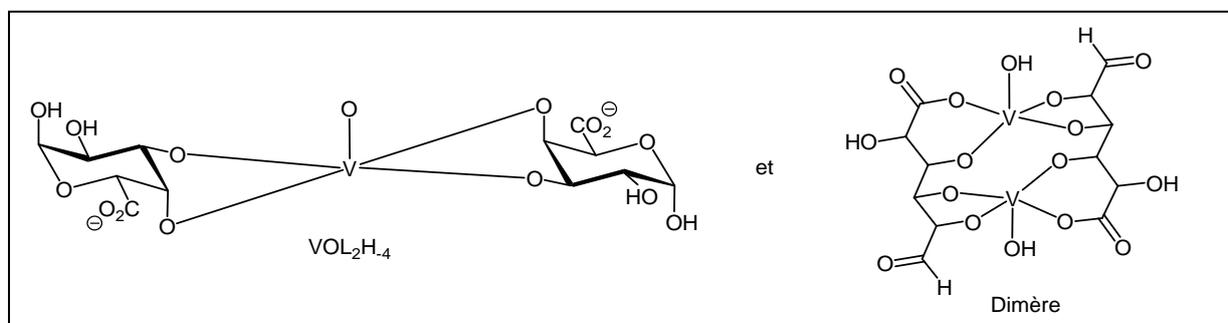
<sup>32</sup> Gyurcsik, B.; Nagy, L. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 203, 81.

<sup>33</sup> Micera, G.; Dessi, A.; Kozlowski, H.; Radomska, B.; Urbanska, J.; Decock, P.; Dubois, B.; Olivier, I. *Carbohydr. Res.* **1989**, 188, 25.

attribuent la déprotonation à l'hydroxyle sur la position 2, alors que d'autres l'attribuent à l'hydroxyle sur la position 4 du sucre.

Une estimation de la constante d'acidité du groupement hydroxyle a été proposée par l'équipe de Micera<sup>33</sup> aux alentours de 12,5, avec toutefois une forte incertitude liée au manque de sensibilité des méthodes potentiométriques en milieu alcalin (pH > 12).

L'étude des interactions entre les cations métalliques et l'acide D-galacturonique a mis en avant les propriétés complexantes de ce dernier. Parmi les cations étudiés l'ion VO<sup>2+</sup> a retenu une attention particulière. Les études en solution montrent la formation de plusieurs espèces complexes dont la stœchiométrie et le mode de coordination sont fonction du pH. À pH acide, l'espèce majoritaire serait un complexe de stœchiométrie VOL<sub>2</sub>, ou seule la fonction carboxylate serait liée au métal. L'augmentation du pH engendre un changement du mode de complexation de l'acide D-galacturonique, avec l'intervention dans la sphère de coordination du métal des groupements hydroxyles déprotonés pour former des espèces de stœchiométries VOL<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, et VOL<sub>2</sub>H<sub>4</sub>. À pH alcalin, une forme dimérique a été également identifiée, elle adopte une forme particulière ouverte, pour proposer cette structure, les auteurs se basent sur le fait que les sucres ont l'aptitude à utiliser la majorité de leurs fonctions hydroxyles afin de former des complexes polynucléaires (Schéma I-8).<sup>34</sup>



*Schéma I-8 : Complexes présents à pH alcalin lors de la complexation des ions VO (IV) avec l'acide D-galacturonique*

D'une manière générale, les complexes de Cu (II) formés avec l'acide D-galacturonique sont moins stables que ceux formés avec les ions VO (IV). Il est généralement admis la formation de complexes monodentés engageant la fonction carboxylate selon une structure proche de celle de l'acétate de Cu (II).<sup>35</sup> D'autres auteurs postulent la formation de complexes chélatés

<sup>34</sup> Branca, M.; Micera, G.; Sanna, D. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1990**, 1997.

<sup>35</sup> Makridou, C.; Cromer-Morin, M.; Scharff, J.-P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1977**, 59.

par la fonction carboxylate d'une part et un groupement hydroxyle d'autre part,<sup>36</sup> ou encore une interaction électrostatique entre la sphère métallique et l'oxygène endocyclique du sucre.<sup>37</sup> Cependant, ces résultats sont très partiels et méritent d'être approfondis.

Les études structurales réalisées sur des complexes solides complètent les informations apportées par les études en solution notamment concernant les modes de coordination envisageables avec l'acide D-galacturonique. Des complexes solides ont été synthétisés avec les ions  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  et  $\text{VO}^{2+}$  en faisant réagir l'acide galacturonique en milieu basique selon la réaction suivante (Schéma I-9).<sup>38</sup>

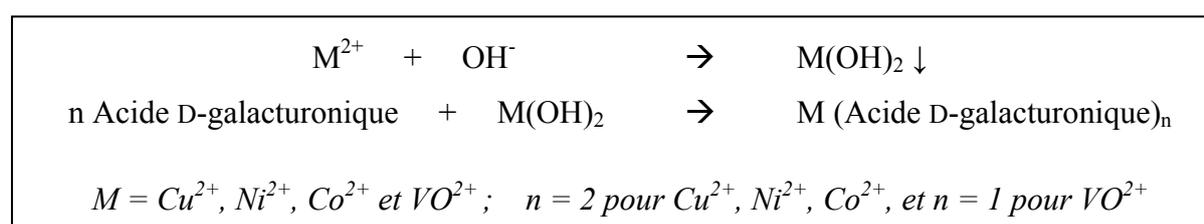


Schéma I-9 : Synthèse de complexes métalliques d'acide D-galacturonique selon Volka et collaborateurs

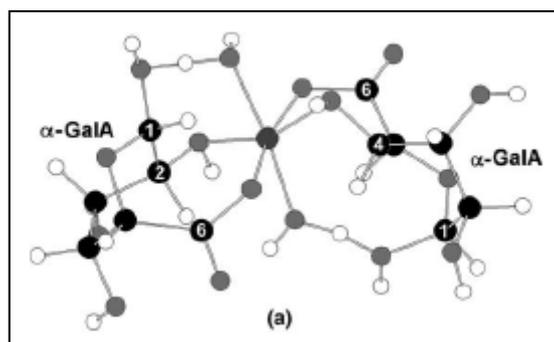
Les études spectroscopiques menées sur les composés synthétisés combinées à de la modélisation moléculaire ont permis de proposer des structures cohérentes pour les complexes de cobalt et d'oxovanadium.

Dans le cas du complexe de Co (II), le modèle propose une complexation du centre métallique par deux molécules d'acide D-galacturonique liées par les fonctions carboxylates ainsi que par le groupement hydroxyle en position 2 d'un des deux ligands et par celui en position 4 de l'autre ligand. Les deux groupements hydroxyle anomériques coordinent deux molécules d'eau liées au centre métallique (Figure I-5).

<sup>36</sup> Kohn, R.; Hirsch, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1986**, *51*, 1150.

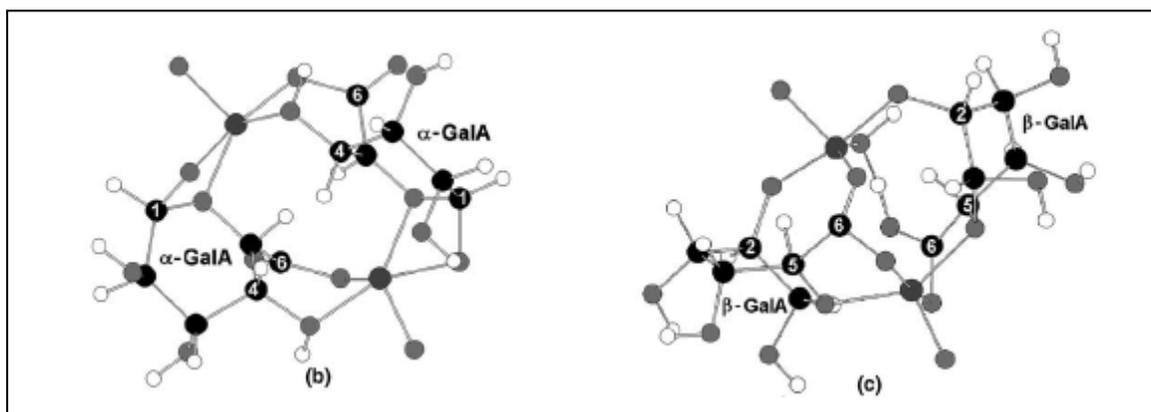
<sup>37</sup> Aruga, R. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, *54*, 1233.

<sup>38</sup> Synytsya, A.; Urbanova, M.; Setnicka, V.; Tkadlecova, M.; Havlicek, J.; Raich, I.; Matejka, P.; Synytsya, A.; Copikova, J.; Volka, K. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2391.



*Figure I-5 : Modèle proposé pour la coordination du Co (II) avec les molécules d'acide D-galacturonique*

Dans le cas de la complexation d'ions Cu (II) et Ni (II) par l'acide D-galacturonique, seules les fonctions carboxylates coordonnent les centres métalliques avec un rapport L / M = 2. Enfin, deux modes de complexation ont été identifiés avec les ions VO (IV) (Figure I-6).



*Figure I-6 : Hypothèses de complexation des ions VO (IV) avec l'acide D-galacturonique*

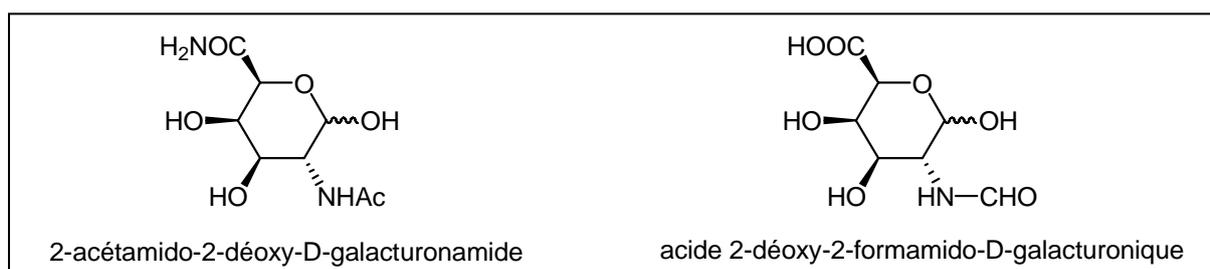
Les deux modèles se basent sur la présence d'un complexe dimère de type  $M_2L_2H_{-4}$ , identique à celui décrit auparavant par l'équipe de Micera.<sup>39</sup>

### **I-3-3) Dérivés d'acide D-galacturonique biologiquement actifs**

En 1984, l'équipe de Kochetkov<sup>40</sup> a publié un travail qui montre la présence de certains dérivés de type galacturonamide chez la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (Schéma I-10).

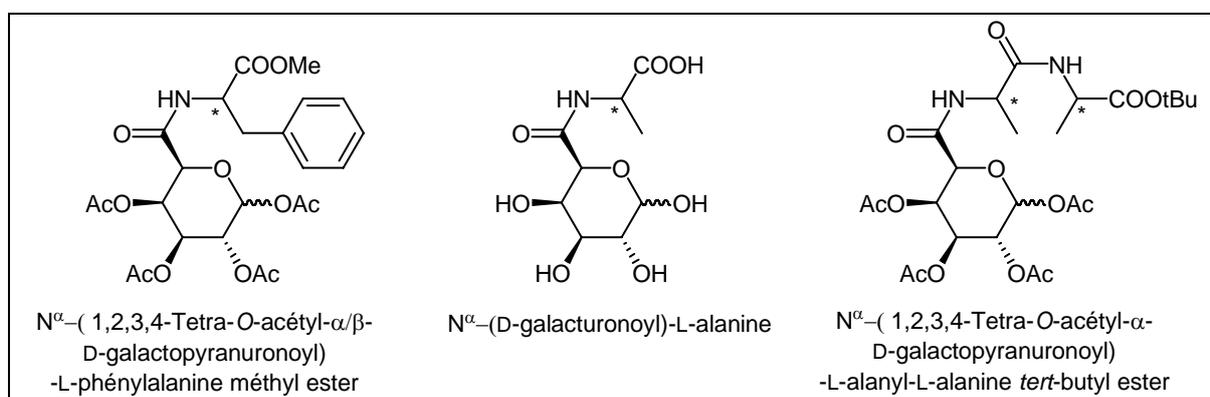
<sup>39</sup> Garriba, E.; Lodyga-Chruscinska, E.; Sanna, D.; Micera, G. *Inorg. Chim. Acta.* **2001**, 322, 87.

<sup>40</sup> Knirel, Y.; Sharshkov, A.; Dmitrev, B.; Kochetkov, N. *Carbohydr. Res.* **1984**, 133, C12-C14.



*Schéma I-10 : dérivés de l'acide D-galacturonique présents chez Pseudomonas aeruginosa*

L'équipe de Ott<sup>41</sup> s'est intéressée à la synthèse de composés de type galacturonamides d'acides aminés ou encore de dipeptides (Schéma I-11), pour des études biochimiques et pharmacologiques, afin de comprendre le rôle physiologique des ces composés qui constituent les capsules bactériennes.<sup>42</sup>



*Schéma I-11 : dérivés de type galacturonamide synthétisés par l'équipe de Ott*

Des dérivés d'acide galacturonique et d'acide glucuronique sous forme  $\alpha$ -pyranosique sont présents dans les parois des cellules de *Sphingomonas*. Ces composés ont démontré une bonne activité biologique avec une structure assez proche de l'agent antitumoral KRN7000. Ce dernier a la capacité de stimuler les cellules « Natural Killer T » NKT, et induire ainsi une réponse immunitaire traduite par la libération des cytokines.<sup>43</sup>

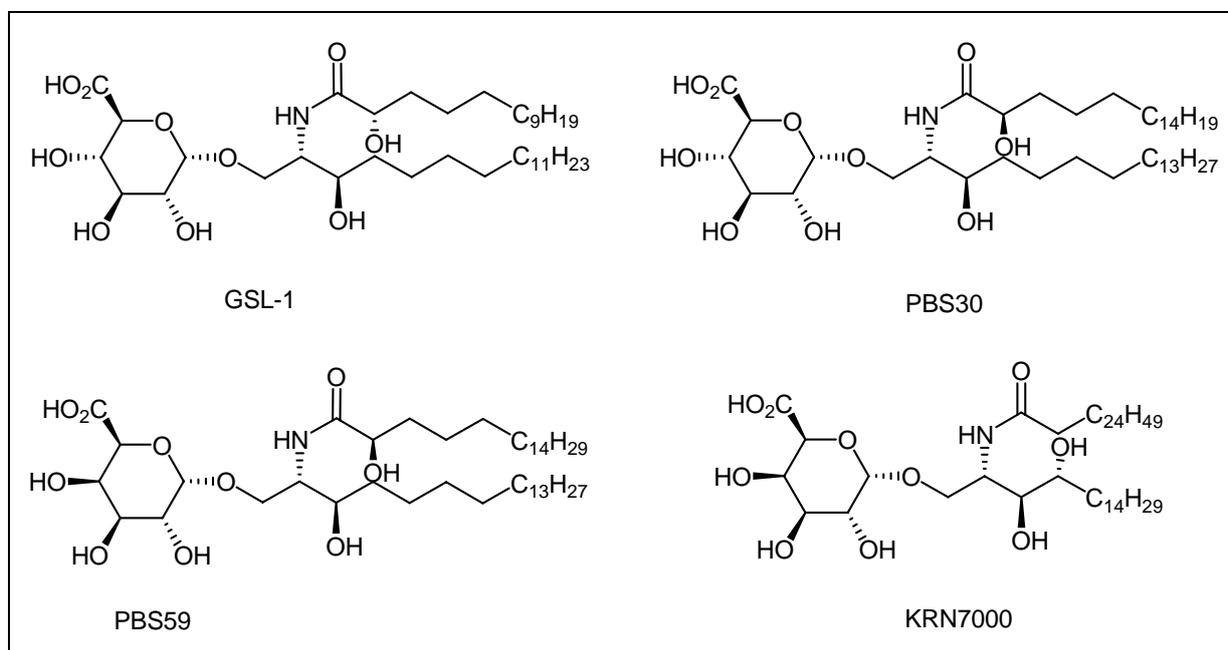
Ainsi différentes équipes se sont lancées dans la synthèse de ces composés analogues du KRN7000 afin de tester leur activité biologique (Schéma I-12).

<sup>41</sup> Vogel, C.; Jeschke, U.; Kramer, S.; Ott, A.-J. *Liebigs Ann. Recueil* **1997**, 737.

<sup>42</sup> (a) Gromska, W.; Mayer, H. *Eur. J. Biochem.* **1976**, 62, 391. (b) Branefors-Helander, P.; Kenne, L.; Lindberg, B.; Petersson, K.; Unger, P. *Carbohydr. Res.* **1981**, 97, 285. (c) Dengler, T.; Jann, B.; Jann, K. *Carbohydr. Res.* **1986**, 150, 233. (d) Hofmann, P.; Jann, B.; Jann, K. *Carbohydr. Res.* **1985**, 139, 261.

<sup>43</sup> Kobayachi, E.; Motoki, K.; Uchida, T.; Fukushima, H.; Koezuka, Y. *Oncol. Res.* **1995**, 7, 529.

Parmi ces composés, on peut citer : GSL-1, PBS30 et PBS59 qui ont montré leur faculté à cibler les cellules NKT de la souris et de l'homme.<sup>44</sup>

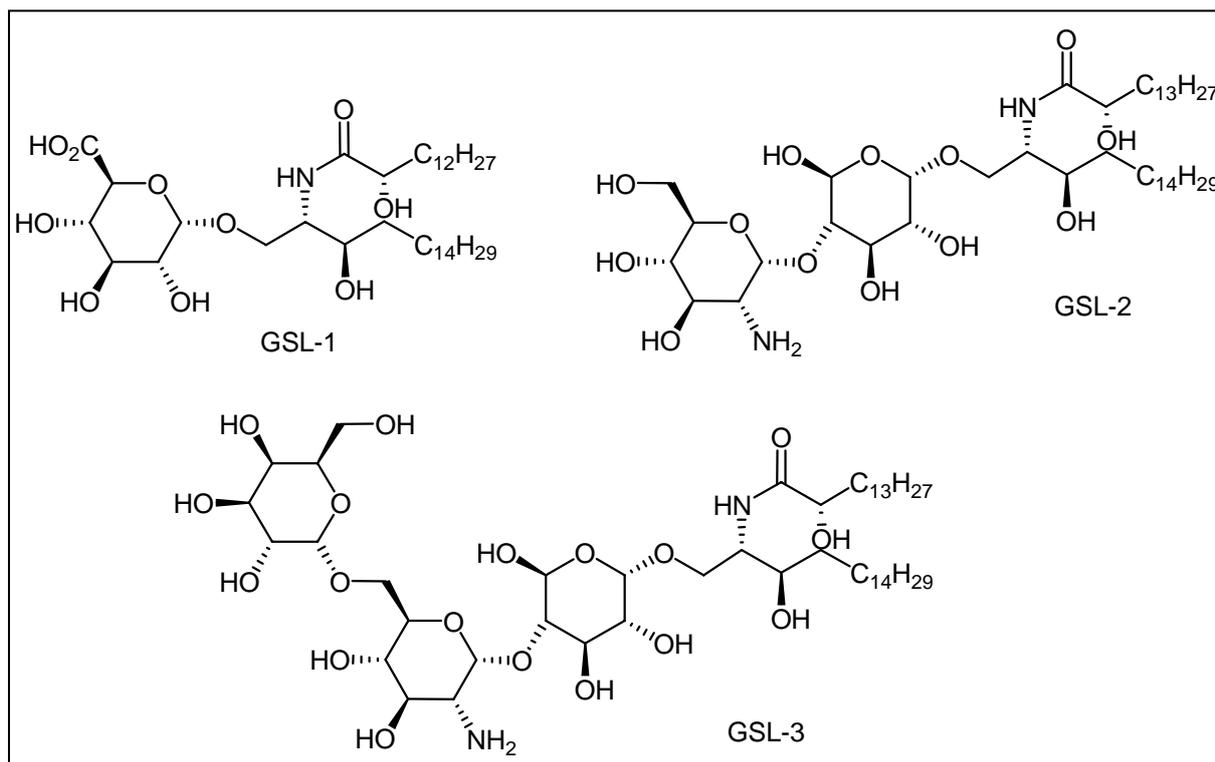


*Schéma I-12 : Composés décrit dans la littérature ciblant les cellules NKT*

D'autres composés analogues du GSL-1 de type mono-, tri-, et tétraglycosylcéramides (Schéma I-13) ont été synthétisés en 2007 par l'équipe de Savage.<sup>45</sup> Cependant, ils n'ont pas montré une aussi bonne activité biologique que celle du GSL-1 dans la stimulation des cellules NKT.

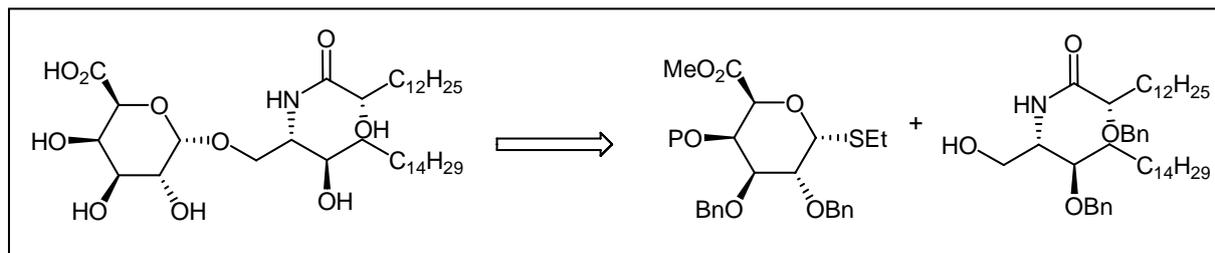
<sup>44</sup> (a) Mattner, J.; Debord, K. L.; Ismail, N.; Goff, R. D.; Cantu, C.; Zhou, D.; Saint-Mezard, P.; Wang, V.; Gao, Y.; Hoebe, K.; Schneewind, O.; Walker, D.; Beutler, B.; Teyton, L.; Savage, P.; Bendelac, A. *Nature* **2005**, *434*, 525. (b) Kinjo, Y.; Wu, D.; Kim, G.; Xing, G.-W.; Poles, M. A.; Ho, D. D.; Tsuji, M.; Kawahara, K.; Wong, C.-H.; Kronenberg, M. *Nature* **2005**, *434*, 520.

<sup>45</sup> Long, X.; Deng, S.; Mattner, J.; Zang, Z.; Zhou, D.; McNary, N.; Goff, R. D.; Teyton, L.; Bendelac, A.; Savage, P. B. *Nature Chem. Biol.* **2007**, *3*, 559.



*Schéma I-13 : Composés de type GSL synthétisés*

Toujours dans le but de synthétiser des analogues de galacturonosylcéramides présents chez *Sphingomonas yanoikuyae*, l'équipe de Seeberger<sup>46</sup> a publié une synthèse de ce type de molécules par une réaction clé de glycosylation d'un thioglycoside (Schéma I-14).

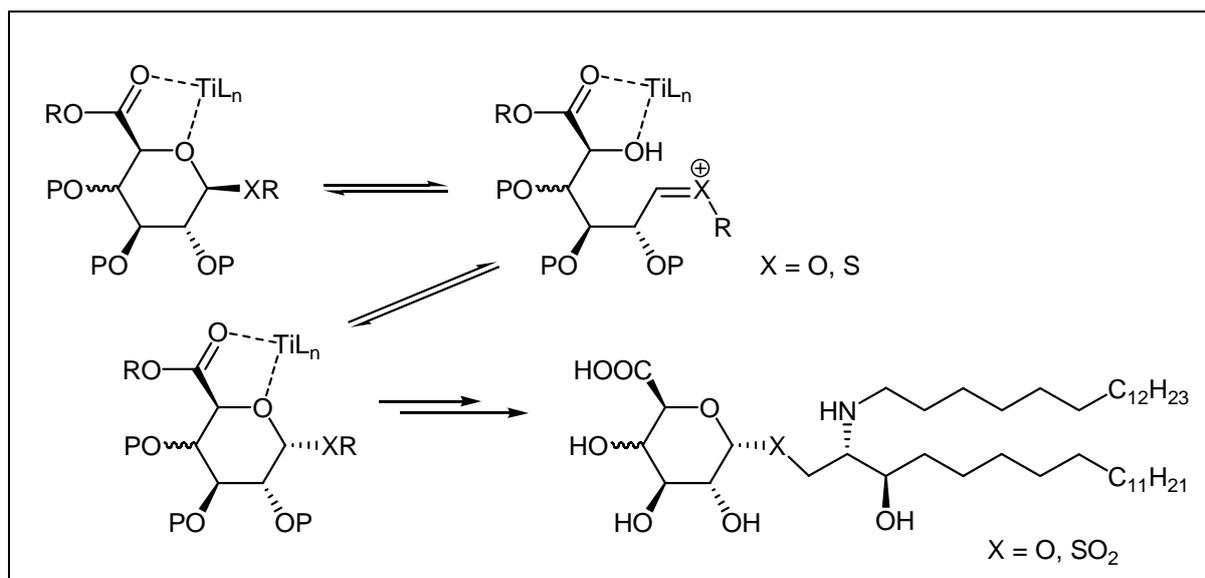


*Schéma I-14 : Synthèse d'analogue de galacturonosylcéramide présents chez les *Sphingomonas yanoikuyae**

Plus récemment, l'équipe de Murphy<sup>47</sup> a développé la synthèse de nouveaux composés de type  $\alpha$ -glycosphingolipides par une action anomérisation titano-catalysée de dérivés d'acide *O*- et *S*-galacturonique et glucuronique (Schéma I-15).

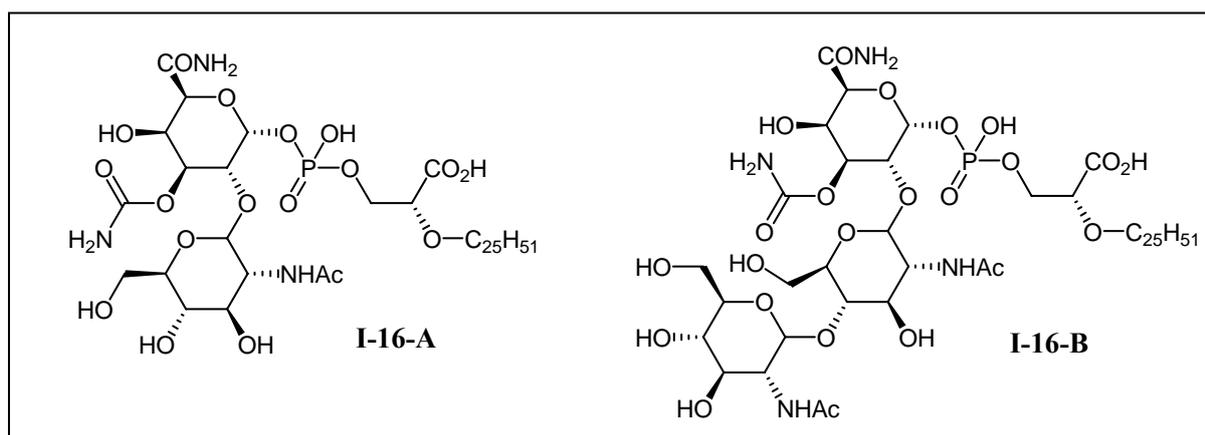
<sup>46</sup> Stallforth, P.; Adibekian, A.; Seeberger, P. H. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1573.

<sup>47</sup> Pilgrim, W.; Murphy, P. V. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 939.



*Schéma I-15 : Synthèse de nouveaux composés de type α-glycosphingolipides*

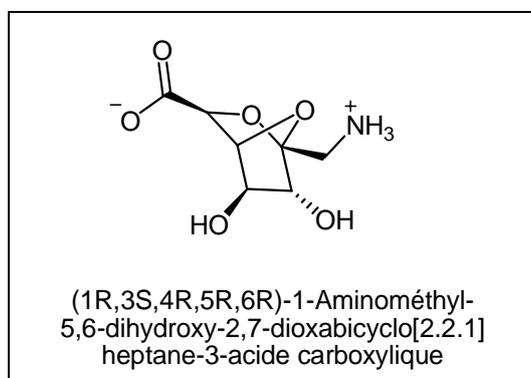
D'autres dérivés de l'acide D-galacturonique ont montré une bonne activité biologique tels les composés **I-16-A** et **I-16-B** (Schéma I-16) synthétisés par l'équipe de Welzel<sup>48</sup> au début des années 90. Ces derniers sont des analogues de la Moenomycine de type A qui est un antibiotique très performant. Il faut noter que le composé **I-16-A** représente la plus petite partie issue de la dégradation de la Moenomycine qui permet de préserver toute l'activité antibiotique de cette dernière.



*Schéma I-16 : Nouveaux analogues de la Moenomycine de type A*

<sup>48</sup> (a) Moller, U.; Hobert, K.; Donnestarg, A.; Wagner, P.; Muller, D.; Fehlhaber, H.-W.; Markus, A.; Welzel, P. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1635. (b) Luning, J.; Moller, U.; Muller, D.; Welzel, P.; Markus, A.; Van Heijenoort, Y.; Van Heijenoort, J. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 10587.

Les inhibiteurs de glycosidases représentent une classe de molécules très importante dans le domaine du développement pharmaceutique.<sup>49</sup> Ils sont notamment utilisés dans le traitement contre le diabète<sup>50</sup> et la grippe,<sup>51</sup> et grâce à leurs propriétés antivirales, ils sont utilisables dans certains cas pour lutter contre certaines affections virales ou encore le cancer. Ainsi, l'équipe de Koert<sup>52</sup> a réalisé la synthèse d'une nouvelle molécule de type cétal bicyclique de l'acide D-galacturonique en 16 étapes avec un rendement global de 15% à partir du D-galactose (Schéma I-17). Cette molécule représente le début d'un travail qui consiste en la synthèse d'une batterie de composés de ce genre qui sont des candidats potentiels pour l'inhibition de la  $\beta$ -glucosidase.



*Schéma I-17 : Cétal bicyclique de l'acide D-galacturonique par l'équipe de Koert*

Des analogues de l'acide D-galacturonique comportant un squelette de type imidazolopipéridine ont été synthétisés par l'équipe de Vasella<sup>53</sup> pour tester leur pouvoir inhibiteur sur la  $\beta$ -glucuronidase du foie de bœuf. Cependant, ces analogues ont démontré une activité biologique plus faible que celle des dérivés glucuronique (Schéma I-18).

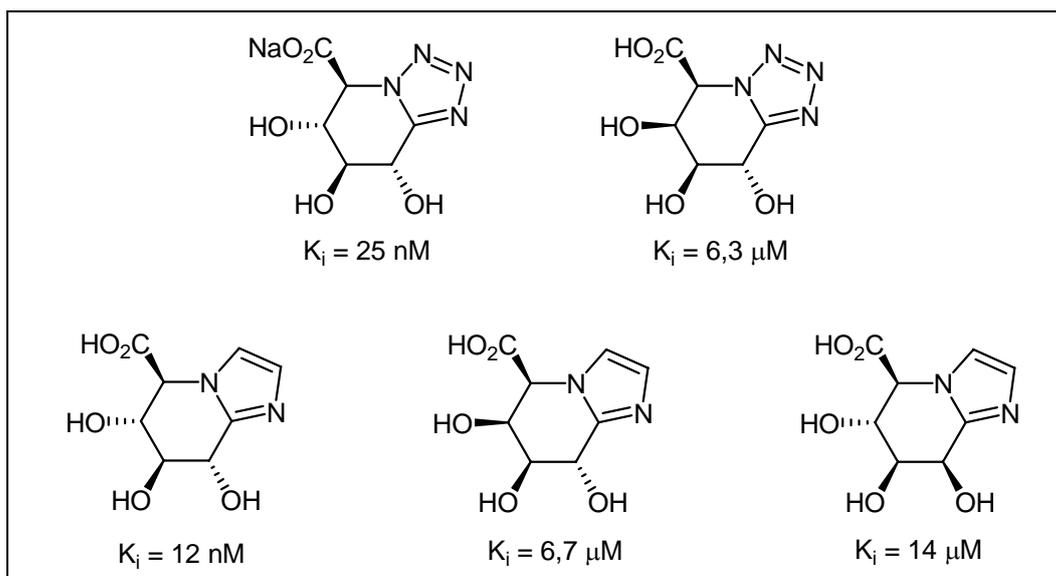
<sup>49</sup> (a) Asano, N. *Glycobiology* **2003**, *13*, 93R. (b) Chang, C.-F.; Ho, C.-W.; Wu, C.-Y.; Chao, T.-A.; Wong, C.-H.; Lin, C.-H. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1301. (c) Pearson, M. S. M.; Mathé-Allainmat, M.; Fargeas, V.; Lebreton, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2159.

<sup>50</sup> (a) Mitrakou, A.; Tountas, N.; Raptis, A. E.; Bauer, R. J.; Schulz, H.; Raptis, S. A. *Diabetic Med.* **1998**, *15*, 657. (b) Scott, L. J.; Spencer, C. M. *Drugs* **2000**, *59*, 521.

<sup>51</sup> (a) Laver, W. G.; Bischofberger, N.; Webster, R. G. *Sci. Am.* **1999**, *280*, 78. (b) Lew, W.; Chen, X.; Kim, C. *J. Curr. Med. Chem.* **2007**, *7*, 663.

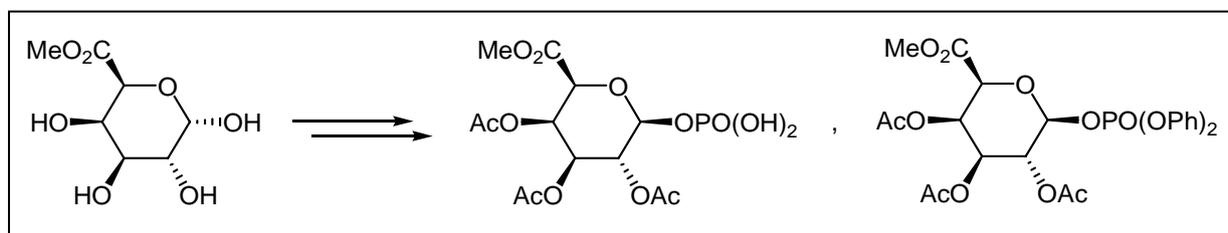
<sup>52</sup> Rommel, M.; Ernst, A.; Harms, K.; Koert, U. *Synlett* **2006**, 1067.

<sup>53</sup> (a) Pabba, J.; Mohal, N.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **2006**, *89*, 1373. (b) Pabba, J.; Vasella, A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3619. (c) Pabba, J.; Rempel, B. P.; Withers, S. G.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **2006**, *4*, 635.



*Schéma I-18 : Analogues de l'acide D-galacturonique inhibiteurs de la  $\beta$ -glucuronidase du foie de bœuf*

D'autre part, des dérivés phosphorylés d'acide D-galacturonique ont été synthétisés en 1951 par l'équipe de McReady<sup>54</sup> notamment pour des études biochimiques sur les pectines effectués dans ce laboratoire (Schéma I-19).



*Schéma I-19 : Dérivés phosphorylés d'acide D-galacturonique synthétisés par l'équipe de McReady*

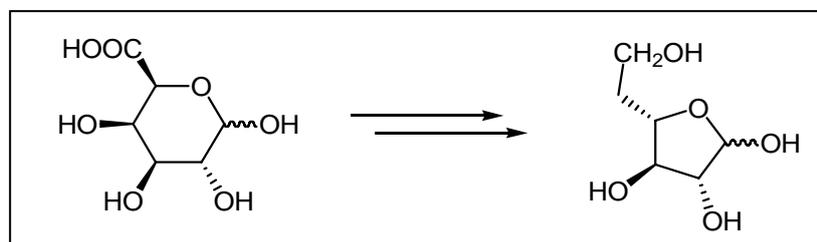
Les glycosidases constituent des bonnes cibles pour le développement des agents antimicrobiens.<sup>55</sup> Ainsi, pour montrer l'utilité des fonctions hydroxyles dans les interactions entre les composés galactofuranosiques présents dans des microorganismes infectieux et certaines enzymes telles que l'exo  $\beta$ -D-galactofuranosidase,<sup>56</sup> l'équipe de Marino a synthétisé

<sup>54</sup> Phippen, E. L.; McReady, R. M. *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 262.

<sup>55</sup> Yu, B.; Li, B.; Zhang, J.; Hui, Y. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4871.

<sup>56</sup> Bordoni, A.; de Lederkemer, R. M.; Marino, C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 1703.

des composés désoxygénés de type 5-déoxy-glycofuranosides par transfert d'électron « photoinduit » (Schéma I-20).



*Schéma I-20 : Synthèse de composés désoxygénés de type 5-déoxy glycofuranosides par transfert d'électron « photoinduit »*

### **I-3-3) Synthèses de fragments pectiques dérivés d'acide D-galacturonique**

Plusieurs travaux de la littérature ont visé la synthèse de di- et tri-saccharides comme précurseurs de réactions de polymérisation afin de mettre en place des oligosaccharides de type pectines, d'une part parce que ces dernières possèdent des activités biologiques,<sup>57</sup> et d'autre part, afin de mieux maîtriser les produits issus de la dégradation enzymatique des pectines.<sup>58</sup>

Un petit fragment polysaccharidique de la capsule cellulaire des pectines comme le trisaccharide d'acide galacturonique ( $\alpha$ -GalA-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -GalA-(1 $\rightarrow$ 4)-GalA) se comporte comme une substance hormonale qui peut être transportée dans les tissus des tomates afin d'induire la synthèse et l'accumulation de la protéinase inhibitrice de type 1 qui constitue l'une des substances secrétée par les plantes pour leur auto-défense contre les microbes et les insectes.<sup>59</sup> Ogawa et al.<sup>60</sup> ont synthétisé ce trisaccharide, ainsi que d'autres dérivés trisaccharidiques en réalisant une glycosylation entre deux esters méthyliques d'acide galacturonique dans les conditions de Mukaiyama.<sup>61</sup> Le passage par le biais des dérivés fluorés galactopyranosiques a été nécessaire pour mettre en place les trisaccharides représentés dans le schéma ci-dessous (Schéma I-21). La première glycosylation directe

<sup>57</sup> Paulsen, B. S.; Barsett, H. *Adv. Polym. Sci.* **2005**, 186, 69.

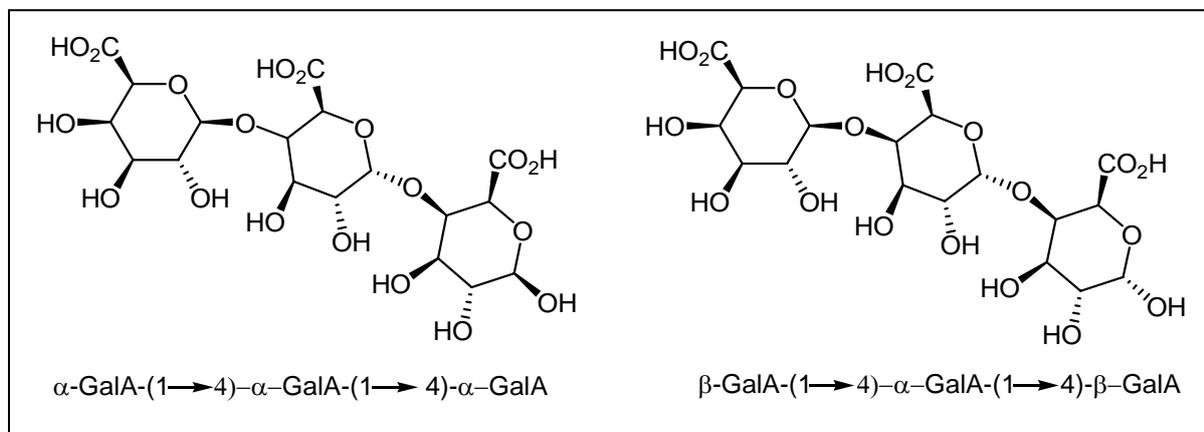
<sup>58</sup> (a) Jones, J. K. N.; Stacey, M. *J. Chem. Soc.* **1947**, 1340. (b) Daas, P. J. H.; Arisz, P. W.; Schols, H. A.; De Ruiter, G. A.; Voragen, A. G. *J. Anal. Biochem.* **1998**, 257, 195. (c) Nemati, N.; Karapetyan, G.; Nolting, B.; Endress, H.-U.; Vogel, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 1730.

<sup>59</sup> Ryan, C. A. *Biochemistry* **1988**, 27, 8879.

<sup>60</sup> Nakahara, Y.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1988**, 173, 306.

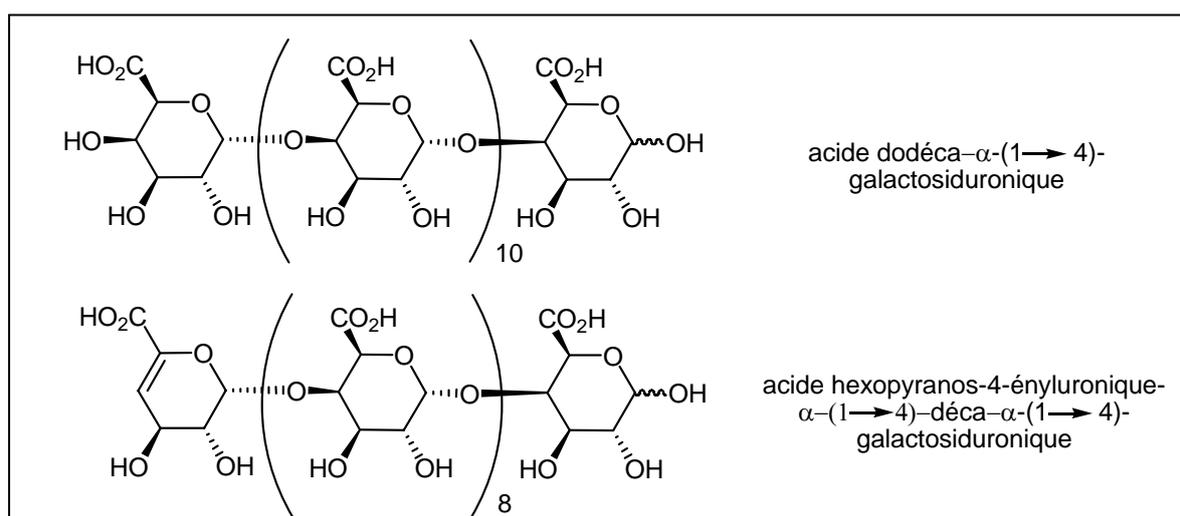
<sup>61</sup> Mukaiyama, T. Murai, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **1981**, 431.

réussie entre deux acides galacturoniques a été rapportée par l'équipe de Pozsgay en 1992, en utilisant un méthyl 1-thioglycoside.<sup>62</sup>



*Schéma I-21 : Synthèse de trisaccharide d'acide D-galacturonique par l'équipe d'Ogawa*

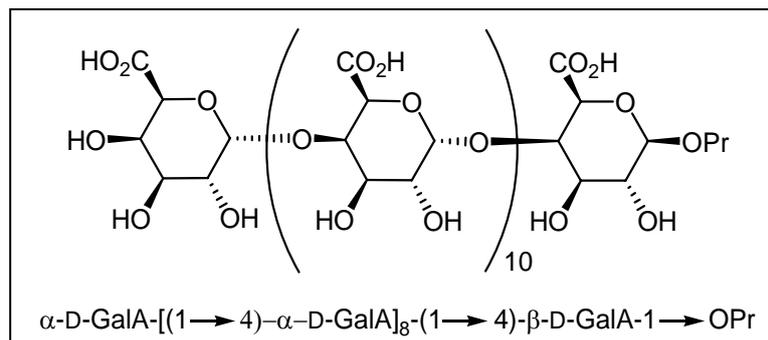
De la même manière, des études effectuées par l'équipe d'Albersheim sur le fractionnement des acides oligogalactosiduroniques issus des écorces pectiques des plantes, ont identifié les parties oligosaccharidiques actives pour éliciter la phytoalexine (une substance d'auto-défense chez les grains de soja). Il s'agit de l'acide dodéca- $\alpha$ -GalA-(1 $\rightarrow$ 4)-galactosiduronique et de l'acide déca- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-galactosiduronique qui contient un acide hexopyranos-4-ényluronic dans la partie terminale (Schéma I-22).



*Schéma I-22 : Parties oligosaccharidiques actives pour éliciter la phytoalexine chez les plantes*

<sup>62</sup> Pozsgay, V. *Synthesis of oligosaccharides related to plant, vertebrate, and bacterial cell-wall glycans*, dans Ogura, H.; Hasegawa, A.; Suami-kodansha, T.; (Eds), *Carbohydrates, Synthetic Methods and Application in Medicinal Chemistry*, VCH, Weinheim, 1992, p. 188.

Cependant, plusieurs difficultés sont rencontrées lors des phases de séparation et de purification de ces oligosaccharides à partir des parois cellulaires des plantes. Ainsi, le développement de nouvelles voies de synthèse de ces molécules faciliterait leur obtention et la mise en place des études biologiques sur les mécanismes d'auto-défense chez les plantes.<sup>63</sup> Dans cette optique, l'équipe d'Ogawa a réalisé la synthèse d'un dérivé de l'acide déca- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-galactosiduronique,<sup>64</sup> ainsi que celle de l'acide dodécagalacturonique (Schéma I-23).<sup>65</sup>



*Schéma I-23 : Dérivés de l'acide dodécagalacturonique synthétisés par l'équipe d'Ogawa*

D'autre part, différentes synthèses visant l'obtention de disaccharides polymérisables ont été élaborées surtout par l'équipe de Kochetkov dans le but de synthétiser des oligomères ayant des séquences bien définies pour reproduire des fragments pectiques.

La méthode de polycondensation la plus utilisée dans ce domaine est celle qui comprend la présence de groupements triphénylméthyl éther (OTr) et cyanoéthylidène dérivés de mono- et di-saccharides.<sup>66</sup> Ainsi, selon la façon d'élaborer ce type de polycondensation, des oligomères avec différents degrés de polymérisation plus ou moins satisfaisants sont obtenus.<sup>67</sup>

L'une des synthèses, qui conduit à un degré de polymérisation supérieur à 22, a été réalisée en couplant un dérivé du cyanoéthylidène L-rhamnose avec un dérivé bromé de l'acide D-galacturonique (Schéma I-24).

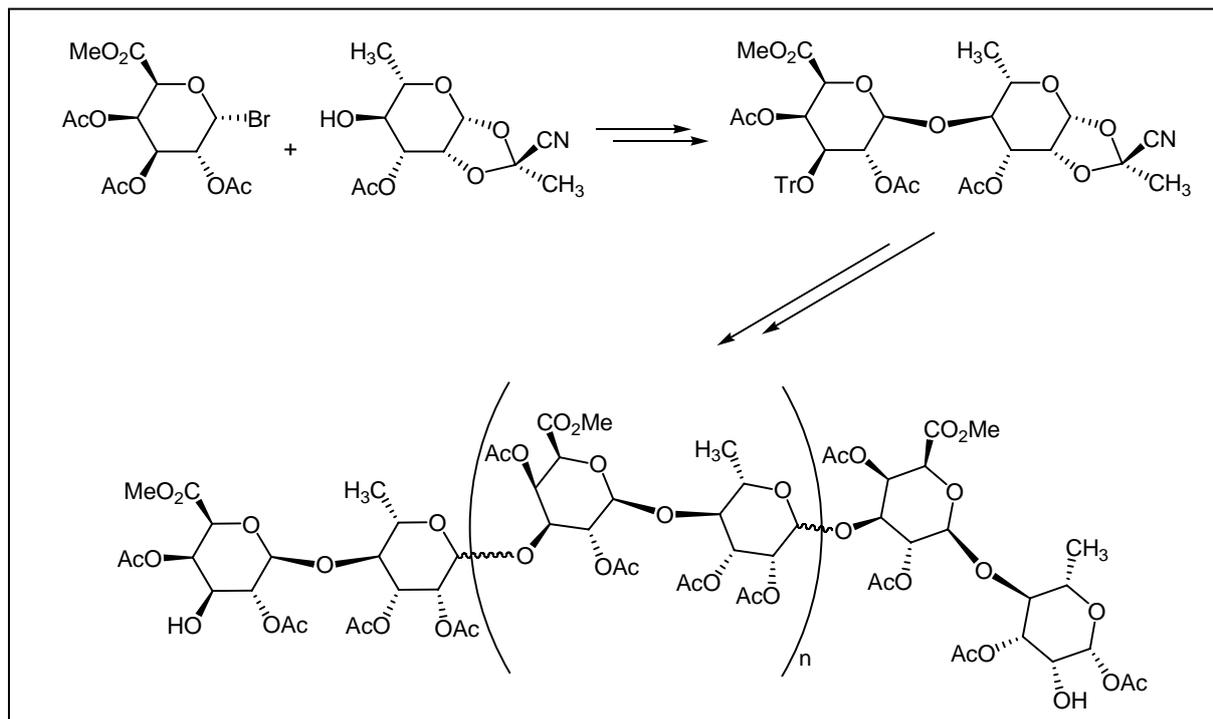
<sup>63</sup> (a) Darvilland, A. G.; Albersheim, P. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **1984**, *35*, 243. (b) McNeil, M.; Darvill, A. G.; Fry, S. C.; Albersheim, P. *Annu. Rev. Biochem.* **1984**, *53*, 625.

<sup>64</sup> Nakahara, Y.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1989**, *194*, 95.

<sup>65</sup> Nakahara, Y.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1990**, *205*, 146.

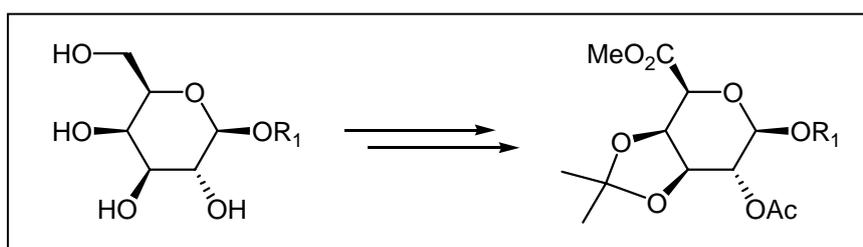
<sup>66</sup> Kochetkov, N. K.; Betaneli, V. I.; Ovchinnikov, M. V.; Backinowsky, L. V. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 149.

<sup>67</sup> (a) Malysheva, N. N.; Kochetkov, N. K. *Carbohydr. Res.* **1982**, *105*, 173. (b) Vogel, C.; Steffan, W.; Boye, H.; Kristen, H.; Betaneli, V. I.; Ott, A. Y.; Kochetkov, N. K. *Carbohydr. Res.* **1992**, *237*, 131.



*Schéma I-24 : Synthèse d'oligomères par polycondensation décrite par l'équipe de Kochetkov*

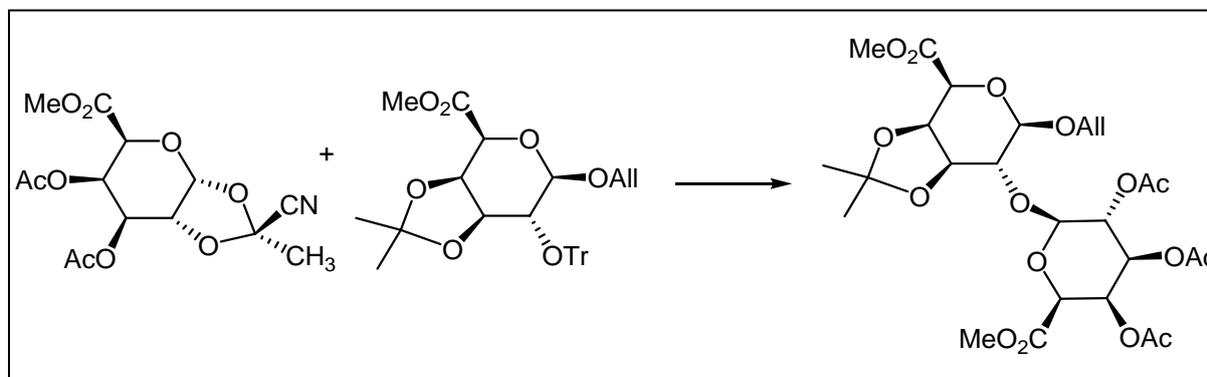
Des réactions de glycosidation ont été mises en place par différentes équipes afin de synthétiser des monomères de type donneurs ou accepteurs pour la synthèse d'oligomères par polycondensation. L'équipe de C. Vogel<sup>68</sup> a décrit en 1990 une synthèse des [allyl (et benzyl)-2-O-acétyl-3,4-O-isopropylidène-β-D-galactopyranoside] uronate de méthyle, à partir des allyl et benzyl β-D-galactopyranosides (Schéma I-25).



*Schéma I-25 : Synthèse de monomères type donneurs comme précurseurs pour des réactions de glycosylation*

<sup>68</sup> Steffan, W.; Vogel, C.; Kristen, H. *Carbohydr. Res.* **1990**, *204*, 109.

Ils ont réalisé dans un deuxième temps<sup>69</sup> la synthèse de différents disaccharides liés dans différentes positions en s'inspirant de la méthode de polycondensation de Kochetkov citée auparavant (Schéma I-26).



*Schéma I-26 : Synthèse de disaccharide par polycondensation*

La proportion d'esters méthyliques dans les fragments pectiques jouent un grand rôle d'une part dans la formation de gel,<sup>70</sup> et d'autre part dans l'activité des pectinases produites par les microorganismes phytopathogènes.<sup>71</sup> Ainsi, en 1998, l'équipe de Robert-Baudouy<sup>72</sup> a décidé d'explorer l'importance que peut avoir la position des esters méthyliques dans les fragments pectiques pour catalyser les processus enzymatiques.

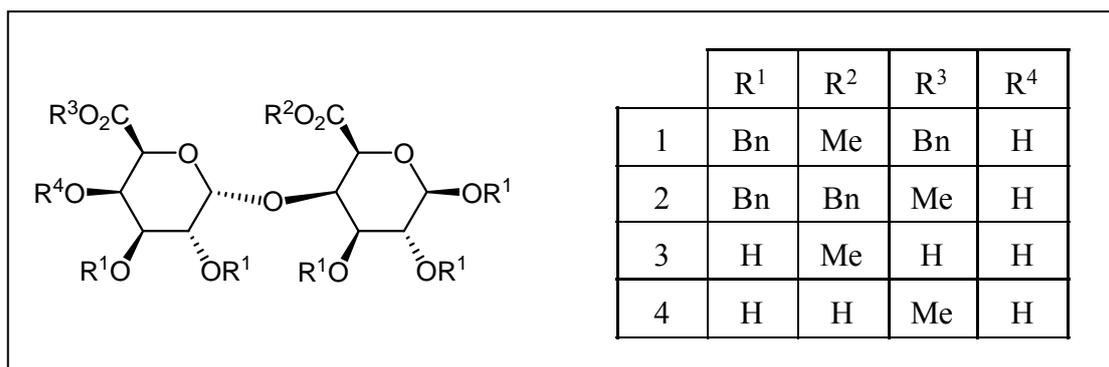
Ils ont décrit une méthode qui permet la synthèse de deux dimères d'esters monométhyliques de l'acide  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-galacturonique, en réalisant une réaction de glycosylation entre un premier monomère de type donneur dérivé du galactose et un second monomère de type accepteur dérivé de l'acide D-galacturonique. Les produits synthétisés sont décrits sur le schéma ci-dessous (Schéma I-27).

<sup>69</sup> Vogel, C.; Steffan, W.; Ott, A.; Betaneli, V. *Carbohydr. Res.* **1992**, *237*, 115.

<sup>70</sup> Rolin, C.; Nielsen, B. U.; Glahn, P.-E. *Pectin*, dans Dumitriu, S. (Ed), *Polysaccharides*, Marcel Dekker, New York, **1998**, p. 337.

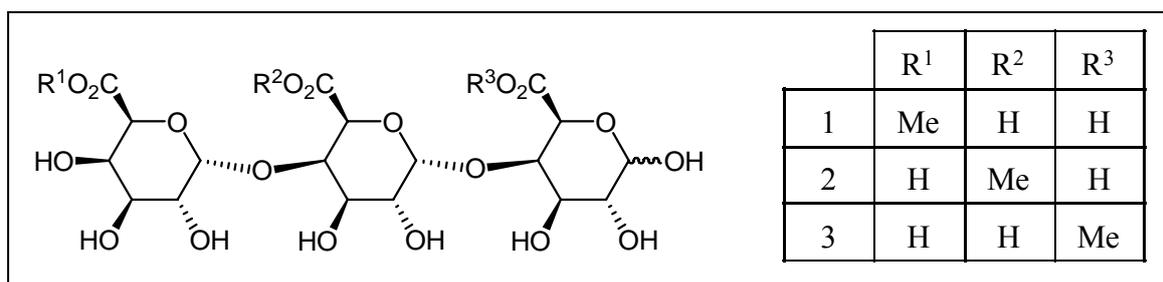
<sup>71</sup> Burns, J. K. *The polygalacturonases and lyases*, dans Walter, R. H. (Ed), *The Chemistry and Technology of Pectin*, Academic Press, New York, **1991**, p. 165.

<sup>72</sup> Magaud, D.; Grandjean, C.; Doutheau, A.; Anker, D.; Shevchik, V.; Cotte-Pattat, N.; Robert-Baudouy, J. *Carbohydr. Res.* **1998**, *314*, 189.



*Schéma I-27 : Dimères synthétisés par l'équipe de Robert-Baudouy*

Toujours dans le même contexte de préparation d'oligomères sélectivement estérifiés, l'équipe de Madsen<sup>73</sup> a publié en 2001 une synthèse décrivant l'obtention de trois trisaccharides de type trigalacturonane mono estérifiés à partir de dérivés D-galactopyranosiques utilisés comme accepteurs et donneurs dans la réaction de glycosylation (Schéma I-28).



*Schéma I-28 : Synthèse de trisaccharides à partir de dérivés D-galactopyranosidiques*

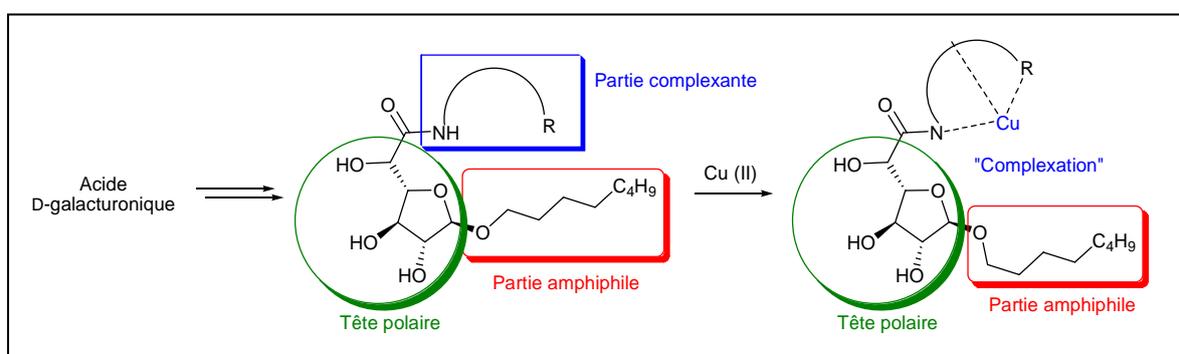
L'ensemble des études consacrées à l'acide D-galacturonique montre que cette molécule a des potentialités, et constitue une plate forme d'une part pour la synthèse de composés biologiquement actifs, et d'autre part la présence d'un grand nombre d'atomes donneurs sur le motif sucre qui lui confère des propriétés complexantes grâce notamment à la présence d'une fonction carboxylique. Ces propriétés complexantes peuvent être améliorées en greffant des fonctions à caractère donneur d'électrons afin de chélater d'une manière sélective les cations métalliques.

<sup>73</sup> Clausen, M. H.; Jorgensen, M. R.; Thorsen, J.; Madsen, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, *1*, 543.

#### I-4) Projet de thèse

Le projet de recherche vise essentiellement la valorisation de l'acide D-galacturonique comme charpente moléculaire pour la synthèse de ligands multifonctionnels comportant :

- Une tête polaire de type sucre,
- Une partie lipophile sur la position anomérique favorisant la formation d'auto-assemblages macromoléculaires,
- Et une partie complexante présente sur la position 6 du motif sucre pour la chélation des cations métalliques.



*Schéma I-29 : Transformation de l'acide D-galacturonique en molécules multifonctionnelles*

La mise au point d'une séquence réactionnelle directe, respectueuse de l'environnement et peu coûteuse doit être réalisée pour la synthèse de ces ligands, avec une étude détaillée des conditions expérimentales accompagnant chaque transformation mise en jeu afin d'optimiser au mieux le processus de synthèse.

Ces molécules permettront la complexation, puis une éventuelle vectorisation des ions Cu (II) à l'intérieur des couches de l'épiderme humain afin d'activer certains processus enzymatiques tels que la tyrosinase et la catéchol oxydase. Ces processus jouent un grand rôle dans les mécanismes de brunissement de la peau en réaction au rayonnement ultra-violet. Un apport exogène de cuivre au corps humain permettrait d'augmenter l'activité de la tyrosinase,<sup>2</sup> et donc favoriser le cycle de la production des mélanines.

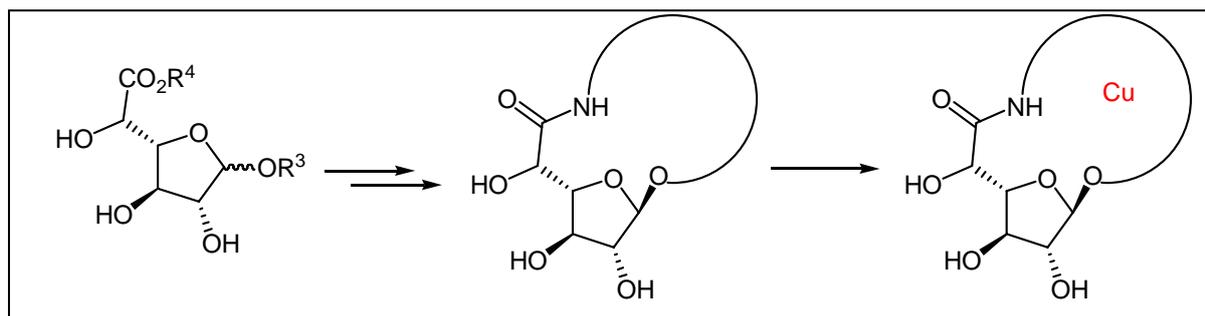
Les complexes synthétisés pourraient donc avoir des potentialités de valorisation dans les secteurs de la cosmétique et plus particulièrement en tant que produits auto-bronzants.

Par ailleurs, l'étude des propriétés physico-chimiques de ces ligands sera réalisée en collaboration avec le Professeur V. Rataj à l'Université de Lille 1.

Enfin, les propriétés de complexation de ces ligands en fonction du pH, ainsi que la synthèse des complexes métalliques à l'état solide seront étudiées en présence des ions Cu (II).

Le dernier chapitre de cette thèse sera consacré à l'élaboration d'une voie d'accès originale vers des macrocycles à base d'acide D-galacturonique. Les composés visés peuvent également présenter des propriétés intéressantes dans le domaine de la complexation de cations.

Différentes techniques de fermeture de cycles décrites dans la littérature seront utilisées pour obtenir les composés schématisés ci-dessous (Schéma I-30).<sup>74</sup>



*Schéma I-30 : Synthèse de macromolécules à base de sucre par fermeture de cycle*

<sup>74</sup> (a) Leewenburgh, M. A.; Kuller, C.; Duynstee, H. I.; Overkleeft, H. S.; Van der Marcel, G. A.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 8253. (b) Hotha, S.; Anegundi, R. I.; Natu, A. A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4585. (c) Flessner, T.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7805.

*SYNTHESE ET CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE  
LIGANDS URONAMIDES DERIVES DE L'ACIDE D-  
GALACTURONIQUE*



## II Synthèse et caractérisation physico-chimique des ligands *n*-octyl-D-galactoside uronamides

### II-1) Réaction de glycosylation et généralités sur les PolyGlycosides d'Alkyle (APGly)

#### II-1-1) Réaction de glycosylation

##### II-1-1-1) Introduction

La glycosylation est une réaction couramment rencontrée dans la nature (Schéma II-1). Elle conduit à une grande variété de composés tels que les oligosaccharides, les glycolipides, les glycopeptides et différents autres composés naturels.<sup>75</sup>

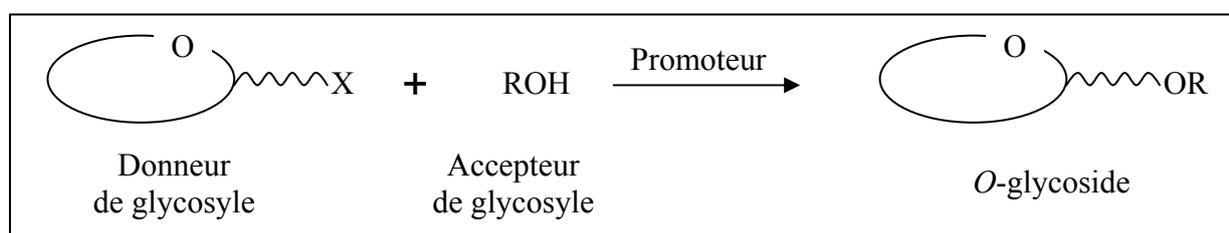


Schéma II-1 : Réaction de glycosylation

Cette réaction de glycosylation ou de glycosidation consiste à créer une liaison acétalique entre un donneur de glycosyle et un accepteur de nature variable, via une réaction de substitution nucléophile. Ainsi, la molécule obtenue comporte le glycoside provenant du donneur de glycosyle, en plus de la chaîne alkyle qui provient de l'accepteur. On parle alors de la glycosidation du donneur ou de la glycosylation de l'accepteur.

Le groupement R dans le schéma précédent peut être : un groupement alkyle, un groupement aryle, un peptide comportant un résidu sérine ou thréonine, un diéther de glycérol, ou encore un accepteur de glycosyle de nature saccharidique.

Une synthèse glycosidique suppose :

- une réaction chimio- ou régiosélective de l'accepteur (si celui-ci est polyfonctionnel) avec le donneur,
- une méthode efficace d'activation de ce donneur de glycosyle,

<sup>75</sup> (a) Schimdt, R. R. « *Comprehensive Organic Synthesis* » Vol. 6, Pergamon Press, **1991**, p. 33. (b) Panintrarux, C.; Adachi, S.; Araki, Y.; Kimura, Y.; Matsuno, R. *Enzyme Microb. Technol.* **1995**, *17*, 32. (c) Vulfson, E. N.; Patel, R.; Beecher, J. E.; Andrews, A. T.; Law, B. A. *Enzyme Microb. Technol.* **1990**, *12*, 950. (d) Yi, Q.; Sarney, D. B.; Khan, J. A.; Vulfson, E. N. *Biotechnol. Bioeng.* **1998**, *60*, 385.

- et enfin, la maîtrise de la stéréochimie de la liaison glycosidique créée : formation de l'anomère  $\alpha$  ou  $\beta$ .

### II-1-1-2) Réaction de glycosylation sur des sucres protégés

#### II-1-1-2-a) Principales méthodes de synthèse des glycosides d'alkyle par voie chimique

La synthèse des glycosides d'alkyle peut se faire par voie enzymatique<sup>76</sup> ou chimique (Schéma II-2).<sup>77</sup>

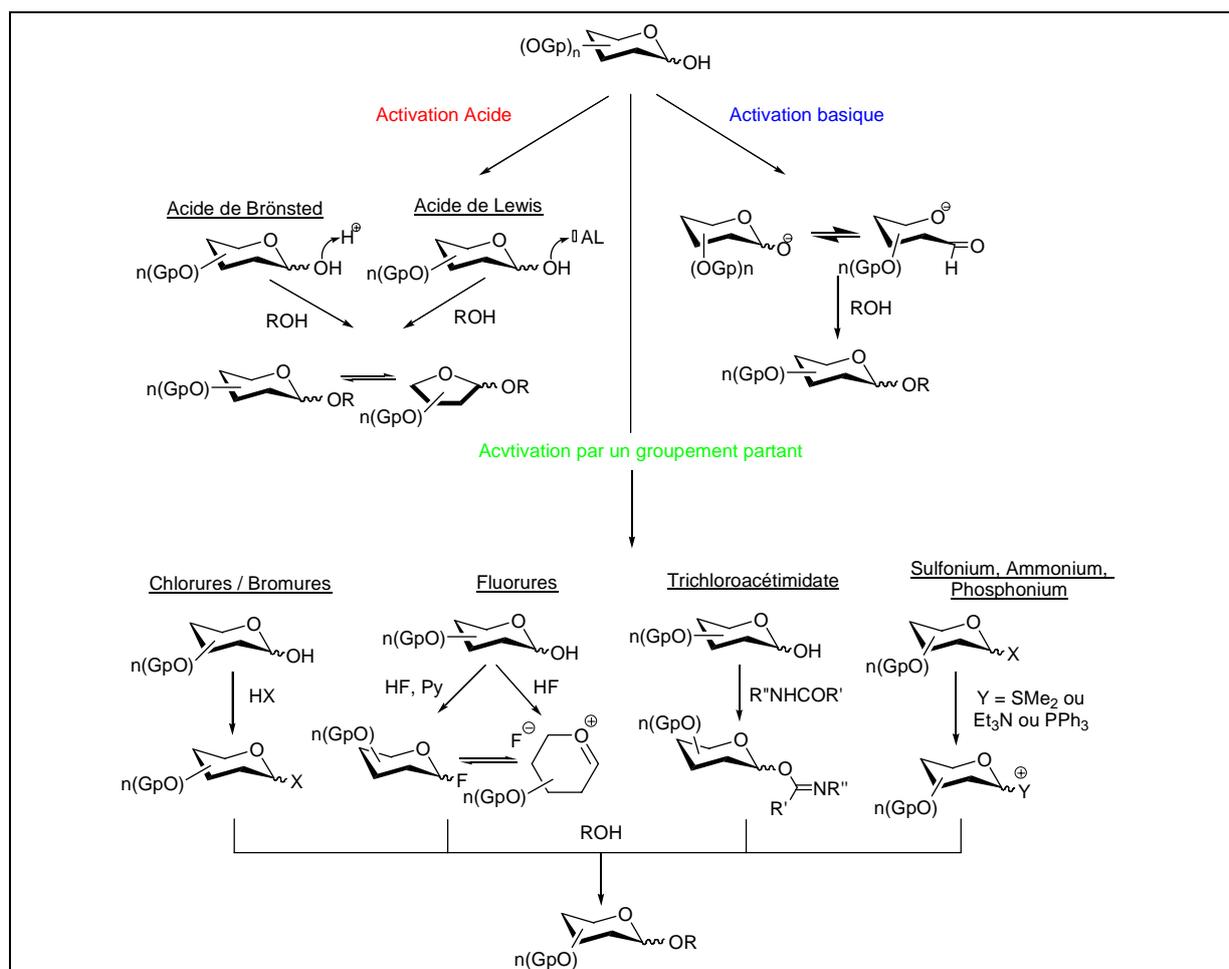


Schéma II-2 : Synthèse des glycosides par voie chimique

<sup>76</sup> (a) Krohm, K. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1987**, 25, 930. (b) Clarke, M. *Nature* **1988**, 335, 752. (c) Deisenhofer, J.; Michel, H. *Angew. Chem.* **1989**, 101, 872. (d) Chahid, Z.; Montet, D.; Pina, M.; Graille, J. *Biotechnol. Lett.* **1992**, 14, 281. (e) Van Rantwijk, F.; Woudenberg-van Oosterom, M.; Sheldon, R. A. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **1999**, 6, 511. (f) Ismail, A.; Soutani, S.; Ghoul, M. *J. Biotechnol.* **1999**, 69, 135. (g) Ducret, A.; Trani, M.; Lortie, R. *Biotechnol. Bioeng.* **2002**, 77, 752. (h) Gargouri, M.; Smaali, I.; Maugard, T.; Legoy, M. D.; Marzouki, N. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, 29, 89.

<sup>77</sup> (a) Ruback, W.; Schmidt, H. dans *Carbohydrates as Organic Raw Materials III*; Van Bekkum, H., Röper, H., Voragen, F., Eds. VCH: Weinheim / New York, **1996**, p. 231. (b) von Rybinski, W.; Hill, K. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, 37, 1328. (c) Straathof, A. J. J.; Van Bekkum, H.; Kieboom, A. P. G. *Starch* **1988**, 40, 438.

- ❖ Les réactions de Fischer,<sup>78</sup> Helferich<sup>79</sup> et Böcker<sup>80</sup> consistent en une activation du donneur de glycosyle en milieu acide.
- ❖ La réaction de glycosylation peut se réaliser dans des conditions basiques.<sup>81</sup>
- ❖ Le donneur de glycosyle peut être activé sous forme d'halogénure (chlorure / bromure)<sup>82</sup> ou encore fluorure.<sup>83</sup>
- ❖ D'autre part, le donneur de glycosyle peut être activé sous forme de trichloroacétimide selon une méthode décrite par Schmidt et Foher.<sup>84</sup>
- ❖ West et Schuerch ont développé une méthode de glycosylation qui passe par des intermédiaires de type ammonium, sulfonium ou encore phosphonium.<sup>85</sup>

Cependant, l'utilisation de substrats avec des groupements hydroxyle non protégés pour la synthèse de glycosides soulève de très grands problèmes de sélectivité.

#### II-1-1-2-b) Orientation de la sélectivité

La sélectivité du couplage glycosidique est généralement assurée lorsque du côté du donneur de glycosyle toutes les fonctions alcool sont protégées, avec la présence d'un groupement activant la position anomérique du sucre, et du côté de l'accepteur, la présence d'une seule fonction hydroxyle libre.

En ce qui concerne la stéréosélectivité de la réaction de glycosylation, plusieurs méthodes permettent l'orientation des attaques nucléophiles vers la formation d'une liaison glycosidique de type  $\alpha$  ou  $\beta$ .

Il existe deux facteurs fondamentaux qui rentrent dans la formation stéréosélective des liaisons glycosidiques :

- L'effet anomère,<sup>86</sup>
- et la participation éventuelle des groupements protecteurs en position 2 sur le donneur de glycosyle.

<sup>78</sup> (a) Fischer, E. *Ber.* **1893**, 26, 2400. (b) Fischer, E.; Beensch, L. *Ber.* **1894**, 27, 2478. (c) Fischer, E. *Ber.* **1895**, 28, 1145. (d) Fischer, E. *Ber.* **1914**, 1980.

<sup>79</sup> Helferich, B.; Schmitz-Hillebrecht, E. *Ber.* **1933**, 66, 378.

<sup>80</sup> (a) Vill, V.; Böcker, T.; Thiem, J.; Fischer, F. *Liquid Cryst.* **1989**, 6, 349. (b) Böcker, T.; Thiem, J. *Tenside Surf. Det.* **1989**, 26, 5.

<sup>81</sup> Klotz, W.; Schmidt, R. R. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 683.

<sup>82</sup> (a) Michael, A. *Am. Chem. J.* **1879**, 1, 305. (b) Koenigs, W.; Knorr, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, 34, 957.

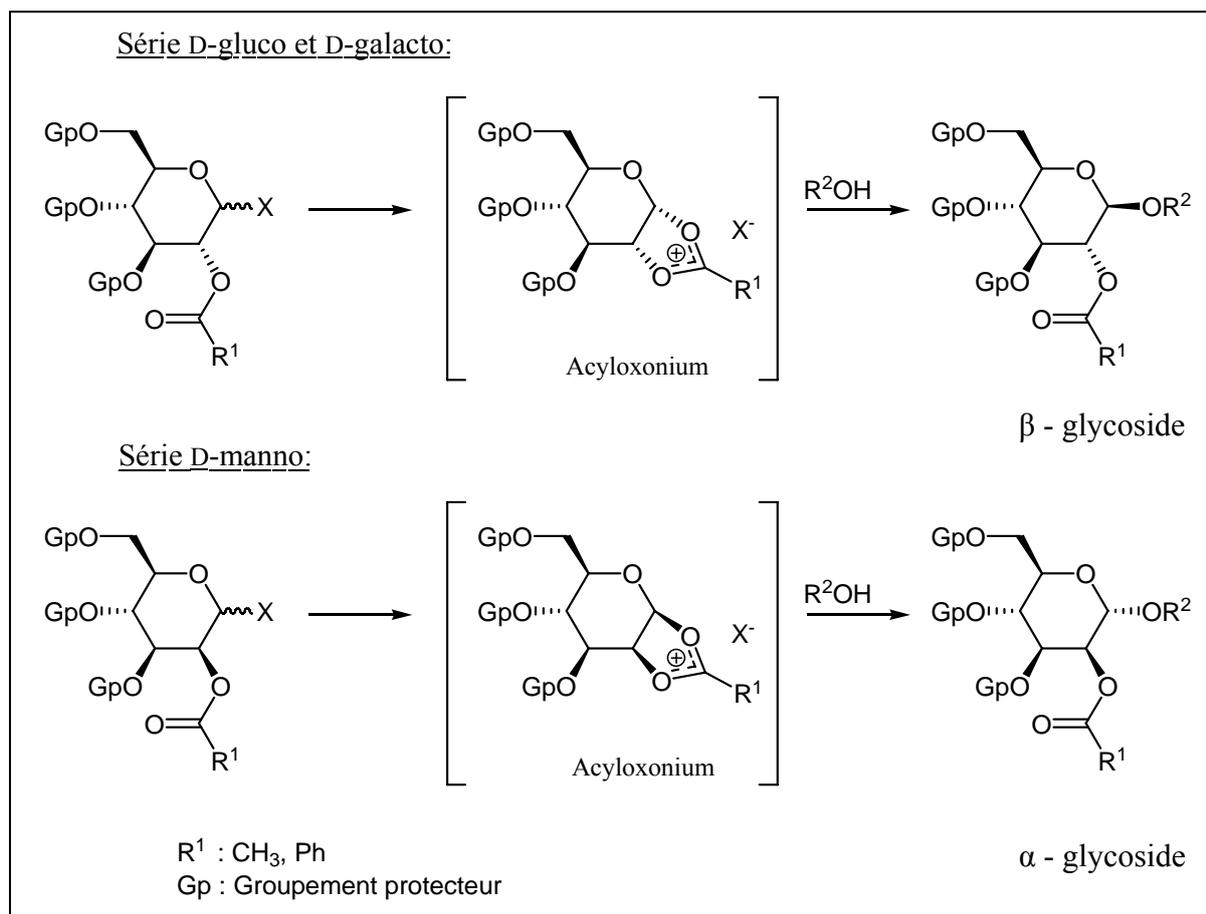
<sup>83</sup> (a) Defaye, J.; Wong, E.; Pedersen, C. *Chem. Abstr.* **1986**, 105, 227221h. (b) Hayashi, M.; Hashimoto, S.; Noyori, R. *Chem. Lett.* **1984**, 1747. (c) Szarek, W. A.; Gryniewicz, G.; Doboszewski, B.; Hay, G. W. *Chem. Lett.* **1984**, 1751. (d) Defaye, J.; Pedersen, C. *Zuckerindustrie* **1991**, 116, 271.

<sup>84</sup> (a) Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 212. (b) Foher, B.; Savelli, G.; Torri, G. *Chem. Phys. Lipids* **1990**, 53, 141.

<sup>85</sup> West, A. C.; Schuerch, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 1333.

<sup>86</sup> Corma, A.; Iborra, S.; Velty, A. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 2411.

En effet, dans la série *D-gluco* et *D-galacto*, les groupements esters : acétates et benzoates, permettent l'obtention sélective des  $\beta$ -glycosides par formation d'intermédiaires de type acyloxonium qui sont attaqués par l'accepteur de glycosyle presque exclusivement par la face  $\beta$ . En série *D-manno*, l'influence du groupe participant favorise la formation du mannoside de configuration  $\alpha$  (Schéma II-3). Ces résultats s'appliquent également en série furanosique.<sup>87</sup>



*Schéma II-3 : Influence du groupe participant en C-2 sur la stéréosélectivité*

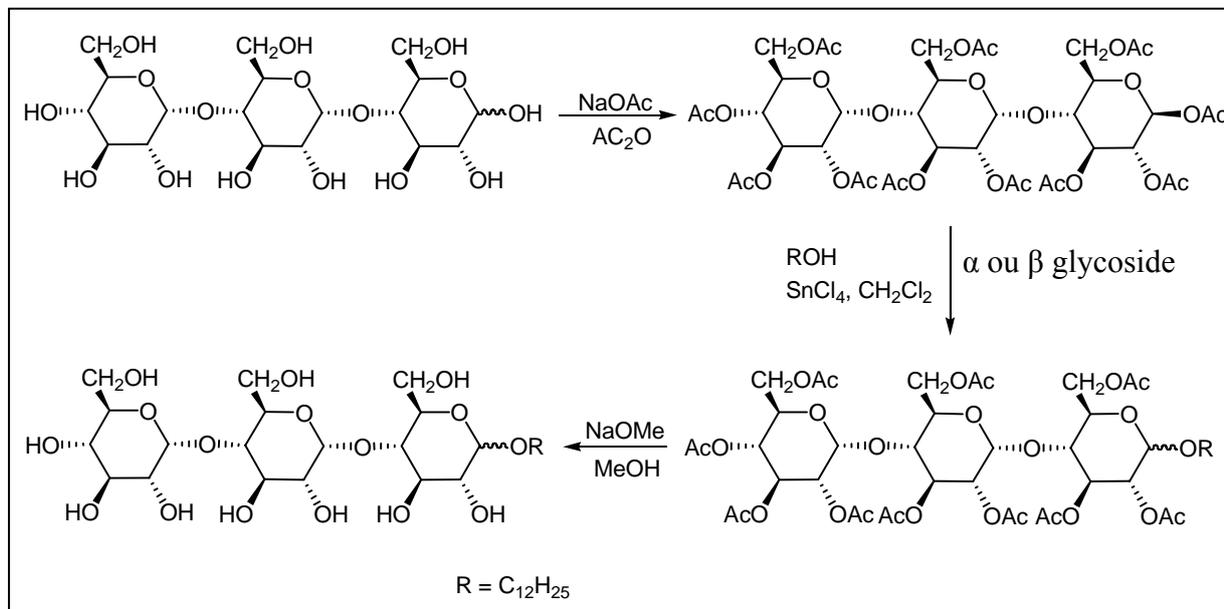
### II-1-1-2-c) Différentes méthodes de glycosylation stéréo-contrôlées

Helferich et collaborateurs<sup>79</sup> ont décrit une réaction originale permettant de déplacer un groupement acétoxy sur la position anomérique d'un sucre peracétylé par un phénol en présence d'un catalyseur acide. Cette réaction a été reprise par différentes équipes<sup>88</sup> et optimisée afin de réaliser des synthèses stéréosélectives de glycosides d'alkyle.

<sup>87</sup> (a) Hanessian, S.; Banoub, J. *Carbohydr. Res.* **1977**, *59*, 261. (b) Hanessian, S.; Banoub, J. *Methods Carbohydr. Chem.* **1980**, *8*, 243.

<sup>88</sup> (a) Bollenback, G. N.; Long, J. W.; Benjamin, D. G.; Lindquist, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 3310. (b) Honma, K.; Nakazima, K.; Uematsu, T.; Hamada, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, *24*, 394.

Le principe de cette réaction se base sur l'utilisation d'un substrat peracétylé, qui, en réagissant avec un alcool en présence d'un acide de Lewis conduit à la formation du glycoside souhaité (Schéma II-4). L'acide de Lewis le plus couramment rencontré est le tétrachlorure d'étain.



*Schéma II-4 : Synthèse de maltotrioside de n-dodécyle par la méthode d'Helferich<sup>89</sup>*

Dans les conditions de réaction d'Helferich (Schéma II-4), le groupement acétyle en position 2 joue le rôle de groupe participant. A basse température, la réaction est orientée vers la formation du glycoside de configuration β. A une température plus élevée et au bout d'un temps de réaction plus long, le produit thermodynamique de configuration α est favorisé.<sup>89</sup>

Une autre méthode mise en place par Koenigs et Knorr<sup>82</sup> consiste à activer le donneur de glycosyle sous la forme d'halogénure (de bromure ou chlorure). Ce dernier réagit ensuite avec un accepteur de glycosyle notamment en présence de sels d'argent ou de mercure.

D'autres méthodes d'activation, basées sur le même principe que la méthode de Koenigs et Knorr, ont également été élaborées. On cite parmi tant d'autres la méthode aux thioglycosides,<sup>90</sup> la méthode aux fluorures,<sup>91</sup> ou encore celle basée sur le concept de

<sup>89</sup> (a) Böcker, T.; Thiem, J. *Tenside Surf. Det.* **1989**, *26*, 318. (b) Thiem, J.; Böcker, T. *Spec. Publ. -R. Soc. Chem.* **1992**, *107*, 123.

<sup>90</sup> (a) Veeneman, G. H.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 275. (b) Toshima, K.; Nozaki, Y.; Tatsuta, K. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6887.

<sup>91</sup> Wessel, H. P.; Ruiz, N. *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 901.

l'activation à distance<sup>92</sup> qui a été mise au point par l'équipe de Kobayashi.<sup>93</sup> Ces auteurs utilisent le 2-pyridinecarboxylate de glycosyle comme donneur de glycosyle. Ce dernier est activé par un acide de Lewis Cu(OTf)<sub>2</sub> ou Sn(OTf)<sub>2</sub>, et conduit à la formation d'un oxonium très réactif. Selon le choix du solvant et de l'acide de Lewis, des glycosides de configuration  $\alpha$  ou  $\beta$  sont obtenus sélectivement à partir du même donneur de glycosyle.

### II-1-1-3) Réaction de glycosylation sur des sucres libres

La version originale de la méthode de Fisher implique l'obtention de composés *O*-glycosides à partir d'alcools et d'hémiacétals non protégés par le biais d'une réaction acido-catalysée.<sup>78</sup> Cette transformation est réversible et dans le plus courant des cas, ne permet pas la synthèse de composés comportant plus d'une liaison glycosidique.

La stéréosélectivité de la réaction de glycosylation se base sur un contrôle thermodynamique et notamment sur la différence de stabilité entre les formes  $\alpha$  /  $\beta$  furanosiques et pyranosiques. Ainsi, si les glycosides de configuration  $\alpha$  sont défavorisés par des effets stériques, ils sont favorisés par les effets anomères.<sup>94</sup> Ces deux phénomènes opposés sont souvent compétitifs, et un mélange d'anomères est généralement obtenu.<sup>95</sup>

De plus, la glycosylation de Fischer réalisée sur un pentose ou un hexose non protégé, conduit à un équilibre tautomère. On retrouve généralement un mélange des formes furanosiques et pyranosiques, des anomères  $\alpha$  et  $\beta$  et des oligomères.

Le tableau suivant illustre la composition (en %) de quelques monosaccharides dans l'eau.

Tableau II-1 : Composition (en %) de quelques monosaccharides dans l'eau

Aldose	T (°C)	Forme pyranosique		Forme furanosique		Aldéhyde
		$\alpha$ -pyr	$\beta$ -pyr	$\alpha$ -fur	$\beta$ -fur	
Galactose	31	30	64	2,5	3,5	0,02
Glucose	31	38	62	nd	0,14	0,002
Mannose	44	65,5	34,5	0,6	0,3	0,005
Arabinose	31	60	35,5	2,5	2	0,03
Xylose	31	36,5	63	< 1		0,02

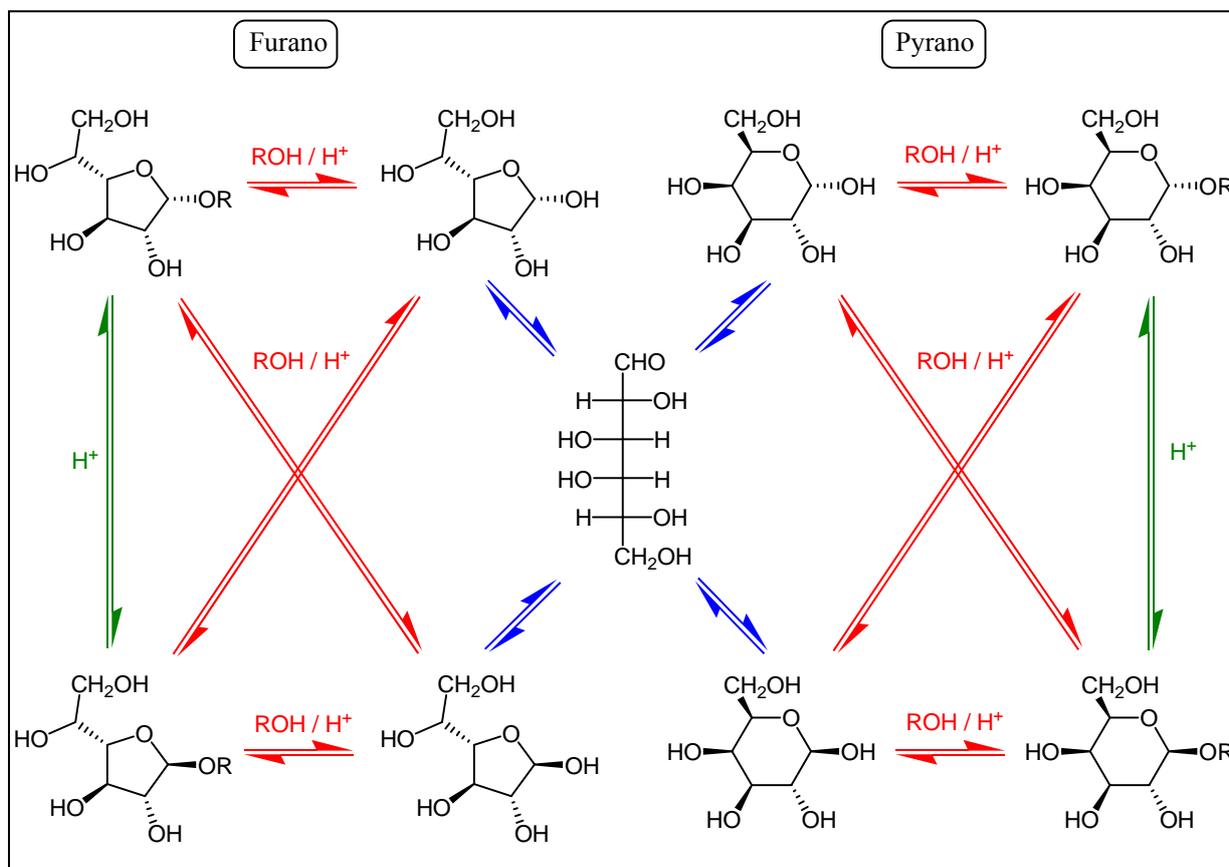
<sup>92</sup> Hanessian, S.; Bacquet, C.; Lehong, N. *Carbohydr. Res.* **1980**, *80*, C17.

<sup>93</sup> Koide, K.; Ohno, M.; Kobayashi, S. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7065.

<sup>94</sup> Praly, J.-P.; Lemieux, R. U. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 213.

<sup>95</sup> (a) Smirnyagin, V.; Bishop, C. T. *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 3085. (b) Brown, G. M.; Dubreuil, P.; Ichhaporia, F. M.; Desnoyer, J. E. *Can. J. Chem.* **1970**, *48*, 2525.

Le schéma ci-dessous illustre la tautomérisation du D-galactose en milieu acide en présence d'un alcool :



*Schéma II-5 : Exemple d'équilibre tautomère dans la synthèse de glycoside*

Cette réaction de glycosidation représente un équilibre réactionnel qui produit un mélange d'alkyl D-galactofuranosides et d'alkyl D-galactopyranosides (isomères  $\alpha$  et  $\beta$ ).

Dans le cas des glucosides, les anomères furanosiques sont les produits favorisés cinétiquement, et ils s'isomérisent ensuite en formes pyranosiques. D'autre part, si la réaction est contrôlée thermodynamiquement, alors, le rapport pyranose / furanose est de 95 / 5, avec un ratio  $\alpha / \beta$  de l'ordre de 65 / 35.<sup>86</sup>

Cette méthode de glycosylation peut être utilisée pour la synthèse d'oligosaccharides simples ou de glycosides d'alkyle lorsque le substrat de départ est protégé.<sup>96</sup>

<sup>96</sup> Straathof, A. J. J.; Romein, J.; Van Rantwijk, F.; Kieboom, A. P. G.; Van Bekkum, H. *Starch* **1987**, 39, 362.

#### II-1-1-4) Cas de l'acide D-galacturonique

Plusieurs exemples concernant la glycosylation de Fischer appliquée en série uronique sont décrits dans la littérature, notamment pour la méthanolyse des acides D-glucuronique et D-galacturonique.

La méthanolyse de l'acide D-galacturonique dans le méthanol à reflux et en présence de chlorure d'hydrogène conduit à un mélange de (méthyl-D-galactofuranoside) uronate de méthyle à 55% et de (méthyl-D-galactopyranoside) uronate de méthyle à 45%.<sup>97</sup>

D'autre part, la réalisation de cette réaction à température ambiante conduit à la formation dans un premier temps des produits issus de la réaction d'estérification sans la glycosylation. Ensuite, en laissant réagir plus longtemps, c'est-à-dire après 2 jours, le chromatogramme (HPLC) montre la formation majoritaire du méthyl D-galactofuranoside uronate de méthyle avec un rendement supérieur à 50% (Schéma II-6).

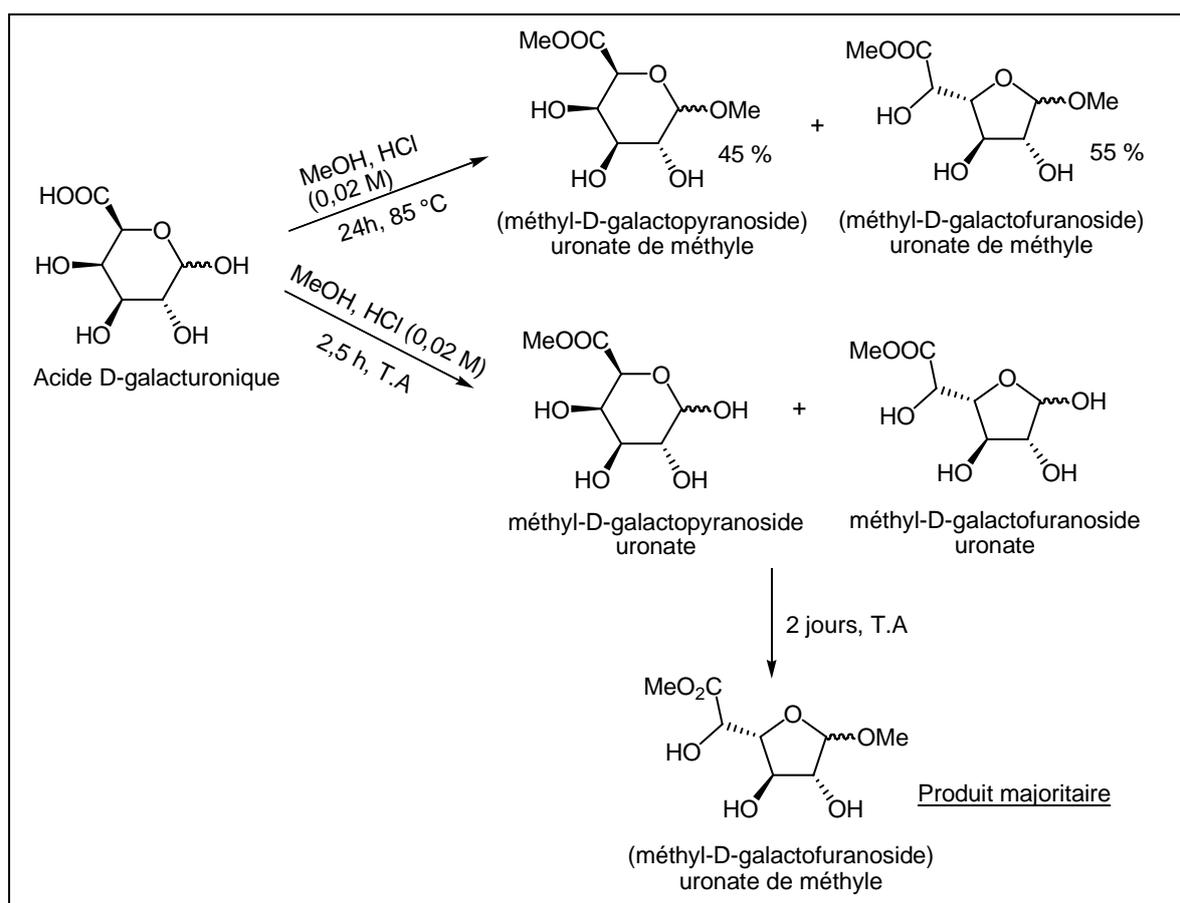
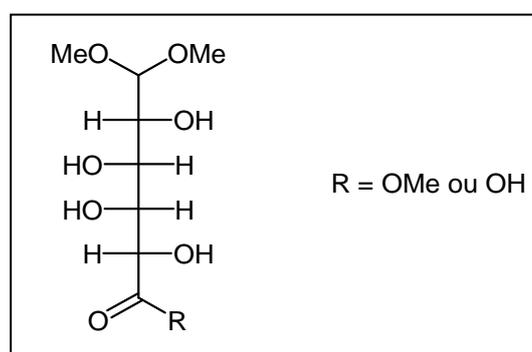


Schéma II-6 : Suivi de la réaction de l'acide D-galacturonique dans le méthanol en milieu acide à différentes conditions de temps et de température

<sup>97</sup> Cheetham, N. W. H.; Sirimane, P. *Carbohydr. Res.* **1983**, 112,1.

En général, la glycosylation des acides uroniques est toujours en compétition avec la réaction d'estérification, cette dernière se révélant être la plus rapide.<sup>98</sup> Jansen et Jang<sup>99</sup> ont montré que l'estérification de l'acide D-galacturonique est 25 fois plus rapide à 25 °C et 55 fois plus rapide à 0 °C que la glycosylation. À partir de ces résultats, Chanez et Sag<sup>100</sup> ont synthétisé le galacturonate de méthyle avec un rendement de 70% mais sans préciser la nature des mélanges obtenus.

D'autre part, des études de spectrométrie de masse<sup>101</sup> ont démontré la présence des diméthylacétals de la D-galacturono-6,3-lactone et du galacturonate de méthyle (Schéma II-7).



*Schéma II-7 : Produits mis en évidence par spectroscopie de Masse<sup>101</sup>*

La société Agro-industrie Recherche et Développement (A.R.D.) a déposé une demande de brevet européen en 1992 dans lequel elle décrit la synthèse d'esters glycosides en une seule étape à partir de l'acide D-galacturonique.<sup>102</sup> Cette réaction a été élaborée dans les conditions classiques de Fischer, en utilisant un grand excès d'alcool, avec différentes sources d'acides (acide de Brønsted ou acide de Lewis).

Un mélange de quatre anomères de type (*n*-alkyl D-galactoside) uronate de *n*-alkyle a été obtenu avec une série d'alcools linéaires (Schéma II-8).

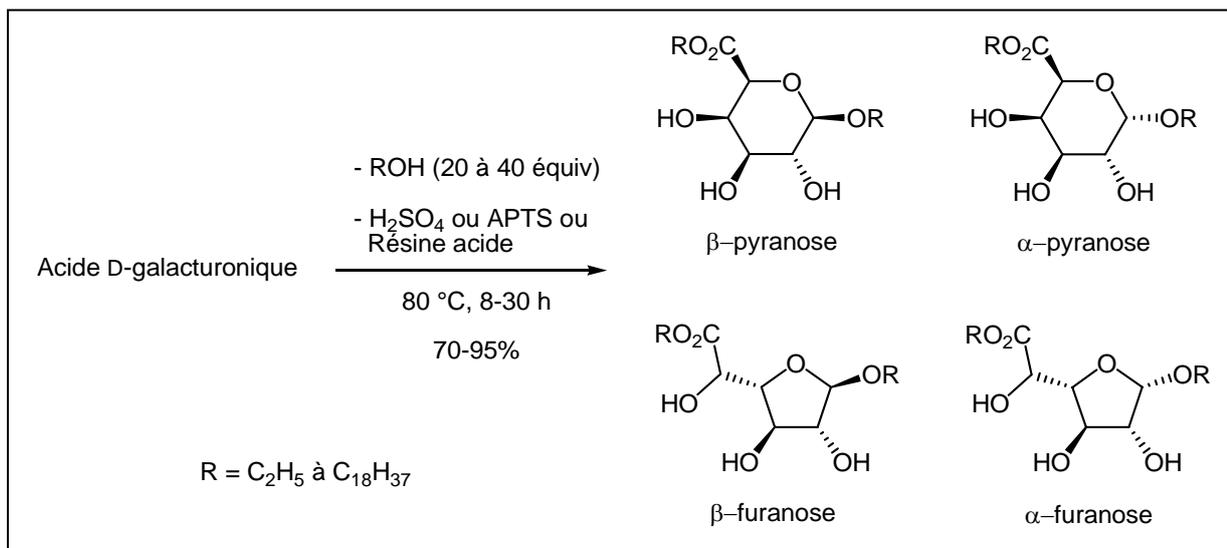
<sup>98</sup> Keglevic, D. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1979**, 36, 57.

<sup>99</sup> Jansen, E. F.; Jang, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 1475.

<sup>100</sup> Chanez, M.; Sag, G. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1956**, 1500.

<sup>101</sup> Larsson, K.; Petersson, G. *Carbohydr. Res.* **1974**, 34, 323.

<sup>102</sup> (a) Petit, S.; Favre, S.; De Baynast, R. *Fr. Patent FR 2679563*, A.R.D. **1991**. (b) Petit, S.; Ralainirina, R.; Favre, S.; De Baynast, R. *Eur Patent EP 0635516*, A.R.D. **1992**. (c) Ferrières, V.; Bertho, J.-N.; Plusquellec, D.; De Baynast, R. *Fr Patent FR 2717177*, A.R.D. **1994**.



*Schéma II-8 : Réaction classique de Fischer sur l'acide D-galacturonique avec différentes chaînes d'alcools primaires*

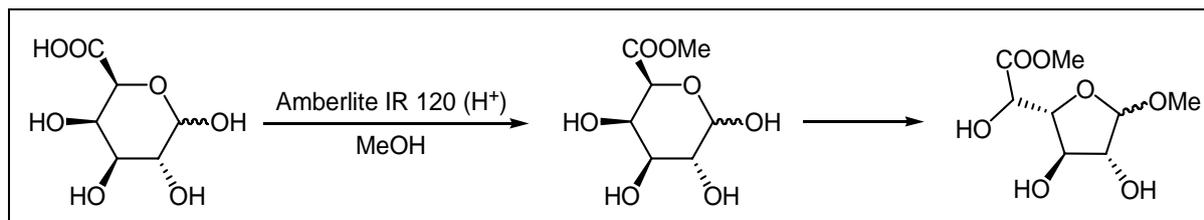
Les auteurs obtiennent dans le cas de l'éthanol un rendement de 90% d'une huile légèrement jaunâtre correspondante à l'éthyl-D-galactoside uronate d'éthyle, présente majoritairement sous sa forme β-furanose. Les autres formes étant, par ordre décroissant d'abondance, l'anomère α-pyranose, l'anomère α-furanose et l'anomère β-pyranose. Les différents composés peuvent être séparés par chromatographie.

Il faut noter qu'au début de la réaction, le substrat est peu ou pas soluble dans l'alcool utilisé. En raison de la cinétique rapide de la réaction d'estérification, le sucre de départ se transforme en D-galactoside uronate d'alkyle, qui lui est plus soluble dans le milieu réactionnel, ce qui favorise l'obtention d'un milieu homogène et le déclenchement de la réaction de glycosylation. Toutefois, un mélange des 4 anomères (*n*-alkyl D-galactoside) uronate de *n*-alkyle est obtenu en fin de la réaction, quelle que soit la longueur de la chaîne alkyle.

Après saponification, les composés synthétisés dans ce brevet ont fait l'objet de différentes applications, notamment comme agents tensioactifs non ioniques et cationiques.

Très récemment, l'équipe de Marino<sup>56,103</sup> a décrit une méthode qui permet l'obtention exclusive des esters glycosyles ayant une forme furanosique à partir de l'acide D-galacturonique (Schéma II-9).

<sup>103</sup> Bordoni, A.; Lima, C.; Marino, K.; de Lederkremer, R. M.; Marino, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1863.



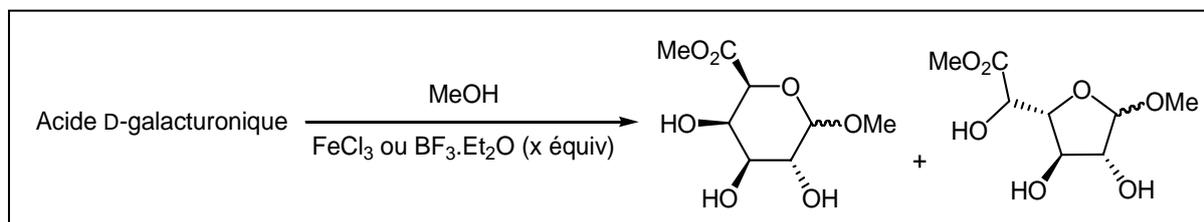
*Schéma II-9 : Obtention exclusive de la forme furanosique après une réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec du méthanol*

Selon ces auteurs, le fait que la réaction d'estérification soit plus rapide que la glycosylation, favorise l'obtention des formes furanosiques des esters glycosyles.

J.-N. Bertho a travaillé au cours de sa thèse<sup>21</sup> sur la synthèse de nouvelles molécules amphiphiles dérivées de l'acide D-galacturonique et de l'acide D-glucuronique. Il a réalisé ainsi la synthèse de glycosides de structures définies à partir de substrats non protégés.

Tout d'abord, il a étudié la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec le méthanol en présence d'acides de Lewis (Schéma II-10).

L'utilisation d'un acide de Lewis facilite la rupture de la liaison anomérique en abaissant l'énergie d'activation de cette étape par coordination avec le substrat.<sup>104</sup>



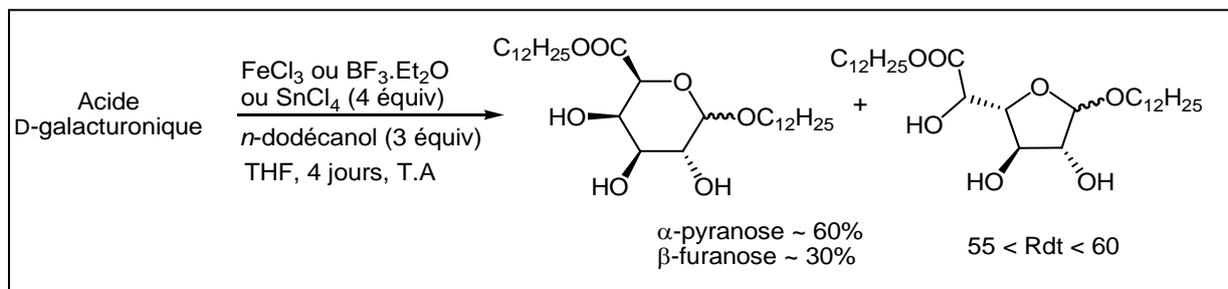
*Schéma II-10 : Estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique dans le méthanol*

Le mélange obtenu majoritairement quelque soit l'acide de Lewis utilisé et la température de réaction contient les (méthyl-D-galactofuranoside) uronates de méthyle. Cependant, en modifiant les conditions de traitement de la réaction, c'est-à-dire en neutralisant l'acide de Lewis après évaporation du méthanol, l'obtention majoritaire du (méthyl-D-galactopyranoside) uronate de méthyle est mise en évidence.

D'autre part, la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec le *n*-dodécanol en milieu hétérogène, en présence du THF comme co-solvant a été étudiée au cours de ses travaux de thèse.

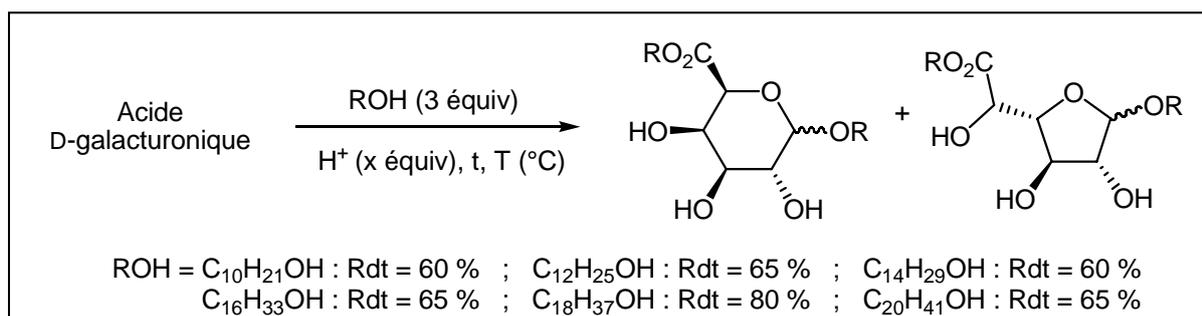
<sup>104</sup> Cotton, F. A.; Wilkinson, G. « *Advanced Inorganic Chemistry* » 5<sup>th</sup> ed., Wiley-Interscience Pub. 1988, p. 174.

Les rendements de cette réaction varient entre 55 et 60%. Un mélange de quatre anomères a été obtenu lors de ces essais, et les meilleures conditions de réactions ont été obtenues avec les acides de Lewis : FeCl<sub>3</sub>, BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> et SnCl<sub>4</sub>, à température ambiante pendant 4 jours. (Schéma II-11).



*Schéma II-11 : Estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec le *n*-dodécanol*

Après avoir mis en évidence la faisabilité de la réaction avec le *n*-dodécanol, il a étendu cette transformation à divers alcools gras, notamment à des alcools saturés comportant de 10 à 20 atomes de carbone. Un mélange des quatre anomères a été obtenu pour ces différentes chaînes avec des rendements de 50 à 80%, les deux formes majoritaires étant les isomères β-furanosiques et α-pyranosiques d'après l'analyse par RMN. Les composés β-furanosiques présentent généralement des signaux déplacés vers les champs faibles par rapport aux mêmes signaux des composés pyranosiques correspondants (Schéma II-12).



*Schéma II-12 : Synthèse de (n-alkyl-D-galactoside) uronate de n-alkyle*

Par ailleurs, des essais d'isomérisation ont été réalisés sur les mélanges des formes isomériques, et les formes α-pyranosiques ont été obtenues avec une sélectivité de 80 % sous agitation après évaporation du THF. Le tableau suivant illustre les conditions optimales mises au point pour cette isomérisation (Tableau II-2).

Tableau II-2 : Synthèses sélectives de (*n*-alkyl-  $\alpha$ -D-galactopyranoside) uronate de *n*-alkyle

Alcool	Conditions de réaction	Conditions d'isomérisation	Rdt (%)	Pourcentage des anomères (%)			
				1a $\alpha$ -fur	1b $\beta$ -fur	1c $\beta$ -pyr	1d $\alpha$ -pyr
<i>n</i> -décanol	72 h à 30 °C dans le THF	1 h à 30 °C après évaporation du THF	65	4	9	6	80
<i>n</i> -dodécanol	72 h à 30 °C dans le THF	24 h à TA après évaporation du THF	60	3	10	7	80

D'autres travaux visant la mise en place sélective de la réaction de glycosylation (sans toucher à la fonction acide carboxylique) ont permis l'obtention sélective des acides (*n*-alkyl D-galactoside)uroniques en utilisant un équivalent d'alcool avec trois équivalents d'acide de Lewis dans le THF.<sup>105</sup> Un deuxième objectif de ce travail consistait à orienter la stéréosélectivité de la glycosylation vers l'obtention des acides (*n*-alkyl D-galactoside)uroniques sous une forme isomère majoritaire par rapport aux autres, en utilisant différentes sources d'acide de Lewis en présence d'additifs tels que les sels de calcium (Schéma II-13).

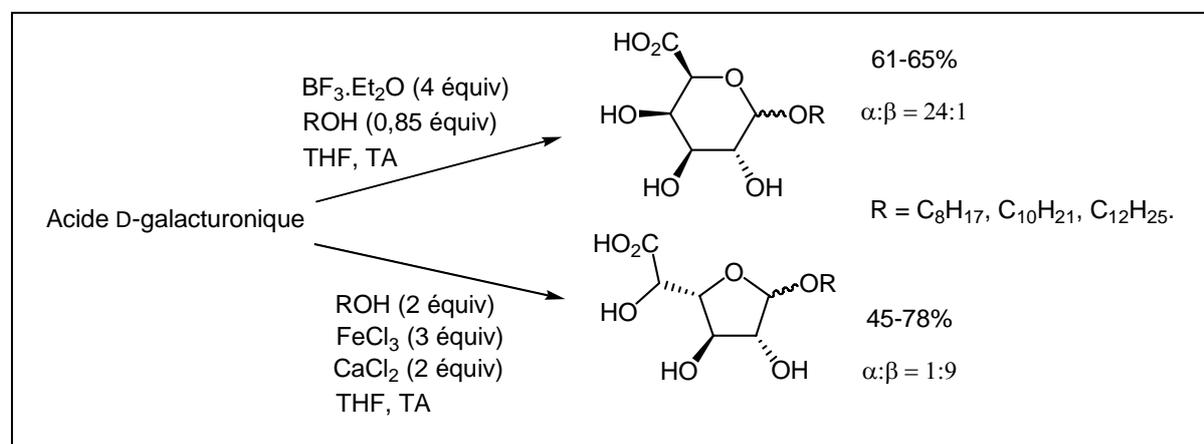
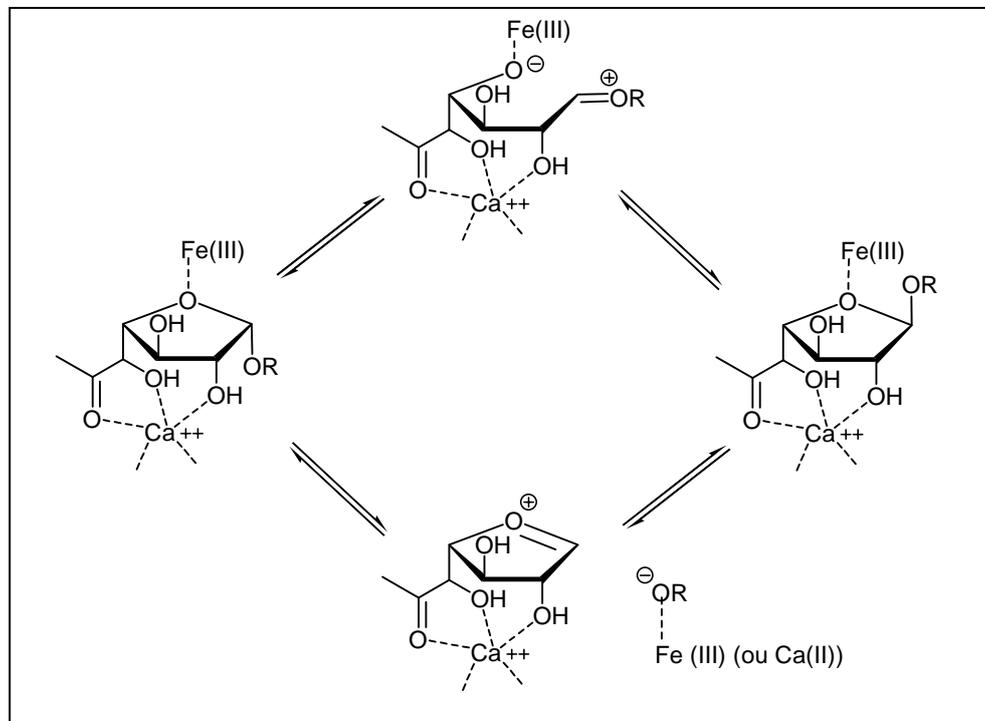


Schéma II-13 : Obtention sélective des acides (*n*-alkyl D-galactoside)uroniques sous formes furanosiques ou pyranosiques selon les conditions de réaction

<sup>105</sup> (a) Bertho, J.-N.; Ferrières, V.; Plusquellec, D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1391. (b) Ferrières, V.; Bertho, J.-N.; Plusquellec, D. *Carbohydr. Res.* **1998**, 311, 25.

L'ajout des ions calcium dans le milieu réactionnel oriente la formation d'intermédiaires furanosiques par le biais d'interactions préférentielles dans les complexes correspondants, ce qui conduit aux produits glycosidés de forme furanosique (Schéma II-14).



*Schéma II-14 : Complexation des acides galactofuranoside uroniques avec le calcium*

En conclusion, au cours de ce travail, J.-N. Bertho a mis au point des réactions de glycosylation et d'estérification acido-catalysées à partir d'acides uroniques non protégés en milieu hétérogène. Le mélange obtenu pour ce type de transformation contient deux formes isomériques majoritaires : (*n*-alkyl- $\beta$ -D-galactofuranosides) uronates de *n*-alkyles et les (*n*-alkyl- $\alpha$ -D-galactopyranosides) uronates de *n*-alkyles.

D'autre part, il a réussi à mettre en place une glycosidation chimiosélective, sans modification du carboxyle de l'acide D-galacturonique conduisant ainsi à des galactosides d'alkyle sous forme de mélange des diverses formes tautomères et anomères. Puis, dans un deuxième temps, l'orientation de la stéréosélectivité des réactions vers la formation des acides (*n*-alkyl- $\beta$ -D-galactofuranosides) uroniques a été obtenue en utilisant des ions de calcium qui permettent de figer la forme furanosique en complexant la fonction acide, ainsi que la fonction hydroxyle sur la position 5 de l'acide D-galacturonique.

## II-1-2) Synthèse des PolyGlycosides d'alkyle (APGly)

### II-1-2-1) Introduction aux APGly

Les premiers APGly ont été synthétisés et identifiés par Emil Fischer il y a plus d'un siècle.<sup>78</sup> La première application décrivant l'utilisation des APGly dans le domaine de la détergence est apparue en Allemagne 40 ans plus tard, mais tomba dans l'oubli à cause des coûts élevés de production, ainsi que la présence de tensioactifs performants déjà existants.<sup>106</sup> Il aura fallu 50 ans avant que les chercheurs ne dirigent leurs attentions vers les glycosides d'alkyles, pour développer la production industrielle des APGly (Schéma II-15).

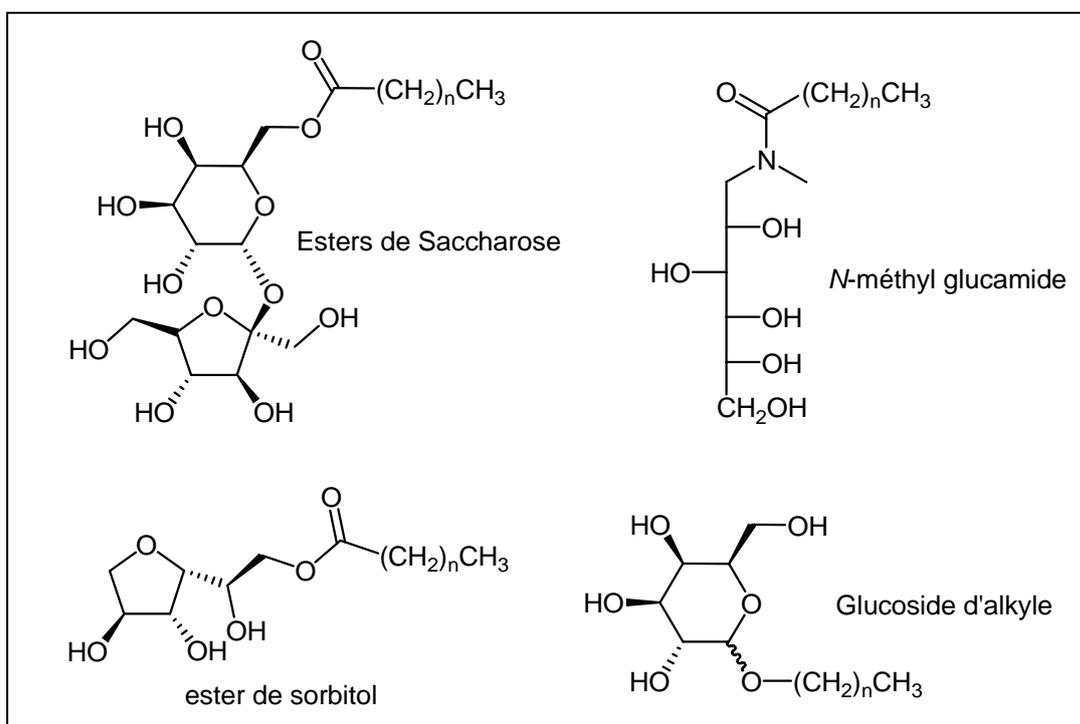


Schéma II-15 : Tensioactifs commerciaux à base de sucre

Rohm & Haas (Philadelphia, USA) ont été les premiers à commercialiser un polyglucoside d'octyle / décyle à la fin des années 70, suivis par BASF (Ludwigshafen, Allemagne), et enfin SEPPIC (Paris, France). Cependant, à cause des faibles performances dues à leurs courtes chaînes alkyles, ainsi que la qualité de leur couleur, l'utilisation de ce type d'APGly a été limitée.<sup>107</sup> Au milieu des années 80, plusieurs compagnies ont commencé à développer la synthèse des APGly ayant des longues chaînes alkyles de type dodécyle et tétradécyle (C<sub>12/14</sub>-APGly), en vue d'applications industrielles dans les domaines de la cosmétique et de la

<sup>106</sup> Böhme AG, H. Th. Br. Patent GB 384230, 1932 & GB 393769, 1933.

<sup>107</sup> Boettner, F. E. U.S Patent 3219656, Rohm & Haas Co. 1963.

détergence.<sup>108</sup> La prise en compte de l'impact environnemental des produits chimiques, a entraîné un regain d'intérêt vis-à-vis de cette catégorie de tensioactifs. L'utilisation des  $\beta$ -D-glucoside d'octyle et  $\beta$ -D-maltoside de dodécyle en biologie pour la cristallisation des protéines membranaires a prouvé qu'ils ne présentaient aucun effet de toxicité. D'autre part, des études sur le métabolisme de ces composés ont montré leur innocuité pour l'homme.<sup>109</sup> Au début des années 90, différentes entreprises se sont lancées dans la fabrication des APGly telles que Hüls, Kao Corp, ICI et SEPPIC du fait que les APGly répondent complètement aux critères de sélections suivants : (i) biodégradabilité élevée et écotoxicité faible, (ii) aucune irritation pour la peau, (iii) conservation d'un bon rapport coût / performance, (iv) utilisation des ressources renouvelables d'origine non fossile, (v) et enfin, compatibilité et synergie avec les tensioactifs traditionnels.

Les APGly chimiquement purs sont obtenus par synthèse stéréosélective selon les réactions d'estérification chimique ou enzymatiques décrites au début de ce chapitre.

### **II-1-2-2) Synthèse des APGly**

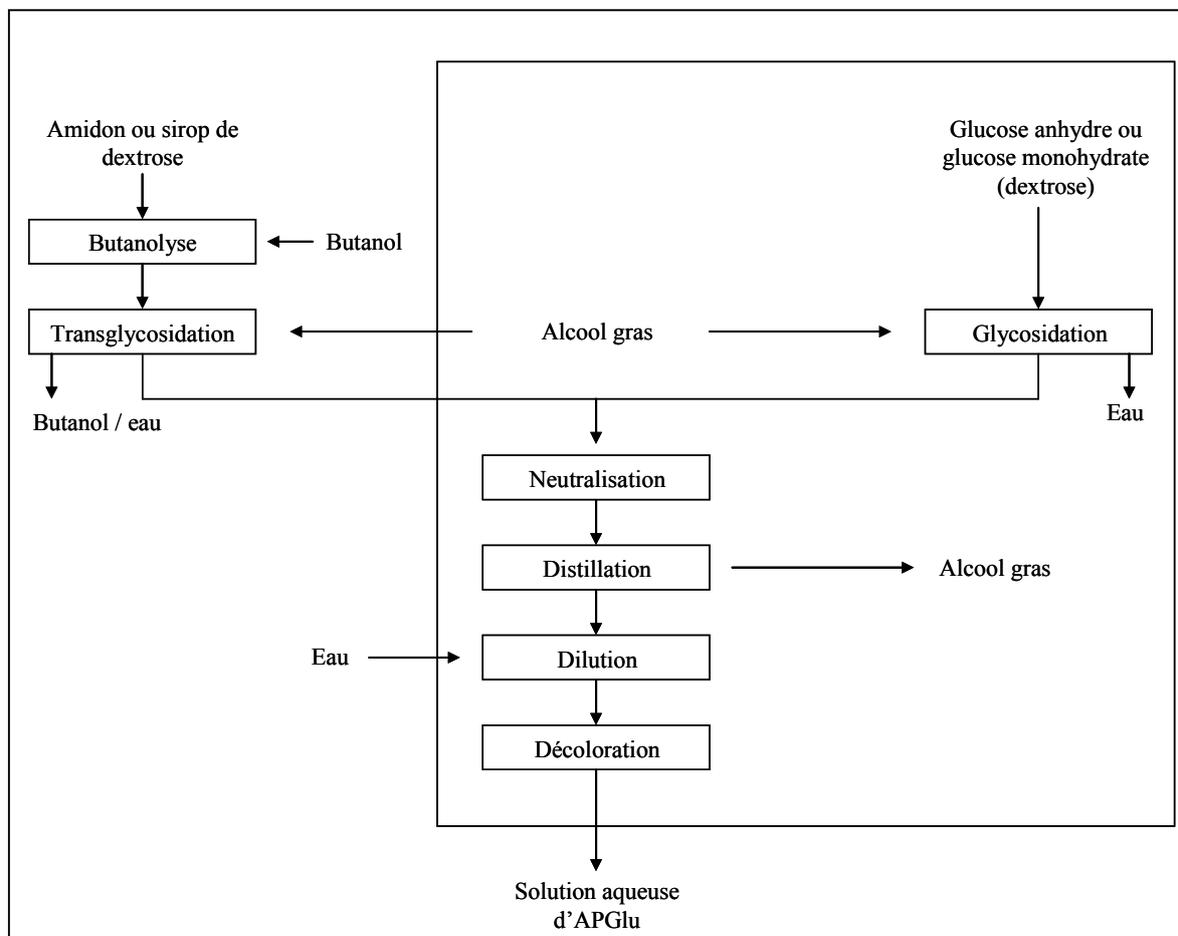
La synthèse des APGly est réalisée souvent selon les conditions de Fischer pour les applications où la régiosélectivité et la stéréosélectivité ne sont pas recherchées. A l'échelle industrielle, leur synthèse peut être réalisée suivant un de ces deux processus (Schéma II-16) :

- Le processus à une seule étape (synthèse directe) où le sucre est mis en suspension dans un alcool gras en présence d'un catalyseur acide.
- Le processus de transglycosidation (synthèse à deux étapes), dans un premier temps le sucre réagit avec un alcool à courte chaîne (butan-1-ol), formant ainsi le glycoside de butyle, qui réagit ensuite avec un alcool à chaîne plus longue. L'alcool intermédiaire à courte chaîne (butan-1-ol), est éliminé du milieu réactionnel par évaporation.

---

<sup>108</sup> Fabry, B. dans *Alkyl Polyglycosides-Technology, Properties and Applications* p. 211-223, (Eds. : Hill, K.; von Rybinski, W.; Stoll, G.) VCH, Weinheim, **1997**.

<sup>109</sup> (a) Baron, C.; Thompson, T. E. *Biochim. Biophys. Acta.* **1975**, *382*, 276. (b) Rosevear, P.; VanAken, T.; Baxter, J.; Ferguson-Miller, S. *Biochemistry* **1980**, *19*, 4108.



*Schéma II-16 : Glycosidation ou transglycosidation selon les conditions de Fischer<sup>110</sup>*

Dans les deux processus, le ratio alkyl monoglycosides / alkyl oligoglycosides peut être contrôlé par ajustement de la quantité du sucre ou la proportion molaire du rapport glycoside de butyle / alcool gras dans la réaction.<sup>111</sup>

Le contrôle de la longueur de la chaîne alkyle et du Degré de Polymérisation des sucres ( $DP = 1,1-2,2$ ) permet de moduler leurs propriétés tensioactives. Ce  $DP$  correspond au pourcentage molaire de chaque espèce dans le mélange :

$$DP = \sum_{i=1}^{\infty} \frac{p_i}{100} * i$$

$p_i$  est le pourcentage molaire dans le mélange d'une espèce oligomère de degré de polymérisation  $i$ .

<sup>110</sup> Hill, K.; Rhode, O. *Fett/lipid* **1999**, *101*, 25.

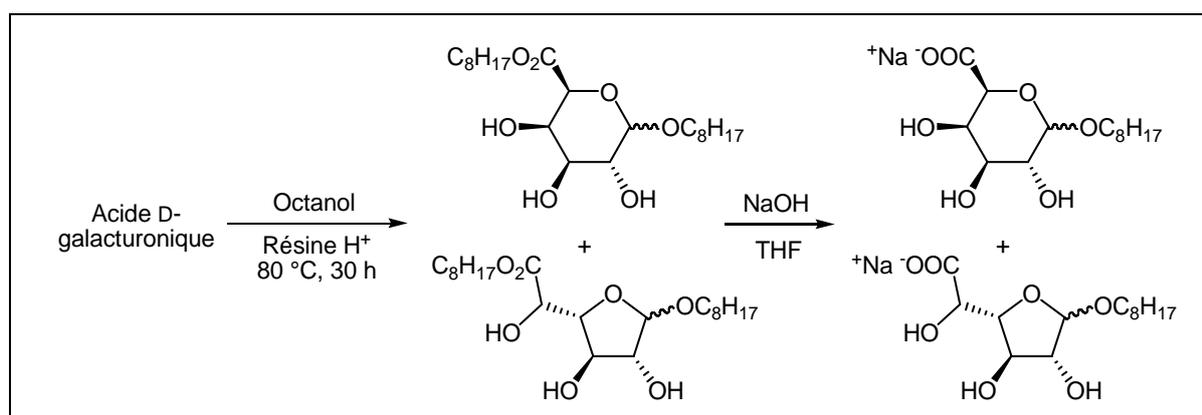
<sup>111</sup> (a) Karlheinz, H.; Weuthen, M.; Koehler, H. P. *US Patent 5480979*, **1996**. (b) Karlheinz, H.; Weuthen, M.; Koehler, H. P. *US Patent 5698684*, **1997**. (c) Koeltzow, D. E.; Urfer, A. D. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1984**, *61*, 1651.

Brancq et *al.*<sup>112</sup> ont introduit, en 1995, la notion d'APGly de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération. Les APGly de 1<sup>ère</sup> génération sont les APGly moussants, et sont caractérisés par une chaîne alkyle pouvant compter de huit à seize atomes de carbone.

Les APGly de 2<sup>ème</sup> génération sont tous les APGly autres que les APGly de 1<sup>ère</sup> génération. On cite dans cette catégorie : les polyglycosides de butyle utilisés comme hydrotropes dans les produits compacts, les polyglycosides de 2-éthylhexyle qui forment peu de mousse et sont utilisés dans le nettoyage industriel, les polyglycosides hexadécyle / octadécyle qui présentent de nombreux avantages par rapport aux émulsionnants éthoxylés.

Les APGly de 3<sup>ème</sup> génération sont obtenus par modification chimique des APGly de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération en exploitant la réactivité des hydroxyles libres de la tête polaire du sucre. Suivant la nature du greffon, cette dérivation peut conduire à des nouveaux APGly anioniques intéressants d'un point de vue économique grâce à leurs propriétés moussantes accrues. Le développement de composés APGly cationiques permet de cibler le marché des soins des cheveux, et celui de composés APGly non ioniques pour l'élaboration de produits non moussants destinés au marché de la détergence. Enfin, les APGly amphotères présentent des propriétés utiles pour les shampooings.

Un exemple de synthèse d'APGly à partir de l'acide D-galacturonique a été reporté dans le brevet de la société Agro-ressources Recherche et Développement (A.R.D) déjà cité au début de ce chapitre. Il décrit l'obtention d'acides *n*-alkyl D-galacturonates de sodium par le biais d'une réaction d'estérification-*O*-glycosylation suivie par une saponification de la fonction ester.<sup>102</sup> (Schéma II-17).



*Schéma II-17 : Synthèse d'un acide alkyl galacturonate de sodium*

<sup>112</sup> Milius, A.; Brancq, B. *Oléagineux, corps gras, lipides*, **1995**, 2, 177.

L'équipe de Rico-Lattes<sup>113</sup> a déposé un brevet en 1997 dans lequel est décrite la synthèse d'APGly présentant de bonnes caractéristiques physicochimiques. La synthèse de ces APGly se fait en mélangeant dans un premier temps un sucre (glucose, galactose ou polysaccharide) avec un alcool gras (6 à 16 carbones), ensuite en ajoutant à ce mélange un catalyseur acide plus un second alcool ayant une chaîne alkyle plus courte (butan-1-ol), en laissant tourner le mélange réactionnel à 80 °C durant 6,5 heures.

Un essai représentatif de cette synthèse a été réalisé en mélangeant 10 g de glucose avec 20 g de dodécanol, 1,25 g d'acide *p*-toluènesulfonique (APTS) et 10 g de butanol, ce qui a permis d'obtenir un rendement en APGly de l'ordre de 92% avec la récupération de 1 g de butanol en fin de réaction. Ensuite, une mesure de la taille des particules présentes dans l'émulsion a été réalisée par diffusion de lumière pour une solution diluée à 25%, et a donné des tailles de micelles comprises entre 53 et 169 nm.

### **II-1-3) Synthèse et applications de certains dérivés glucidiques à chaîne amphiphile**

Différentes équipes se sont intéressées au greffage de chaînes amphiphiles sur des squelettes sucres, afin de produire des matériaux homogènes et amphiphiles pour aboutir à plusieurs applications, à titre d'exemple on cite la synthèse de surfactants pour l'extraction et la purification des protéines membranaires<sup>114</sup> ou encore, la synthèse de cristaux liquides ayant des propriétés thermotropiques ou lyotropiques.<sup>115</sup>

Certains dérivés amphiphiles à base sucre ont déjà démontré une grande nature mésogène.<sup>116</sup> Par conséquent, le chauffage de ces produits leur conférera un comportement thermotropique liquide cristallin, avec une succession de transformations de type cristal-cristal, cristal-liquide cristal et liquide cristal-liquide isotropique. Pour plusieurs produits, les points de transitions peuvent être différents selon le chauffage, le refroidissement ainsi que le nombre de cycles.

L'équipe de Plusquellec<sup>117</sup> a réalisé une étude des phases thermotropiques liquides cristallines sur des dérivés d'acide D-galacturonique (et D-glucuronique), ayant des chaînes amphiphiles sur la position anomérique (Schéma II-18).

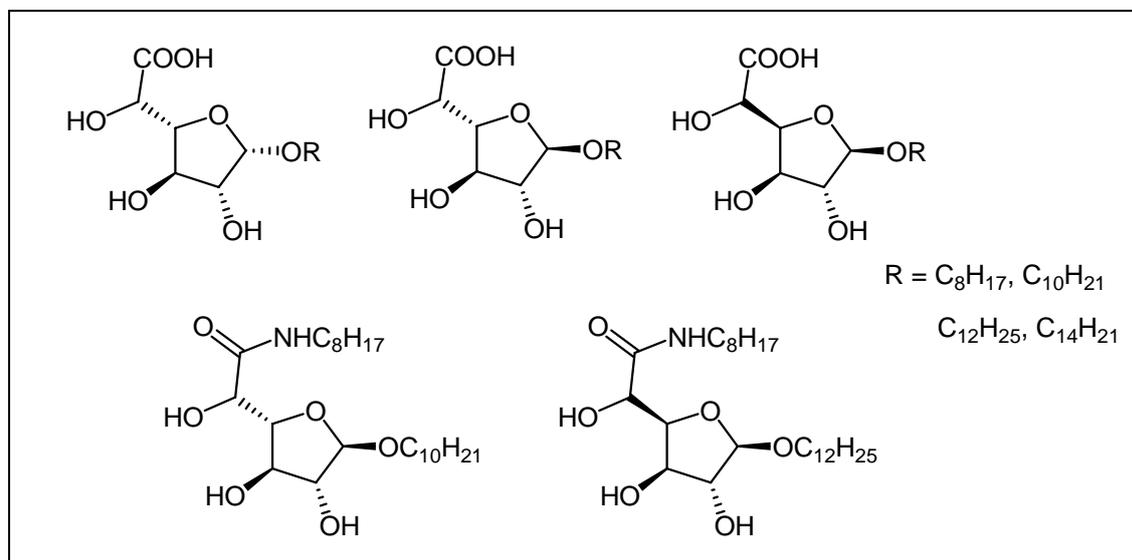
<sup>113</sup> Rico-Lattes, I.; Perez, E.; Lattes, A.; Godefroy, L. *Fr 2765121*, 1997.

<sup>114</sup> (a) Kuhlbrandt, W. *Quart. Rev. Biophys.* **1988**, *21*, 429; **1992**, *25*, 1. (b) Plusquellec, D.; Chevalier, G.; Talibard, R.; Wroblewski, H. *Anal. Biochem.* **1989**, *179*, 145. (c) Brenner-Henaff, C.; Valdor, J. F.; Plusquellec, D.; Wroblewski, H. *Anal. Biochem.* **1993**, *212*, 117.

<sup>115</sup> (a) Jeffrey, G. A. *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19*, 168. (b) Goodby, J. W. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1984**, *110*, 205. (c) Van Doren, H. A.; Wingert, L. M. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1991**, *198*, 381. (d) Jeffrey, G. A.; Wingert, L. M. *Liq. Cryst.* **1992**, *12*, 179.

<sup>116</sup> Sakya, P.; Seddon, J. M.; Templer, R. H. *J. Phys. II Fr.* **1994**, *4*, 1311.

L'étude des propriétés de cristaux liquides réalisée comprend, d'une part, un scan calorimétrique qui permet de définir les températures ainsi que les enthalpies libres pour le premier cycle de chauffage, et d'autre part, une étude de diffractions des rayons X sur ces différents composés.



*Schéma II-18 : Produits dérivés d'acide D-galacturonique et D-glucuronique ayant démontré de bonnes propriétés liquide-cristallines*

Les bolaformes sont des composés ayant deux têtes polaires connectées entre elles par le biais d'un ou plusieurs groupements hydrophobes espacés.<sup>118</sup> Ces composés sont auto-assemblés sous forme de membranes monocouche, pour former l'architecture de certains types de parois bactériennes.<sup>119</sup> Les bolaamphiphiles ont acquis une grande importance ces dernières années non seulement à cause de leur habilité à former des structures supramoléculaires, mais aussi grâce à leur utilisation comme biomatériaux.<sup>120</sup>

L'équipe de Plusquellec s'est intéressée à la synthèse, ainsi qu'à l'étude des propriétés d'auto-assemblage de ces composés de types « bolaamphiphiles ». Les composés synthétisés sont soit de type tétraéthers glycolipidiques,<sup>121</sup> ou encore des bolaamphiphiles ayant deux têtes

<sup>117</sup> Auvray, X.; Labulle, B.; Petipas, C.; Bertho, J.-N.; Benvegno, T.; Plusquellec, D. *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 1373.

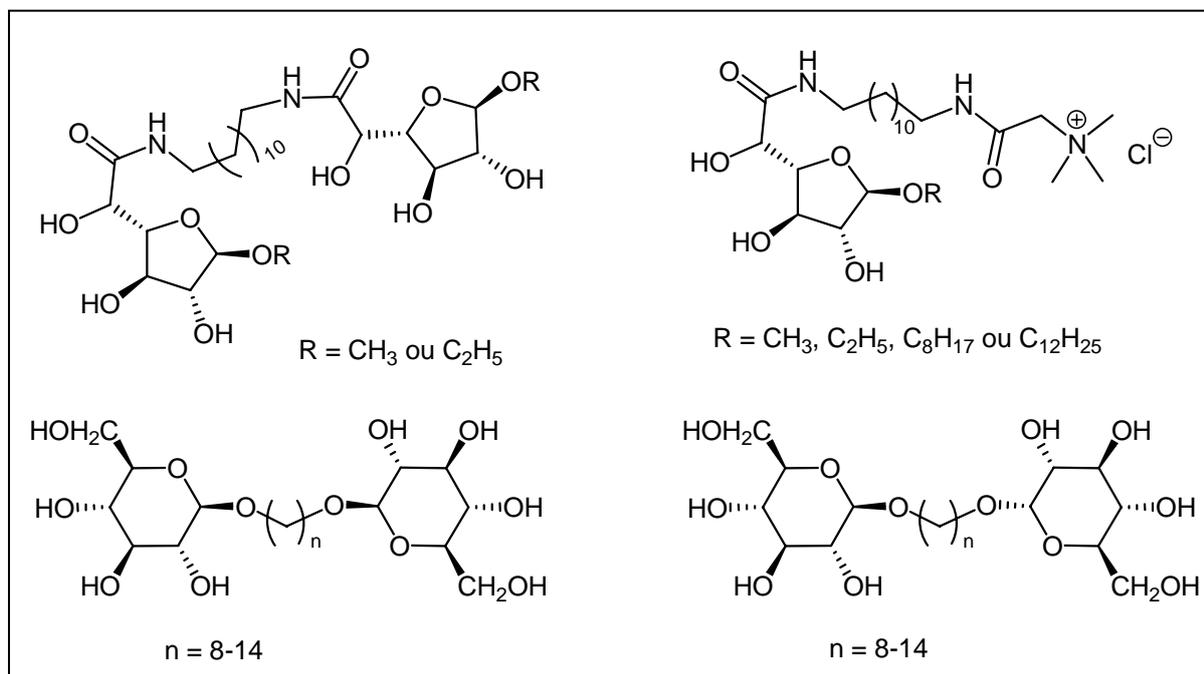
<sup>118</sup> Fuhrhop, J. H.; Fritsch, D. *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19*, 130.

<sup>119</sup> Fuhrman, J. F.; McCallum, K.; Davis, A. A. *Nature*, **1992**, *356*, 14.

<sup>120</sup> Zana, R. dans *Specialist surfactants*, Ed. par Robb, I.D., Chapman et Hall, Glasgow. 4<sup>ème</sup> Chapitre, **1996**.

<sup>121</sup> (a) Auzély-Velty, R.; Benvegno, T.; Plusquellec, D.; Mackenzie, G.; Haley, J. A.; Goodby, J. W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2511. (b) Lecollinet, G.; Auzély-Velty, R.; Danel, M.; Benvegno, T.; Mackenzie, G.; Goodby, J. W. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3139.

polaires à base de sucre.<sup>122</sup> Quelques exemples de ces produits sont représentés dans le schéma ci-dessous.

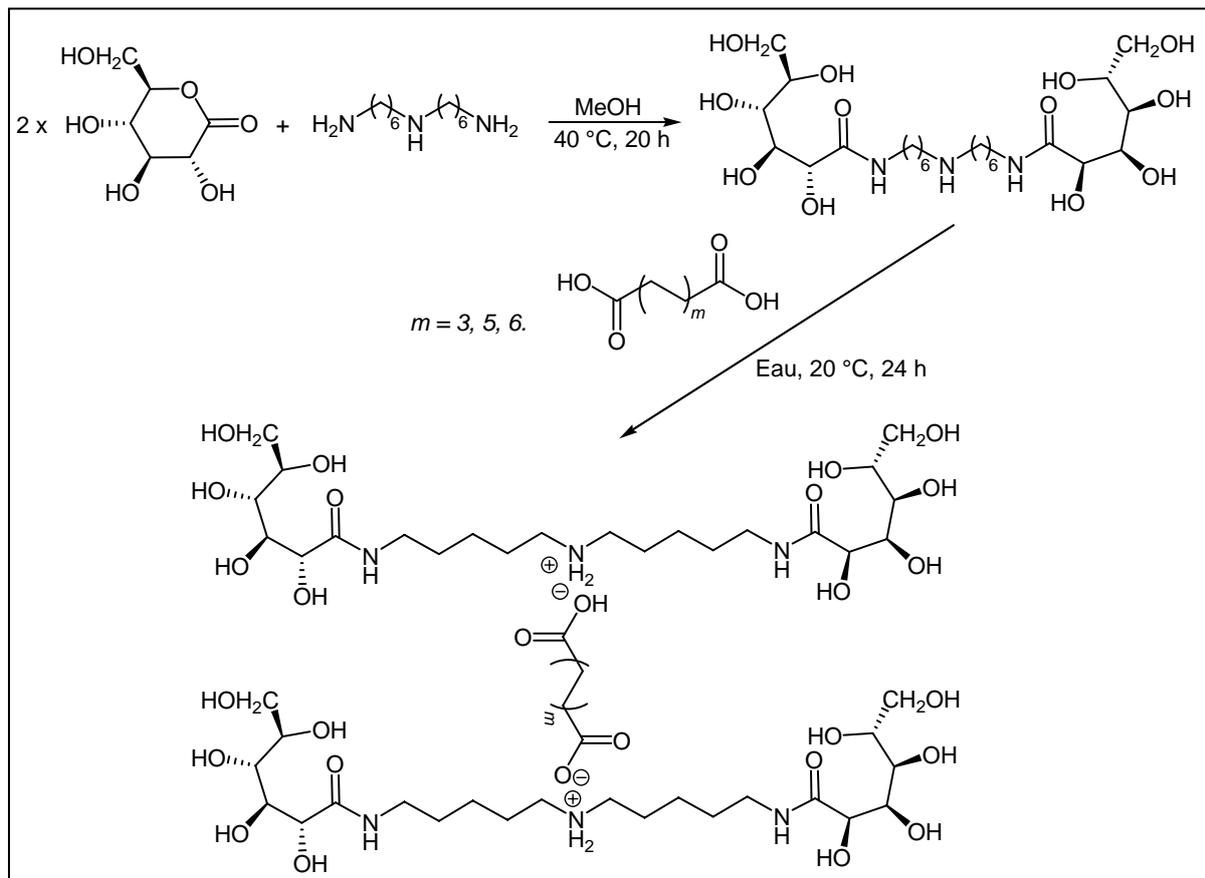


*Schéma II-19 : Composés bolaamphiphiles synthétisés par l'équipe de Plusquellec.*

L'équipe de Rico-Lattes<sup>123</sup> s'est intéressée aussi à la synthèse de composés bolaamphiphiles qui s'associent spontanément entre eux par des interactions cationiques en présence d'un diacide. Le but de ce travail était la conception contrôlée de nouvelles entités amphiphiles cationiques de type tribloc formant spontanément des vésicules stables. Le schéma ci-dessous illustre la synthèse du bolaamphiphile, ainsi que celle du tribloc cationique (Schéma II-20).

<sup>122</sup> Guilbot, J.; Benvegnu, T.; Legros, N.; Plusquellec, D.; Dedieu, J. C.; Gulik, A. *Langmuir*, **2001**, *17*, 613.

<sup>123</sup> Soussan, E.; Pasc-Banu, A.; Consola, S.; Labrot, T.; Perez, E.; Blanzat, M.; Oda, R.; Vidal, C.; Rico-Lattes, I. *ChemPhysChem*, **2005**, *6*, 2492.



*Schéma II-20 : Composés bolaamphiphiles de type tribloc cationique*

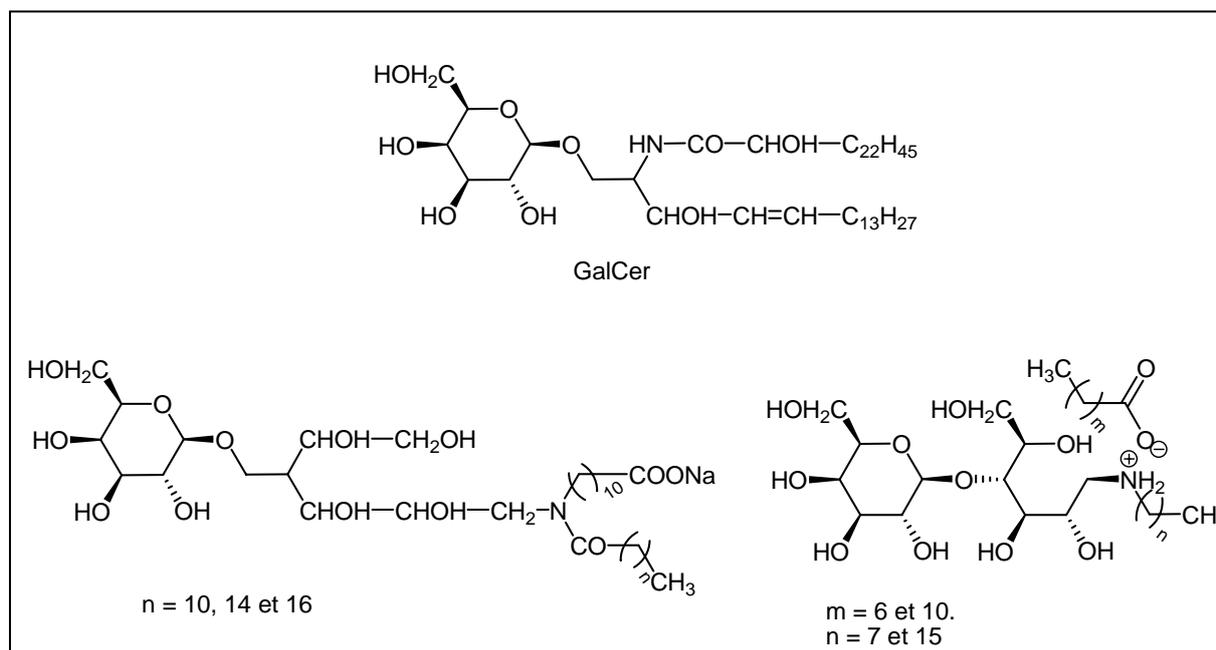
Le galactosylcéramide (GalCer) est un récepteur alternatif qui permet au virus VIH-1 de pénétrer à l'intérieur des cellules CD4 d'origine neutre ou colonique.<sup>124</sup> Plusieurs études suggèrent que la galactosylcéramide reconnaît la boucle V3 présente sur l'enveloppe glycoprotéinique GP120 du virus VIH-1.<sup>125</sup>

Certains composés bolaamphiphiles analogues du galactosylcéramide (GalCer) peuvent se lier à la boucle V3 de la glycoprotéine 120 du VIH-1, ce qui constitue une nouvelle approche pour obtenir de nouveaux agents anti-VIH à faible coût. L'équipe de Rico-Lattes s'est intéressée à la synthèse de nouvelles molécules bolamphiphiles analogue du GalCer, à partir du

<sup>124</sup> (a) Harouse, J. M.; Bhat, S.; Spitalnik, S. I.; Laughlin, M.; Stefano, K.; Silberberg, D. H.; Gonzales-Scarano, F. *Science*, **1991**, 253, 320. (b) Yahi, N.; Baghididian, S.; Moreau, M.; Fantini, J. J. *Viol.* **1992**, 66, 4848.

<sup>125</sup> Cook, D. G.; Fantini, J.; Spitalnik, S. L.; Gonzales-Scarano, F. *Viol.* **1994**, 201, 206.

galactose<sup>126</sup> ou du lactose.<sup>127</sup> Ces produits ont montré de bons pouvoir inhibiteurs sur la croissance du VIH-1 avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre du micromolaire.<sup>128</sup> (Schéma II-21)



*Schéma II-21 : Composés bolaamphiphiles analogues du GalCer préparés par l'équipe de Rico-Lattes*

## **II-2) Etude de la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique**

### **II-2-1) Méthodologie de synthèse du *n*-octyl D-galactoside uronate de *n*-octyle à partir de l'acide D-galacturonique par voie thermique classique**

Dans le but de synthétiser des molécules multifonctionnelles comportant une partie amphiphile et une partie complexante en un nombre limité d'étapes, nous avons entrepris une étude de la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol comme solvant. Cette réaction permettra, d'une part, de greffer la chaîne octyle sur la position anomérique du sucre, et d'autre part, d'activer la fonction carboxyle pour pouvoir ainsi introduire la partie complexante.

Notre choix s'est porté sur l'utilisation de la chaîne octyle car elle peut être considérée comme la plus petite chaîne alkyle permettant la formation d'auto-assemblages moléculaires, et avoir

<sup>126</sup> Fantini, J.; Hammache, D.; Delezay, O.; Yahi, N.; André-Barrès, C.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A. *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 724.

<sup>127</sup> (a) Blanzat, M.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A. *New. J. Chem.* **1993**, 23, 1063. (b) Blanzat, M.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A.; Gulik, A. *Chem. Commun.* **2003**, 244.

<sup>128</sup> Rico-Lattes, I.; Gouzy, M.-F.; André-Barrès, C.; Guidetti, B.; Lattes, A. *New. J. Chem.* **1998**, 22, 451.

ainsi de bonnes propriétés physico-chimiques interfaciales, tout en préservant une certaine solubilité en milieu aqueux, en fonction des substituants présents sur la molécule.

Dans un premier temps, l'objectif a porté sur l'étude de la réaction d'estérification-*O*-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol dans les conditions classiques de Fischer, c'est-à-dire en faisant varier les différents paramètres de la réaction : temps, température, quantité d'alcool et la nature de l'acide, afin de trouver les meilleures conditions qui permettront non seulement d'obtenir un bon rendement, mais aussi de favoriser l'obtention d'un anomère majoritaire par rapport aux autres.

Le tableau II-3 regroupe les principaux résultats obtenus lors de l'étude des différents paramètres de la réaction d'estérification-*O*-glycosylation :

*Tableau II-3 : Etude des conditions optimales pour la réalisation de l'estérfication-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol dans les conditions thermiques*

Entrées	Octanol (équiv.)	t (h)	T (°C)	Catalyse acide	Rdt (%)	Pourcentage des anomères (%)			
						<b>1a</b>	<b>1b</b>	<b>1c</b>	<b>1d</b>
						β-fur	α-fur	β-pyr	α-pyr
1	5	48	80	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	62	41	17	5	37
<b>2</b>	10				<b>80</b>	<b>51</b>	<b>14</b>	<b>&lt;5</b>	<b>33</b>
3	20				77	48	16	4	32
4	10	8	80	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	66	46	12	8	34
5		24			68	46	15	5	34
<b>6</b>		72			<b>62</b>	<b>64</b>	<b>12</b>	<b>6</b>	<b>18</b>
7	10	48	50	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	65	45	11	6	38
8			100		33	55	16	5	24
9	10	48	80	Dowex	68	51	14	<5	33
10				HCl	54	49	14	3	33
<b>11</b>				APTS	<b>83</b>	<b>50</b>	<b>15</b>	<b>5</b>	<b>30</b>

*Conditions réactionnelles utilisées pour la réaction d'estérfication-O-glycosylation*

La mise en place de cette réaction se fait en ajoutant un nombre d'équivalents bien défini d'octanol dans un ballon contenant préalablement l'acide D-galacturonique. Ensuite, une

source d'acide est additionnée dans le ballon, puis la réaction est chauffée dans un bain d'huile pendant un temps bien défini à la température désirée. Le suivi de la formation des différents produits se fait par chromatographie sur couche mince de silice en utilisant comme éluant : acétate d'éthyle / éther de pétrole (4:1).

A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est neutralisé soit en ajoutant du bicarbonate de sodium solide et en filtrant la solution en présence d'un excès d'acétate d'éthyle, soit en ajoutant une solution saturée de bicarbonate de sodium et en effectuant une extraction dans un mélange : acétate d'éthyle / eau. Dans les deux cas, l'acide D-galacturonique résiduel est éliminé soit par filtration étant donné son insolubilité dans l'acétate d'éthyle, soit par extraction dans un mélange eau / acétate d'éthyle. L'excès d'octanol est ensuite distillé sous pression réduite après évaporation de l'acétate d'éthyle. Une huile de couleur jaunâtre est récupérée.

Les pourcentages d'anomères présents dans le brut réactionnel sont quantifiés par RMN <sup>1</sup>H dans le chloroforme deutéré, par intégration relative des signaux correspondants aux protons anomériques de chaque espèce.

Enfin, le rendement de la réaction est calculé après passage du mélange d'anomères sur colonne chromatographique de silice en utilisant comme éluant : acétate d'éthyle / éther de pétrole (1:1) pour séparer les formes furanosiques, ensuite, acétate d'éthyle / éther de pétrole (4:1) pour séparer les formes pyranosiques.

#### Nombre d'équivalents d'octanol

La première étape de cette méthodologie consiste à trouver le nombre d'équivalents optimal pour obtenir un bon rendement et une sélectivité encourageante pour cette réaction. Le meilleur résultat est obtenu en utilisant 10 équivalents d'octanol avec un rendement de 80%. L'anomère  $\beta$ -furanose est majoritaire dans ces conditions, comme précédemment décrit (50%  $\beta$ -furanose et 30%  $\alpha$ -pyranose).<sup>102</sup> On remarque que le passage de 10 à 5 équivalents d'octanol (entrées 1 et 2, Tableau II-3), provoque non seulement une perte du rendement mais aussi une perte de sélectivité en faveur de la forme  $\alpha$ -pyranosique. D'un autre côté, une augmentation du nombre d'équivalent d'octanol (20 équiv.) ne change pas les résultats (entrée 3, Tableau II-3).

#### Catalyse acide

Différentes sources d'acide ont été testées : la résine Dowex 50 WX8, l'acide chlorhydrique qui est généré dans le milieu par addition de chlorure d'acétyle au milieu réactionnel, l'acide *p*-toluènesulfonique, l'acide sulfurique, ou encore quelques acides de Lewis qui n'ont pas tous été cités dans le tableau à cause des résultats non probants obtenus.

Le meilleur catalyseur est l'acide sulfurique qui conduit à un rendement de 80% à 80 °C pendant 48 heures en présence de 10 équivalents d'octanol (entrée 2, Tableau II-3).

D'un autre côté, l'utilisation de l'acide *p*-toluènesulfonique (APTS) donne un bon rendement de réaction avec environ 83%, ce qui démontre que ce dernier a un caractère acide bien approprié qui permet de promouvoir une bonne réaction d'estérification comme décrit dans la littérature.<sup>129</sup>

#### Temps de réaction

D'après les résultats précédents, nous avons conclu que les meilleures conditions de réaction étaient l'utilisation de l'acide sulfurique comme catalyseur, avec 10 équivalents d'octanol. Ainsi, on a utilisé ces mêmes conditions en faisant varier le temps afin de voir son influence sur le comportement de la réaction. Nous avons observé ainsi que : i) une diminution du temps de réaction conduit à une chute du rendement qui passe de 80% en 48 heures à 66% en 8 heures, avec un rapport  $\beta$ -fur /  $\alpha$ -pyr très équilibré de l'ordre de 46 / 34, ii) une augmentation du temps de la réaction de 48 à 72 heures fait chuter le rendement jusqu'à 62% à cause de la dégradation des produits formés, mais permet d'améliorer la sélectivité en faveur de l'anomère  $\beta$ -furanose ( $\beta$ -fur /  $\alpha$ -pyr = 62 / 18).

#### Température de réaction

D'après les entrées (7) et (8) du tableau (II-3), une diminution de la température de 80 à 50 °C pendant 48 heures affecte le rendement de la réaction qui passe de 80 à 65%, du fait d'une conversion partielle. En outre, une augmentation de la température à 100 °C pendant 48 heures, fait chuter le rendement de la réaction à cause de la dégradation du substrat.

#### Récapitulatif

Un bon rendement de réaction (80%) est obtenu en utilisant 10 équivalents d'octanol à 80 °C pendant 48 heures avec comme catalyseur : l'acide sulfurique ou encore l'acide *p*-toluènesulfonique.

---

<sup>129</sup> Sakakura, A.; Koshikari, Y.; Ishihara, K. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5017.

Une meilleure sélectivité est obtenue lorsqu'on laisse réagir plus longtemps (72 heures) : dans ce cas l'anomère  $\beta$ -furanosique est largement majoritaire (64%).

Enfin, les quatre isomères issus de cette réaction peuvent être isolés par chromatographie. Ainsi, dans les meilleures conditions réactionnelles, l'anomère  $\beta$ -furanose a été isolé avec un rendement de 35%, et l'anomère  $\alpha$ -pyranose avec un rendement de 23%.

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'anomère  $\beta$ -furanose se forme majoritairement lorsque le milieu réactionnel est agité plus longtemps en présence d'un grand excès d'octanol, c'est-à-dire quand la réaction est sous contrôle thermodynamique. Par ailleurs, une diminution du nombre d'équivalents d'alcool permet d'augmenter la sélectivité en faveur de l'anomère  $\alpha$ -pyranose, ce qui peut s'expliquer par le fait que cet anomère représente le produit cinétique de la réaction.

Pour vérifier cette hypothèse, des réactions ont été réalisées dans les conditions cinétiques, c'est-à-dire en limitant le nombre d'équivalents d'alcool ainsi que la durée de la réaction.

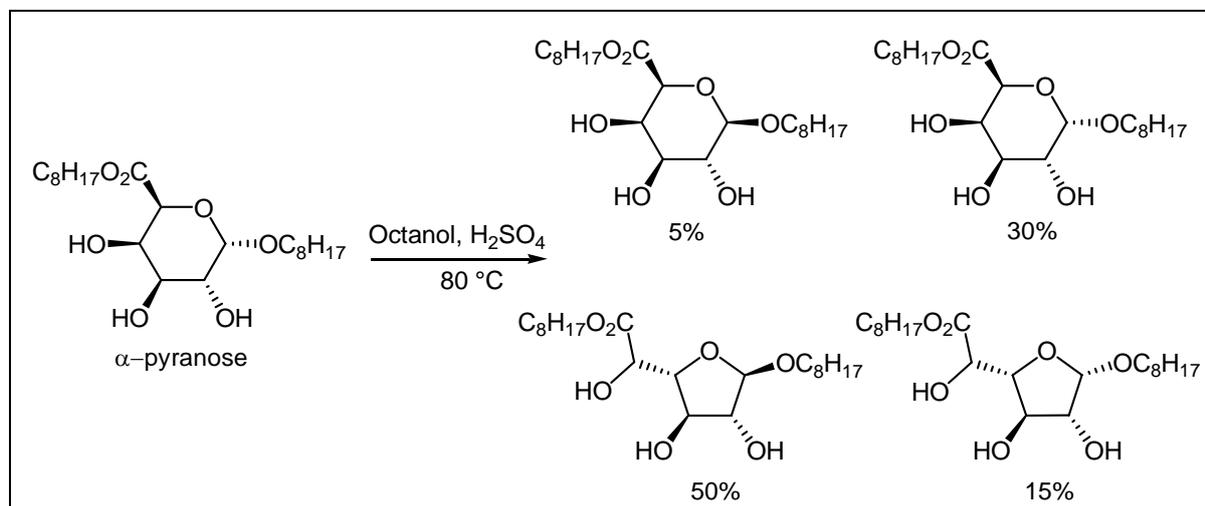
Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

*Tableau II-4: Réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique dans les conditions cinétiques*

Entrées	Octanol (équiv.)	t (h)	T (°C)	Catalyse acide	Rdt (%)	Pourcentage des anomères (%)			
						$\beta$ -fur	$\alpha$ -fur	$\beta$ -pyr	$\alpha$ -pyr
1	10	24	80	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	68	46	15	5	34
2	4				50	39	15	12	34
3	2,3				26	33	11	13	43

D'après ce tableau, la réalisation de cette réaction dans les conditions cinétiques favorise effectivement la formation du produit  $\alpha$ -pyranosique qui passe de 34 à 43% en présence de 2,3 équivalents d'octanol, et qui devient ainsi, le produit majoritaire de la réaction.

Par ailleurs, l'anomère  $\alpha$ -pyranose a été isolé et a été mis en solution dans l'octanol à 80 °C en présence d'acide sulfurique. Après 12 heures de réaction, un mélange d'anomère se forme dans les proportions suivantes : 50% pour le  $\beta$ -furanose, 15% pour l' $\alpha$ -furanose, 5% pour le  $\beta$ -pyranose et enfin 30% pour l' $\alpha$ -pyranose (Schéma II-22).



*Schéma II-22 : Equilibre prépondérant lors de la mise en solution de l'anomère  $\alpha$ -pyranose*

### Conclusion

Malgré les différents essais réalisés en mode thermique, les résultats de cette étude n'ont pas permis l'obtention d'une grande sélectivité, c'est-à-dire l'obtention très majoritaire d'un anomère par rapport aux autres. Les meilleures conditions préconisent l'utilisation de 10 équivalents d'octanol à 80 °C pendant 48 heures avec comme catalyseur : l'acide sulfurique ou encore l'acide *p*-toluènesulfonique. Dans ces conditions, nous obtenons un rendement de l'ordre de 80% dans les deux cas, et une sélectivité très limitée en faveur de l'anomère  $\beta$ -fur de l'ordre de 50%.

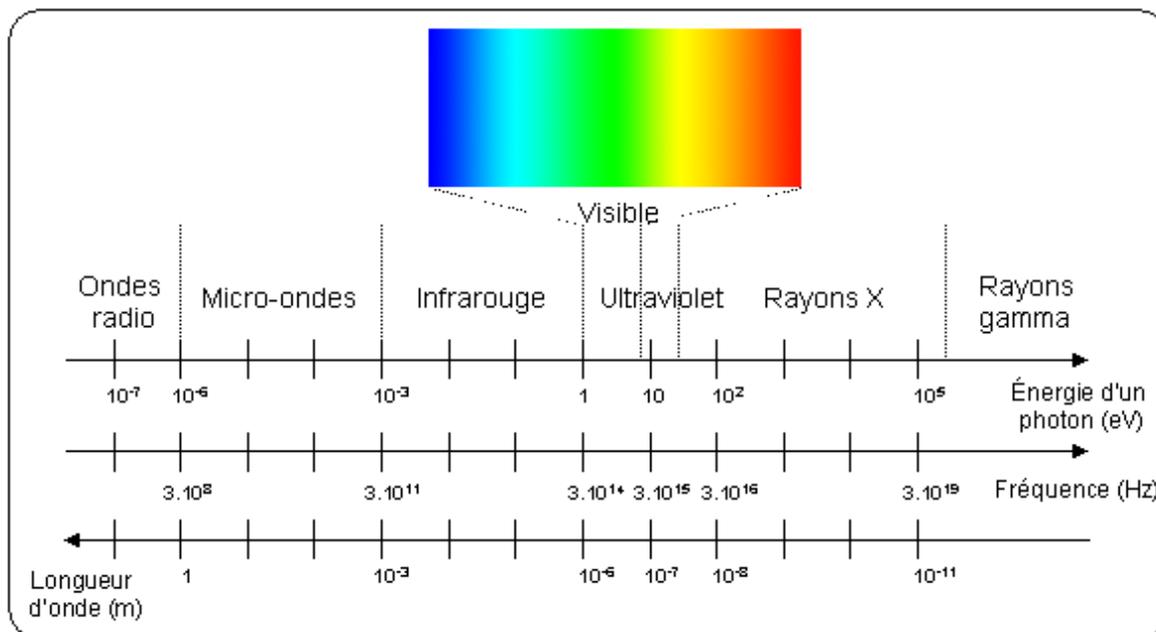
Nous avons alors envisagé de changer le mode d'activation de cette réaction, en utilisant la technique des micro-ondes pour mesurer son influence vis-à-vis du temps, du rendement ainsi que de la sélectivité de la réaction.

## **II-2-2) Activation de la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique par les micro-ondes**

### **II-2-2-1) Introduction aux micro-ondes**

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde intermédiaire entre l'infrarouge et les ondes de radiodiffusion. Le terme micro-onde provient du fait que ces

ondes ont une longueur d'onde plus courte que celles de la bande VHF, utilisée par les radars pendant la seconde guerre mondiale. Elles ont des longueurs d'onde approximativement comprises entre 30 cm (1 GHz) et 1 mm (300 GHz)



*Schéma II-23 : Classification des ondes électromagnétiques*

Depuis que cette technique a fait son apparition dans les laboratoires de chimie en 1986,<sup>130</sup> les techniques d'activation aux micro-ondes ont eu un impact considérable dans le domaine de la synthèse organique,<sup>131</sup> en augmentant la vitesse apparente des réactions, ce qui veut dire une importante diminution du temps des réactions.

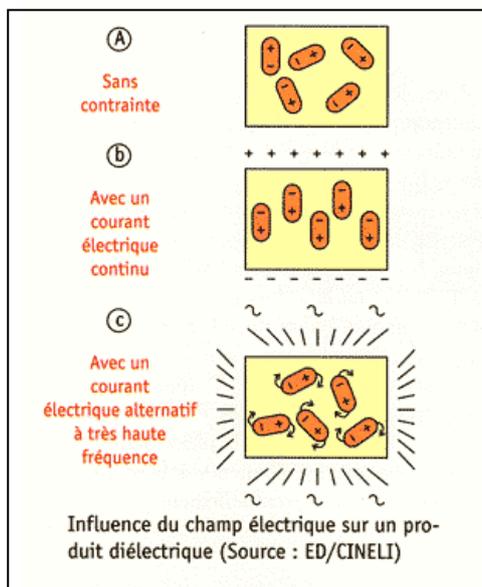
### **II-2-2-2) Action des micro-ondes sur les composés chimiques**

Du fait de la différence d'électronégativité entre les atomes constituant les molécules, les liaisons sont généralement polaires et peuvent être assimilées à des petits dipôles, avec l'apparition d'une charge électrique négative ( $\delta^-$ ) sur l'atome le plus électronégatif et d'une charge électrique positive ( $\delta^+$ ) égale et opposée sur l'autre atome impliqué dans la liaison afin

<sup>130</sup> (a) Gedye, R.; Smith, F.; Westaway, K.; Ali, H.; Baldisera, L.; Laberge, L.; Rousell, J. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 279. (b) Giguere, R. J.; Bray, T. L.; Duncan, S. M.; Majetich, G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4945.

<sup>131</sup> (a) Roberts, B. A.; Strauss, C. R. *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38, 653. (b) Kappe, C. O.; Stadler, A. *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**. (c) *Microwaves Assisted Organic Synthesis*, Tierney, J. P.; Lidström, P. Eds; Blackwell Publishing, Oxford, **2005**. (d) de la Hoz, A.; Diaz-Ortiz, A.; Moreno, A. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 164. (e) Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 6250. (f) Loupy, A. *Microwaves in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**. (g) Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, 57, 9225.

que l'ensemble soit électriquement neutre. En outre, quand ces dipôles sont exposés à un champ électrique alternatif, comme c'est le cas lorsqu'on les soumet à une onde électromagnétique, ils se tournent alternativement dans un sens et dans l'autre selon le sens du champ électrique (Schéma II-24).



*Schéma II-24 : Influence du champ électrique sur un produit dipolaire*

Ainsi, les frottements qui en résultent sont à l'origine du chauffage micro-onde qui peut atteindre 10 °C par seconde pour l'ensemble du composé chauffé. L'effet micro-onde peut ainsi jouer un grand rôle dans l'augmentation du rendement, de la pureté, et aussi de la sélectivité de la réaction.<sup>132</sup> D'autre part, la combinaison de l'effet micro-ondes avec la mise en place de réactions sans solvants, permettent d'obtenir de bons rendements et aussi de limiter l'utilisation des activations thermiques traditionnelles (chauffage des réactions en utilisant des bains d'huiles pendant une longue durée) ce qui offre une approche plus économe en énergie, donc plus environnementale en vue d'une chimie verte et moderne.<sup>133</sup>

<sup>132</sup> (a) Bose, A. K.; Manhas, M. S.; Ganguly, S. N.; Sharma, A. H.; Banik, B. K. *Synthesis* **2002**, 1578. (b) Perreux, L.; Loupy, A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 9199.

<sup>133</sup> (a) Strauss, C. R.; Varma, R. S. *Top. Curr. Chem.* **2006**, 266, 199. (b) Nuchler, M.; Ondruschka, B.; Lautenschlager, W. *Synthetic Commun.* **2001**, 31, 1277. (c) Loupy, A.; Petit, A.; Hamelin, J.; Texier-Boullet, F.; Jacquault, P.; Mathé, D. *Synthesis*, **1998**, 1213. (d) Limousin, C.; Cléophax, J.; Petit, A.; Loupy, A.; Lukacs, G. *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, 16, 327.

### II-2-2-3) Réaction d'estérification-O-glycosylation par le biais des micro-ondes

Différents exemples sont décrits dans littérature concernant l'utilisation des techniques de micro-ondes dans le domaine de la chimie des sucres :<sup>134</sup> réactions de glycosylation,<sup>135</sup> de protection des groupements hydroxyles,<sup>136</sup> ou encore pour la synthèse des glycopeptides.<sup>137</sup> Récemment, Poulsen et Bornaghi<sup>138</sup> ont étudié la réaction de glycosylation par activation aux micro-ondes sur des sucres non protégés tels que le D-galactose et le D-glucose (Schéma II-25).

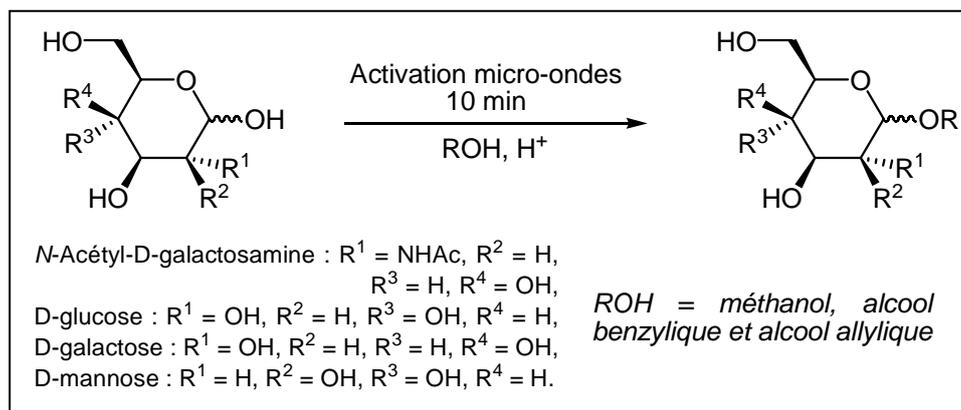


Schéma II-25 : Glycosylation sur des sucres non protégés par activation aux micro-ondes

De bons résultats ont été obtenus comparés aux résultats des réactions effectuées en mode thermique classique avec des conversions de l'ordre de 95% pour des temps de réaction très courts (10 minutes), ainsi que des sélectivités variant entre 6 : 1 et 10 : 1 en faveur de l'anomère  $\alpha$ -pyranose, sauf dans le cas de la N-Acétyl-D-galactosamine, où l'obtention exclusive de l'anomère  $\alpha$ -pyranose a été enregistrée.

D'autre part, une étude d'estérification et / ou glycosylation de l'acide D-glucuronique et sa 6,1-lactone a été réalisée par l'équipe de Kovensky,<sup>139</sup> par activation aux micro-ondes. Selon les conditions utilisées, ils ont réussi à obtenir une bonne sélectivité de la réaction pour les produits formés ainsi que pour les anomères correspondants (Schéma II-26).

<sup>134</sup> Corsaro, A.; Chiacchio, U.; Pistara, V.; Romeo, G. *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8*, 511.

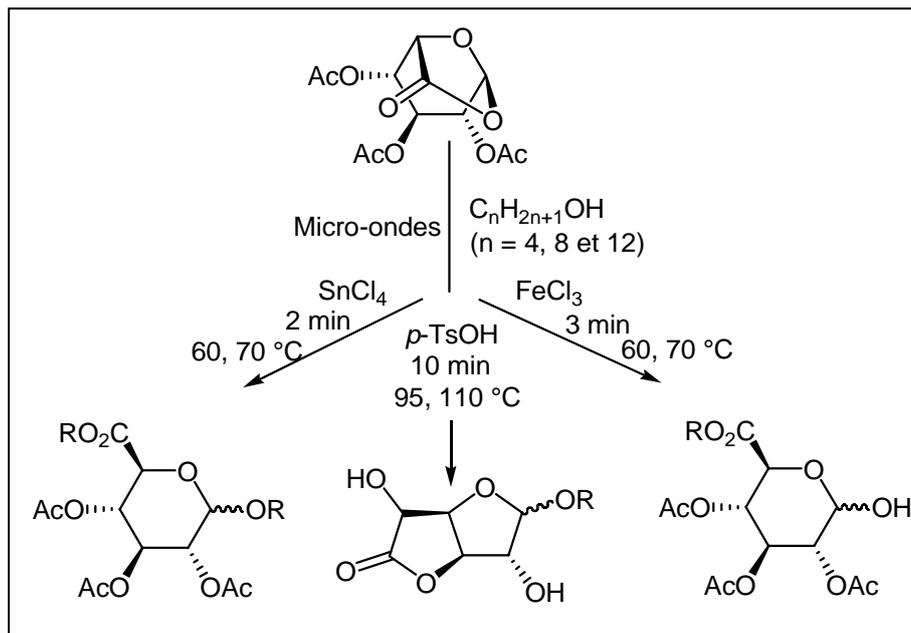
<sup>135</sup> Yoshimura, Y.; Shimizu, H.; Hinou, H.; Nishimura, S.-I. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4701.

<sup>136</sup> Ballell, L.; Joosten, J. A.; el Maate, F. A.; Liskamp R. M. J.; Pieters, R. J. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6685.

<sup>137</sup> (a) Seibel, J.; Hillringhaus, L.; Moraru, R. *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 507. (b) Matsushita, T.; Hinou, H.; Kuroguchi, M.; Shimizu, H.; Nishimura, S.-I. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 877.

<sup>138</sup> Bornaghi, L. F.; Poulsen, S.-A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3485.

<sup>139</sup> Rat, S.; Mathiron, D.; Michaud, P.; Kovensky, J.; Wadouachi, A. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 12424.



*Schéma II-26 : Réaction d'estérification et / ou glycosylation par activation aux micro-ondes sur la D-glucopyranosylurono-6,1-lactone*

Dans le cas de l'acide *p*-toluènesulfonique (APTS), le rendement de la réaction chute de 81 à 45% avec l'augmentation de la longueur de la chaîne alkyle utilisée, la sélectivité étant de l'ordre de 9 : 1 en faveur de l'anomère  $\beta$ -furanose. L'utilisation du  $\text{SnCl}_4$  permet d'obtenir l'ester glycoside sous sa forme pyranosique avec des rendements variant entre 85 et 91%, et une sélectivité de 9 : 1 en faveur de l'anomère  $\alpha$ -pyranose. Enfin, les ions Fer (III) induisent la formation de l'ester sans modification de la fonction anomérique avec des rendements allant de 68 à 81%. Cependant, aucune sélectivité n'a été remarquée dans ce cas.

#### **II-2-2-4) Méthodologie de synthèse du *n*-octyl D-galactoside uronate de *n*-octyle à partir de l'acide D-galacturonique par activation micro-ondes**

Pour la mise en place des réactions par activation aux micro-ondes, nous avons utilisé un appareil de type CEM « Discover Microwave » qui permet d'afficher et de contrôler la température ainsi que la puissance en temps réel.

Cet appareil travaille en mode continu de puissance allant de 0 à 300 W, et la température du milieu réactionnel est contrôlée par un système de modulation de puissance. Pour un réglage de température à 100 °C, il faut environ 2 minutes à l'appareil pour atteindre cette valeur.



*Figure II-1 : Appareil micro-onde pour la synthèse organique de type CEM « Discover  
Microwave »*

Avant le démarrage de la réaction dans le réacteur micro-ondes, le mélange des réactifs est agité pendant une dizaine de minutes à température ambiante pour homogénéiser le système.

Les réactions sont lancées en système ouvert sous réfrigération après avoir réglé les différents paramètres, de temps, de température et de puissance.

Le tableau ci-dessous regroupe les différents résultats obtenus concernant cette réaction d'estérification-*O*-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol dans les conditions classiques de Fischer :

*Tableau II-5 : Etude des conditions optimales pour la réalisation de l'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol par activation micro-ondes*

Acide D-galacturonique + Octanol (10 à 40 équiv.)  $\xrightarrow[\text{Micro-ondes}]{\text{Catalyse acide}}$  1a  $\beta$ -furanose, 1b  $\alpha$ -furanose, 1c  $\beta$ -pyranose, 1d  $\alpha$ -pyranose

Parameters: t (min), T (°C)

Entrées	Octanol (équiv.)	t (min)	T (°C)	Catalyse acide	Rdt (%)	Pourcentage des anomères (%)				
						1a	1b	1c	1d	
						$\beta$ -fur	$\alpha$ -fur	$\beta$ -pyr	$\alpha$ -pyr	
1	5	10	100	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	57	53	14	2	31	
2	10				88	55	17	2	26	
<b>3</b>	20				<b>89</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>2</b>	<b>23</b>	
4	40				93	59	18	2	21	
5	20	20	100	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	90	58	17	1	24	
6		40			91	55	16	4	25	
7		10			80	25	nd	nd	nd	nd
8		120			52	54	19	2	25	
9	20	10	100	Dowex	27	nd	nd	nd	nd	
10				HCl (g)	60	58	20	3	19	
11				BF <sub>3</sub> .OEt <sub>2</sub>	58	50	14	1	35	
12				FeCl <sub>3</sub>	32	36	23	2	39	
<b>13</b>				APTS	<b>63</b>	<b>58</b>	<b>35</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	

Une importante augmentation de la vitesse de réaction a été observée, avec l'obtention d'une conversion totale de l'acide D-galacturonique en 10 minutes.

Les meilleures conditions de réaction obtenues impliquent l'utilisation de 20 équivalents d'octanol à 100 °C pendant 10 minutes, en utilisant l'acide sulfurique comme catalyseur. Ces conditions permettent d'obtenir un rendement global de 89%, ainsi qu'une sélectivité qui s'élève à 65% en faveur de l'anomère  $\beta$ -furanosique.

Pour une température inférieure, à 80 °C, le rendement passe de 89 à 25%. De plus, les différents anomères deviennent difficilement identifiables. Ceci est dû à la présence de plusieurs autres produits qui peuvent être des intermédiaires réactifs, probablement des esters non glycosylés.

Cependant, lors de la mise en place de cette réaction à une température supérieure, à 120 °C, on observe une dégradation rapide du brut réactionnel qui brunit fortement, ce qui conduit à une baisse significative du rendement de 89 à 52%.

L'utilisation d'autres acides tels que FeCl<sub>3</sub>, BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> ou encore l'acide chlorhydrique, ne donne pas d'aussi bons résultats que l'acide sulfurique, avec des rendements qui ne dépassent pas 60% et une sélectivité très limitée.

Cependant, l'utilisation d'acide *p*-toluènesulfonique donne encore une fois, des résultats intéressants surtout au niveau de la sélectivité de la réaction. La forme furanosique est considérablement prédominante dans le brut réactionnel obtenu avec 93% par rapport à la forme pyranosique. Toutefois, malgré plusieurs essais pour augmenter le rendement de la réaction, la meilleure tentative est celle qui a donné un rendement de 63% (entrée 13, Tableau II-5). L'obtention exclusive de la forme furanosique a été justifiée par le fait que la réaction d'estérification se fait plus rapidement et favorise la formation de cycle furanosique pour la glycosylation.<sup>103,140</sup>

### Conclusion

Ainsi, l'activation de cette réaction par micro-onde a montré plusieurs avantages par rapport à la voie thermique classique :

- ✓ Un temps de réaction très diminué de l'ordre de la dizaine de minutes,
- ✓ une pureté améliorée avec des bruts réactionnels peu colorés (moins de produits de dégradation),

---

<sup>140</sup> Allam, A.; Behr, J.-B.; Dupont, L.; Nardello-Rataj, V.; Plantier-Royon, R. *Carbohydr. Res.* **2009**, in press.

- ✓ des rendements supérieurs à 90%, avec des conversions totales en 10 minutes à 100 °C,
- ✓ et enfin, une sélectivité de l'ordre de 65% en faveur de l'anomère β-furanose, ce dernier pouvant être isolé avec un rendement de 45% à la fin de la réaction.

**II-2-2-5) Réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec différents alcools linéaires par activation micro-ondes**

Dans le but de mesurer l'influence de la longueur de la chaîne alkyle sur le rendement ainsi que sur la sélectivité de la réaction, cette dernière a été réalisée avec différents alcools de formule générale  $C_nH_{2n+1}OH$  avec  $n = 1, 2, 4, 6$  et  $10$ .

Les réactions ont été réalisées à 100 °C pendant 10 minutes en présence d'acide sulfurique, et en utilisant 10 équivalents d'alcool.

La sélectivité de la réaction reste toujours limitée avec des proportions très proches de celles déjà identifiées auparavant, c'est-à-dire une formation majoritaire de l'anomère β-furanosique à 60% dans la majorité des cas.

Le tableau ci-dessous regroupe les différents résultats obtenus :

*Tableau II-6 : Réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec différents alcools linéaires par activation aux micro-ondes :*

Entrées	ROH	Rdt (%)	Pourcentage des anomères (%)			
			β-fur	α-fur	β-pyr	α-pyr
1	CH <sub>3</sub> OH	72	59	26	3	12
2	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	87	52	18	2	28
3	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH	87	63	18	3	16
4	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> OH	88	55	22	2	21
5	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> OH	88	55	17	2	26
6	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> OH	65	58	18	4	20

Les rendements obtenus avec les différentes chaînes alkyles varient entre 65 et 88%. Cependant, la sélectivité ne varie pas significativement en fonction de la longueur de la chaîne alkylée. Néanmoins, dans le cas du méthanol, on remarque tout de même que la forme furanosique constitue la forme majoritaire présente dans le mélange avec 85%, ce qui concorde avec les données de la littérature antérieurement cités.<sup>103</sup>

### **II-2-2-6) Conclusion**

Une étude comparative de la réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol a été réalisée à la fois en mode thermique normal (bain d'huile), et par activation aux micro-ondes.

L'activation par les micro-ondes a permis d'une part, d'augmenter sensiblement le rendement de la transformation (de 80% en mode thermique à 93%), et d'autre part, de réduire l'échelle de temps, puisqu'en 10 minutes une conversion totale du produit de départ est enregistrée.

Cependant la sélectivité de la réaction reste relativement limitée. Les micro-ondes permettent d'améliorer cette sélectivité vers les formes furanosiques mais le pourcentage d'anomère  $\beta$ -furanose majoritaire ne dépasse pas 65%. Dans le cas de l'utilisation de l'acide *p*-toluènesulfonique, une sélectivité de 93% de formes furanosique est obtenue, avec un rendement de 63%. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par l'équipe de Marino décrits précédemment concernant la transformation de l'acide D-galacturonique dans le méthanol en présence d'une résine de type Amberlite IR 120H en *n*-(méthyl D-galactofuranose) uronates de méthyle.<sup>103</sup>

Ainsi, on peut conclure que l'effet micro-onde favorise la grande polarisation de la fonction acide carboxylique, ainsi que la sensibilité du sucre libre en milieu acide, ce qui rend les réactions d'estérification et de glycosylation très rapides en utilisant ce mode d'activation. En effet, les micro-ondes jouent un très grand rôle dans l'activation des liaisons dipolaires, en favorisant l'effet électronégatif des groupements accepteurs d'une part, et en diminuant l'intensité du nuage électronique sur les groupements cationiques masqués d'autre part. Cette activation permet ainsi d'augmenter la vitesse de la réaction en agissant sur les états de transitions polaires, ce qui diminue considérablement le temps des réactions par rapport au mode thermique traditionnel.

### **II-3) Synthèse des ligands *n*-octyl D-galactoside uronamides**

#### **II-3-1) Introduction**

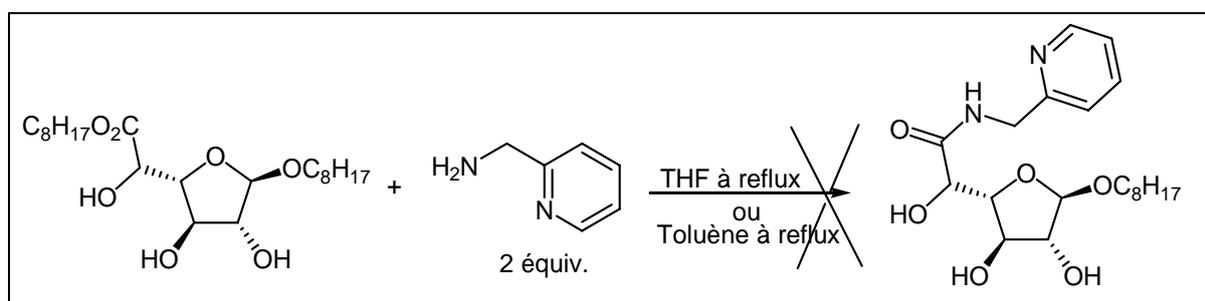
Après avoir détaillé la méthodologie de synthèse des esters glycosides dans la partie précédente, nous nous sommes intéressés à la réaction d'aminolyse de l'ester, afin d'obtenir les molécules bifonctionnelles visées avec d'une part la partie amphiphile sur la position anomérique du sucre, et d'autre part, la partie complexante de type amide sur la position 6. Comme substrat glucidique, nous avons choisi d'utiliser le *n*-octyl  $\beta$ -D-galactofuranoside uronate de *n*-octyle isolé majoritairement pur lors de la réaction précédente.

En ce qui concerne l'amine modèle qui va être utilisée pour la réaction d'aminolyse, nous avons choisi la méthyl aminopyridine. Cette dernière a démontré de bonnes propriétés complexantes vis-à-vis des ions Cu (II) dans des études antérieures avec les ligands tartramides.<sup>1b</sup>

### II-3-2) Synthèse des ligands *n*-octyl D-galactoside uronamides en mode thermique classique

Dans un premier temps, la mise en place de la réaction dans un solvant en présence de 2 équivalents d'amine semblait être judicieuse. Le premier essai a été réalisé en utilisant deux équivalents d'amine au reflux du THF. Le suivi de la réaction par CCM montre que la réaction n'évolue pas, même après 20 heures de réaction.

Dans un deuxième temps, cette réaction d'aminolyse a été effectuée en travaillant à la température de reflux du toluène, pour déplacer l'équilibre vers l'obtention de l'amide correspondant. Malheureusement, le produit souhaité n'a pas pu être obtenu (Schéma II-27).



*Schéma II-27 : Essai d'aminolyse dans le THF à reflux*

Un ester d'octyle reste une fonction difficile à déplacer, ce qui nous a poussé à travailler dans des conditions plus dures avec l'utilisation de l'amine comme solvant (4 équivalents) à une température de l'ordre de 80 °C. Dans ces conditions, l'amide visé est obtenu avec un rendement de 86% après 20 heures de réaction (entrée 2, Tableau II-7).

Le tableau suivant résume les résultats obtenus pour cette réaction d'aminolyse appliquée à différentes amines primaires fonctionnalisées par la présence d'hétéroatomes.

*Tableau II-7 : Etude de la réaction d'aminolyse du n-octyl β-D-galactofuranoside uronate de n-octyle*

Entrée	temps (h)	RNH <sub>2</sub>	RNH <sub>2</sub> (équiv.) <sup>a</sup>	Rdt (%)
1	96	<b>7</b>	2	<b>2a</b> 53
2	20	<b>7</b>	4	<b>2a</b> 86
3		<b>8</b>		<b>3a</b> 78
4		<b>9</b>		<b>4a</b> 88
5		<b>10</b>		<b>5a</b> 90
6		<b>11</b>		<b>6a</b> 57

(a) : La réaction est réalisée sans solvant

La réaction d'aminolyse décrite dans le tableau a permis l'obtention des amides **2a-6a** avec des rendements compris entre 57 et 90% (entrées 2-6, Tableau II-7).

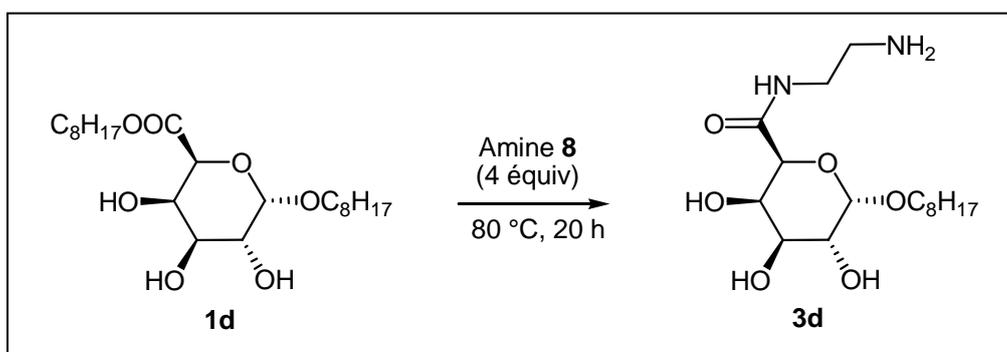
La diminution de la quantité d'amine à 2 équivalents rend la réaction plus lente, avec un rendement qui atteint à peine 53% après 96 heures d'agitation (entrée 1, Tableau II-7).

Les produits obtenus sont très polaires et leur séparation sur colonne chromatographique exige l'utilisation d'un éluant constitué d'un mélange (CHCl<sub>3</sub> / MeOH / NH<sub>4</sub>OH) dans un rapport (6 / 4 / 1), sauf pour le produit **2a**, qui est purifié sur colonne chromatographie en utilisant un éluant (MeOH / Acétate d'éthyle) : (1 / 9).

Des essais de purification sur colonne chromatographique en phase inverse ont été tentés mais à cause de résultats peu probants, ce type de purification a été rapidement abandonné.

Dans le but de comparer les caractéristiques physico-chimiques des amides sous forme furanosiques ou pyranosiques, et du mélange des deux formes, des réactions d'aminolyse ont été réalisées, d'une part, sur le deuxième produit majoritaire de la réaction d'estérification-*O*-glycosylation qui est le *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactopyranoside uronate de *n*-octyle **1d**, et d'autre part, sur le mélange des isomères pyranosiques et furanosiques.

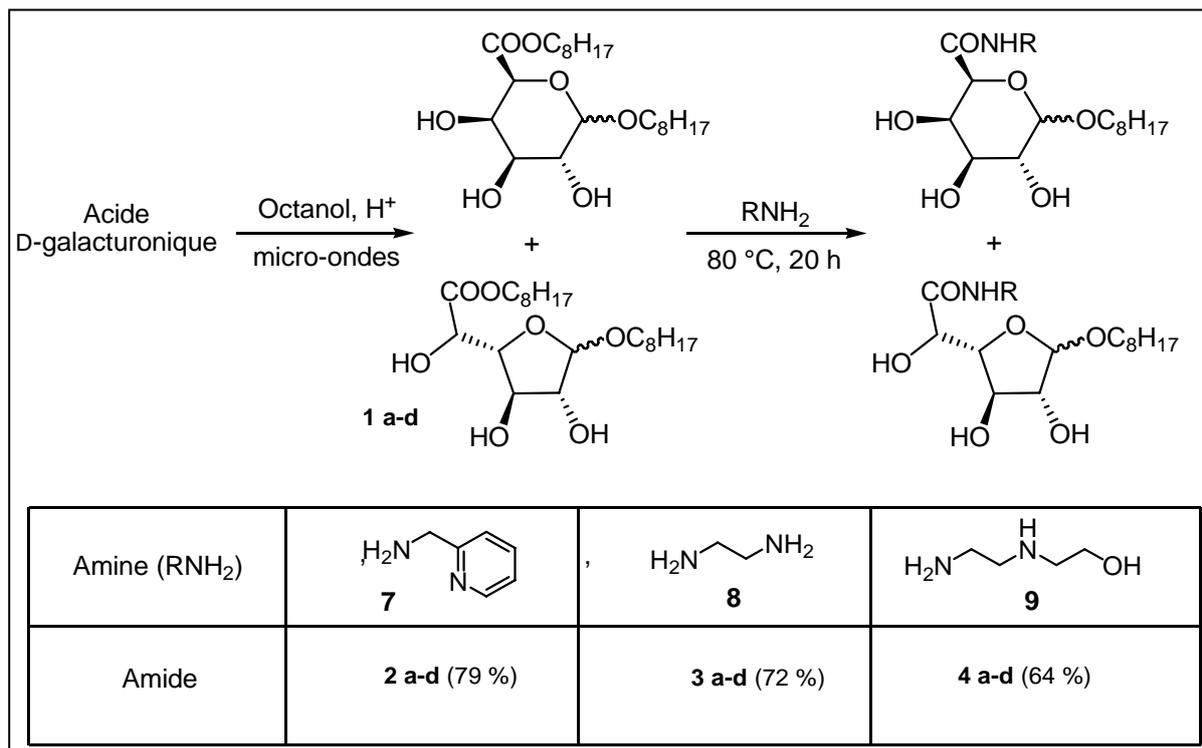
La réaction d'aminolyse suivante réalisée sur le *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactopyranoside uronate de *n*-octyle **1d** a été réalisée dans les mêmes conditions optimisées pour l'ester  $\beta$ -furanosique **1a** (Schéma II-28).



*Schéma II-28 : Réaction d'aminolyse sur le *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactopyranoside uronate de *n*-octyle*

Le rendement de cette réaction s'élève à 83%, et la caractérisation physico-chimique de ce produit ainsi que celle des autres amides sera détaillée à la fin de ce chapitre.

D'autre part, la synthèse du mélange des amides comprenant les quatre formes possibles ( $\beta$ -furanose,  $\alpha$ -furanose,  $\beta$ -pyranose et  $\alpha$ -pyranose) a été réalisée avec les amines primaires **7**, **8** et **9** à partir de l'acide D-galacturonique. Pour obtenir un bon rendement global sur les deux réactions (estérification-*O*-glycosylation + aminolyse), la technique des micro-ondes a été utilisée pour la première étape d'estérification-*O*-glycosylation en présence d'octanol, puis une distillation de l'octanol en excès est effectuée, avant de lancer la réaction d'aminolyse en mode thermique classique (Schéma II-29).



*Schéma II-29 : Mélange d'amides obtenus après une réaction d'estérification-O-glycosylation de l'acide D-galacturonique suivie d'une réaction d'aminolyse*

Les rendements des mélanges d'amides obtenus varient entre 64 et 79%.

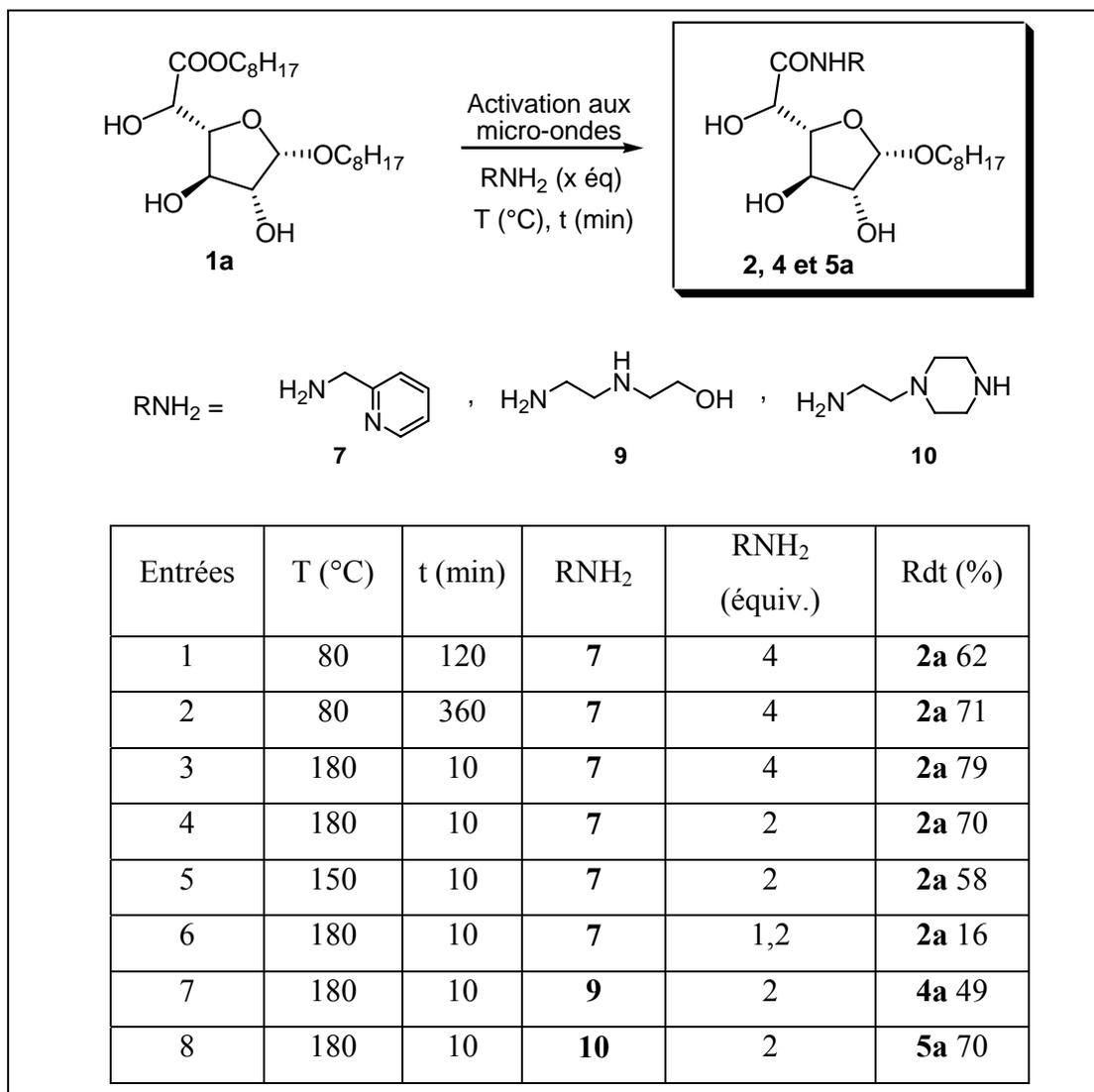
Les caractéristiques physico-chimiques de ces mélanges seront présentées à la fin de ce chapitre, et comparées aux produits purs.

### **II-3-3) Synthèse des ligands *n*-octyl D-galactoside uronamides par activation micro-ondes**

La réaction d'aminolyse en mode thermique classique (bain d'huile) nécessite quatre équivalents d'amine qui dans ce cas est utilisée comme solvant de la réaction. Cependant, en plus de son impact négatif en terme de chimie éco-compatible, cet excès rend délicate la purification du produit obtenu, difficilement séparable de l'amine engagée.

Une diminution du nombre d'équivalents d'amine pourrait faciliter la purification des produits désirés. Pour ce faire, l'activation de la réaction par les micro-ondes a été à nouveau utilisée (Tableau II-8)

*Tableau II-8 : Etude de la réaction d'aminolyse du n-octyl β-D-galactofuranoside uronate de n-octyle par activation aux micro-ondes*



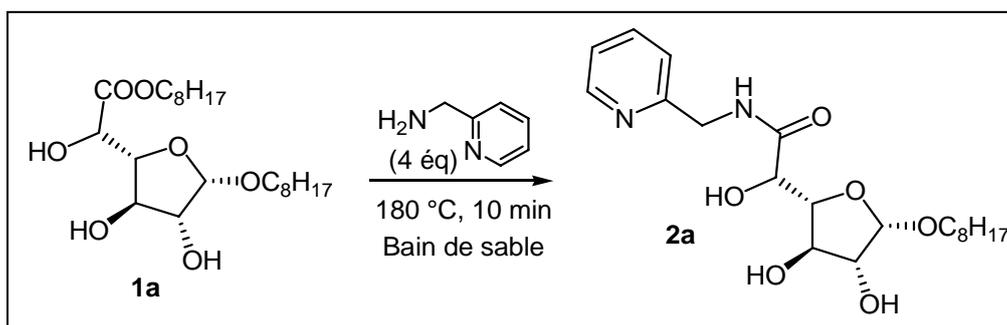
La mise en place de la réaction d'aminolyse à la même température que celle utilisée lors de l'étude classique (80 °C) et avec quatre équivalents d'amines conduit à des rendements acceptables de l'ordre de 62 et 71% respectivement en 2 et 6 heures d'activation par les micro-ondes (entrées 1 et 2, Tableau II-8).

L'augmentation de la température de réaction jusqu'à 180 °C, permet d'obtenir de bons rendements en 10 minutes de l'ordre de 79% en utilisant quatre équivalents d'amine (entrée 3, Tableau II-8), ou encore 70% en utilisant seulement deux équivalents (entrée 4, Tableau II-8). Nous avons également vérifié que, dans ces conditions basiques à haute température, la réaction ne conduisait à aucune épimérisation, même partielle du carbone en position α du

carboxyle. Par ailleurs, l'utilisation de 1,2 équivalent d'amine (entrée 6, Tableau II-8) conduit à une chute du rendement de cette réaction (16%). Par ailleurs, nous avons réalisé cette réaction d'aminolyse en présence des amines **9** et **10** en utilisant les meilleures conditions de réaction obtenues pour l'amine **7**, c'est-à-dire à 180 °C en chauffage micro-ondes en présence de deux équivalents d'amine pendant 10 minutes. Les amides **4a** et **5a** ont été obtenus respectivement avec des rendements de l'ordre de 49 et 70%.

L'utilisation d'une aussi haute température (180 °C) pour cette réaction permet de déplacer l'octanol qui a un point d'ébullition avoisinant ~ 195 °C vers la formation de l'amide désiré. Par ailleurs, il faut noter que les esters méthyliques ou éthyliques sont plus facile à déplacer, et ne nécessitent pas de travailler dans des conditions aussi dures.

Une réaction d'aminolyse en mode thermique classique a été réalisée dans les mêmes conditions que l'entrée 3 du tableau (II-8). Cet essai a été réalisé afin de préciser si l'augmentation du rendement de la réaction dans ce petit intervalle de temps (10 minutes) est due à l'effet de la température ou à l'effet micro-onde (Schéma II-30).



*Schéma II-30 : Réaction d'aminolyse du n-octyl β-D-galactofuranoside uronate de n-octyle à 180 °C par chauffage thermique*

En mode thermique classique, cette réaction a été réalisée en utilisant un bain de sable préalablement chauffé à 180 °C, ensuite le ballon contenant le mélange (ester + amine) a été introduit dans ce bain de sable pendant une durée de 10 minutes sous agitation, puis remis à température ambiante.

Le rendement de cette réaction est de 25%, bien inférieur à celui obtenu par activation aux micro-ondes dans les mêmes conditions de réaction (79%).

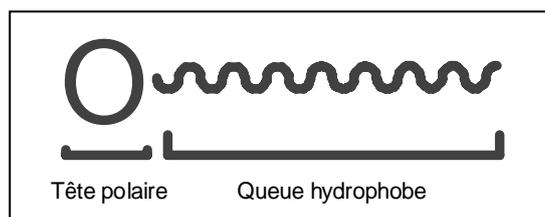
Ceci montre la présence d'un effet micro-ondes sur cette réaction d'aminolyse.

## II-4) Caractérisation physico-chimique des produits synthésés

### II-4-1) Généralités sur les tensioactifs

#### II-4-1-1) Définition et classification des tensioactifs

Un tensioactif ou agent de surface est un composé qui modifie la tension superficielle entre deux surfaces. Les composés tensioactifs sont des molécules amphiphiles c'est-à-dire qu'elles présentent deux parties de polarités différentes, l'une est lipophile et apolaire et l'autre hydrophile polaire (Schéma II-31).



*Schéma II-31 : Structure du tensioactif*

En fonction de leur tête polaire, les tensioactifs sont classés en quatre catégories<sup>141</sup> selon le tableau ci-dessous :

*Tableau II-9 : Les différentes catégories des tensioactifs*

Type de tensioactif	Définition	Principales propriétés	Exemples
Anionique (-)	Groupements fonctionnels s'ionisant dans l'eau pour fournir des ions organiques chargés négativement.	Les plus courants, peu onéreux, bonne activité détergente et moussante, bons mouillants, bonne biodégradabilité.	Alkylbenzenesulfate de sodium, Alkyléthersulfate de sodium, Savon.
Cationique (+)	Groupements fonctionnels s'ionisant dans l'eau pour fournir des ions organiques chargés positivement.	Activité désinfectante, peu mouillant.	Bromure de cetyltriméthyl ammonium (CTAB).
Non ionique	Groupements fonctionnels ayant une grande affinité pour l'eau mais ne s'ionisant pas	Bonne synergie avec les anioniques, peu moussant, bon mouillant, bon dispersant, bon dégraissant.	Polyglucosides d'alkyle (APG), Dodécylpoly(oxyéthylène glycoléther) <sub>n</sub> (BRIJ) <sup>®</sup> 35.
Amphotère ou Zwitterionique	Groupements fonctionnels qui peuvent suivant les conditions du milieu, s'ioniser dans l'eau positivement ou négativement	Peu agressif sur les tissus vivants, présent dans certains détergents désinfectants	Dérivés d'acides aminés

<sup>141</sup> (a) *Information Chimie* avril 1993, 347, 67. (b) Lattes, A.; Rico, I. *Pour la Science* 1992, 173, 44.

Quelle que soit la nature des têtes polaires, les tensioactifs peuvent présenter des structures très diverses :

- Dans le cas des tensioactifs monocaténares, bicaténares et tricaténares, les têtes polaires portent respectivement une, deux ou trois chaînes alkyles,
- les bolaformes sont constituées de deux têtes polaires reliées par un ou deux segments hydrophobes,
- les géminis sont constitués de deux têtes polaires portant chacune une chaîne alkyle et reliées par un segment hydrophobe ou un espaceur mésogène.<sup>142</sup>

#### **II-4-1-2) Paramètres de micellisation**

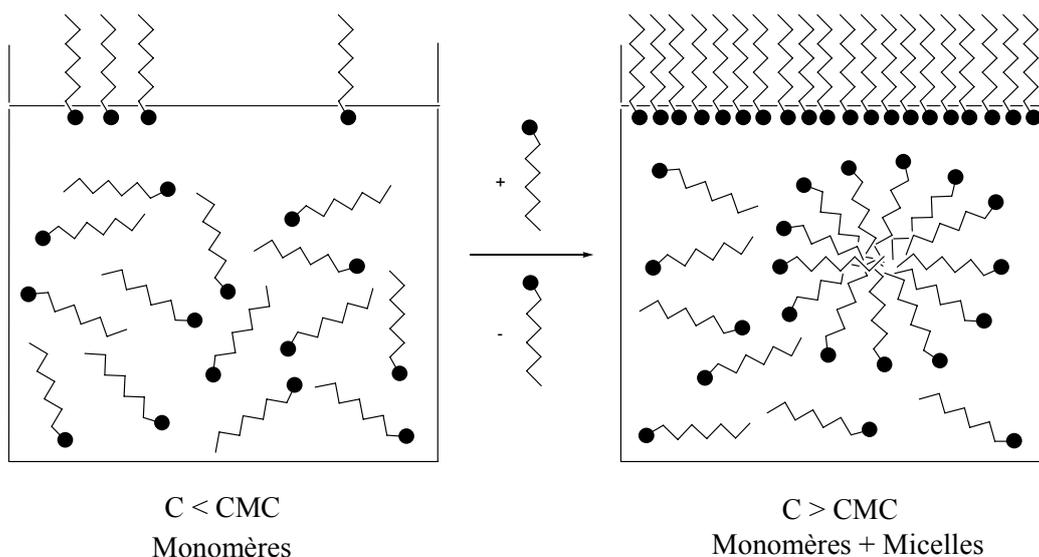
##### **II-4-1-2-a) Micellisation**

En solution à faible concentration, un tensioactif est présent sous forme de monomères. Une augmentation de la concentration du tensioactif provoque une saturation à l'interface ; au-delà de cette saturation, les molécules de monomères s'auto-organisent en solution en formant des agrégats moléculaires sphériques appelées micelles. La concentration à partir de laquelle les monomères commencent à former des agrégats est définie comme la Concentration Micellaire Critique (CMC). Cette valeur est caractéristique d'un tensioactif à une température donnée. Le phénomène de micellisation peut être rencontré dans divers solvants, cependant l'eau reste le solvant privilégié (Schéma II-32).<sup>143</sup>

---

<sup>142</sup> (a) Menger, F. M.; Littau, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1451. (b) Rosen, M. J. *Chemtech* **1993**, 30.

<sup>143</sup> (a) Orecchioni, A.; Puisieux, F.; Seiller, M. Galénica 5 agents de surface et émulsion (les systèmes dispersés), **1983**, *Technique et Documentation Lavoisier*, p 153. (b) Gorius, O. *Synthèse, analyse et caractérisation de polyglycosides d'alkyle. Application au développement et à l'industrialisation de bases autoémulsifiantes d'origine végétale*, Thèse de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, **2000**.



*Schéma II-32 : Organisation des tensioactifs en solution*

#### II-4-1-2-b) Détermination expérimentale de la CMC

La micellisation correspond à une variation plus ou moins brutale des propriétés physicochimiques de la solution de tensioactif. Cette variation se traduit par une cassure sur les courbes expérimentales de l'évolution d'une propriété physicochimique en fonction de la concentration en tensioactif. Les méthodes expérimentales les plus largement étudiées pour déterminer les CMC sont la tensiométrie,<sup>144</sup> la conductimétrie pour les tensioactifs anioniques ou cationiques,<sup>145</sup> la spectrofluorimétrie<sup>146</sup> et la spectrophotométrie d'absorption UV-Visible.<sup>147</sup>

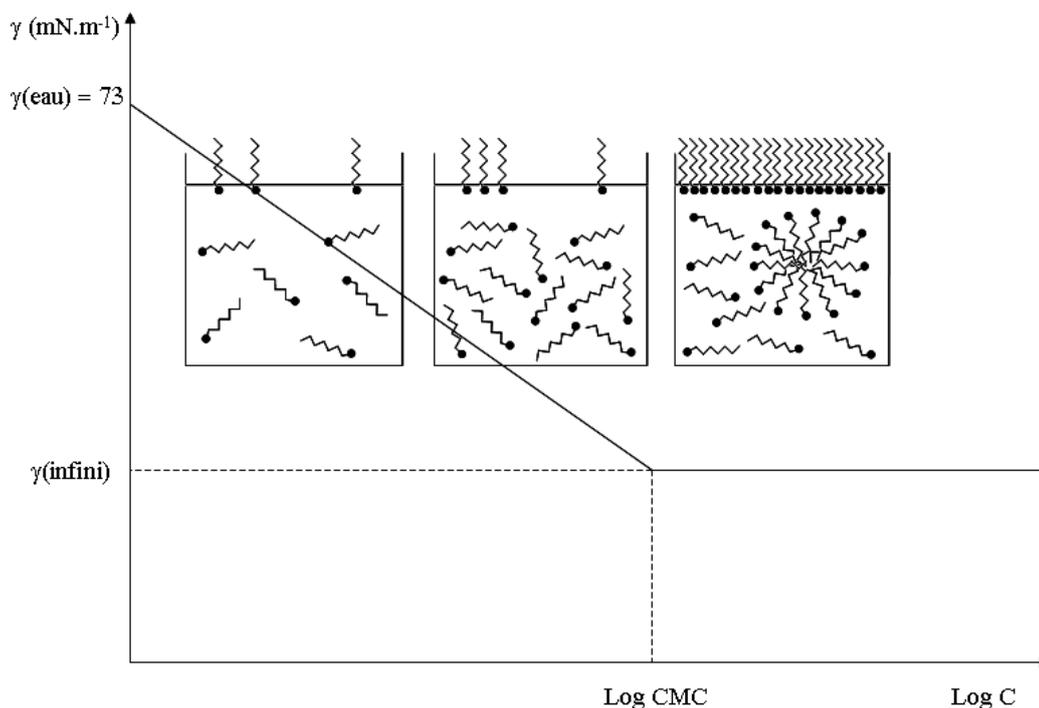
A titre d'exemple, le calcul de la CMC d'une solution amphiphile par tensiométrie se réalise en se basant sur la propriété de la molécule tensioactive à pouvoir abaisser la tension de surface de l'eau depuis des concentrations inférieures à la CMC jusqu'à la CMC. Au-delà, la tension de surface  $\gamma$  n'est presque plus affectée par l'augmentation de concentration en tensioactif. Ce phénomène se traduit sur la courbe  $\gamma = f(\text{Log } C)$  par une cassure à la CMC telle que représentée dans le schéma ci-dessous.

<sup>144</sup> (a) De Gennes, P. G.; Taupin, C. *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 2294. (b) Lardet, D.; Thomalla, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1988**, 524.

<sup>145</sup> (a) Myers, D. *Surfactant Science and Technology* VCH Publishers, Inc. Weinheim, Germany, **1988**. (b) Auvray, X.; Perche, T.; Petipas, C.; Anthore, R.; Marti, M. J.; Rico-lattes, I.; Lattes, A. *Langmuir* **1992**, *8*, 2671.

<sup>146</sup> Chattopadhyay, A.; London, E. *Anal Biochem.* **1984**, *139*, 408.

<sup>147</sup> Menger, F. M.; Portnoy, C. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 4698.



*Schéma II-33 : Détermination de la CMC*

Outre la détermination de la CMC, la tensiométrie permet aussi en appliquant la loi de Gibbs [équation (1)],<sup>148</sup> de calculer l'aire de la molécule à l'interface  $A$ . Il est donc nécessaire dans un premier temps de mesurer l'excès superficiel par unité de surface  $\Gamma$  à partir de la pente de la courbe  $\gamma = f(C)$  obtenue par tensiométrie.<sup>149</sup>

$$(1) : d\gamma = -RT n \Gamma d(\ln C)$$

$\gamma$  : tension superficielle ( $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$ )

$\Gamma$  : excès superficiel par unité de surface ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ )

$n$  : constante de dissociation ;  $n = 1$  si le tensioactif est non ionique et  $n = 2$  si le tensioactif est ionique

$C$  : concentration en tensioactif ( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )

$R$  : constante des gaz parfaits ( $R = 8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ )

$T$  : température (K)

<sup>148</sup> Gibbs, J. W. The collected works of J. W. Gibbs vol. I, Longmans, Green, London, 1928, 119.

<sup>149</sup> Rosen, M. J. Surfactant and interfacial phenomena, A Wiley, Interscience Pub. 1978.

Pour des solutions diluées de tensioactifs non ioniques ou ioniques monovalents en présence d'un large excès d'électrolytes contenant des ions non amphiphiles, la relation de Gibbs permet de calculer en fonction de la pente de la courbe  $\gamma = f(C)$ , l'excès superficiel par unité de surface  $\Gamma$  [équation (2)].

$$(2) : \Gamma = - \frac{1}{nRT} \left[ \frac{\delta\gamma}{\delta \ln C} \right]_T$$

L'aire de la molécule à l'interface  $A$  apporte des informations sur le degré d'assemblage et d'orientation de la molécule de tensioactif à l'interface. Elle est déterminée à partir de l'excès de surface selon l'équation (3) :

$$(3) : A = \frac{10^{16}}{N \cdot \Gamma}$$

$A$  : aire de la molécule à l'interface (cm<sup>2</sup>)

$N$  : nombre d'Avogadro

$\Gamma$  : excès superficiel par unité de surface (mol.m<sup>-2</sup>)

### **II-4-1-3) Facteurs influençant la CMC**

La CMC est un paramètre caractéristique d'un tensioactif, et différents facteurs peuvent l'influer. On peut distinguer cinq principaux facteurs liés aux interactions hydrophobes et électrostatiques :<sup>150</sup>

- La structure du tensioactif
- La température de la solution
- La présence de composés organiques
- La présence d'électrolytes
- L'influence du pH

#### **II-4-1-3-a) La structure du tensioactif**

L'augmentation de la chaîne hydrophobe implique une diminution de la CMC selon la loi empirique [équation (4)].<sup>151</sup> En effet, l'addition d'un groupe méthylène à une chaîne

<sup>150</sup> Furton, K. G.; Norelus, A. *J. Chem. Ed.* **1993**, *70*, 254.

<sup>151</sup> (a) Klevens, H. B. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1953**, *30*, 74. (b) Schick, M. J.; Becher, P. Nonionic surfactants, vol. 1, *Surfactant Sciences Series*, Marcel Dekker, **1996**, p 478-515

hydrophobe linéaire divise la CMC par deux pour un tensioactif ionique, et par cinq pour un tensioactif non ionique.<sup>152</sup>

$$(4) : \text{CMC} = A \exp \left[ \frac{W_e - y \Phi_m}{k T} \right]$$

A : constante

W<sub>e</sub> : énergie libre électrostatique de micellisation par molécule

y : nombre total de groupes méthyles et méthylènes sur la chaîne hydrophobe

Φ<sub>m</sub> : énergie d'interaction de *Van der Waals*

k : constante de *Boltzmann*

T : température absolue

Pour un amphiphile contenant une seule chaîne alkyle, l'équation (4) devient :

$$(5) : \ln(\text{CMC}) = a - by$$

$$a = \ln(A) + \frac{W_e}{k T} \qquad b = \frac{\Phi_m}{k T}$$

Les valeurs a et b sont obtenues à partir du tracé de la droite de corrélation  $\log(\text{CMC}) = f(\text{nombre de carbones})$  (Schéma II-34) et sont caractéristiques du tensioactif, notamment de la nature de la tête hydrophile.

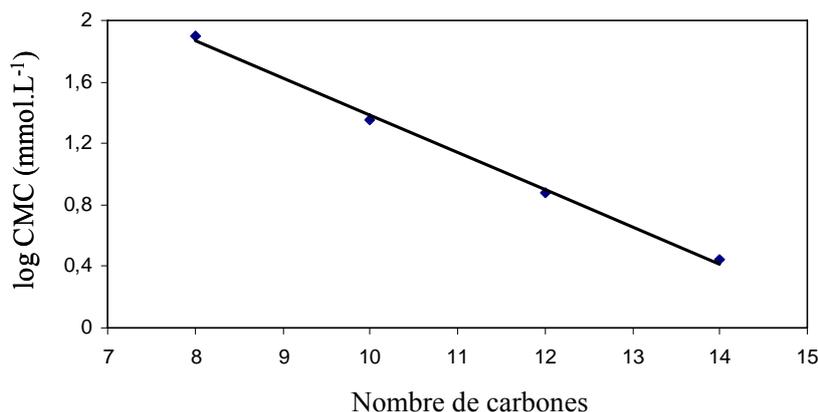


Schéma II-34 : Evolution du logarithme de la CMC avec la longueur de la chaîne alkyle sur les (n-alkyl-β-D-galactofuranoside) uronates de sodium<sup>102</sup>

<sup>152</sup> Draize, J. H.; Woodard, G.; Calvery, H. O. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1944**, 82, 377.

Cette loi empirique est utilisée pour les chaînes comportant jusqu'à 16 atomes de carbone. Néanmoins, pour les chaînes contenant 18 atomes de carbones et plus, on suppose qu'un phénomène d'enroulement se produit.<sup>153</sup>

Par ailleurs, l'introduction d'insaturations sur la chaîne hydrocarbonée modifie la valeur de la CMC. On observe généralement une augmentation de la CMC par rapport au tensioactif saturé, notamment pour les oléfines cis.<sup>149</sup>

Contrairement aux queues hydrophobes, il existe une très grande diversité des têtes polaires. Ainsi, il s'avère très difficile d'établir des généralités concernant l'influence des têtes hydrophiles sur la CMC. Cependant, pour une série de tensioactifs possédant une même queue hydrophobe, les valeurs de CMC pour les tensioactifs ioniques et zwitterioniques sont généralement plus élevées que celles des tensioactifs non ioniques.<sup>149</sup>

D'autre part, la nature du contre ion d'un tensioactif ionique présente une influence sur la CMC pour une même tête polaire et pour une même queue hydrophobe. Quand le degré de covalence du contre-ion avec la micelle augmente, l'affinité entre les deux entités devient plus importante, ceci induit une diminution de la CMC du tensioactif. Ce degré de fixation augmente avec la polarisabilité et la valence, alors qu'il diminue avec le rayon d'hydratation du contre ion.<sup>154</sup> Il a été démontré que pour un tensioactif comportant une chaîne hydrophobe et une tête polaire anionique donnée, que la CMC diminuait dans l'ordre  $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{N}(\text{CH}_3)_4^+ > \text{N}(\text{CH}_2\text{-CH}_3)_4^+ > \text{Ca}^{2+} \# \text{Mg}^{2+}$ . Dans le cas d'un tensioactif cationique, la CMC diminue dans l'ordre  $\text{F}^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ .<sup>145</sup>

#### II-4-1-3-b) La température de la solution

La température influe sur la formation des micelles, ainsi que sur la valeur de la CMC du tensioactif. Cette influence sur la CMC est illustrée par des diagrammes de phase température-concentration.

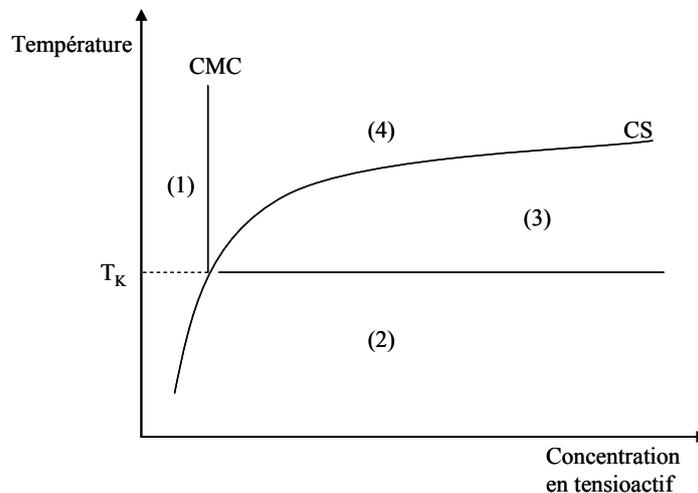
Lorsqu'on analyse la solubilité d'un tensioactif ionique, on remarque qu'au dessus d'une certaine température, caractéristique du tensioactif considéré, la solubilité s'accroît fortement. Ce phénomène a été observé pour la première fois par Krafft et coll.<sup>155</sup> Cette augmentation est due à la formation de petits agrégats de trente à cent monomères.

<sup>153</sup> Lin, I. J.; Moudgil, B. M.; Somasundaran, P. *Colloid Polymer Sci.* **1974**, 252, 407.

<sup>154</sup> Mukerjee, P. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1967**, 1, 241.

<sup>155</sup> Krafft, F.; Wiglow, H.; *Ber. Otsch. Chem. Ges.* **1895**, 28, 2566.

La température à laquelle ces micelles commencent à se former est appelée *température de Krafft* ou *point de Krafft* ( $T_K$ ). Le phénomène de micellisation est illustré sur le diagramme suivant :<sup>156</sup>



*Schéma II-35 : Diagramme de phase d'un tensioactif soluble dans l'eau ; (1) : Solution aqueuse du monomère ; (2) : Phase solide + Solution du monomère ; (3) : Phase solide + Solution micellaire ; (4) : Solution micellaire ; (CS) : Courbe de Solubilité ; (CMC) : Concentration micellaire critique*

À faible concentration, le tensioactif se trouve sous la forme de monomères en solution dans l'eau. Si on augmente la concentration en tensioactif à une température inférieure à la température de *Krafft*, il précipite. Par contre, si la température est supérieure à la température de *Krafft*, le tensioactif micellise. Ainsi, aucune micellisation n'est possible pour un tensioactif ionique à une température inférieure à la température de *Krafft*.

La température de *Krafft* est déterminée en repérant la température d'apparition puis disparition d'un trouble dans une solution de tensioactif à forte concentration. Elle est dans ce cas, définie pour une concentration donnée.

Dans le cas des tensioactifs non ioniques, il existe un point de trouble qui est défini comme étant la température à partir de laquelle une solution de tensioactifs non ioniques se trouble et se sépare en deux phases : une phase aqueuse dont la concentration en tensioactifs est faible, et une deuxième phase riche en tensioactif. Cette démixtion correspond à une agrégation des micelles en « super micelles » et s'explique par une diminution du degré d'hydratation de la

<sup>156</sup> Satge, C. *Etude de nouvelles stratégies de valorisation de mono et polysaccharides*, Thèse de l'Université de Limoges, Limoges, 2002.

partie hydrophile du tensioactif. Le processus reste tout de même réversible par abaissement de la température.<sup>157</sup>

#### II-4-1-3-c) La présence de composés organiques

De petites quantités de composés organiques peuvent modifier de façon notable les valeurs de CMC des tensioactifs en solution aqueuse. La connaissance de ces effets est très importante, à la fois du point de vue théorique et pratique. On peut distinguer deux classes de composés organiques :<sup>149</sup>

- Les composés de la classe I qui affectent la CMC en pénétrant à l'intérieur des micelles. A titre d'exemple, on cite certains composés organiques polaires tels que les alcools et les amides, ces derniers peuvent abaisser la CMC en milieu aqueux, même à faible concentration.<sup>158</sup>

- Les composés de classe II qui modifient les interactions de l'eau avec la molécule tensioactive ou avec la micelle. On retrouve dans cette classe l'urée, le formamide, les alcools ayant des chaînes courtes, le dioxane, le fructose...<sup>149</sup>

#### II-4-1-3-d) La présence d'électrolytes

L'augmentation de la concentration en sels influence très légèrement les tensioactifs non ioniques et zwitterioniques, par contre elle diminue fortement la CMC des tensioactifs ioniques.<sup>150</sup>

Pour les tensioactifs ioniques, les effets de l'addition d'électrolytes possédant la même charge que le contre-ion sur la valeur de la CMC peuvent être empiriquement quantifiés par la relation suivante :

$$(6) : \ln(\text{CMC}) = -a \ln(C_i) + b$$

a et b: constantes dépendantes de la tête polaire du tensioactif et de la température

$C_i$  : concentration totale en contre-ions monovalents ( $\text{mol.L}^{-1}$ )

Cette diminution de la CMC peut être expliquée par l'affaiblissement des répulsions électrostatiques entre les têtes polaires. Cependant, dans le cas des tensioactifs non ioniques et zwitterioniques, une autre relation semble mieux représenter l'influence des électrolytes sur ces tensioactifs.<sup>149</sup>

---

<sup>157</sup> Landréat, C. *Glycosidation des pentoses sans solvant. Application à la synthèse de tensioactifs glycosidiques à partir de co-produits agricoles*, Thèse de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, 1996.

<sup>158</sup> Furton, K. G.; Norelus, A. *J. Chem. Ed.* **1993**, 70, 254.

$$(7) : \ln(\text{CMC}) = -K C_s + \text{constante}$$

$K$ : constante relative au tensioactif, à l'électrolyte et à la température

$C_s$ : concentration en électrolyte ( $\text{mol.L}^{-1}$ )

#### II-4-1-3-e) L'influence du pH

La formation des micelles pour les tensioactifs ioniques et zwitterioniques dépend également du pH de la solution. En effet, les tensioactifs de type carboxylates sont plus ou moins ionisés selon le pH du milieu, ce qui explique la variabilité de leurs propriétés tensioactives.<sup>149</sup>

#### II-4-1-4) Agrégation des tensioactifs en solution aqueuse

Des considérations géométriques simples permettent de déterminer, a priori, les arrangements possibles pour un tensioactif donné en solution aqueuse. Les forces responsables de la forme des micelles sont divisées en contributions intramicellaires et intermicellaires. Les premières déterminent la forme des micelles juste au dessus de la CMC, tandis que les secondes ont de l'influence à des fortes concentrations en tensioactifs.<sup>159</sup>

Ainsi au voisinage et au dessus de la CMC, la forme des micelles peut être évaluée au moyen de trois paramètres (Schéma II-36) :

- La surface par molécule à l'interface air / eau ( $A$ )
- La longueur de la chaîne alkyle ( $lt$ )
- Le volume de la chaîne alkyle ( $v$ )<sup>159,160</sup>

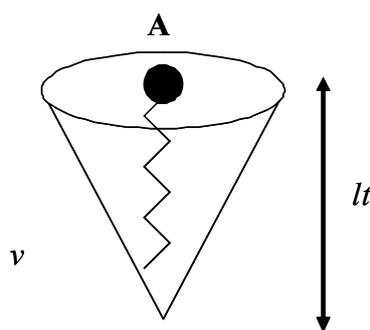


Schéma II-36 : Représentation schématique d'un tensioactif

<sup>159</sup> Mitchell, D. J.; Tiddy, G. J. T.; Waring, L.; Bostock, T.; Mc Donald, M. P. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1983**, 79, 975.

<sup>160</sup> (a) Israelachvili, J. *Intermolecular & Surface Forces*, McGraw-Hill, **1991**. (b) Hall, C.; Tiddy, G. J. T.; Pfannemüller, B. *Liq. Cryst.* **1991**, 9, 527.

Les valeurs de **A** peuvent être déterminées par diffraction des rayons X ou par tensiométrie alors que les valeurs de *lt* et *v* sont calculées en prenant en considération la nature de la chaîne hydrophobe. Ainsi, pour une chaîne alkyle, *v* et *lt* sont calculés respectivement par les deux équations (8) et (9)

$$(8) : v = 27,4 + 26,9 (n_c - 1)$$

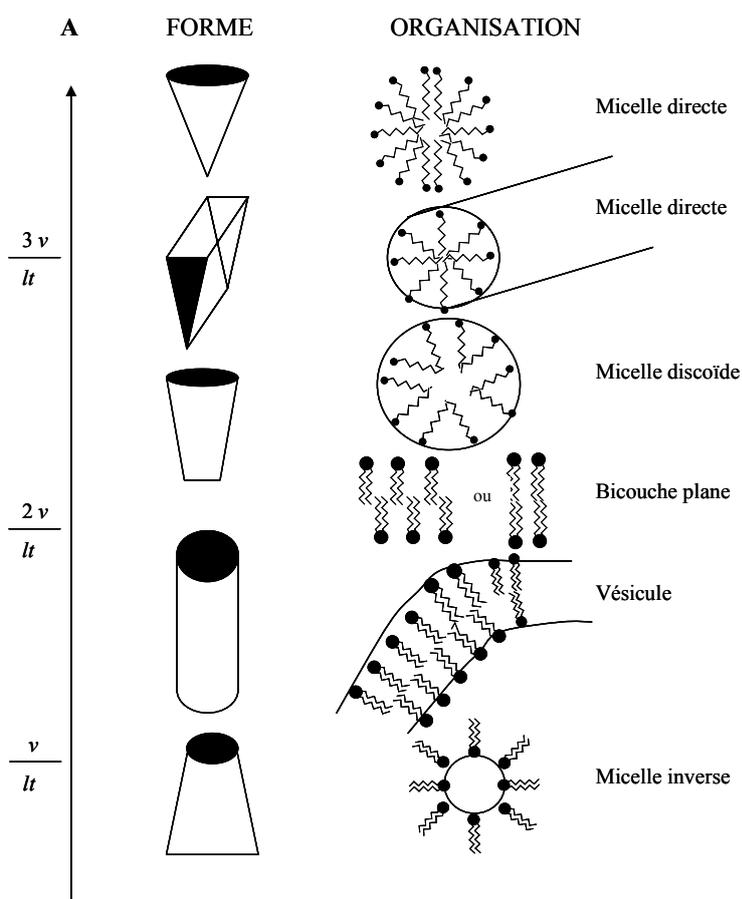
$$(9) : lt = 1,5 + 1,265 (n_c - 1)$$

*v* : volume de la chaîne alkyle (Å<sup>2</sup>)

*lt* : longueur de la chaîne alkyle (Å)

*n<sub>c</sub>* : nombre de carbone de la chaîne alkyle.

La forme des agrégats sera liée à la valeur de l'aire par tête **A** en fonction des rapports *v/lt*,  $2v/lt$  et  $3v/lt$  (Schéma II-37).



*Schéma II-37 : Différentes formes d'agrégats*<sup>161</sup>

<sup>161</sup> Estrine, B. *Synthèse de molécules à propriétés tensioactives par transformation de pentoses issus du fractionnement des agro-ressources*, Thèse de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, **2002**.

#### **II-4-2) Propriétés physico-chimiques des APGly**

Les propriétés interfaciales des tensioactifs ainsi que leur comportement en solution sont essentiellement liés à certains effets physico-chimiques bien spécifiques.<sup>162</sup> Les APGly possèdent des propriétés physico-chimiques remarquables, et elles sont dans certains cas différentes de celles d'autres tensioactifs non ioniques.

L'équipe de Shinoda<sup>163</sup> et l'équipe de Böcker<sup>164</sup> ont déterminé les Concentrations Micellaires Critiques (CMC), ainsi que les valeurs des tensions superficielles  $\gamma$  qui sont de l'ordre de 25 mN.m<sup>-1</sup> pour certains glycosides d'alkyle. Le tableau suivant résume les différents résultats obtenus pour les valeurs de CMC à T = 25 °C :

*Tableau II-10 : Concentrations Micellaires Critiques de certains glycosides d'alkyle*

Substance	CMC (mol.L <sup>-1</sup> )	Référence
$\beta$ -D-C <sub>8</sub> G <sub>1</sub>	2,5.10 <sup>-2</sup>	Shinoda et al <sup>163</sup>
C <sub>8</sub> G <sub>1</sub>	1,8.10 <sup>-2</sup>	Nickel et al <sup>165</sup>
$\beta$ -D-C <sub>10</sub> G <sub>1</sub>	2,2.10 <sup>-3</sup>	Shinoda et al <sup>163</sup>
$\beta$ -D-C <sub>12</sub> G <sub>1</sub>	1,9.10 <sup>-4</sup>	Shinoda et al <sup>163</sup>
C <sub>12</sub> G <sub>1</sub>	1,7.10 <sup>-4</sup>	Nickel et al <sup>165</sup>

La valeurs de CMC de ces glycosides d'alkyle est comparable à celle des tensioactifs non ioniques, et diminue distinctement en fonction de la longueur de la chaîne alkyle. L'influence de la longueur de la chaîne alkyle sur la valeur de la CMC est beaucoup plus importante que celle que pourrait procurer le nombre de têtes polaires (sucre) présents dans l'APGly.

Concernant les dérivés d'acides uroniques, l'équipe de Plusquellec<sup>166</sup> s'est intéressée à l'étude des propriétés physicochimiques de composés de type D-mannopyranoside uronate d'alkyle. Ces derniers ont été synthétisés à partir d'alginate qui est un polysaccharide composé d'unités d'acide  $\beta$ -D-mannuronique liées entre elles en positions 1,4, avec la présence de résidus d'acide  $\alpha$ -L-glucuronique (Schéma II-38).

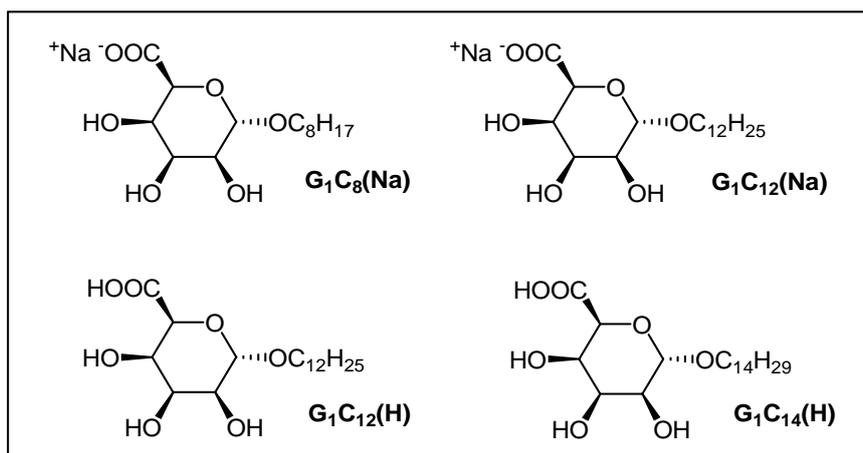
<sup>162</sup> Nickel, D.; Speckmann, H. D.; von Rybinski, W. *Tenside Surfactants Deterg.* **1995**, 32, 470.

<sup>163</sup> Shinoda, K.; Yamaguchi, T.; Hori, R. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, 34, 237.

<sup>164</sup> Böcker, T.; Thiem, J.; *Tenside Surfactants Deterg.* **1989**, 26, 318.

<sup>165</sup> Nickel, D.; Nitsch, C.; Kurzendörfer, P.; von Rybinski, W. *Progr. Colloid Polym. Sci.* **1992**, 89, 249.

<sup>166</sup> Roussel, M.; Benvegnu, T.; Lognoné, V.; Le Deit, H.; Soutrel, I.; Laurent, I.; Plusquellec, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3085-3094.



*Schéma II-38 : Composés de type  $\alpha$ -D-mannopyranoside uronate d'alkyle par l'équipe de Plusquellec*

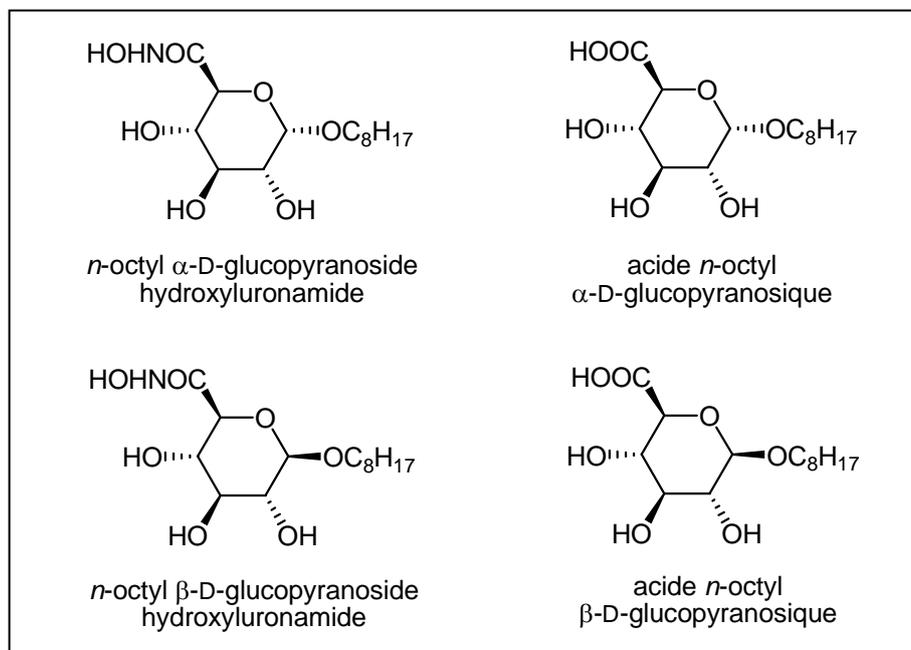
Les mesures des valeurs de CMC ainsi que celles des tensions de surface sont illustrées dans le tableau suivant (Tableau II-11). Ces valeurs sont comparées à celles de tensioactifs industriels non ioniques : PolyEthylène Glycol (PEG) et PolyGlycoside d'Alkyle (APGly).

*Tableau II-11 : Valeurs de CMC et de tension de surface des dérivés D-mannopyranoside uronate d'alkyle en comparaison avec les valeurs standards pour les tensioactifs PEG et APGly*

Composé	CMC (mmol.L <sup>-1</sup> )	CMC (g.L <sup>-1</sup> )	$\gamma$ (mN.m <sup>-1</sup> )
G <sub>1</sub> C <sub>8</sub> (Na)	1,62	0,49	30,2
G <sub>1</sub> C <sub>12</sub> (Na)	0,28	0,11	29,5
G <sub>1</sub> C <sub>12</sub> (H)	0,13	0,05	30,5
G <sub>1</sub> C <sub>14</sub> (H)	0,16	0,06	29,7
PEG	0,08	0,04	33
APGly	0,26	0,09	30

Les composés dérivés du D-mannopyranoside uronate d'alkyle diminuent les valeurs de la tension superficielle  $\gamma$  jusqu'à 30 mN.m<sup>-1</sup>, et sont tout à fait comparables à celles des tensioactifs industriels PEG et APGly. On remarque que ces valeurs sont indépendantes de la longueur de la chaîne alkyle présente sur le sucre, et ne sont pas altérées par les différences de CMC entre ces composés. Par ailleurs, comme attendu, les valeurs de CMC diminuent avec la longueur de la chaîne alkyle du sucre.

Par ailleurs, l'équipe de Kovensky<sup>167</sup> a synthétisé de nouvelles molécules amphiphiles pour l'extraction de métaux présents dans les eaux usées en un nombre limité d'étapes à partir du D-glucose tetraacétylé. Les propriétés physico-chimiques de ces composés ont été évaluées et comparées à celles du *n*-octyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside (Schéma II-39).<sup>133d</sup>



*Schéma II-39 : Composés amphiphile dérivés de l'acide D-glucuronique synthétisés par l'équipe de Kovensky*

Le tableau suivant représente les propriétés interfaciales de ces composés

*Tableau II-12 : Valeurs de CMC et tension de surface des dérivés d'acide D-glucuronique en comparaison avec les valeurs standards pour le *n*-octyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside*

Composé	CMC (mmol.L <sup>-1</sup> )	$\gamma$ (mN.m <sup>-1</sup> )
Acide <i>n</i> -octyl $\alpha$ -D-glucopyranosique	13,1 (1,8)	29,5 (0,7)
Acide <i>n</i> -octyl $\beta$ -D-glucopyranosique	15,6 (1,5)	31,3 (0,7)
<i>n</i> -octyl $\alpha$ -D-glucopyranoside hydroxyl uronamide	20,7 (1,3)	36,6 (0,7)
<i>n</i> -octyl $\beta$ -D-glucopyranoside hydroxyl uronamide	20,6 (2,6)	32,9 (0,7)
<i>n</i> -octyl $\alpha$ -D-glucopyranoside	10,0 (1,1)	36,4 (0,7)

<sup>167</sup> Ferlin, N.; Grassi, D.; Ojeda, C.; Castro, M. J. L.; Grand, E.; Fernandez Cirelli, A.; Kovensky, J. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 839.

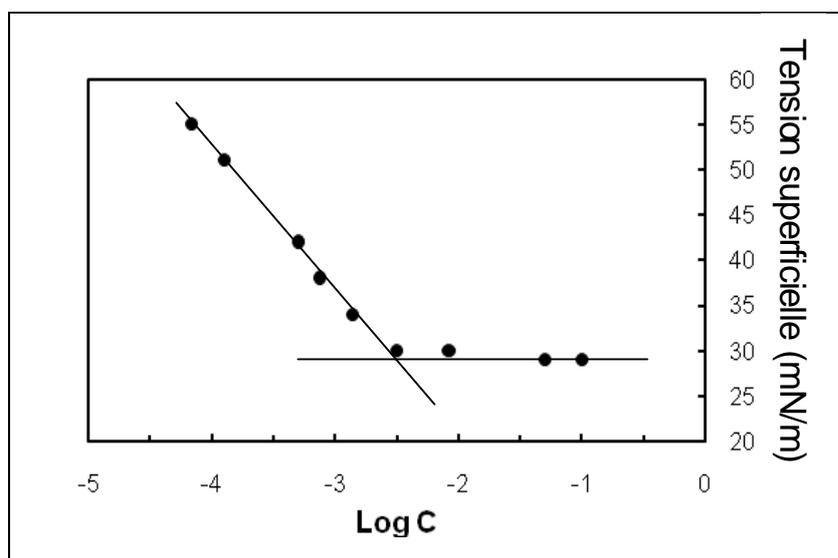
Les valeurs de CMC obtenus pour ces composés amphiphiles dérivés de l'acide D-glucuronique semblent être légèrement plus élevées que celle du *n*-octyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside, et 10 fois plus élevées que celles du *n*-octyl polyglucoside butyl éther ( $0,9 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).<sup>168</sup>

### **II-4-3) Mesures des Concentrations Micellaires Critiques (CMC) des composés *n*-octyl D-galactoside uronamides (3-6)**

Les études de caractérisation physico-chimique des produits synthétisés ont été réalisées en collaboration avec le Professeur V. Nardello-Rataj à l'Université de Lille 1.

Les mesures de Concentration Micellaire Critique (CMC) ont été réalisées sur les différents ligands synthétisés à l'état pur (un seul anomère) et aussi sur certains mélanges d'amides.

La concentration micellaire critique (CMC) est définie comme étant la concentration minimale de tensioactif exigée pour atteindre la valeur la plus basse en tension de surface  $\gamma$ , elle est déduite à partir du point d'inflexion de la courbe de la tension superficielle en fonction du Log C. Les tensions de surface  $\gamma$  des solutions aqueuses des ligands *n*-octyl D-galactoside uronamide ont été mesurés afin d'évaluer leur activité de surface, ainsi que leur comportement micellaire dans l'eau (Figure II-3). Le schéma suivant illustre une courbe typique obtenue pour le produit : *n*-octyl -D-galactofuranoside-*N*-[2-(2-hydroxyéthylamino)éthyl]uronamide **4a** (Schéma II-40).



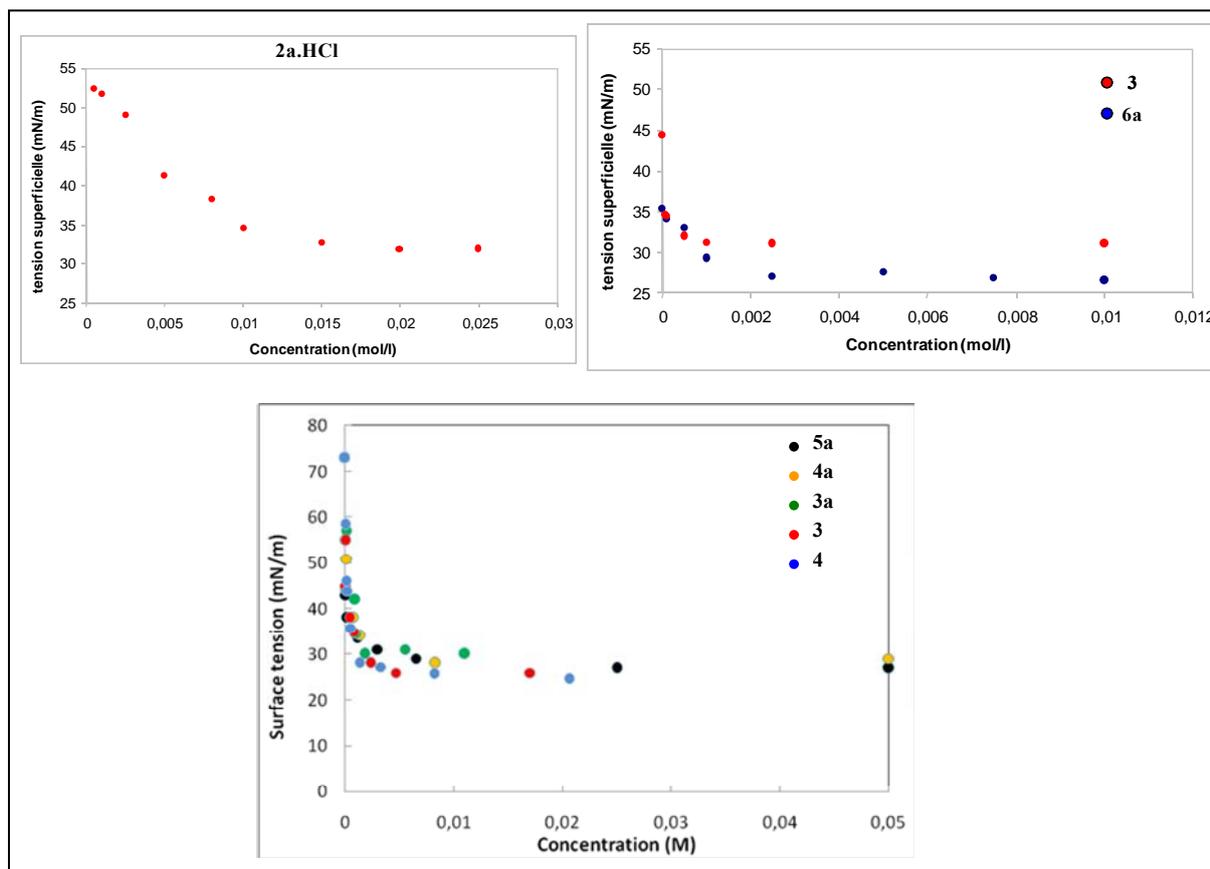
*Schéma II-40 : Tension de surface air-eau  $\gamma$  en fonction du Log de la concentration du ligand **4a** à 25 °C*

<sup>168</sup> Rhode, O.; Weuthen, M.; Nickel, D. In Hill, K.; von Rybinski, W.; Stoll, G.; Eds.; *Alkyl Polyglycosides. Technology, Properties and Applications*: VCH: Weinheim. 1997, p 139-149.

Les tensions de surface des ligands **3-6** ont été mesurées en utilisant la méthode de la goutte pendante « Drop Shape method » à l'aide d'un tensiomètre de type Tracker-ITConcept, une bulle d'aire est formée dans la solution aqueuse de ligand maintenue à 25 °C avec un bain thermostaté. La tension superficielle est déterminée quand l'équilibre est atteint, ceci peut prendre des heures pour des solutions diluées de ligand.

Dans le cas du ligand chlorhydraté **2a**, la méthode de l'anneau en platine a été utilisée pour la mesure de la tension superficielle.

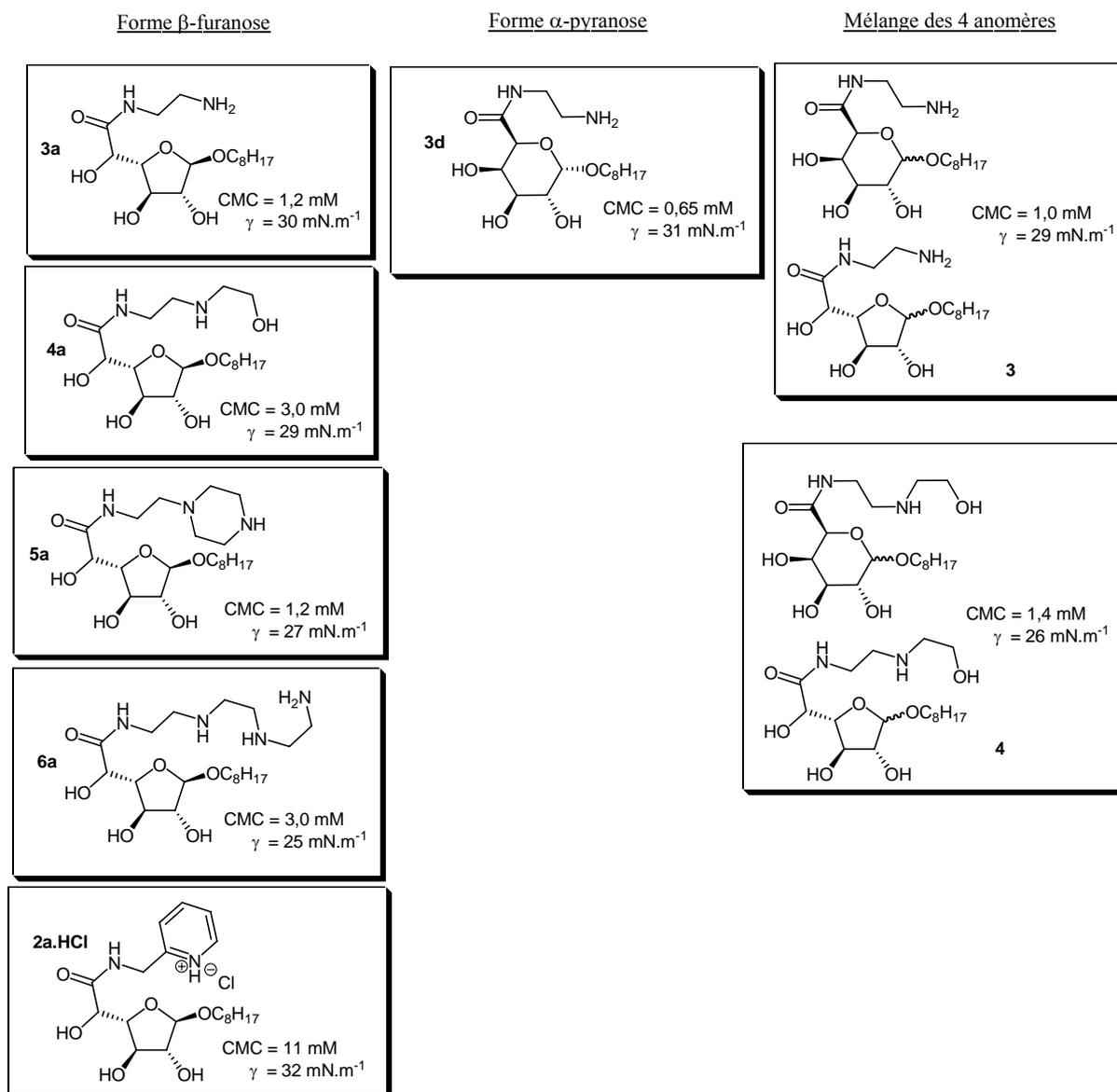
Les courbes  $\gamma = f([\text{ligand}])$  sont représentées dans la figure suivante.



*Figure II-2 : Les courbes de tension superficielle en fonction de la concentration en ligand amphiphile pour la détermination des CMC*

Le schéma suivant reporte les valeurs obtenues de tensions superficielles et de concentrations micellaires critiques pour les composés étudiés (Schéma II-41).

2<sup>ème</sup> Chapitre : Synthèse et caractérisation physico-chimique  
ligands uronamides dérivés de l'acide D-galacturonique



*Schéma II-41 : Tensions superficielles et CMC des composés étudiés*

La tension superficielle diminue rapidement en augmentant la concentration des tensioactifs en solution aqueuse. Les valeurs de CMC obtenues avec les ligands synthétisés sont inférieures à celles rencontrées dans la littérature concernant les *n*-octyl glucosides, mannosides et galactosides.

Les *n*-octyl D-galactoside uronamides **3-6** ont des CMC comprises entre 0,65 et 3 mmol.L<sup>-1</sup>, ces valeurs sont tout à fait inattendues pour des tensioactifs ayant une chaîne alkyle en C<sub>8</sub>, ce comportement est souvent rencontré pour les tensioactifs ayant une chaîne alkyle en C<sub>10</sub>.

La variation de la tension superficielle minimale, entre 25 et 31 mN.m<sup>-1</sup>, montre la présence d'une bonne activité superficielle pour tous les ligands étudiés, qui est tout à fait comparable à celles obtenues pour d'autres tensioactifs décrits dans littérature et ayant une chaîne octyle.<sup>166</sup>

D'après ces résultats, on remarque que la configuration anomérique et la nature du groupement complexant ont peu d'effet tant sur la CMC que sur la tension superficielle. Cependant, comme décrit dans la littérature, le ligand  $\alpha$ -pyranose **3d** donne une valeur plus basse de CMC (0,65 mmol.L<sup>-1</sup>), que celle obtenu à partir de son homologue  $\beta$ -furanose (1,2 mmol.L<sup>-1</sup>).<sup>169</sup>

Il faut noter que le mélange des anomères montre une bonne activité de surface vis-à-vis de celle rencontrée avec la forme  $\beta$ -furanosique pure.

Parmi tous les produits décrits auparavant, seul le ligand **2a** n'a pas été étudié sous sa forme neutre, à cause de sa faible solubilité dans l'eau. La mesure de la CMC a été réalisée sur le chlorhydrate correspondant. La valeur de CMC retrouvée est de 11 mmol.L<sup>-1</sup>, avec une tension superficielle de 32 mN.m<sup>-1</sup>.

#### **II-4-4) Etude de la solubilité des composés *n*-octyl D-galactoside uronamides (3-6) dans l'eau**

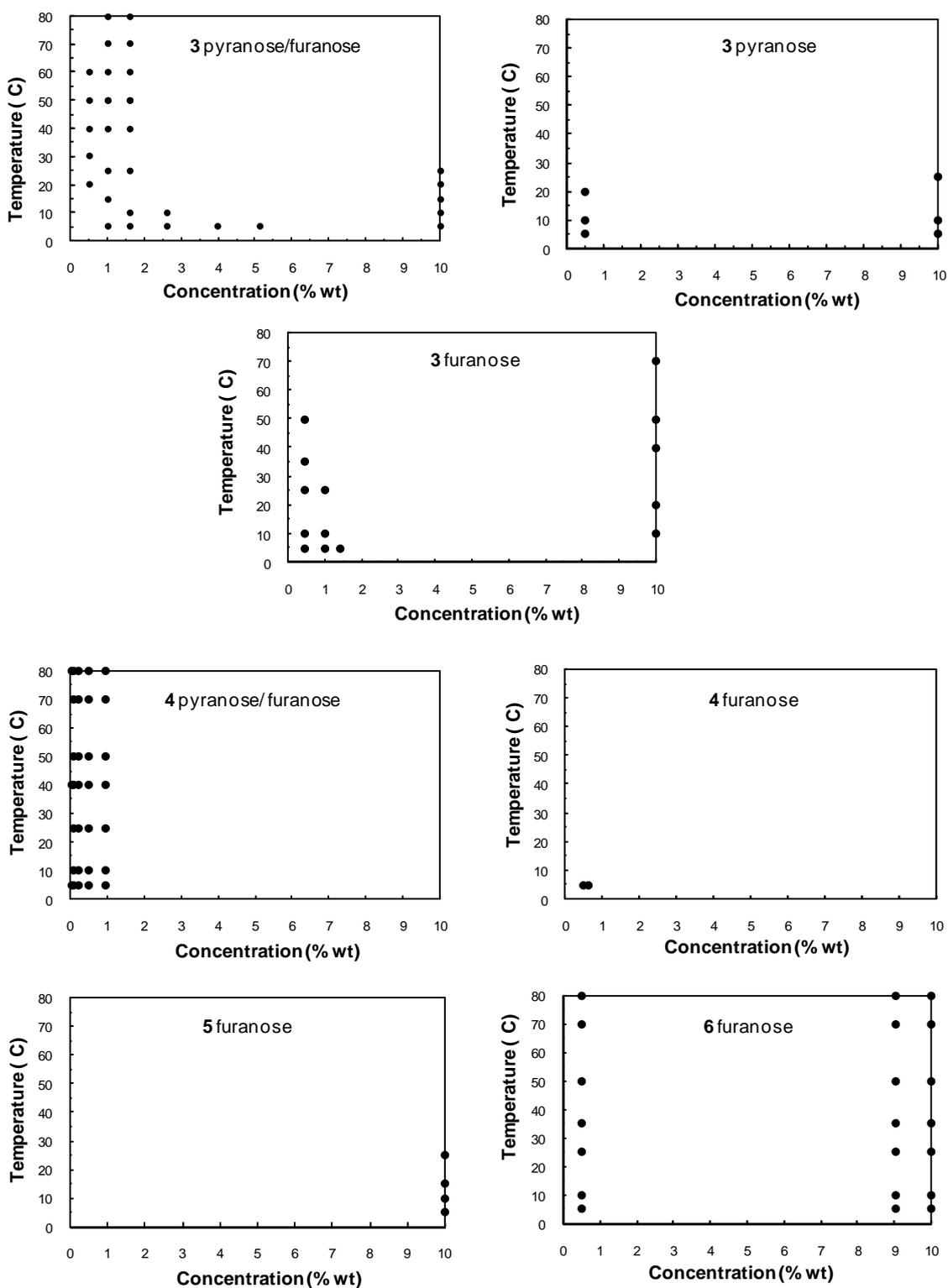
Une deuxième étude a été réalisée sur ces composés afin de déterminer leur comportement en phase aqueuse (domaines de solubilité), en fonction de la température du milieu (de 5 à 80 °C), ainsi que leur pourcentage massique en solution (de 0 à 10%).

Les études de solubilité des ligands amphiphiles à différentes concentrations ont été réalisées dans des tubes. Ces derniers ont été immergés dans un bain thermostaté et la solubilité des ligands est mesurée qualitativement à différentes températures (Figure II-3).

Les points noirs représentent les domaines d'insolubilité des ligands en solution.

---

<sup>169</sup> Boyd, B. J.; Drummond, C. J.; Krodkiewska, I.; Grieser, F. *Langmuir*, **2000**, *16*, 7359.



*Figure II-3 : Etude de la solubilité des ligands uronamides dans l'eau à différentes températures, et à différentes concentrations massiques*

Ces composés *n*-octyl D-galactoside uronamides **3-6** montrent des comportements différents en phase aqueuse en fonction de leur structure chimique, et plus particulièrement de la nature de la chaîne amidique complexante, ainsi que la position de la fonction anomérique.

Les composés *n*-octyl D-galactofuranoside uronamides **4a** et **5a** sont complètement solubles dans l'eau dans les domaines de température (5-80 °C), et de concentrations massiques (0-10%) étudiés. D'un autre côté, le composé *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactopyranoside uronamide **3d** est plus soluble que son homologue  $\beta$ -furanosique **3a**, ceci est dû à l'effet de la configuration anomérique qui est connu comme étant beaucoup plus prononcé pour les chaînes alkyles courtes.<sup>169</sup>

Dans le cas des mélanges d'anomères, les solutions sont plutôt troubles à basses concentrations, par exemple dans le cas du mélange de *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactoside uronamide **3**, les solutions sont troubles à un pourcentage massique inférieur à 1,5, et restent troubles encore à une température inférieure à 10 °C jusqu'à 5% en pourcentage massique. Ce trouble qui apparaît au dessus de la concentration micellaire critique du tensioactif a déjà été observé auparavant dans le cas d'esters glycoside. Toutefois, ce phénomène reste inexpliqué.<sup>170</sup> Ceci peut être la conséquence d'une diminution du nombre d'hydratation de ces molécules lors de la formation de micelles. Ces contradictions indiquent que la nature du groupement complexant (la chaîne amine) joue un rôle important dans le comportement des composés *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactoside uronamide en phase aqueuse.

#### **II-4-5) Mesure de la taille des micelles des composés synthétisés**

Les tensioactifs forment des micelles dans lesquelles les têtes polaires ioniques ou non ioniques sont exposées et où la queue hydrophobe est cachée. La taille des micelles est un paramètre très important qui se corrèle bien avec le comportement du ligand en solution ainsi qu'avec sa concentration micellaire critique.

Un appareil zetasizer de type Nano ZS a été utilisé pour mesurer les tailles des micelles formées en solution par diffusion de lumière pour les différents ligands amphiphiles synthétisés. Des solutions à différentes concentrations ont été préparées pour chacun des ligands *n*-octyl D-galactoside uronamide (de  $5 \cdot 10^{-2}$  à  $1 \cdot 10^{-5}$  M), et ont été analysées dans le zetasizer. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour les concentrations de  $5 \cdot 10^{-2}$  M.

---

<sup>170</sup> Garofalakis, G.; Murray, B. S.; Sarney, D. B. *J. Coll. Interface Sci.* **2000**, 229, 391.

L'appareil effectue cinq mesures pour chaque échantillon, ce qui permet, d'une part, d'avoir une valeur moyenne de la taille des micelles en solution, et d'autre part, d'être sûr de la présence de cette espèce. Le tableau suivant résume les résultats de mesures des tailles de micelles obtenus pour certains ligands à une concentration de  $5 \cdot 10^{-2}$  M.

*Tableau II-13 : Mesure de la taille des micelles pour certains ligands synthétisés*

Ligand	Taille de Micelle (nm)
<b>3a</b>	3,86
<b>3d</b>	2,20
<b>6a</b>	2,25
<b>4</b>	5,25

La taille des micelles pour les ligands *n*-octyl D-galactoside uronamide est comprise entre 2,2 et 5,25 nm, ce qui représente une taille inférieure à celles rencontrées souvent dans la littérature.<sup>113</sup>

#### **II-4-6) Conclusion**

La synthèse des composés *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactoside uronamide a été effectuée par voie thermique classique (bain d'huile 80 °C, 20 h) en utilisant 4 équivalents d'amine, sans solvant, avec des rendements compris entre 57 et 80%.

Par ailleurs, l'activation de cette réaction d'aminolyse par les micro-ondes permet d'une part, de limiter le nombre d'équivalents d'amine utilisé (de 4 à 2 équivalents), et d'autre part, de limiter le temps de réaction à 10 minutes à 180 °C. La mise en place de la réaction à 180 °C dans le réacteur micro-ondes permet une substitution plus rapide du groupement octyle.

L'étude physico-chimique de ces ligands uronamides a montré que leurs valeurs de CMC sont comprises entre 0,65 et 3 mmol.L<sup>-1</sup> et sont inférieures à celles rencontrées dans la littérature concernant les *n*-octyl glucosides, mannosides et galactosides. Ces valeurs sont plutôt comparables à des tensioactifs ayant une chaîne alkyle C<sub>10</sub>. Ainsi, on peut déduire que ces composés *n*-octyl  $\alpha$ -D-galactoside uronamide possèdent de très bonnes qualités physico-chimiques comparés à leur semblable ayant la même longueur de chaîne à C<sub>8</sub>.

## **II-5) Partie Expérimentale**

### **II-5-1) Instrumentation**

#### **II-5-1-1) Les solvants**

La plupart des réactions sont réalisées avec les solvants commerciaux. Ces derniers ont été utilisés anhydres et dégazés à l'argon. Le THF et le toluène ont été distillés sur sodium/benzophénone, et le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sur CaH<sub>2</sub>.

#### **II-5-1-2) Les produits de départ**

L'acide D-galacturonique et l'octanol nous ont été fournis par la société *Agro-industrie Recherche et Développement* (A.R.D., Pomacle, 51, France). Ces produits sont utilisés directement sans nouvelle purification.

#### **II-5-1-3) Chromatographies**

L'évolution des réactions a été suivie par chromatographie sur couche mince de silice (Merck Art 5554 DC Alufolien Kieselgel 60 PF<sub>254</sub>).

La purification des produits se fait par chromatographie sur gel de silice (MERCK Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm).

#### **II-5-1-4) Caractérisation des produits**

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton <sup>1</sup>H et du carbone <sup>13</sup>C sont enregistrés sur un appareil Bruker AC 250, respectivement à 250 et 62,89 MHz, ou sur un appareil Bruker DRX 500, respectivement 500 et 125,76 MHz, à température ambiante dans CDCl<sub>3</sub> avec le tétraméthylsilane comme référence interne, ou dans le méthanol deutéré. Les déplacements chimiques  $\delta$  sont exprimés en ppm, les couplages en Hertz, et la multiplicité des signaux est symbolisée comme suit : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintuplet), m (massif ou multiplet) et l (large).

Les spectres de masse haute résolution (SMHR) ont été enregistrés sur un appareil Q-TOF Micromasse à source électrospray, par impact électronique (IE) ou par ionisation chimique (IC) à l'ammoniac.

Les analyses élémentaires ont été effectuées sur un appareil Perkin-Elmer CHN 2400.

Les points de fusions (non corrigés) ont été déterminés en tube capillaire à l'aide d'un appareil Büchi.

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre Perkin-Elmer modèle 241 ou 341 sous la longueur d'onde de la lampe sodium ( $\lambda = 589$  nm) et les concentrations sont exprimées en g/100mL de solvant.

## **II-5-2) Modes opératoires**

### **II-5-2-1) Procédure générale pour la préparation des composés *n*-octyl D-galactoside uronate de *n*-octyle**

#### **➤ Par activation thermique classique (Bain d'huile)**

Une suspension de 0,5 g d'acide D-galacturonique (2,57 mmol) dans 4,05 mL d'octanol (25,7 mmol) est maintenue sous agitation à la température et au temps définis, en présence d'une quantité catalytique d'acide (50  $\mu$ L ou 10 mg). Le mélange réactionnel est ensuite ramené à température ambiante et est neutralisé avec une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>. La phase organique est extraite avec de l'acétate d'éthyle (2 x 50 mL), séchée sur MgSO<sub>4</sub>, puis évaporée. L'excès d'octanol est distillé à 80 °C sous pression réduite (0,1 mbar), pour obtenir une huile jaune. Le mélange des anomères est purifié par passage sur colonne de chromatographie en utilisant un mélange « Acétate d'éthyle / Ether de pétrole » (1:1) pour la séparation des formes furanosiques, puis l'acétate d'éthyle pour les formes pyranosiques.

#### **➤ Par activation aux micro-ondes**

Une suspension de 0,5 g d'acide D-galacturonique (2,57 mmol) dans 8,1 mL d'octanol (51,4 mmol) est introduite dans le réacteur micro-ondes : CEM Microwave Synthesis Discover System<sup>®</sup>, puis le mélange réactionnel est mis sous réfrigération dans l'appareil. Ce dernier travail en mode continu de puissance allant de 0 à 300 W, et la température du milieu réactionnel est contrôlée par un système de modulation de puissance. Pour un réglage de température à 100 °C, il faut environ 2 minutes à l'appareil pour atteindre cette valeur. Le mélange réactionnel est ensuite ramené à température ambiante, puis est neutralisé avec une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>. La phase organique est extraite avec de l'acétate d'éthyle (2 x 50 mL), séchée sur MgSO<sub>4</sub>, puis évaporée. L'excès d'octanol est distillé à 80 °C sous pression réduite (0,1 mbar), pour obtenir une huile jaune. Le rendement de la réaction est déterminé après passage du mélange des anomères sur colonne chromatographique de gel de silice en utilisant l'acétate d'éthyle comme éluant.

### **II-5-2-2) Procédure générale pour la préparation des composés *n*-octyl D-galactoside uronamide**

➤ **Par activation thermique classique (Bain d'huile)**

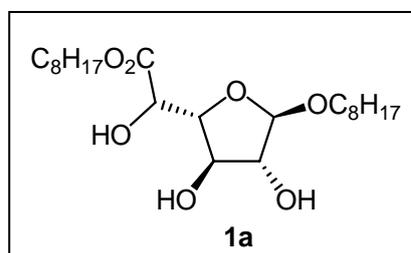
Un mélange contenant 0,265 g d'ester **1a** ou **1d** (0,63 mmol) avec 4 équivalents d'amine primaire (2,52 mmol) est maintenu sous agitation dans un bain d'huile à 80 °C pendant 20 heures. Le mélange réactionnel est ensuite purifié directement sur colonne chromatographique de gel de silice, en utilisant tout d'abord l'acétate d'éthyle pour éliminer l'octanol formé dans la réaction, puis un mélange acétate d'éthyle/méthanol (9:1) pour purifier le produit **2a** ou un mélange chloroforme / méthanol / hydroxyde d'ammonium (0,8 M) (6:4:1) pour les composés **3-6**.

➤ **Par activation aux micro-ondes**

Un mélange contenant 0,265 g d'ester **1a** ou **1d** (0,63 mmol) avec 4 équivalents d'amine primaire (2,52 mmol) est placé dans le réacteur micro-ondes : CEM Microwave Synthesis Discover System<sup>®</sup>. La température du milieu est contrôlée par un système de modulation de puissance en mode continu. Pour une température de 180 °C, il faut environ 2 minutes à l'appareil pour atteindre cette valeur. Le mélange réactionnel est ensuite purifié directement sur colonne chromatographique de gel de silice, en utilisant tout d'abord l'acétate d'éthyle pour éliminer l'octanol formé dans la réaction, puis un mélange acétate d'éthyle / méthanol (9:1) pour purifier le produit **2a** ou un mélange chloroforme / méthanol / hydroxyde d'ammonium (0,8 M) (6:4:1) pour les composés **3-6**.

**II-5-2-3) Caractéristiques spectrales des produits**

❖ ***n*-octyl (β-D-galactofuranoside)uronate de *n*-octyle (1a)**



Gel incolore

Rendement : 45% (micro-ondes, 10 min, 100 °C).

Analyse élémentaire: C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>O<sub>7</sub>; (%) Expérimental : C 62,96 ; H 10,14.

(%) Théorique : C 63,13 ; H 10,11.

SMHR (ES) : m/z calculée pour  $C_{22}H_{42}O_7Na$   $[M + Na]^+ = 441,2828$  ; trouvée = 441,2826.

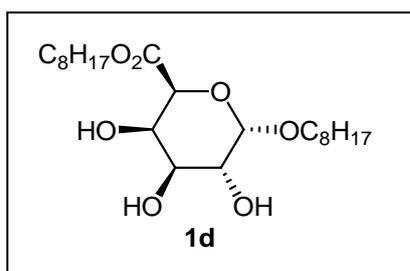
Infra rouge : (KBr)/ $cm^{-1}$  1759 (C=O) et 3357 (OH).

Pouvoir rotatoire:  $[\alpha]_D^{20} = -54$  ( $c = 1,54$ ,  $CHCl_3$ ).

RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ) : 0,86 (6H, t,  $J$  6,6 Hz,  $CH_3$ ), 1,21–1,36 (20H, m, 10  $CH_2$ ), 1,48–1,54 (2H, m,  $CH_2CH_2O$ ), 1,52–1,66 (2H, m,  $CH_2CH_2CO$ ), 3,38 (1H, dt,  $J$  9,4 et 6,5 Hz,  $CH_2CH_2O$ ), 3,63 (1H, dt,  $J$  9,4 et 6,8 Hz,  $CH_2CH_2O$ ), 3,96 (1H, s, H-5), 4,09 (1H, s, H-2), 4,18 (1H, dt,  $J$  10,4 et 6,3 Hz,  $CH_2CH_2CO$ ), 4,32 (1H, dt,  $J$  10,4 et 6,6 Hz,  $CH_2CH_2CO$ ), 4,41–4,48 (2H, m, H-3 et H-4) et 4,97 (1H, s, H-1).

RMN  $^{13}C$  (62,9 MHz,  $CDCl_3$ ) : 14,2 (2  $CH_3$ ), 22,7 (2  $CH_2$ ), 25,8 ( $CH_2$ ), 26,2 ( $CH_2$ ), 28,6–29,3 (4  $CH_2$ ), 29,4 ( $CH_2$ ), 29,6 ( $CH_2$ ), 31,9 (2  $CH_2$ ), 66,7 ( $CH_2$ ), 67,9 ( $CH_2$ ), 70,2 (C-3), 78,1 (C-2), 78,9 (C-5), 87,1 (C-4), 108,5 (C-1) et 172,1 (C=O).

❖ **n-octyl ( $\alpha$ -D-galactopyranoside)uronate de n-octyle (1d)**



Solide incolore

Point de Fusion : 63 °C.

Rendement : 23% (chauffage classique).

Analyse élémentaire:  $C_{22}H_{42}O_7$  ; (%) Expérimental : C 63,16 ; H 10,14.

(%) Théorique : C 63,13 ; H 10,11.

SMHR (ES) : m/z calculée pour  $C_{22}H_{43}O_7$   $[M + H]^+ = 419,3009$  ; trouvée = 419,2997.

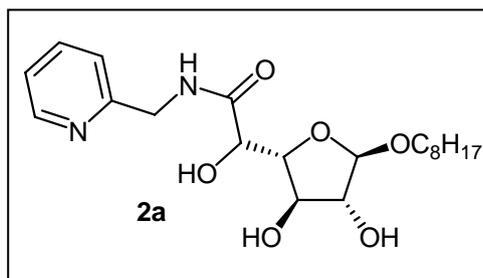
Infra rouge : (KBr)/ $cm^{-1}$  1742 (C=O) et 3446 (OH).

Pouvoir rotatoire:  $[\alpha]_D^{20} = +74$  ( $c = 1,05$ ,  $CHCl_3$ ).

RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ) : 0,86 (6H, t,  $J$  6,6 Hz,  $CH_3$ ), 1,22–1,36 (20H, m, 10  $CH_2$ ), 1,57–1,64 (4H, m,  $CH_2CH_2O$  et  $CH_2CH_2CO$ ), 3,11 (1H, s,  $CH(OH)CHCO$ ), 3,47 (1H, dt,  $J$  9,3 et 6,7 Hz,  $CH_2CH_2O$ ), 3,58 (1H, s,  $CH(OH)CH(OH)C(H)OCH_2$ ), 3,68 (1H, dt,  $J$  9,3 et 7,1 Hz,  $CH_2CH_2O$ ), 3,85 (2H, s, H-2 et H-4), 4,11 (1H, s,  $CH(OH)CHOCH_2$ ), 4,11–4,20 (2H, m,  $CH_2CH_2CO$ ), 4,28 (1H, s, H-3), 4,36 (1H, s, H-5), et 4,98 (1H, s, H-1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 14,2 (2 CH<sub>3</sub>), 22,7 (2 CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>2</sub>), 26,1 (CH<sub>2</sub>), 28,6–29,3 (4 CH<sub>2</sub>), 29,4 (CH<sub>2</sub>), 29,5 (CH<sub>2</sub>), 31,8 (CH<sub>2</sub>), 31,9 (CH<sub>2</sub>), 65,8 (CH<sub>2</sub>), 68,8 (C-2), 69,1 (CH<sub>2</sub>), 70,4 (C-4), 70,4 (C-3), 70,5 (C-5), 98,9 (C-1) et 169,1 (C=O).

❖ ***n*-octyl (β-D-galactofuranoside méthyl [1-pyridinyl])uronamide (2a)**



Solide incolore

Rendement : 86% (bain de huile, 20 h, 80 °C) et 79% (micro-ondes, 10 min, 180 °C)

Point de Fusion : 104 °C.

Analyse élémentaire: C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>O<sub>7</sub>; (%) Expérimental : C 60,27 ; H 8,10 ; N 7,37.

(%) Théorique : C 60,59 ; H 8,13 ; N 7,07.

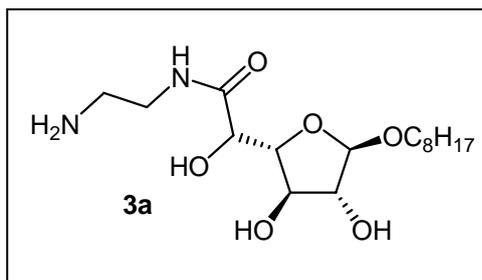
Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1655 (C=O) et 3368 (OH).

Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -74 (c = 0,67, CHCl<sub>3</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0,86 (3H, t, *J* 6,3 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,21–1,28 (10H, m, 5 CH<sub>2</sub>), 1,47–1,54 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,33 (1H, dt, *J* 9,2 et 6,9 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,67 (1H, dt, *J* 9,2 et 6,7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 4,07 (2H, s, H-4 et H-5), 4,36 (1H, bs, H-2), 4,47 (1H, bs, H-3), 4,54 (1H, dd, *J* 15,8 et 5,3 Hz, CH<sub>2</sub>NHCO), 4,63 (1H, dd, *J* 15,8 et 5,8 Hz, CH<sub>2</sub>NHCO), 4,98 (1H, s, H-1), 7,19 (1H, dd, *J* 7,3 et 4,9 Hz, Ar-H), 7,34 (1H, d, *J* 7,8 Hz, Ar-H), 7,67 (1H, t, *J* 7,6 Hz, Ar-H), 7,93 (1H, t, *J* 5,4 Hz, NHCO) et 8,48 (1H, d, *J* 4,9 Hz, CH=CHCHN).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 14,2 (CH<sub>3</sub>), 22,7 (CH<sub>2</sub>), 26,1 (CH<sub>2</sub>), 29,3–29,5 (3 CH<sub>2</sub>), 31,9 (CH<sub>2</sub>), 44,3 (CH<sub>2</sub>), 68,0 (CH<sub>2</sub>), 71,7 (C-3), 78,3 (C-4), 79,5 (C-5), 86,4 (C-2), 107,8 (C-1), 122,5 (CH), 122,7 (CH), 137,6 (CH), 148,8 (CH), 156,8 (Cq) et 172,3 (C=O).

❖ ***n*-octyl (β-D-galactofuranoside-*N*-[2-aminoéthyl])uronamide (3a)**



Solide incolore

Rendement : 77% (bain de huile, 20 h, 4 equiv. d'amine, 80 °C).

Point de Fusion : 89 °C.

Analyse élémentaire: C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>.3/2 H<sub>2</sub>O ; (%) Exp. : C 51,39 ; H 9,22 ; N 7,75.

(%) Th. : C 51,21 ; H 9,40 ; N 7,46.

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 349,2339 ; trouvée = 349,2339.

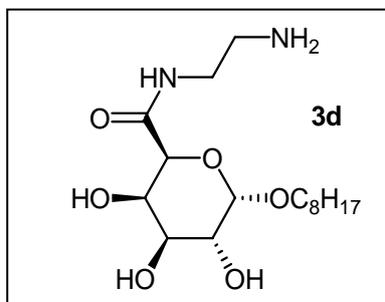
Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1655 (C=O) et 3416 (OH).

Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 89 (c = 0,83, MeOH).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 0,86 (3H, t, J 6,1 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,21–1,32 (10H, m, 5 CH<sub>2</sub>), 1,46–1,53 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2,74 (2H, ddd, J 8,7, 3,2 et 2,3 Hz, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,28–1,35 (3H, m, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH et CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,59 (1H, dt, J 9,5 et 6,3 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,91 (1H, dd, J 3,9 et 1,8 Hz, H-2), 4,04 (1H, dd, J 6,5 et 3,9 Hz, H-3), 4,13 (1H, d, J 2,2 Hz, H-5), 4,21 (1H, dd, J 6,5 et 2,2 Hz, H-4), 4,81 (1H, d, J 1,8 Hz, H-1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 14,4 (CH<sub>3</sub>), 23,7 (CH<sub>2</sub>), 27,2 (CH<sub>2</sub>), 30,4–30,7 (3 CH<sub>2</sub>), 33,0 (CH<sub>2</sub>), 41,8 (CH<sub>2</sub>), 42,1 (CH<sub>2</sub>), 69,0 (CH<sub>2</sub>), 72,0 (C-3), 78,2 (C-4), 83,0 (C-5), 85,1 (C-2), 109,4 (C-1) et 175,3 (C=O).

❖ **n-octyl (α-D-galactopyranoside-N-[2-aminoéthyl])uronamide (3d)**



Solide incolore

Rendement : 83% (bain d'huile, 20 h, 80 °C).

Point de Fusion : 115 °C. (Recristallisation dans l'acétonitrile)

Analyse élémentaire: C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>.1/2 H<sub>2</sub>O.1/2 CH<sub>3</sub>CN;

(%) Exp. : C 54,09 ; H 9,08 ; N 9,04.

(%) Th. : C 54,02 ; H 9,20 ; N 9,26.

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 349,2339; trouvée = 349,2332.

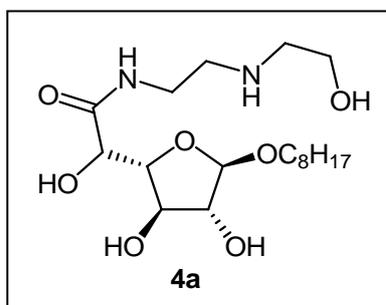
Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1655 (C=O) et 3357 (OH),

Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 42 (c = 0,48, MeOH),

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 0,82 (3H, t, J 5,9 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,14–1,38 (10H, m, 5 CH<sub>2</sub>), 1,53–1,57 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2,71 (2H, dt, J 13,2 et 5,8 Hz, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,12 (1H, dt, J 13,4 et 5,8 Hz, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,38–3,47 (2H, m, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH et CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,62 (1H, dt, J 6,9 et 2,7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,73 (2H, s, H-2 et H-3), 4,13 (1H, s, H-4), 4,16 (1H, s, H-5), 4,87 (1H, s, H-1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 14,4 (CH<sub>3</sub>), 23,7 (CH<sub>2</sub>), 27,2 (CH<sub>2</sub>), 30,4–30,6 (3 CH<sub>2</sub>), 33,0 (CH<sub>2</sub>), 41,8 (CH<sub>2</sub>), 42,2 (CH<sub>2</sub>), 69,6 (C-3), 69,9 (CH<sub>2</sub>), 71,0 (C-2), 71,5 (C-4), 72,9 (C-5), 100,7 (C-1) et 172,1 (C=O).

❖ **n-octyl (β-D-galactofuranoside éthylamino-[N-hydroxyéthyl])uronamide (4a)**



Huile incolore

Rendement : 88% (bain d'huile, 20 h, 4 équiv. d'amine 80 °C) et 49% (micro-ondes, 10 min, 2 équiv. d'amine, 180 °C)

Analyse élémentaire: C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.3/2 H<sub>2</sub>O ; (%) Exp. : C 51,57 ; H 9,49 ; N 6,94.

(%) Th. : C 51,53 ; H 9,37 ; N 6,67.

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 393,2601; trouvée = 393,2606.

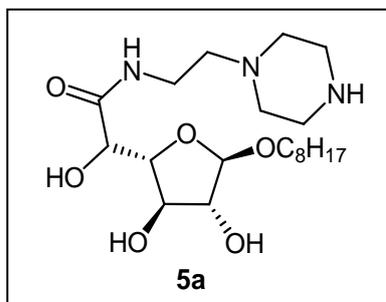
Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1654 (C=O) et 3381 (OH).

Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 81 (c = 1,06, MeOH).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 0,86 (3H, t, *J* 6,3 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,22–1,35 (10H, m, 5 CH<sub>2</sub>), 1,40–1,48 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2,70–2,78 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3,25–3,40 (3H, m, CH<sub>2</sub>NHC(O) et CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,56–3,64 (3H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O et NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3,90 (1H, dd, *J* 4,0 Hz et 1,8, H–2), 4,03 (1H, dd, *J* 6,5 et 4,0 Hz, H–3), 4,11 (1H, d, *J* 2,3 Hz, H–5), 4,19 (1H, dd, *J* 6,5 et 2,3 Hz, H–4), 4,80 (1H, d, *J* 1,8 Hz, H–1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 14,4 (CH<sub>3</sub>), 23,7 (CH<sub>2</sub>), 27,2 (CH<sub>2</sub>), 30,4–30,7 (3 CH<sub>2</sub>), 33,0 (CH<sub>2</sub>), 39,4 (CH<sub>2</sub>), 49,3 (CH<sub>2</sub>), 51,9 (CH<sub>2</sub>), 61,5 (CH<sub>2</sub>), 69,0 (CH<sub>2</sub>), 72,1 (C-5), 78,3 (C-3), 83,0 (C-2), 85,0 (C-4), 109,3 (C-1) et 174,9 (C=O).

❖ ***n*-octyl (β-D-galactofuranoside éthyl-[2-pipérazin-1-yl])uronamide (5a)**



Solide jaune

Rendement : 89% (bain d'huile, 20h, 80 °C), 70% (micro-ondes, 10 min, 180 °C).

Point de Fusion : 44 °C.

Analyse élémentaire: C<sub>20</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>.7/2 H<sub>2</sub>O ; (%) Exp. : C 50,09 ; H 9,45 ; N 8,81.

(%) Th. : C 49,98 ; H 9,64 ; N 8,74.

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 418,2917 ; trouvée = 418,2916.

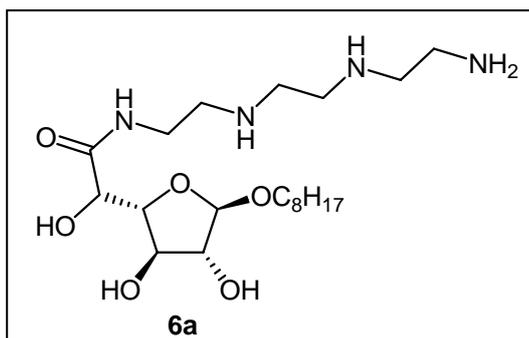
Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1655 (C=O) et 3415 (OH).

Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 72 (c = 0,76, MeOH).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 0,87 (3H, t, *J* 6,1 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,21–1,33 (10H, m, 5 CH<sub>2</sub>), 1,50–1,54 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2,46–2,50 (6H, m, CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,31–3,38 (3H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO) et CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,59 (1H, dt, *J* 9,7 et 6,5 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,91 (1H, dd, *J* 4,2 et 1,9 Hz, H–2), 4,02 (1H, dd, *J* 6,6 et 4,2 Hz, H–3), 4,08 (1H, d, *J* 2,4 Hz, H–5), 4,18 (1H, dd, *J* 6,6 et 2,4 Hz, H–4), 4,79 (1H, d, *J* 1,9 Hz, H–1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 14,5 (CH<sub>3</sub>), 23,7 (CH<sub>2</sub>), 27,3 (CH<sub>2</sub>), 30,4–30,7 (3 CH<sub>2</sub>), 33,0 (CH<sub>2</sub>), 36,9 (CH<sub>2</sub>), 46,1 (CH<sub>2</sub>), 54,5 (CH<sub>2</sub>), 58,5 (CH<sub>2</sub>), 69,0 (CH<sub>2</sub>), 72,0 (2 CH<sub>2</sub>), 78,3 (C-3), 79,5 (C-4), 83,1 (C-5), 84,8 (C-2), 109,4 (C-1) et 174,7 (C=O).

❖ ***n*-octyl (β-D-galactofuranoside N-[2-(2-(2-aminoéthylamino)éthylamino)éthyl])uronamide (6a)**



Huile jaune

Rendement : 57% (bain d'huile, 20h, 80 °C).

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>20</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 435,3183 ; trouvée = 435,3189.

Pouvoir rotatoire : [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 47 (c = 0,61, MeOH).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 0,86 (3H, t, J 6,1 Hz, CH<sub>3</sub>), 1,22–1,33 (10H, m, 5 CH<sub>2</sub>), 1,48–1,52 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2,70–2,82 (10H, m, (O)CNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3,36–3,39 (3H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO et CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,58 (1H, dt, J 9,3 et 4,7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3,92 (1H, d, J 2,6 Hz, H-2), 4,02 (1H, dd, J 6,3 et 2,6 Hz, H-3), 4,11 (1H, d, J 3,4 Hz, H-5), 4,18 (1H, dd, J 6,3 et 3,4 Hz, H-4), 4,79 (1H, s, H-1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 14,5 (CH<sub>3</sub>), 23,6 (CH<sub>2</sub>), 27,1 (CH<sub>2</sub>), 30,3–30,6 (3 CH<sub>2</sub>), 32,9 (CH<sub>2</sub>), 38,9 (CH<sub>2</sub>), 46,4 (2 CH<sub>2</sub>), 52,8 (2 CH<sub>2</sub>), 66,3 (CH<sub>2</sub>), 68,9 (CH<sub>2</sub>), 77,3 (C-3), 77,9 (C-4), 82,9 (C-5), 84,6 (C-2), 109,1 (C-1) et 175,1 (C=O).



3<sup>ème</sup> Chapitre : Etude de complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications

*ÉTUDE DE COMPLEXATION DES LIGANDS URONAMIDES  
AVEC LES IONS CU (II), SYNTHÈSE DES COMPLEXES  
CUIVRIQUES À L'ÉTAT SOLIDE ET APPLICATIONS*



### **III Etude de la complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications**

#### **III-1) Complexes métalliques avec des ligands à base sucre**

Les sucres et les dérivés de sucre représentent la classe la plus abondante des biomolécules présentes dans la nature, la diversité de leurs fonctions chimiques leur confèrent de nombreuses propriétés mises à profit dans différents processus biologiques.

Un des rôles les plus importants des oligo- ou polysaccharide concerne le transport des ions métalliques à travers les cellules membranaires. A titre d'exemple, on cite la Concavalin A produite par le haricot sabre qui est une protéine fortement glycosylée et contenant des ions Mn (II), et Ca (II). Cette protéine est capable de fixer spécifiquement des motifs glucidiques tels que le mannose et le glucose.<sup>171</sup>

Un autre processus impliquant un métal et des entités glucidiques concerne certaines métalloenzymes liées au métabolisme des glucides.<sup>172</sup> Dans ce cas, la coordination de l'ion métallique est directement liée à la fonction de l'enzyme, ou à l'orientation appropriée du motif glucidique. L'étude de la structure tridimensionnelle de la  $\beta$ -galactosidase,<sup>173</sup> permet de mieux comprendre le rôle des ions Mg (II) dans les propriétés catalytiques de cette enzyme.<sup>174</sup>

La D-xylose isomérase est une enzyme qui contient un centre actif constitué de deux sites métalliques distincts notés A et B, avec des ions Mn (II) dans le site A, et des ions Co (II), Cd (II) ou Pb (II) dans le site B. L'étude RPE des interactions entre les substrats, les inhibiteurs et le centre actif dinucléaire montre une coordination directe du xylitol avec les ions Mn (II).<sup>175</sup>

L'influence des ions Zn (II) sur le processus d'isomérisation des sucres, et des phosphates de sucre, est une preuve directe de l'existence de complexes de type sucre-métal.<sup>176</sup> En outre, différentes réactions enzymatiques catalysent le clivage des fonctions esters ou phospho-ester des sucres<sup>177</sup> par voie hydrolytique en utilisant les propriétés de coordination des cations métalliques avec les groupements hydroxyles, ce qui les rend plus nucléophiles pour l'attaque

<sup>171</sup> (a) Sanders, J. N.; Chenoweth, S. A.; Schwarz, F. P. *J. Inorg. Biochem.* **1988**, *70*, 71. (b) Bouckaert, J.; Poortmans, F.; Wyns, L.; Loris, R. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 16144.

<sup>172</sup> Sinnott, M. L. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171.

<sup>173</sup> Jacobson, R. H.; Zhang, X.-J.; DuBose, R. F.; Matthews, B. W. *Nature*, **1994**, *369*, 761.

<sup>174</sup> (a) Richard, J. P.; Westerfeld, J. G.; Lin, S. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 11703. (b) Richard, J. P.; Westerfeld, J. G.; Lin, S.; Beard, J. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 11713. (c) Richard, J. P.; Huber, R. E.; Lin, S.; Heo, C.; Amyes, T. L. *Biochemistry*, **1996**, *34*, 12377.

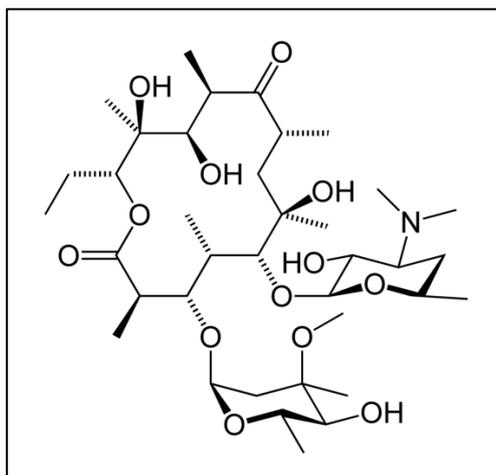
<sup>175</sup> Bogumil, R.; Kappl, R.; Hüttermann, J.; Witzel, H. *Biochemistry*, **1997**, *36*, 2345.

<sup>176</sup> Richard, J. P.; Crugeiras, J.; Nagorski, R. W. *J. Phys. Org. Chem.* **1998**, *11*, 512.

<sup>177</sup> (a) Rammo, J.; Schneider, H.-J. *Liebigs Ann.* **1996**, 1757. (b) Kajimura, A.; Sumaoka, J.; Komiyama, M. *Carbohydr. Res.* **1998**, *309*, 345.

des fonctions carbonylées et phosphorylées. À titre d'exemple, on peut citer la ribonuclease P qui utilise des ions Mg (II) coordonnés par les fonctions hydroxyles du motif glucidique et les phosphatases utilisant les ions Zn (II).<sup>178</sup>

Les complexes de type saccharide – Zn (II) sont utilisés lors de certains processus enzymatiques tels que l'acide  $\delta$ -aminolévulinique déshydrogénase. Ils ont été testés aussi comme suppléments, ou agents préventifs contre les principales intoxications chez les souris.<sup>179</sup> La structure cristalline du complexe de Zn (II) de l'érythromycine A, un antibiotique utilisé comme principal traitement de l'acnée, montre une complexation directe du métal avec la partie glucidique du ligand.<sup>180</sup>



*Figure III-1 : Erythromycine A*

Un autre rôle important imputable au motif glucidique est l'augmentation de la solubilité des ions métalliques toxiques lorsqu'ils sont complexés. Une des plus importantes utilisations cliniques des chélateurs concerne le traitement de la surcharge<sup>181</sup> ou le manque en fer. Les ions Fer (III) sont connus pour leur grande capacité à former des complexes stables avec les ligands oxygénés comme les glucides fortement hydrosolubles et faiblement immunogènes. Parmi les complexes connus de Fer (III) on cite : Fer (III)-D-sorbitol-GlcA<sup>182</sup> et Fer (III)-acide

<sup>178</sup> Chen, Y.; Li, X.; Gegenheimer, P. *Biochemistry* **1997**, *36*, 2425.

<sup>179</sup> Bandwar, R. P.; Flora, S. J. S.; Rao, C. P. *Biometals* **1997**, *10*, 337.

<sup>180</sup> Oliver, J. D.; Strickland, L. C. *Acta Crystallogr.* **1986**, *C42*, 952.

<sup>181</sup> (a) Huebers, H. *Blut* **1983**, *47*, 61. (b) Schneider, W.; Ermi, I.; Hegetschweiler, K. *European Patent* 190676 B1, **1988**.

<sup>182</sup> (a) Bresford, C. H.; Palmer, J.; Kenny, M. W. *Scan. J. Haematol., Suppl.* **1977**, *32*, 175. (b) Lindwall, S.; Domeij, K.; Gagner-Milchert, I.; Hellstrom, V. *Scan. J. Haematol.* **1977**, *32*, 150. (c) Oluboyede, O. A.; Ajayi, O. A. *Curr. Ther. Res.* **1980**, *27*, 81.

### 3<sup>ème</sup> Chapitre : Etude de complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications

lactobionique-acétate-cyclodextrine.<sup>183</sup> Un autre complexe fer-polysaccharide nommé « Nifrex » obtenu à partir de chlorure de fer (III) et du glucose est utilisé également pour le traitement de la carence en fer.<sup>184</sup>

Des études récentes, dont certaines sont encore en cours de développement, concernent la synthèse de nouveaux ligands dérivés de sucre pour la chélation des cations métalliques tels que l'acide L-idopyranosiduronique contenant des oligosaccharides,<sup>185</sup> ou des inositols modifiés.<sup>186</sup> Avec cette famille de molécules, un complexe à base de zinc (II) a été breveté, puis utilisé comme médicament pour le traitement de l'ulcère crural (ulcère affectant le bas de la jambe), le décubitus, ainsi que certaines blessures non-guérisantes.<sup>187</sup> Il a été également montré, qu'il est possible de synthétiser des chélateurs à base sucre de certains métaux toxiques tels que le nickel (II), le cuivre (II) et le plomb (II), qui pourraient avoir des applications dans les processus de détoxification, facilitant ainsi leur élimination par l'urine à travers les reins. Cela concerne l'élimination des ions Pb (II) qui forment des complexes stables avec les oligomères de type GalpA,<sup>188</sup> et des ions Co (II) en utilisant des ligands dithiocarbamates d'un octose.<sup>189</sup>

Certains polysaccharides solubles dans l'eau ont été testés comme agents de contraste paramagnétique pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM), et plus particulièrement des complexes à base de Mn (II) et de Gd (II) qui ont des temps de relaxation de protons plus faibles que d'autres agents de contraste couramment utilisés en IRM tels que le complexe de gadolinium du diéthylènetriamine penta acide acétique (Gd-DTPA).<sup>190</sup>

Dans ce registre, on peut également citer les complexes glucidiques de type organo-étain (IV) qui ont d'importantes applications dans le domaine médical et agricole, en partie grâce à leurs propriétés fongicides.<sup>191</sup> Un autre aspect de la potentialité des ligands dérivés de glucides est lié à la présence de différents centres chiraux sur la partie glucidique. Ainsi,

<sup>183</sup> Burger, K.; Zay, I.; Takacs-Nagy, G. *Inorg. Chim. Acta.* **1983**, *80*, 231.

<sup>184</sup> (a) Sanders, J. F. *Mich. Med.* **1968**, *7*, 726. (b) Berg, K. A.; Bowen, L. H.; Hedges, S. W.; Bereman, R. D.; Vance, C. T. *J. Inorg. Biochem.* **1984**, *22*, 125.

<sup>185</sup> Whitfield, D. M.; Stojkovski, S.; Sarkar, B. *Coord. Chem. Rev.* **1993**, *122*, 171.

<sup>186</sup> (a) Hegetschweiler, K.; Erni, I.; Schneider, W.; Schmalle, H. *Helv. Chim. Acta.* **1990**, *73*, 97. (b) Schmitt, L.; Schlewer, G.; Spiess, B. *J. Inorg. Biochem.* **1992**, *45*, 13. (c) Mernissi-Arifi, K.; Wherer, C.; Schlewer, G.; Spiess, B. *J. Inorg. Biochem.* **1994**, *55*, 263.

<sup>187</sup> Burger, K.; Takacs-Nagy, G.; Réthey, I.; Illés, J.; Stefko, B. *European Patent No. 413 016 B1* Bull. 93/51 Gedeon Richter A. G. 22.12. **1993**.

<sup>188</sup> Kohn, R. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1982**, *47*, 3424.

<sup>189</sup> Singh, P. R.; Jones, S. G.; Gale, G. R.; Jones, M. M.; Smith, A. B.; Atkins, L. M. *Chem. Biol. Interact.* **1990**, *74*, 79.

<sup>190</sup> Gibby, W. A.; Bogdan, A.; Ovitt, W. *Invest. Radiol.* **1989**, *24*, 302.

<sup>191</sup> Kashige, N.; Kojima, M.; Nakashima, Y.; Watanabe, K.; Tachifuji, A. *Agric. Biol. Chem.* **1990**, *54*, 677.

différentes équipes se sont intéressées à la synthèse de ligands fonctionnels en greffant une fonction complexante sur une base sucre (avec des atomes à caractère donneur d'électrons) pour former des complexes métalliques chiraux capables d'induire de l'énantiosélectivité dans des réactions asymétriques.<sup>192</sup>

L'étude de la complexation des glucides avec les ions cuivre (II) a fait l'objet de nombreuses publications dans le domaine de la chimie de coordination. Cependant, les glucides qui ne comportent pas d'atomes donneurs autres que l'oxygène forment des complexes peu stables avec les ions cuivre (II). Les études des systèmes cuivre / alditol montrent peu d'interactions entre les motifs glucidiques et les ions Cu (II) en solution, par contre l'interaction entre ces ligands et l'espèce hydrolysée du cuivre  $[Cu_2OH_2]^{2+}$  conduit à la formation en solution d'espèces dimères stables lorsque le pH est supérieur à 5,6.<sup>193</sup>

L'interaction des ions Cu (II) avec les acides uroniques tels que l'acide glucopyranosique ou galactopyranosique ont été étudiées par différentes techniques analytiques et spectroscopiques (potentiométrie,<sup>194</sup> spectrophotométrie UV-Visible,<sup>195</sup> calorimétrie,<sup>196</sup> polarographie,<sup>197</sup> ainsi que par des méthodes analytiques de type RMN,<sup>198</sup> et RPE<sup>194</sup>). Il est largement reconnu que les acides uroniques complexent faiblement les ions Cu (II). La réaction de complexation est fortement dépendante du pH, la complexation est observée en milieu acide (pH < 6), et en milieu alcalin. À pH neutre, on observe une compétition entre la formation de complexes et la précipitation de l'hydroxyle métallique ce qui se traduit généralement par la formation d'un précipité qui se redissout en milieu plus alcalin. Il est maintenant bien établi que ce sont principalement les fonctions carboxylates qui jouent un rôle dans la complexation des ions Cu (II).

### **III-2) Propriétés complexantes des ligands dérivés de l'acide D-galacturonique**

Par manque de temps, tous les ligands synthétisés dans la partie 2 n'ont pas pu être étudié, nous avons choisit trois ligands représentatifs : *n*-octyl ( $\beta$ -D-galactofuranoside méthyl [1-

<sup>192</sup> (a) Stolmar, M.; Floriani, C.; Gervasio, G.; Viterbo, D. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1997**, 1119. (b) Riediker, M.; Hafner, A.; Piantini, U.; Rihs, G.; Togni, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 499.

<sup>193</sup> Angyal, S. J. *Carbohydr. Res.* **1990**, 200, 181.

<sup>194</sup> (a) Makridou, C.; Morin, M.; Scharff, J.-P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1977**, 59. (b) Dubois, B.; Vandorpe, B.; Olivier, I. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1991**, 128, 181.

<sup>195</sup> Figueroa, N.; Chakrabarti, B.; *Biopolymers* **1978**, 17, 2415.

<sup>196</sup> Aruga, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, 54, 1233.

<sup>197</sup> (a) Payne, P.; Magee, R. J. *Proc. Indian Acad. Sci.* **1982**, 91, 31. (b) Stojkovski, S.; James, B. D.; Payne, R.; Magee, R. J. *J. Inorg. Biochem.* **1994**, 54, 33.

<sup>198</sup> Cook, I. B.; Magee, R. J.; Payne, R.; Ternai, B. *Aust. J. Chem.* **1986**, 39, 1307.

pyridinyl]uronamide (*OGMPU*), *n*-octyl (β-D-galactofuranoside éthylamino-[*N*-hydroxyéthyl])uronamide (*OGEHU*) et *n*-octyl (β-D-galactofuranoside éthyl-[2-pipérazin-1-yl])uronamide (*OGEPU*).

### III-2-1) Etude protométrique et constantes d'acidité des ligands

Des solutions des ligands *OGMPU* (**2a**), *OGEHU* (**4a**) et *OGEPU* (**5a**) (Schéma III-1) de concentrations comprises entre 1,2 et 5.10<sup>-3</sup> M, en présence d'acide chlorhydrique 4.10<sup>-3</sup> M, sont titrées par l'hydroxyde de sodium NaOH 0,1 M jusqu'à pH 11. Un exemple de courbes de neutralisation est reporté pour les trois ligands (Figure III-2).

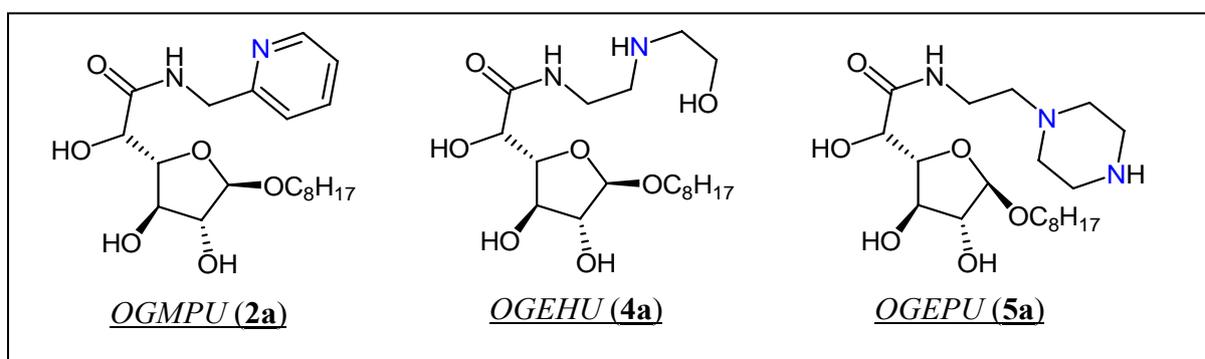


Schéma III-1 : Structure des ligands étudiés

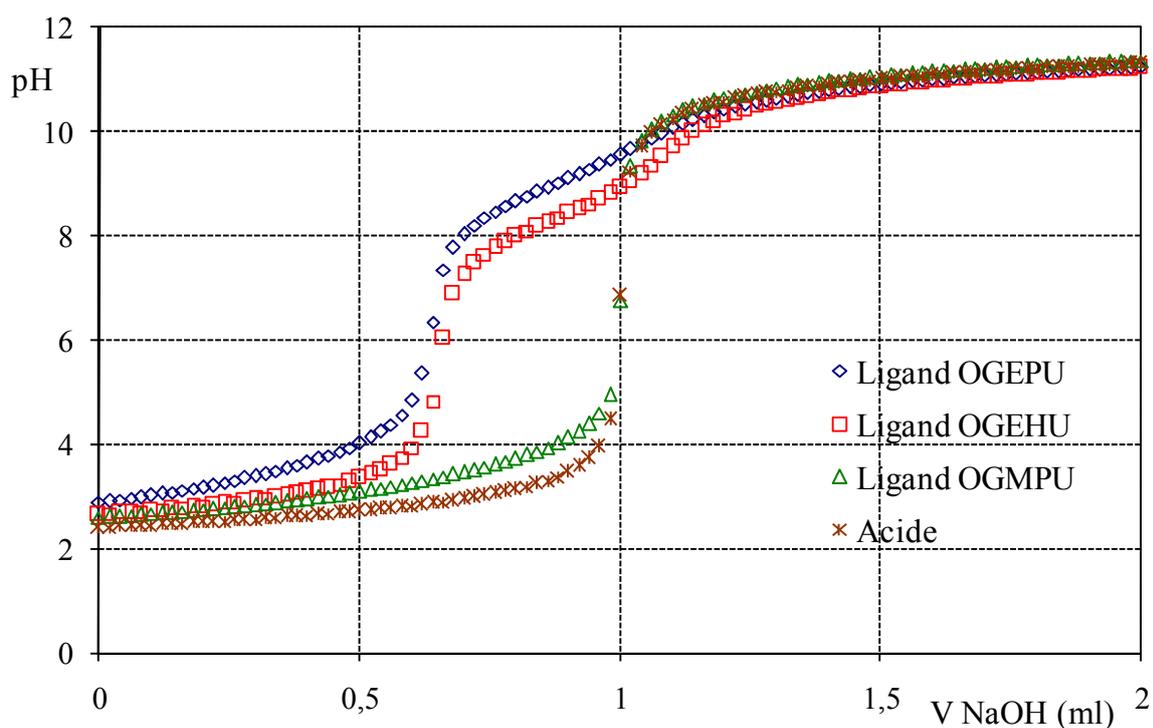


Figure III-2 : Courbes de neutralisation des ligands galacturonamides (milieu NaCl 0,1 M,  $[HCl] = 4.10^{-3}M$ ,  $[L] = 1,6.10^{-3}M$ )

Le ligand *OGMPU* est soluble dans l'eau uniquement sous sa forme protonée, et précipite à  $pH > 7$ . Avec ce ligand, les courbes de neutralisation ont été effectuées en milieu aqueux pour des concentrations inférieures à  $5.10^{-4} M$ , et en milieu hydroalcoolique, milieu dans lequel le ligand est entièrement soluble, pour des concentrations comprises entre 1,2 et  $5.10^{-3} M$ .

Les ligands *OGEHU* et *OGEPU* sont complètement solubles dans l'eau quelque soit le pH, ils ont été étudiés uniquement en milieu aqueux.

L'acidité des ligands uronamides provient de la protonation de l'atome d'azote pyridinique dans le cas du ligand *OGMPU*, et celle des atomes d'azotes des fonctions amines secondaires des ligands *OGEHU* et *OGEPU*, et tertiaire dans le cas du ligand *OGEPU*.

Dans le cas du ligand *OGMPU*, la courbe de neutralisation présente une inflexion peu marquée vers pH 3,5 correspondant à la neutralisation de l'acide en excès et une seconde inflexion à pH 8 correspondant à la neutralisation du groupement pyridinium.

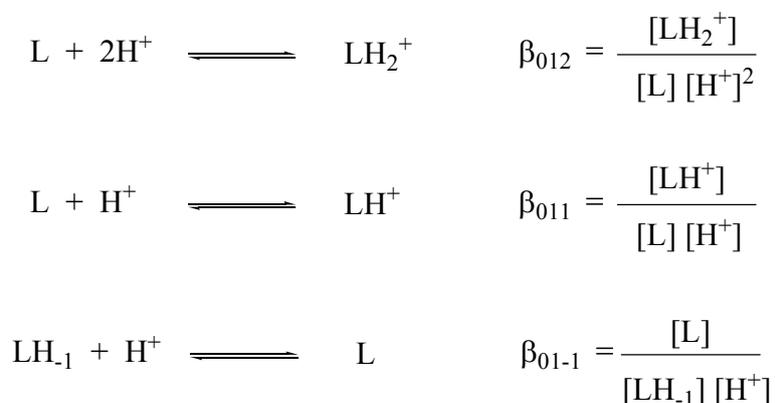
Le ligand *OGEHU*, en présence d'un excès d'acide chlorhydrique, est présent sous forme  $LH^+$ , l'atome d'azote de la fonction amine étant alors totalement protoné. La courbe de neutralisation présente deux inflexions à pH 6 et 9 correspondant respectivement à la neutralisation de l'acide en excès et à la déprotonation de l'atome d'azote de la fonction amine selon la réaction :  $LH^+ + OH^- \rightarrow L + H_2O$ .

Dans le cas du ligand *OGEPU*, la protonation de l'amine tertiaire étant peu marquée à  $pH > 4$ , on observe une courbe de neutralisation similaire à celle du ligand *OGEHU*. L'inflexion observée vers pH 6 est attribuée pour partie à la neutralisation de l'acide en excès, mais également à celle du groupement ammonium de l'amine tertiaire.

Pour les ligands *OGEHU* et *OGEPU* les courbes de neutralisation ont mis en évidence une seconde déprotonation au-delà de pH 10 qui se traduit par un abaissement du pH en milieu alcalin des courbes de neutralisation en présence de ligands, comparées à celle de neutralisation de l'acide seul. Cet abaissement de pH a été attribué à la déprotonation d'une fonction hydroxyle présente sur le squelette sucre. Une simulation réalisée avec le logiciel Marvin (Marvin Sketch) montre que la fonction hydroxyle la plus susceptible de perdre un proton est celle qui se trouve sur la position 5 du sucre ( $pK_a = 12,23$ ).

3<sup>ème</sup> Chapitre : Etude de complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications

L'affinement des courbes de neutralisation par le programme HYPERQUAD permet de déterminer pour les trois ligands les constantes globales de protonation  $\beta_{0lh}$  correspondant aux équilibres :



Pour les ligands *OGMPU* et *OGEHU*,  $\beta_{011}$  est reliée à la constante d'acidité du ligand par la relation :  $\beta_{011} = 1/Ka_1$  soit  $pKa_1 = \log \beta_{011}$  et  $pKa_2 = -\log \beta_{01-1}$

Pour le ligand *OGEPU* :  $pKa_1 = \log \beta_{012} - \log \beta_{011}$  ,  $pKa_2 = \log \beta_{011}$  et  $pKa_3 = \log \beta_{01-1}$

Le tableau ci-dessous illustre les valeurs des constantes d'acidité mesurées pour ces trois ligands :

Tableau III-1 : Constantes d'acidité mesurées pour les ligands galacturonamides à 25 °C et à force ionique 0,1

Ligand	Espèces	mlh	$\log \beta_{mlh}$ (*)	pKa
<i>OGMPU</i>	$(OGMPU)H^+$	011	3,51 (3) (Méthanol/eau 1 : 1) 4,14 (3) (eau)	3,51
	$(OGEHU)H^+$	011	8,23 (5)	8,23
<i>OGEHU</i>	$(OGEHU)H_{-1}$	01-1	-11,48 (7)	11,48
	$(OGEPU)(H^+)_2$	012	12,39 (1)	3,63

OGEPU	(OGEPU)H <sup>+</sup>	011	8,76 (1)	8,76
	(OGEPU)H <sub>1</sub>	01-1	-11,38 (1)	11,38

\*Le chiffre entre parenthèse correspond à l'incertitude sur le dernier chiffre significatif.

Pour le ligand OGMPU, la différence de la constante d'acidité entre celle obtenue en milieu aqueux et en milieu hydroalcoolique, s'explique par une moindre stabilité de la forme protonée en milieu hydroalcoolique.

### **III-2-2) Etude de la complexation en solution des ligands D-galacturonamides avec les ions de Cuivre (II)**

#### **III-2-2-1) Etude du système Cu (II) / n-octyl (β-D-galactofuranoside methyl [1-pyridinyl]) uronamide (OGMPU)**

Nous décrirons les résultats de l'étude réalisée en milieu hydroalcoolique : méthanol / eau (1 : 1).

##### **III-2-2-1-a) Etude protométrique du système Cu / OGMPU**

D'une manière générale, l'exploitation qualitative des courbes de titrage potentiométrique est facilitée en utilisant la méthode de représentation de Bjerrum qui consiste à déterminer pour chaque couple (volume, pH) la valeur de  $\bar{n}$  correspondante, et à établir la représentation  $\bar{n}$  en fonction du pH. Le paramètre  $\bar{n}$  correspond au nombre moyen de protons fixés par mole de ligand et est défini par :

$$\bar{n} = \frac{1}{[L]} (n[L] - [H^+] + [OH^-] - [NaOH] + [HCl])$$

$n$  : nombre de protons de la forme neutre du ligand ;

[L] : concentration totale du ligand

[NaOH] : concentration de la base ajoutée

[HCl] : concentration en acide chlorhydrique présent

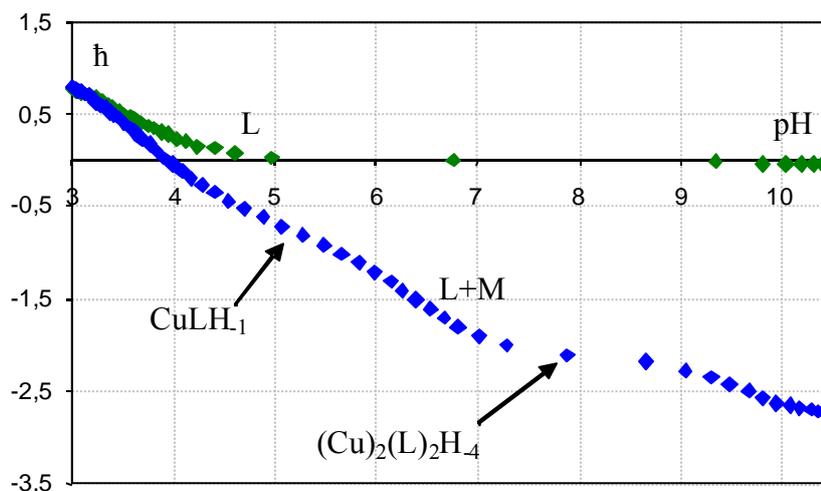
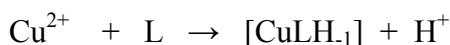


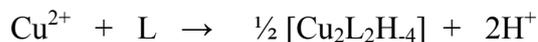
Figure III-3 : Courbes de  $h = f(pH)$  du ligand seul (courbe verte), et en présence des ions de Cu (II) (courbe bleue) ;  $[OGMPU] = [Cu(II)] = 2 \cdot 10^{-3} M$  ;  $R = [L] / [M] = 1$  ; (méthanol / eau 1 : 1)

La comparaison des courbes  $h = f(pH)$  en présence et en absence de Cu (II) montre que la complexation débute à partir de pH 3,5. En présence du métal, la courbe traduit l'apparition d'un pseudo plateau vers pH 5,5, puis un plateau à pH 8 pour des valeurs de  $h = -1$  et  $-2$  respectivement.

Le premier pseudo-plateau à  $h = -1$  correspond à la perte d'un proton par métal, en considérant la forme déprotonée L du ligand OGMPU, elle correspond à la formation d'un complexe de stœchiométrie  $CuLH_{1.1}$  selon le schéma réactionnel suivant:



Le deuxième plateau à  $h = -2$  correspond à la perte de deux protons par métal, et est attribuée à la formation d'une espèce dinucléaire de stœchiométrie  $(Cu)_2(L)_2H_4$  selon le schéma réactionnel suivant :



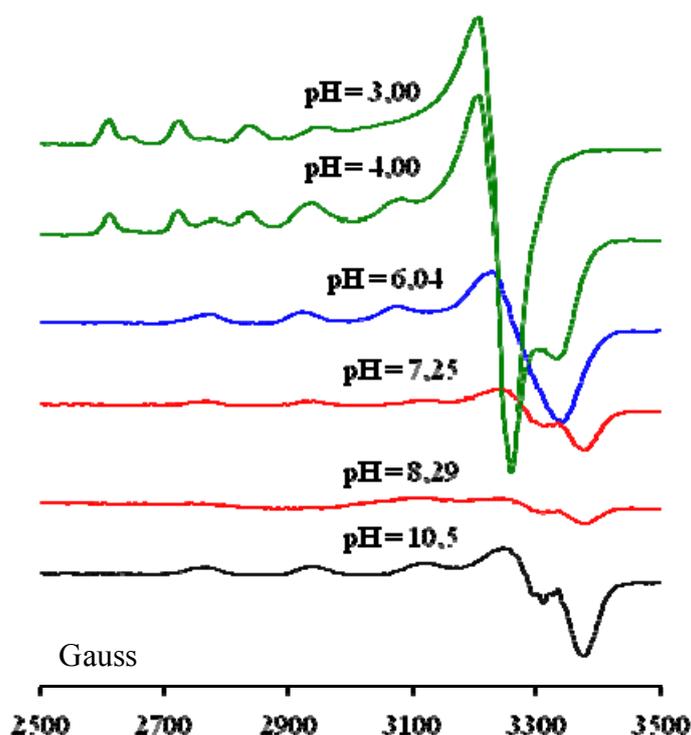
La formation d'espèces dinucléaires a été mise en évidence par les études de résonance paramagnétique nucléaire (RPE) présentées dans le paragraphe suivant (Figure III-4).

La diminution de la valeur de  $h$  à  $pH > 9$  met en évidence une déprotonation supplémentaire conduisant à la formation d'un complexe de stœchiométrie  $(Cu)_2(L)_2H_5$  en milieu alcalin.

#### III-2-2-1-b) Etude RPE du système Cu / OGMPU

Des spectres RPE ont été réalisés sur des solutions du ligand *OGMPU* en présence de métal à différents pH, quelques gouttes de glycérol sont ajoutées dans chaque échantillon avant chaque mesure. Les spectres ont été enregistrés à une température de 150 °K.

Sur la figure suivante sont représentés les spectres RPE pour un rapport [L]/[M] égal à 1.



*Figure III-4 : Suivi par RPE de l'évolution de la complexation du ligand OGMPU avec les ions Cu (II) en fonction du pH, [OGMPU] = [Cu (II)] = 2.10<sup>-3</sup> M ; R = [L] / [M] = 1 ; (méthanol / eau 1 : 1)*

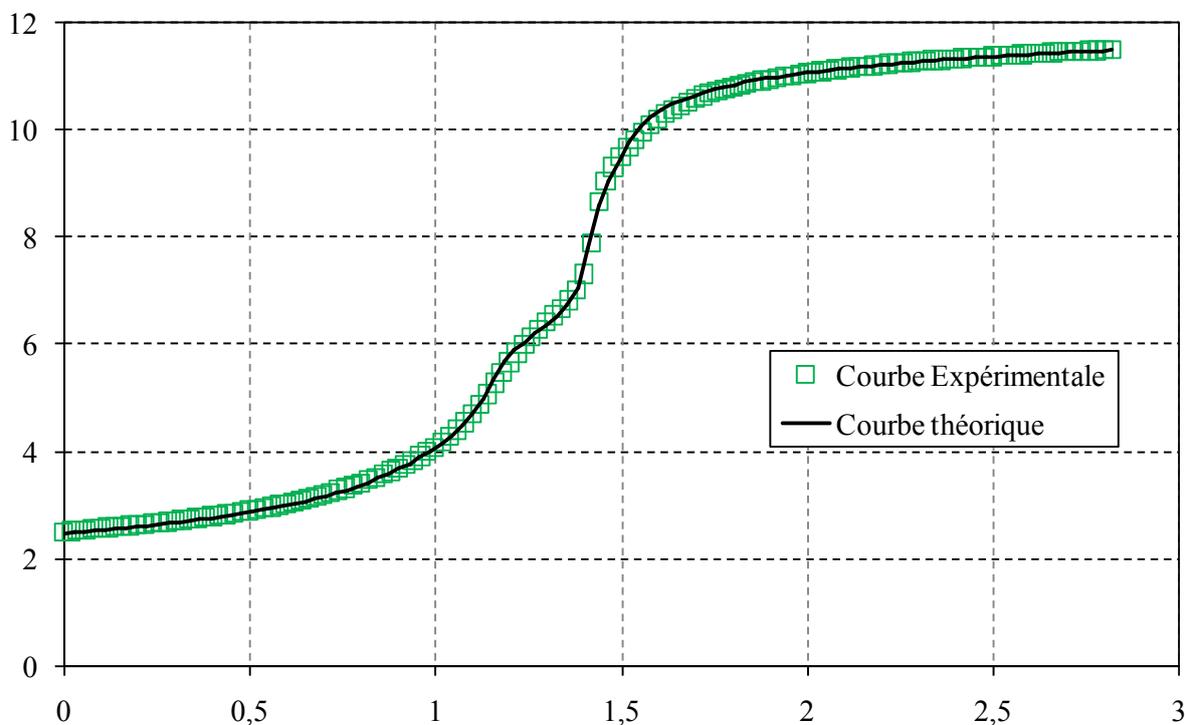
De pH 3 à pH 6, l'analyse de la région hyperfine des spectres montre l'existence de deux systèmes de quatre raies équidistantes centrés à 2800 et 3000 Gauss. Ils sont attribués respectivement aux ions Cu (II) libres et à l'espèce complexée CuLH<sub>1</sub>. À pH 6, seul le signal de l'espèce CuLH<sub>1</sub> est observable sur le spectre, ce qui indique que la concentration en cuivre (II) libre dans la solution est négligeable.

Entre pH 6 et 8,5, on observe une disparition progressive du signal RPE CuLH<sub>1</sub>, ceci est attribué à une augmentation de la concentration en solution d'espèces dimères silencieuses en RPE.

Au-delà de pH 10, on retrouve un signal RPE de 4 raies lié à la formation d'une espèce mononucléaire  $\text{CuLH}_3$  en équilibre avec une espèce dimère.

#### III-2-2-1-c) Modélisation thermodynamique du système OGMPU / Cu (II)

En considérant l'ensemble des résultats obtenus pour ce système *OGMPU* / Cu (II), on peut conclure que le meilleur modèle de complexation correspond à la formation successive des espèces  $\text{CuLH}_1$ ,  $(\text{Cu})_2(\text{L})_2\text{H}_4$ ,  $(\text{Cu})_2(\text{L})_2\text{H}_5$ ,  $\text{CuLH}_3$ . Les constantes de formations de ces complexes sont calculées par affinement des titrages protométriques et spectrophotométriques (Tableau III-2). Dans les calculs nous avons également inclus les constantes de formation des espèces hydroxylées du cuivre  $\text{Cu}(\text{OH})^+$  et  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ , égales à  $\log \beta_{10-1} = -7.68$  pour  $\text{Cu}(\text{OH})^+$  et  $\log \beta_{20-2} = -10.54$  pour  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$  ( $I = 0,1$  ;  $T = 25$  °C) d'après la compilation « Critical Stability Constants ». <sup>199</sup> L'affinement est réalisé simultanément sur un ensemble de sept titrages protométriques réalisés avec des rapports  $[\text{L}] / [\text{M}]$  variant de 1 à 4 afin d'obtenir des valeurs de constantes de formation homogènes (Tableau III-2). La figure suivante illustre la qualité de l'affinement représenté par la bonne superposition de la courbe calculée avec les points expérimentaux, pour un rapport  $[\text{L}] / [\text{M}]$  égal à 1 (Figure III-5).



<sup>199</sup> Database, NIST Standard Reference, *Critically Selected Stability Constants*. 1995, Webbook.nist.gov.

*Figure III-5 : Courbe de neutralisation affinée du système Cu (II)-OGMPU (milieu NaCl, 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, [OGMPU] = [Cu (II)] = 8.10<sup>-4</sup> M*

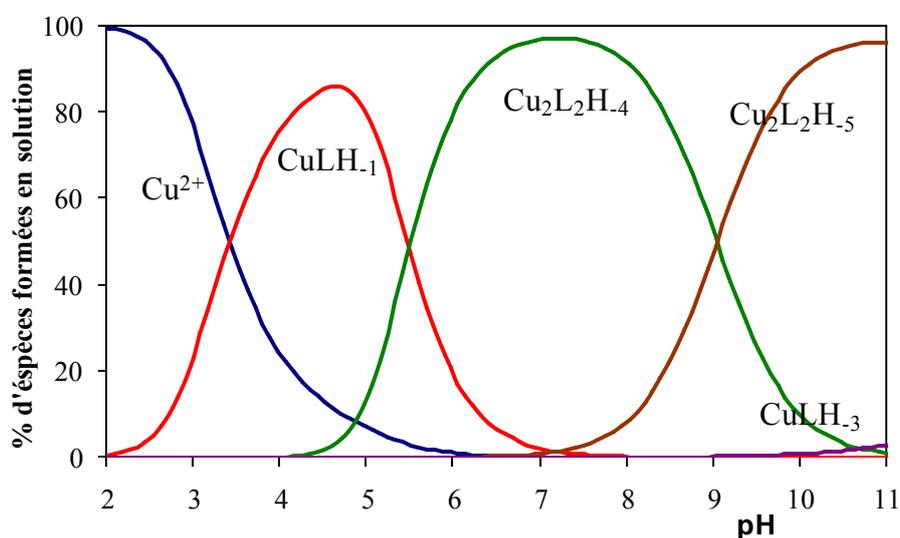
*Tableau III-2 : Constantes de formation des complexes à 25 °C et à force ionique 0,1*

Espèce en solution	mlh	log β <sub>mlh</sub> (*)
(CuLH <sub>1</sub> ) <sup>+</sup>	11-1	-1.25 (1)
((Cu) <sub>2</sub> (L) <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ) <sup>2-</sup>	22-4	-11.94 (3)
((Cu) <sub>2</sub> (L) <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sup>3-</sup>	22-5	-20.96 (7)
(CuLH <sub>3</sub> ) <sup>2-</sup>	11-3	-18.28 (6)

*\*Le chiffre entre parenthèses correspond à l'incertitude sur le dernier chiffre significatif.*

*III-2-2-1-d) Courbe de répartition des espèces pour le système Cu / OGMPU*

Le programme Hyss permet de tracer les courbes de répartition des espèces complexes à partir de leurs constantes de formation introduites dans le calcul, et ainsi, de visualiser les domaines de prédominance des différentes espèces en fonction du pH (Figure III-6).



*Figure III-6 : Courbes de répartition des espèces pour le système OGMPU / Cu (II) [OGMPU] = [Cu (II)] = 2.10<sup>-3</sup> M ; R = [L] / [M] = 1 ; (méthanol / eau 1 : 1)*

On observe sur la courbe de répartition que les espèces dimères (Cu)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, (Cu)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>H<sub>5</sub> sont majoritaires à pH > 6. L'espèce CuLH<sub>3</sub> se forme à hauteur de 5 % à pH 11.

**III-2-2-2) Etude des systèmes Cu (II) / n-octyl ( $\beta$ -D-galactofuranoside éthylamino-[N-hydroxyéthyl]) uronamide (OGEHU) et Cu (II) / n-octyl ( $\beta$ -D-galactofuranoside éthyl-[2-piperazin-1-yl]) uronamide (OGEPU)**

**III-2-2-2-a) Protocole expérimental**

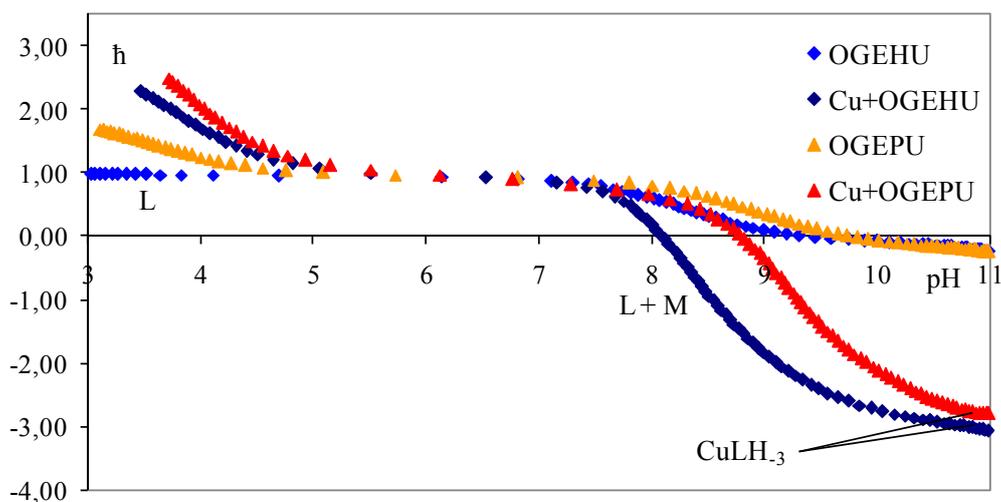
Des solutions de ligand OGEHU et OGEPU en présence de cuivre (II) ont été neutralisées par la soude jusqu'à pH 11,5 dans les mêmes conditions de concentration que celles utilisées pour l'étude du système  $\text{Cu}^{2+}$  / OGMPU. Dans les deux cas, nous avons observé l'apparition d'une phase précipitée lorsque le pH est supérieur à 5,5. Ce précipité se dissout ensuite progressivement lorsque le pH augmente et la solution redevient homogène au delà de pH 7. Nous avons isolé ce précipité et réalisé un spectre infrarouge : le spectre obtenu correspond majoritairement à l'hydroxyde de cuivre  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . La formation de ce précipité ne permet pas d'exploiter quantitativement les courbes de neutralisation obtenues. Ainsi, l'affinement des courbes de neutralisation s'avère délicat en raison de la formation de la phase précipitée et surtout de la difficulté à apprécier précisément le pH pour lequel le précipité est totalement dissout.

Pour y remédier, nous avons réalisé des titrages protométriques en présence d'oxalate de sodium  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ . La formation d'un complexe soluble  $\text{Cu}(\text{C}_2\text{O}_4)_2^{2-}$  empêche la formation d'hydroxyde de cuivre de pH 5 à 7 mais ne limite pas la formation des complexes des systèmes Cu(II) / OGEHU et Cu(II) / OGEPU plus stables que les complexes d'oxalates de cuivre. Dans ces conditions, il est possible d'exploiter quantitativement les courbes de neutralisation sur une gamme de pH entre 2,5 et 11,5.

Pour valider l'utilisation d'ions oxalates comme ligand compétiteur, nous avons effectué un dosage des ions oxalates à pH alcalin avec le chlorure de calcium. Ce titrage montre que les ions oxalates sont totalement déplacés par les ligands OGEHU et OGEPU, ceci exclut la formation de complexes mixtes.

**III-2-2-2-b) Etude protométrique des systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPU)**

Les représentations  $\bar{n}$  en fonction du pH pour les deux systèmes Cu (II) / OGEHU et Cu (II) / OGEPU sont représentées dans la figure suivante.



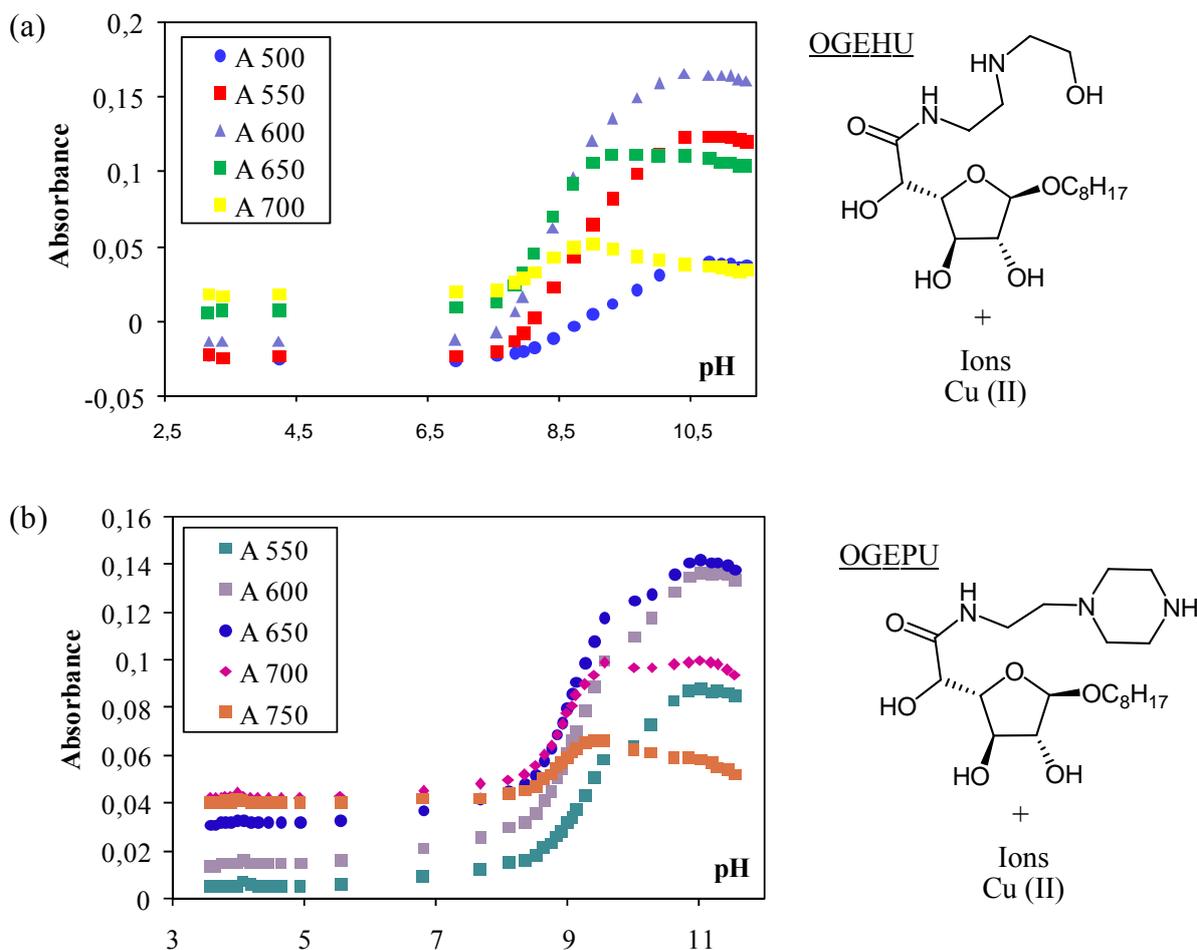
*Figure III-7 : Courbes de  $h = f(pH)$  pour les deux ligands OGEHU et OGEPU en présence et en absence des ions Cu (II) ;  $[L] = [Cu (II)] = 2.10^{-3} M$  ;  $[C_2O_4^{2-}] = 4.10^{-3} M$  ;  $R = [L] / [M] = 1$  ; à 25 °C et à force ionique 0,1*

On remarque d'après ces courbes de  $h = f(pH)$  que pour les deux systèmes Cu (II) / OGEHU et Cu (II) / OGEPU, la complexation est décelable pour des pH supérieurs respectivement à 7,5 et 8,5. À pH acide, les valeurs de  $h > 1$  observées en présence de métal sont attribuées à la protonation des ions oxalates.

Pour ces deux systèmes on dénote la présence d'un seul palier à  $h = -3$  qui correspond à la perte de 3 protons par ligand, et est attribué à la formation de l'espèce mononucléaire de cuivre : CuLH<sub>3</sub>. Cette interprétation a été confirmée par l'étude RPE décrite plus loin qui mettra en évidence uniquement des complexes mononucléaires de cuivre (II).

#### III-2-2-2-c) Etude spectrophotométrique UV-visible des systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPU)

Les suivis spectrophotométriques de la complexation des ligands OGEPU et OGEHU avec les ions Cu (II) en présence d'ions oxalates sont reportés sur la figure suivante qui représente l'absorbance des solutions cuivre (II) / ligands à différentes longueurs d'onde.



*Figure III-8 : Suivi de l'évolution de l'absorbance de longueurs d'ondes entre 500 et 750 nm en fonction du pH pour les deux systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPUs)*

Dans le cas du système (a) : Cu (II) / OGEHU, l'absorbance des solutions entre pH 3 et 8 est due à la présence majoritaire du complexe  $\text{Cu}(\text{C}_2\text{O}_4)_2^{2-}$ .

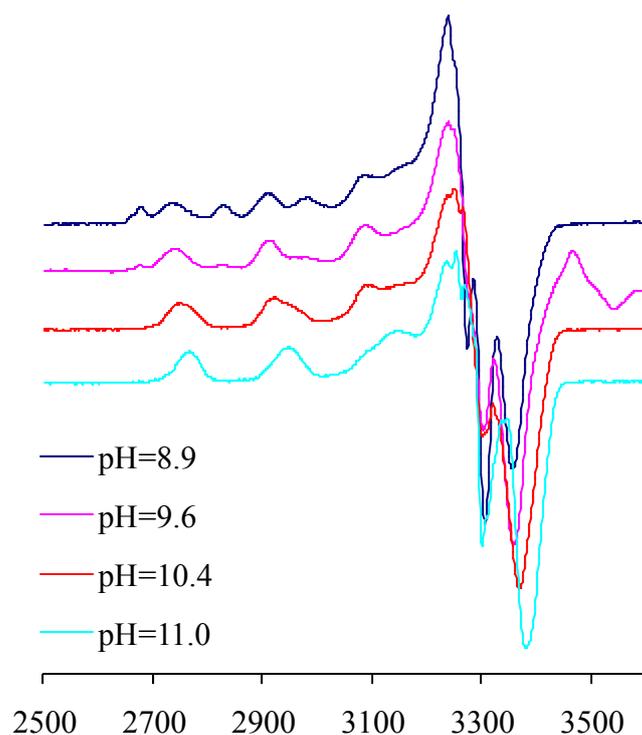
L'augmentation de l'absorbance au-delà de pH 7 est attribuée au déplacement des ions oxalates par le ligand OGEHU. Dans ce cas, un seul plateau est observé au delà de pH 9, il correspond à l'espèce  $\text{CuLH}_3$ .

Dans le cas du système (b) : Cu (II) / OGEPUs, nous observons, sur toutes les courbes, la présence de deux pseudo-plateaux à pH 9 et pH 11 qui traduisent la formation de deux espèces absorbantes. Par rapport aux études protométriques, on peut affirmer qu'il s'agit de complexes de stoechiométrie  $\text{CuLH}_2$  et  $\text{CuLH}_3$ .

III-2-2-2-d) Etude RPE des systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPUs)

Nous avons réalisé un suivi des spectres RPE pour la complexation du ligand *OGEHU* avec les ions Cu (II) dans l'eau en présence d'ions oxalates.

Les spectres enregistrés à 150 °K pour un rapport [L] / [M] égal à 1, sont représentés ci-dessous (Figure III-9).



*Figure III-9 : Spectres RPE des complexes  $Cu^{2+}$ -OGEHU en présence d'oxalates de sodium (milieu NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, [L]=2.10<sup>-3</sup> mol.L<sup>-1</sup>, [M<sup>2+</sup>]=2.10<sup>-3</sup> mol.L<sup>-1</sup>, [C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>]=4.10<sup>-3</sup> mol.L<sup>-1</sup>)*

À pH 9 on observe la coexistence de deux espèces de type  $CuLH_1$  et  $Cu(C_2O_4)_2$ . Le signal caractéristique de l'espèce  $Cu(C_2O_4)_2$  a totalement disparu à pH 10,4.

L'étude du système *OGEPU* / Cu (II), ne sera pas détaillée ici car les résultats sont similaires à ceux décrits pour le système *OGEHU* / Cu (II).

#### III-2-2-2-e) Modélisation thermodynamique des systèmes OGEHU et OGEPU / Cu (II)

Les valeurs des constantes globales de formation des différentes espèces complexées présentes en solution sont rassemblées dans le tableau (III-3). La bonne adéquation des valeurs obtenues par protométrie ainsi que par spectrophotométrie UV-visible confirme la validité du modèle chimique proposé.

3<sup>ème</sup> Chapitre : Etude de complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications

Les constantes d'acidité de l'ion oxalate  $\text{HC}_2\text{O}_4^-$  ainsi que les constantes de formation des complexes  $\text{CuC}_2\text{O}_4$  et  $\text{Cu}(\text{C}_2\text{O}_4)_2^{2-}$  incluses dans la modélisation ont été déterminées par N. Tounsi, au cours de ses travaux de thèse sur l'acide L-tartrique.<sup>200</sup> Ainsi, pour les deux systèmes *OGEHU* / Cu (II) et *OGEP*U / Cu (II), après l'affinement des courbes de titrages, le modèle chimique qui inclut la présence de cinq complexes métalliques :  $\text{CuC}_2\text{O}_4$ ,  $\text{Cu}(\text{C}_2\text{O}_4)_2^{2-}$ ,  $(\text{CuLH}_1)^+$ ,  $(\text{CuLH}_2)$ ,  $(\text{CuLH}_3)^-$  et de l'espèce  $\text{HC}_2\text{O}_4^-$  a été retenu. Par ailleurs, des essais d'affinement ont été réalisés en incluant comme hypothèse de travail, la formation de complexes mixtes de type Cu – L –  $\text{C}_2\text{O}_4$ , mais les affinements obtenus ne sont pas de meilleures qualités. En outre, nous avons montré auparavant que le ligand déplace totalement les ions oxalate de la sphère de coordination du cation métallique.

Les constantes de formation de chaque espèce sont reportées dans le tableau suivant :

*Tableau III-3 : Constantes de formation des complexes à 25 °C et à force ionique 0,1*

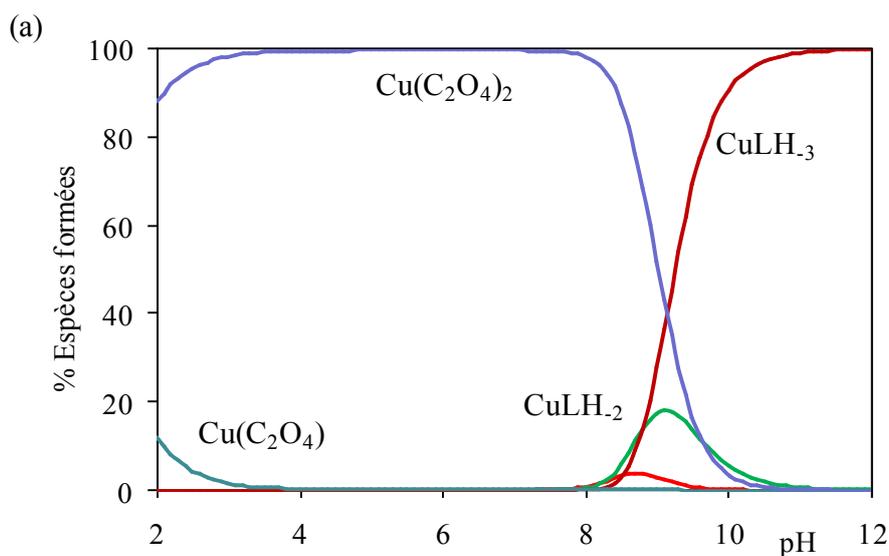
Ligand	Espèces	mlh	$\log \beta_{\text{mlh}}$
Oxalates	$\text{HC}_2\text{O}_4^-$	011	3,81 (2)
	$\text{CuC}_2\text{O}_4$	110	5,51 (2)
	$\text{Cu}(\text{C}_2\text{O}_4)_2^{2-}$	120	9,28 (2)
<i>OGEHU</i>	$\text{CuLH}_1^+$	11-1	-1,01
	$\text{CuLH}_2$	11-2	-9,24
	$\text{CuLH}_3^-$	11-3	-18,03
<i>OGEP</i> U	$\text{Cu}(\text{L}_3)$	110	7,03

<sup>200</sup> Tounsi, N. *Synthèse et étude des propriétés complexantes de ligands dérivés des acides lactique et tartrique. Application à la réaction d'oxydation du catéchol*, 2006, Thèse de doctorat de l'université de Reims Champagne-Ardenne.

	$\text{CuLH}_1^+$	11-1	-1,73
	$\text{CuLH}_2$	11-2	-10,80
	$\text{CuLH}_3^-$	11-3	-20,66

*III-2-2-2-f) Courbe de répartition des espèces*

Les deux courbes de répartition pour les systèmes *OGEHU* / Cu (II) et *OGEP*U / Cu (II) sont représentées ci-dessous. Dans les deux cas, on retient la formation majoritaire de l'espèce  $\text{CuLH}_3$  à partir de pH 10,5. L'espèce  $\text{CuLH}_2$  se forme à seulement 20% dans le cas du système *OGEHU* / Cu (II), et 30% dans le cas du système *OGEP*U / Cu (II) (Figure III-10).



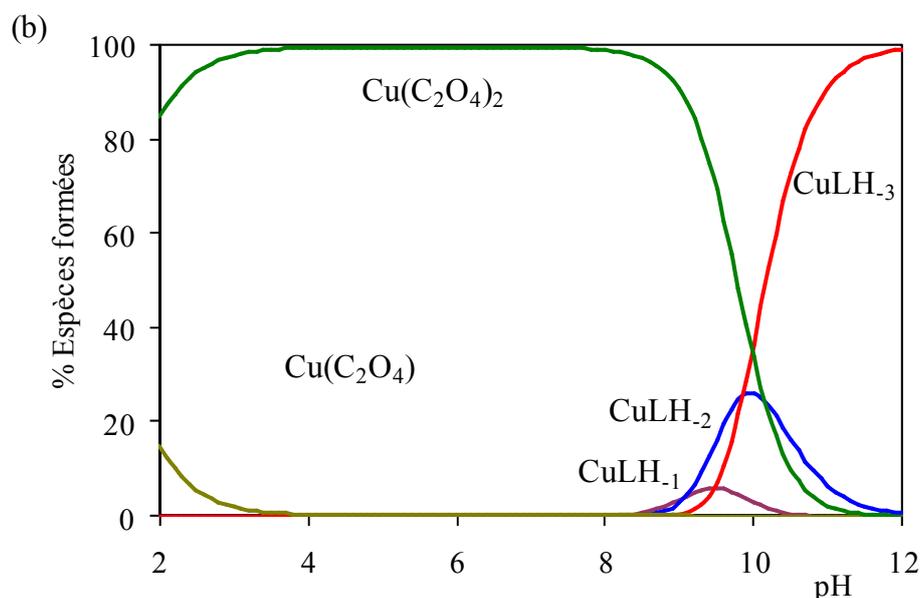


Figure III-10 : (a) Courbes de répartition des espèces pour le système OGEHU / Cu (II) en fonction du pH. (b) Courbes de répartition des espèces pour le système OGEPU / Cu (II) ;

$$[L] = [Cu (II)] = 2.10^{-3} M$$

### **III-2-3) Caractérisation spectroscopique des complexes Cu (II) / *n*-octyl ( $\beta$ -D-galactofuranoside) uronamide en solution**

Les logiciels Hyperquad et X-Sophe sont utilisés pour déterminer les paramètres spectraux de chaque complexe à partir des titrages spectrophotométriques et RPE à pH variables. Ces paramètres spectroscopiques par comparaison avec les données de la littérature permettent d'émettre des hypothèses plausibles concernant les chromophores et la géométrie des complexes.

#### **III-2-3-1) Spectrophotométrie UV-Visible**

Grâce à l'affinement des spectres électroniques expérimentaux, le programme Hyperquad a permis de tracer les courbes théoriques d'absorption molaire  $\bar{\epsilon} = f(\lambda)$  présentées sur la figure suivante dans le cas du système OGMPU / Cu (II) et ce, pour chacune des espèces considérées dans le calcul.

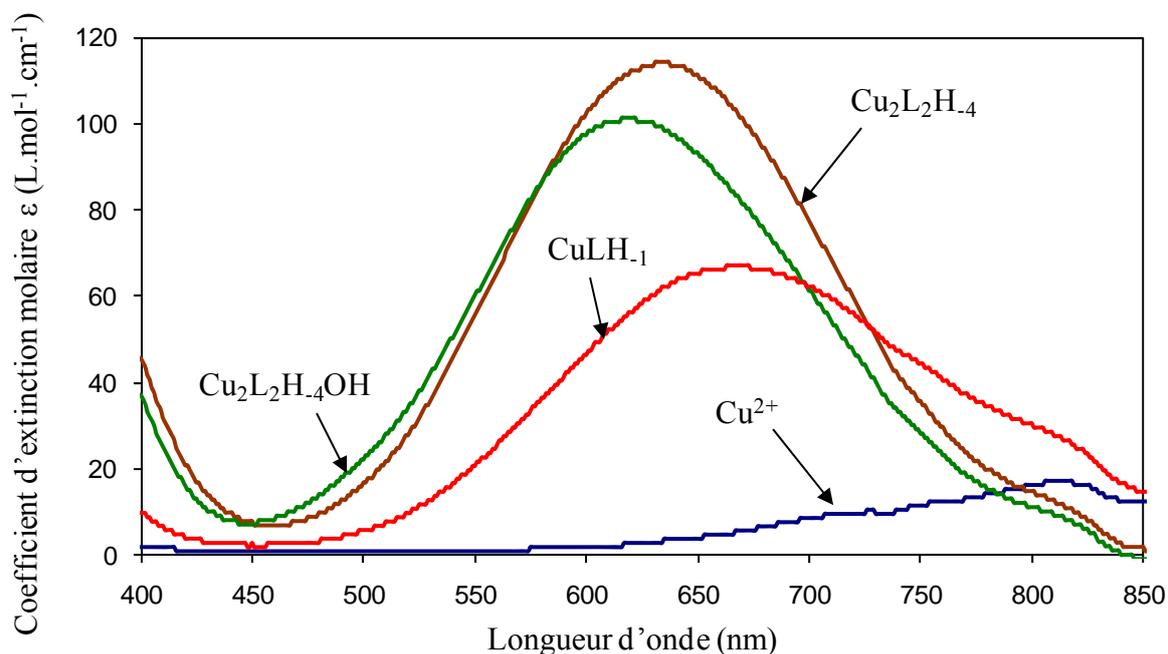


Figure III-11 : Spectres d'absorption molaire calculés des complexes de cuivre avec le ligand *OGMPU* (milieu NaCl 0,1 M ; [L]=1.10<sup>-3</sup> M ; [Cu<sup>2+</sup>]=1.10<sup>-3</sup> M)

La fenêtre spectrale exploitable des spectres UV-visibles se situe entre 400 et 900 nm. Dans cette région, les bandes d'absorption correspondent à la transition électronique mettant en jeu uniquement les orbitales d du centre métallique.

Dans le cas du système Cu (II) / *OGMPU*, Les valeurs du maximum d'absorbance  $\lambda_{\max}$  des complexes se situe entre de 600 à 700 nm avec des coefficients d'extinction molaire compris entre 68 et 130 cm<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>.L.

Tableau III-4 : Paramètres spectroscopiques UV-visible des complexes de cuivre

	<i>OGMPU</i>	<i>OGEHU</i>	<i>OGEPU</i>
	$\lambda_{\max}$ (nm) / $\bar{\epsilon}$ (M <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )	$\lambda_{\max}$ (nm) / $\bar{\epsilon}$ (M <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )	$\lambda_{\max}$ (nm) / $\bar{\epsilon}$ (M <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )
CuLH <sub>1</sub>	650 / 68,4	-	-
CuLH <sub>3</sub>	622 / 126,3	590 / 145,0	635 / 112,1

Les résultats sont comparables à ceux décrits dans le cas des systèmes Cu (II) / peptides,<sup>201</sup> ainsi que ceux obtenus par N. Tounsi notamment sur les systèmes cuivre / lactamides et cuivre / tartramides possédant des groupements fonctionnels similaires aux ligands uronamides. Avec ces systèmes, la plupart des auteurs indiquent un mode de complexation qui fait intervenir la fonction amide déprotonée ( $N_{amide}$ ), la fonction amine présente sur la chaîne latérale, et des atomes d'oxygène venant compléter la sphère de coordination, définissant un chromophore de type  $CuN_2O_2$  ou  $CuN_2O_3$ , selon une géométrie carrée plane ou pyramidale à base carrée. Ces interprétations semblent pouvoir s'appliquer aux systèmes Cu (II) / uronamides.

### III-2-3-2) Résonance paramagnétique électronique

La figure suivante compare le spectre RPE expérimental du complexe Cu – (OGEPU)(H)<sub>3</sub> et la simulation réalisée avec le programme X-Sophe (Figure III-12). Ce type de simulation a été exploité pour déterminer de manière précise les paramètres RPE des complexes Cu (II) – uronamides qui sont rapportés dans le tableau III-5.

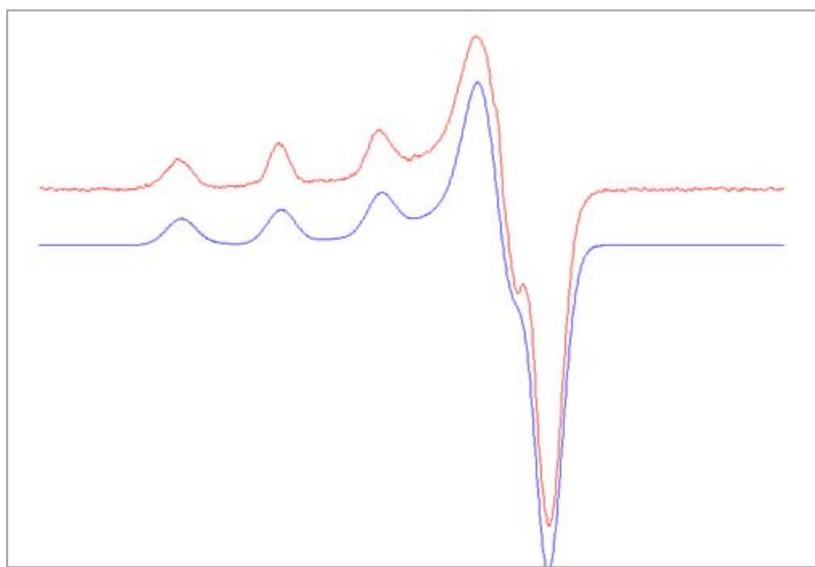


Figure III-12 : Spectres RPE de l'espèce  $CuLH_3$  simulée pour le système Cu -OGEPU (milieu NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>,  $[L] = 1.10^{-3} M$ ,  $[Cu^{2+}] = 1.10^{-3} M$ ,  $[C_2O_4^{2-}] = 2.10^{-3} M$ )

<sup>201</sup> (a) Kowalik-Jankowska, T.; Ruta, M.; Wisniewska, K.; Lankiewicz, L. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *95*, 270. (b) Sanna, D.; Gabor Agoston, C.; Sovago, I.; Micera, G. *Polyhedron* **2001**, *20*, 937. (c) Varnagy, K.; Sovago, I.; Süli-Vargha, H.; Sanna, D.; Micera, G. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *81*, 35.

Tableau III-5 : Paramètres spectraux RPE des complexes de cuivre en solution

Ligands	Espèces	$g_{//}$	$g_{\perp}$	$A_{//}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$f$ ( $g_{//} / A_{//}$ ) (cm)
OGMPU	CuLH <sub>1</sub>	2,25	2,06	$157,5 \cdot 10^{-4}$	142,70
	CuLH <sub>3</sub>	2,23	2,05	$180,2 \cdot 10^{-4}$	123,48
OGEHU	CuLH <sub>3</sub>	2,21	2,04	$185,2 \cdot 10^{-4}$	119,49
OGEPU	CuLH <sub>3</sub>	2,24	2,05	$165 \cdot 10^{-4}$	136,06

Les paramètres spectraux sont en accord avec une géométrie pyramidale à base carrée par comparaison avec ceux obtenus pour les complexes formés avec des ligands pentadentates étudiés par MacLachlan<sup>202</sup> ( $g_{//} = 2,24$ ,  $g_{\perp} = 2,06$  et  $A_{//} = 179 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ). Ils sont également très proches de ceux trouvés dans le cas du système modèle cuivre-bléomycine étudié par Mascharak et *al.*<sup>203</sup>

Le rapport  $g_{//} / A_{//}$  reflète la distorsion des complexes de cuivre.<sup>204</sup> En effet, des valeurs inférieures à 135 cm sont observées pour des structures carrées planes ou faiblement distordues, alors que celles supérieures à 150 cm sont rencontrées pour des composés présentant une distorsion tétraédrique importante. Dans notre cas, les faibles valeurs du rapport  $g_{//} / A_{//}$  (113 à 130 cm) combinées aux valeurs élevées de  $A_{//}$  correspondraient alors à des complexes pentacoordinés de géométrie pyramide à base carrée ou carrée plane. Ces valeurs sont comparables avec celles de Mukherjee et *al.*<sup>205</sup> ( $g_{//} / A_{//} = 130 \text{ cm}$ ) dont les travaux ont porté sur des complexes de cuivre avec des ligands dérivés de la 2-pyridine carboxamide.

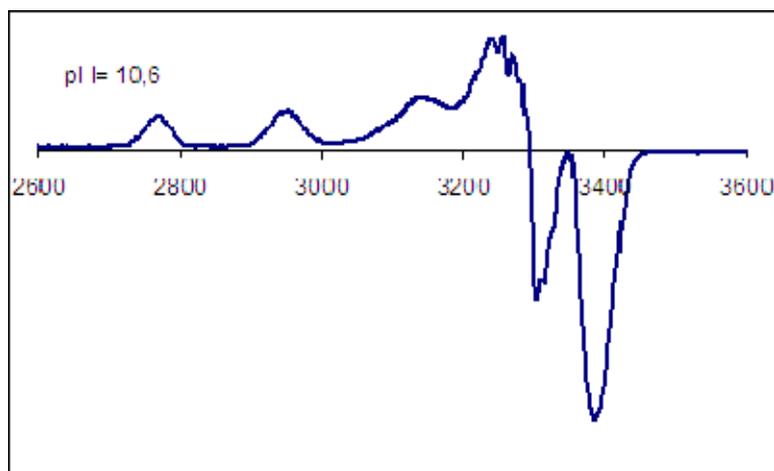
D'autre part, l'implication des deux atomes d'azotes dans la sphère de coordination du métal a pu être confirmée par l'analyse du spectre RPE du complexe Cu(OGEHU)H<sub>3</sub> qui présente une structure superhyperfine à cinq raies (le spin nucléaire I de l'azote vaut 1 et on doit observer  $2nI+1$  raies avec n le nombre d'atomes d'azote). (Figure III-13).

<sup>202</sup> McLachlan, G. A.; Fallon, G. D.; Martin, R. L.; Spiccia, L. *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 254.

<sup>203</sup> Brown, S. J.; Tao, X.; Stephan, D. W.; Mascharak, P. K. *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 3377.

<sup>204</sup> Sakaguchi, U.; Addison, W. A. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1979**, 600.

<sup>205</sup> Ray, M.; Mukherjee, R.; Richardson, J. F.; Mashuta, M. S.; Buchanan, R. M. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1994**, 965.



*Figure III-13 : Spectre RPE d'une structure super hyperfine de l'espèce CuLH<sub>3</sub>*

### **III-2-3-3) Discussion générale**

Les principaux résultats obtenus pour le premier système Cu<sup>2+</sup> / OGMPU dans le mélange méthanol/ eau (1 : 1) à l'aide des techniques de caractérisation thermodynamique et structurale ont montré que, d'une part, la complexation avec le cuivre débute en milieu acide (à partir de pH 3) pour conduire à une espèce majoritaire de type CuLH<sub>1</sub>, et d'autre part, l'apparition d'espèces dimères mise en évidence par la perte du signal RPE dans une gamme de pH comprise entre 7 et 11 : (Cu)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, (Cu)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

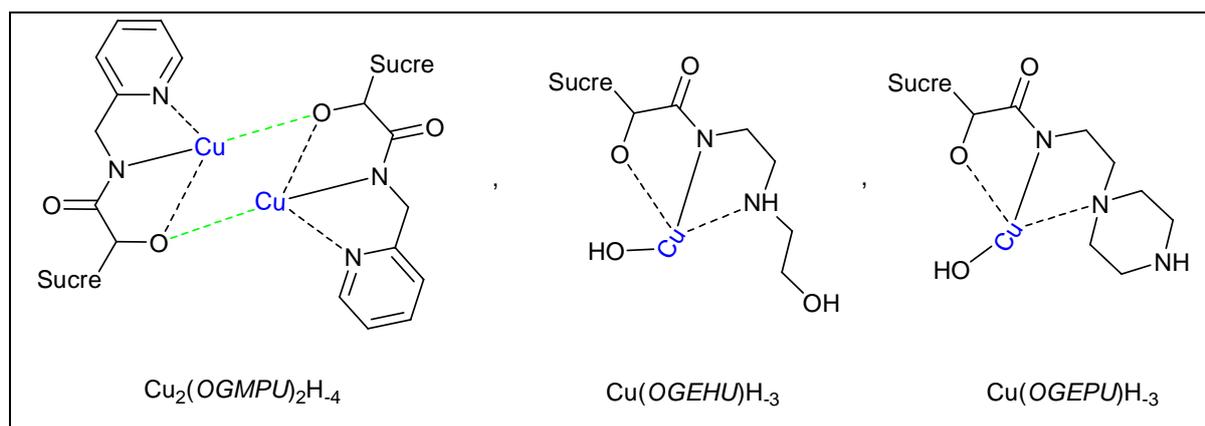
En ce qui concerne les deux systèmes Cu<sup>2+</sup> / OGEHU et Cu<sup>2+</sup> / OGEPU la complexation du cuivre (II), en solution aqueuse, implique la formation de trois complexes mononucléaires CuLH<sub>1</sub>, CuLH<sub>2</sub> et CuLH<sub>3</sub> dont les constantes de stabilité ont pu être déterminées par protométrie et par spectrophotométrie UV-visible. Il faut noter que pour limiter les problèmes de précipitation de l'hydroxyde de cuivre, les études ont été menées en présence d'ions oxalates qui permettent de complexer le cuivre jusqu'à pH 8. Pour des pH > 8, la déprotonation de l'azote amidique permet une complexation exclusive du ligand avec les ions Cu (II) sans apparition de complexes mixtes avec l'oxalate à partir de pH 8.

Les faibles variations des paramètres spectraux en fonction du pH sont en accord avec une déprotonation successive plutôt qu'une chélation d'un nouveau ligand.

Dans le cas du ligand OGMPU, le cuivre serait lié à l'atome d'azote amidique déprotoné, à l'azote pyridinique et à l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle présent sur la position 5

du sucre, plus la formation d'un pont hydroxo avec la fonction hydroxyle d'un deuxième sucre complexé.

La figure suivante illustre les schémas des hypothèses structurales les plus plausibles en se basant sur les résultats des études spectroscopiques.



*Figure III-14 : Hypothèses de structures des complexes cuivriques avec les trois ligands*

Ces hypothèses structurales sont basées principalement sur des paramètres spectroscopiques que nous avons comparés à ceux déterminés sur des ligands analogues aux nôtres, et pour lesquels des données structurales existent, il s'agit notamment de ligands comportant des fonctions carboxamides.<sup>206</sup>

### **III-3) Synthèse et caractérisation des complexes cuivriques à l'état solide**

Différentes techniques de synthèse des complexes cuivriques à l'état solide ont été mises en œuvre, mais malheureusement nous n'avons jamais réussi à obtenir des monocristaux capables d'être analysés par diffraction Rayons X. Ceci est en partie dû à la présence de la chaîne octyle qui introduit un désordre trop important dans le système.

#### **III-3-1) Synthèse des complexes cuivriques**

Deux méthodes de synthèse ont été utilisées pour l'obtention de complexes cuivriques définis à l'état solide.

##### 1<sup>ère</sup> protocole de synthèse

<sup>206</sup> (a) Chavez, F. A.; Olmstead, M. M.; Mascharak, P. K. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 1410. (b) Rowland, J. M.; Thornton, M. L.; Olmstead, M. M.; Mascharak, P. K. *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 1069.

Une solution de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,085 g, 0,5 mmol) dans 10 mL d'eau distillée et filtrée est ajoutée goutte à goutte à une solution de ligand (0.198 g, 0.5 mmol) dissout préalablement dans 10 mL de méthanol pur. Ensuite, un volume de 1 mL d'une solution de soude à 0,1 M est ajouté au mélange réactionnel, qui est laissé sous agitation durant 20 minutes à température ambiante. La solution est ensuite filtrée, puis laissée au repos pour que le méthanol s'évapore lentement, ce qui conduit à la précipitation du complexe bleu insoluble dans l'eau.

Ce protocole a été utilisé spécifiquement pour la synthèse de complexe des ligands *OGMPU*.

### 2<sup>ème</sup> protocole de synthèse

Concernant la préparation des complexes *Cu-OGEHU*, et *Cu-OGEPU*, une solution d'acétate de cuivre  $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.069 g, 0.346 mmol) dans 5 mL de méthanol pur est ajoutée goutte à goutte à une solution de ligand (0.346 mmol) dissout préalablement dans 5 mL d'eau distillée et filtrée. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant une nuit à 60 °C. Ensuite, la solution de complexe est filtrée, puis évaporée sous vide. Enfin, nous ajoutons 2 mL d'eau filtrée et distillée, pour solubiliser le complexe issu de la réaction, pour procéder à une lyophilisation qui permet l'obtention d'un solide vert (*OGEPU*) ou bleu (*OGEHU*) selon le ligand utilisé.

### III-3-2) Caractérisation des complexes cuivriques synthétisés

Le tableau suivant regroupe les analyses élémentaires, le dosage du cuivre, ainsi que les rendements des complexes synthétisés.

Tableau III-6 : Caractérisation élémentaire des complexes synthétisés

Complexe		% C	% H	% N	% Cu	Rdt (%)	m/z
$\text{Cu}_2(\text{OGMPU})_2(\text{H})_{-4}$ $\text{C}_{40}\text{H}_{60}\text{Cu}_2\text{N}_4\text{O}_{12} \cdot 2\text{OMe}$	Calculé	51,6	6,8	5,7	13,0	96	915,5 <u>SM</u> $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-4}\text{-H}]^+$
	Exp.	51,8	6,6	6,0	13,1		
$\text{Cu}(\text{OGEHU})(\text{H})_{-2}$ $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{CuN}_2\text{O}_7 \cdot 3/2\text{H}_2\text{O}$	Calculé	44,9	7,8	5,8	13,2	84	454,1740 <u>HRSM</u> $[\text{CuLH}_2\text{-H}]^+$
	Exp.	45,1	7,8	5,6	12,9		
$\text{Cu}(\text{OGEPU})(\text{H})_{-2}$ $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{CuN}_3\text{O}_6 \cdot 3/2\text{H}_2\text{O}$	Calculé	49,2	7,8	8,6	12,6	56	479,2057 <u>HRSM</u> $[\text{CuLH}_2\text{-H}]^+$
	Exp.	49,2	8,0	8,5	12,2		

Les complexes synthétisés ont été caractérisés par spectrophotométrie UV-visible, spectrométrie RPE, ainsi que par la mesure de susceptibilité magnétique à température ambiante.

Le tableau suivant regroupe les valeurs d'absorbance du spectre solide, les coefficients d'extinctions molaires, les paramètres RPE des complexes dissous en solution, ainsi que les mesures de la susceptibilité magnétique.

*Tableau III-7 : Etude spectrale des complexes cuivriques*

Complexe	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\mu$ (MB)	$g_{//}$	$g_{\perp}$	$A_{//}$ ( $10^4 \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$f(g_{//} / A_{//})$ (cm)
$\text{Cu}_2(\text{OGMPU})_2(\text{H})_{-4}(\text{OMe})_2$	671	1,31	-	-	-	-
$\text{Cu}(\text{OGEHU})(\text{H})_{-2} \cdot 3/2\text{H}_2\text{O}$	690	1,94	2,21	2,04	185,2	119,5
$\text{Cu}(\text{OGEPU})(\text{H})_{-2} \cdot 3/2\text{H}_2\text{O}$	652	1,32	2,26	2,06	179,1	126,0

D'après ces valeurs, on remarque que les paramètres spectraux des complexes cuivriques synthétisés à l'état solide sont très proches de ceux déterminés pour les complexes présents en solution (Tableau III-4 et Tableau III-5) ce qui indique que la géométrie, ainsi que le mode de complexation est identique à l'état liquide et à l'état solide.

#### **III-4) Applications : Utilisation des complexes cuivriques dans la catalyse asymétrique et enzymatique**

##### **III-4-1) Tyrosinase / Catéchol oxydase : Principe et Activation**

###### **III-4-1-1) Introduction**

La tyrosinase est une métalloenzyme de type 3 comportant un site actif constitué de deux atomes de Cu (II). Elle est impliquée dans les processus de brunissement de la peau, des cheveux, des blessures et aussi des fruits. Cette enzyme est largement abondante chez les eucaryotes, et elle a été également identifiée chez certaines bactéries de genre *Streptomyces* et *Streptomyces glaucescens*, et certains champignons comme *Neurospora crassa* et

*Agaricus bisprus*. La première structure cristallographique de la tyrosinase a été publiée récemment par l'équipe de Matoba et *al.*<sup>207</sup> à partir des *Streptomyces castaneoglobisporus*.

La tyrosinase initie la biosynthèse des mélanines, en catalysant deux réactions successives : l'hydroxylation du phénol de la tyrosine en catéchol en présence de l'oxygène moléculaire, et ensuite l'oxydation de la L-DOPA en DOPA quinone correspondante (Schéma III-2).

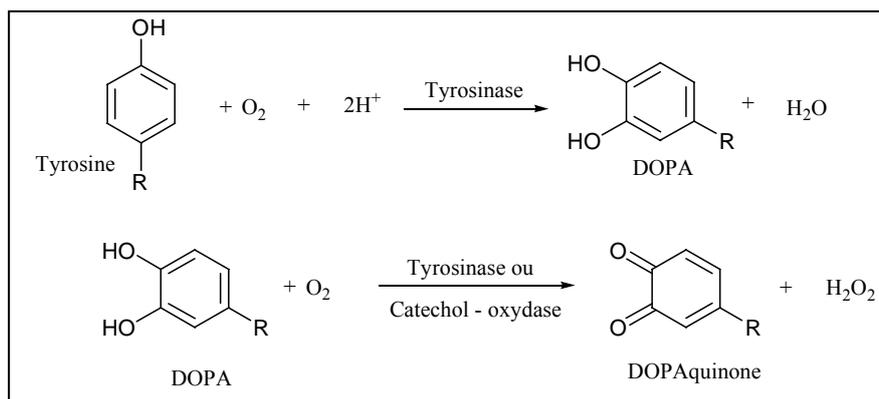


Schéma III-2 : Action de la tyrosinase et de la catéchol oxydase

La DOPAquinone formée est ensuite transformée par une série de conversions enzymatiques et spontanées pour donner les différentes mélanines qui sont des polymères polyphénoliques hétérogènes ayant des couleurs s'étendant du jaune au noir. Les mélanines sont produites par des cellules situées dans la couche la plus profonde de l'épiderme, appelées **les mélanocytes** et sont généralement de deux types : *les eumélanines* et *les phéomélanines*.

### III-4-1-2) Synthèse des mélanines

Le schéma suivant illustre les différentes étapes de synthèse déclenchées à l'intérieur de l'épiderme pour la production des mélanines (Figure III-15).

<sup>207</sup> Matoba, Y.; Kumagai, T.; Yamamoto, A.; Yoshitsu, H.; Sugiyama, M. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 8981.

3<sup>ème</sup> Chapitre : Etude de complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications

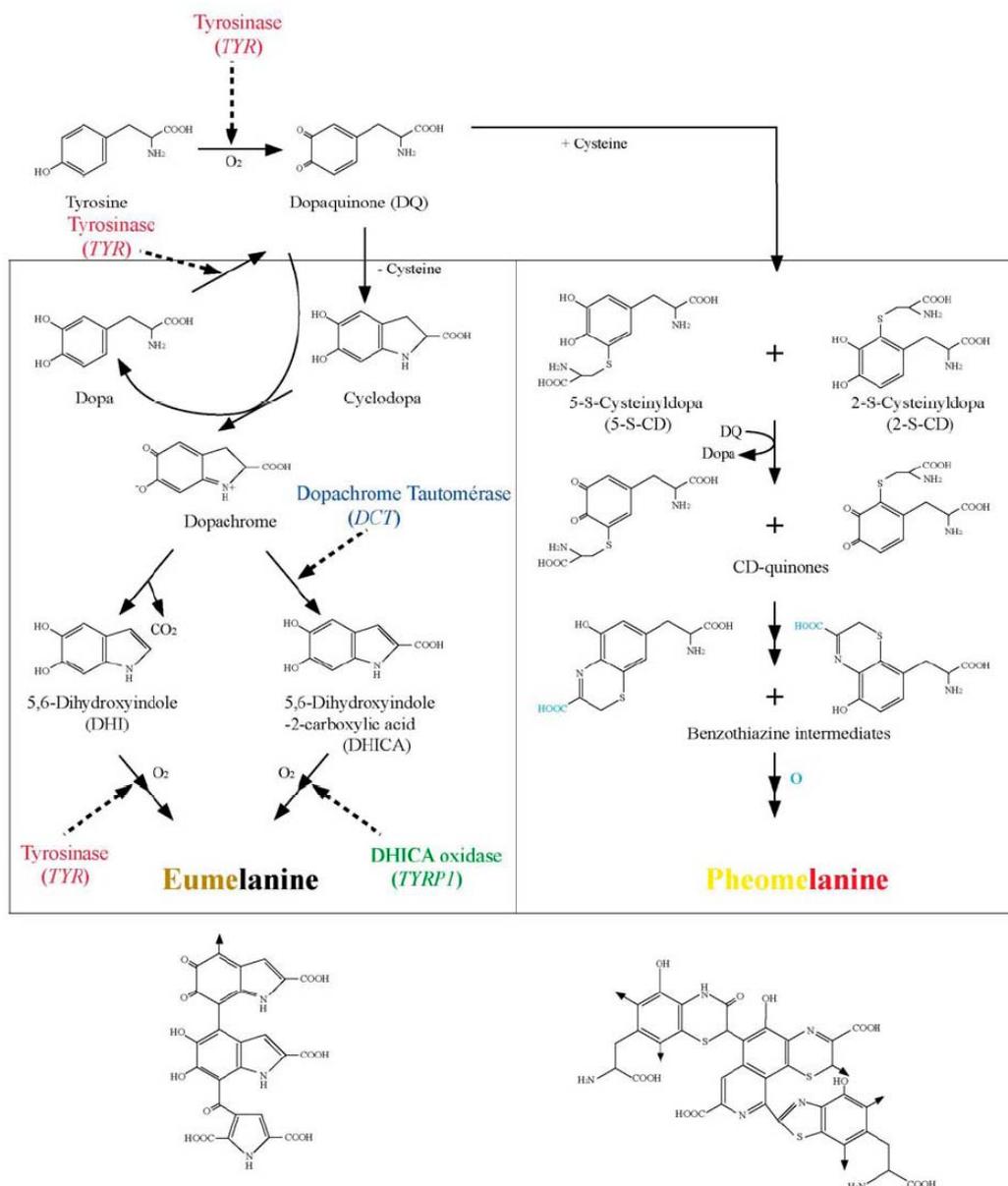


Figure III-15 : réactions chimiques impliquées dans la biosynthèse des mélanines

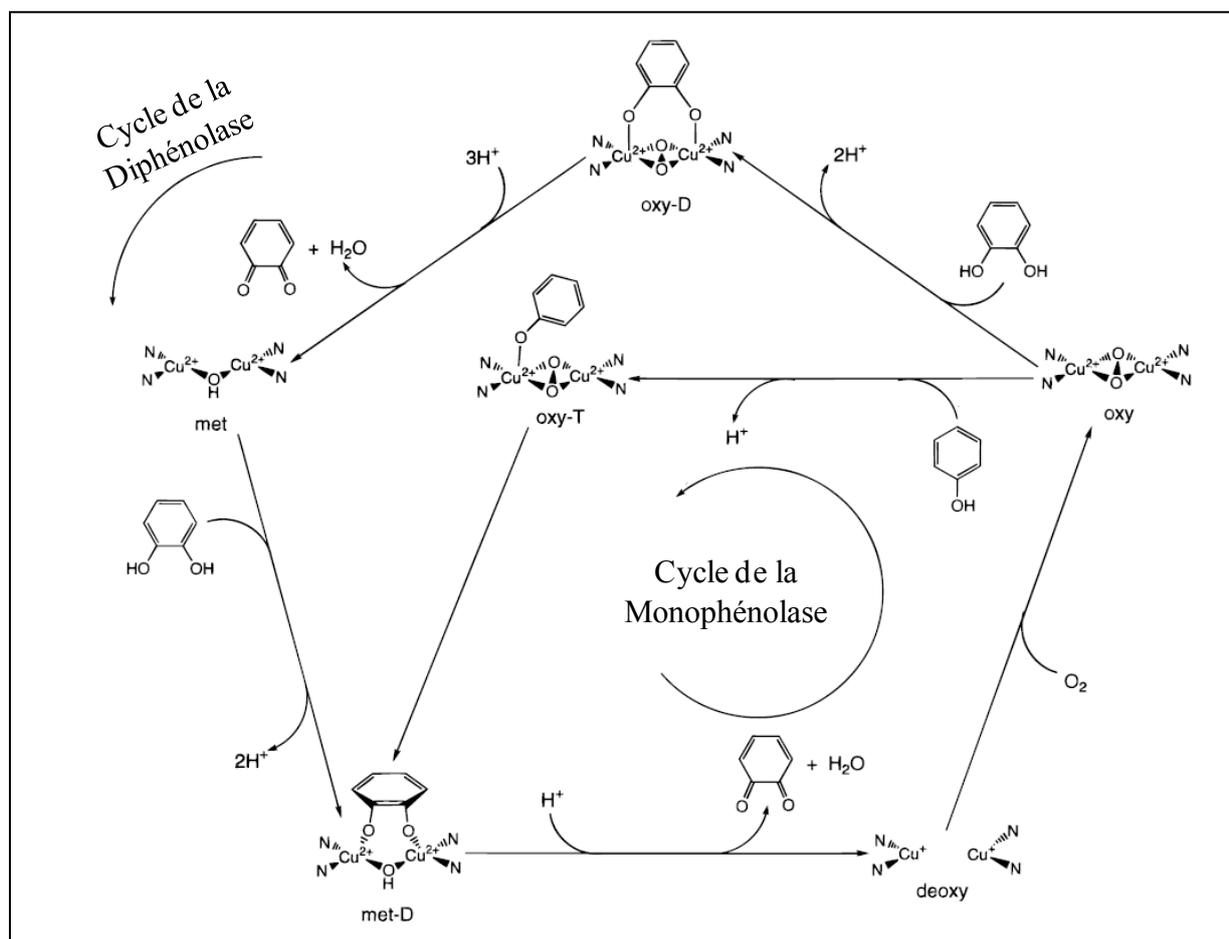
**DOPA**: L-3,4-dihydroxyphénylalanine; **DOPAquinone**: 4-(2-carboxy-2-aminoéthyl)-1,2-benzoquinone; **Cyclodopa**: 2,3-dihydro-5,6-dihydroxyindole-2-carboxylate; **DOPACHROME**: 2-carboxy-2,3-dihydroindole-5,6-quinone.

### III-4-1-3) Principe d'action de la tyrosinase

La faible distance entre les deux atomes de cuivre présents dans le site actif de la tyrosinase est à l'origine de la réactivité particulière de cette dernière vis à vis de l'oxygène.

Des études structurales réalisées sur des enzymes isolées à partir de composés végétaux<sup>208</sup> notamment en utilisant les techniques spectroscopiques d'absorption et des rayons X ont montré que cette distance était inférieure dans la plupart des cas à 4 Å. Chacun des deux atomes de cuivre est coordonné à trois histidines. De ce point de vue, le site actif de la tyrosinase (Ty) ressemble à celui des catéchol oxydases (COs) et à celles des hémocyanines (Hcs),<sup>209</sup> qui sont définies comme étant des porteurs d'oxygènes trouvés chez beaucoup de mollusques et d'arthropodes.

Le schéma suivant représente le processus catalytique d'oxydation d'un phénol « cycle monophénolique » et d'un catéchol par la tyrosinase « cycle diphénolique » (Schéma III-3).



*Schéma III-3 : Mécanisme de la tyrosinase*

<sup>208</sup> Eicken, C.; Zippel, F.; Büldt-Karentzopoulos, K.; Krebs, B. *FEBS Lett.* **1998**, 436, 293.

<sup>209</sup> Himmelwright, R. S.; Eickman, N. C.; LuBien, C. D.; Solomon, E. I.; Lerch, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7339.

Ces protéines lient le dioxygène sous forme peroxyde, mais pour les hémocyanines, la liaison entre les deux oxygènes ne peut pas être clivée, alors que c'est le cas pour les tyrosinases et les catéchol oxydases. D'autre part, le processus permettant d'hydroxyler les groupements phénoliques qui caractérise l'activité des tyrosinases, est absent chez les catéchol oxydases.

Les protéines cuivriques de type 3 ont des sites actifs à forte ressemblance, mais leurs fonctions physiologiques diffèrent : les hémocyanines, sont considérées comme des transporteurs d'oxygène, les catéchol oxydase catalysent l'oxydation des catéchols, et les tyrosinases catalysent l'*ortho* hydroxylation des monophénols en catéchols, et ensuite leur oxydation en *ortho* quinones.

La réaction avec le monophénol, se fait juste en présence d'un intermédiaire nommé oxy-Ty, pour donner naissance à une *ortho* quinone. Dans cet intermédiaire, la molécule de dioxygène est insérée sous forme de pont peroxy entre les deux centres métalliques (forme oxy).

L'oxydation du catéchol en *ortho* quinone peut se faire avec la catéchol oxydase où il y aura un complexe cuivrique de type 3 ayant une forme « oxy », ou encore avec la tyrosinase, le complexe cuivrique sera de forme « met » c'est-à-dire un complexe dinucléaire sans interaction covalente entre les deux atomes de cuivre (II). La forme « deoxy » correspond à la forme réduite de la forme « met », où les deux atomes de cuivre sont au degré d'oxydation +I. (Schéma III-4).<sup>210</sup>

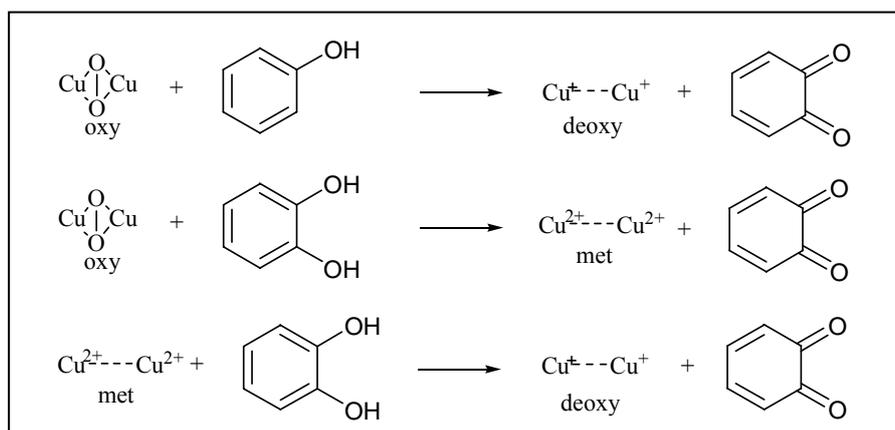


Schéma III-4 : Les différentes formes du complexe cuivrique de type 3.

<sup>210</sup> Decker, H.; Tuczec, F. *Trends Biochem.Sci.* **2000**, 25, 392.

### III-4-1-4) Approche biomimétique de l'activité tyrosinase ou catécholase

Les tentatives de reproduire l'activité de la tyrosinase datent des années 1950. De nombreuses études ont été réalisées sur la synthèse de modèles moléculaires capables d'initier l'oxydation de la tyrosine en catéchol puis en *ortho*-quinone correspondante.<sup>211</sup>

L'équipe de Casella *et al.*<sup>212</sup> a récemment synthétisé un complexe pouvant oxyder plusieurs composés phénoliques pour former les quinones correspondantes (Schéma III-5). Ce complexe mime l'activité réelle de la tyrosinase.

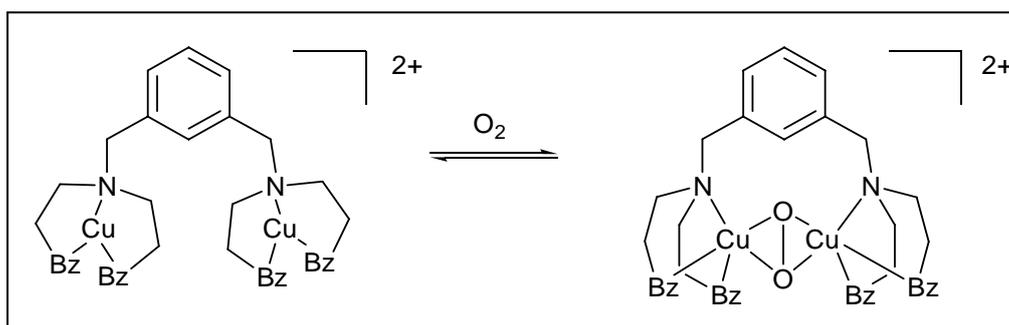


Schéma III-5 : Exemple de complexe mimant la tyrosinase

Il faut signaler que dans la plupart des travaux qui traitent de ce sujet, seule l'activité des complexes synthétisés vis-à-vis de la catéchol oxydase a été évaluée. Les complexes mimant l'activité catécholase peuvent s'avérer inactifs vis-à-vis de l'activité tyrosinase.

L'activité catalytique des complexes dinucléaires de cuivre est d'autant plus marquée que les deux centres métalliques possèdent des propriétés similaires aux molécules naturelles. Cette remarque est appuyée par les travaux d'Andrade Alves *et al.*<sup>213</sup> qui ont comparé l'activité catalytique de plusieurs complexes dinucléaires de cuivre à noyaux imidazoles avec les enzymes naturelles catécholase contenues dans une variété de pommes de terre douces (*Ipomoea batatas*).<sup>214</sup>

<sup>211</sup> (a) Ghosh, D.; Mukherjee, R. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 6597. (b) Monzani, E.; Quinti, L.; Perotti, A.; Casella, L.; Gullotti, M.; Randaccio, L.; Geremia, S.; Nardin, G.; Faleschini, P.; Tabbi, G. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 553. (c) Casella, L.; Monzani, E.; Gullotti, M.; Cavagnini, D.; Cerina, G.; Santagostini, L.; Ugo, R. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7516. (d) Ackermann, J.; Meyer, F.; Kaifer, E.; Pritzkow, H. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 247.

<sup>212</sup> Santagostini, L.; Gullotti, M.; Monzani, E.; Casella, L.; Dillinger, R.; Tuzcek, F. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 519.

<sup>213</sup> (a) Andrade Alves, W.; Bagatin, I. A.; Da Costa Ferreira, A. M. *Inorg. Chim. Acta* **2001**, *321*, 11. (b) Andrade Alves, W.; Alfonso De Almeida-Filho, S.; Vieira De Almeida, M.; Paduan Filho, A.; Castilla Becerra, C.; Da Costa Ferreira, M. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2003**, *198*, 63.

<sup>214</sup> (a) Triller, M. U.; Pursche, D.; Hsieh, W.-Y.; Pecoraro, V. L.; Rompel, A.; Krebs, B. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 6274. (b) Than, R.; Feldmann, A. A.; Krebs, B. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *182*, 211.

D'après l'ensemble des études réalisées dans ce domaine,<sup>215</sup> il a été établi que les facteurs qui permettent l'activité catécholase sont d'une part, la distance entre les deux centres métalliques qui doit être inférieure à 5 Å, et d'autre part, la géométrie et les propriétés électroniques du complexe qui doivent permettre le transfert électronique de l'oxygène vers le métal. On note également que dans la plupart des complexes actifs, les deux centres métalliques présentent un couplage antiferromagnétique. Les complexes synthétisés à partir de ligands polydentates possédant des fonctions pyridine, imidazole ou benzimidazole et un pont 'phénoxy' ou 'alkoxy' entre les deux atomes de cuivre représentent des bons candidats pour l'activité catéchol oxydase.

Les potentialités catalytiques des complexes mononucléaires de cuivre vis-à-vis de l'oxydation des catéchols en quinone, a été moins abordé dans la littérature même si plusieurs auteurs reportent une activité catalytique importante.<sup>216</sup>

Dans le cas des complexes mononucléaires, les deux groupements hydroxyles de la fonction catéchol se lient dans un premier temps au centre métallique, puis il s'en suit les étapes suivantes :

- 1) Un transfert électronique entre l'une des deux fonctions hydroxyles et le centre métallique induisant d'une part l'oxydation d'une fonction hydroxyle, et d'autre part la réduction du centre métallique.
- 2) Une réoxydation du centre métallique par l'oxygène conduisant à la production du peroxyde d'hydrogène.
- 3) Un deuxième transfert électronique entre le deuxième groupement hydroxyle et le centre métallique avec la libération de la quinone formée, ainsi qu'une réoxydation du cuivre (I) en cuivre (II).

Parmi les travaux se rapportant à l'activité catalytique de complexes mononucléaires de cuivre,<sup>217</sup> on peut citer ceux de Gajda et *al.*<sup>218</sup> qui ont synthétisé des complexes de cuivre (II) dérivés de ligands peptidiques contenant comme acide aminé principal l'histidine. Ceux de

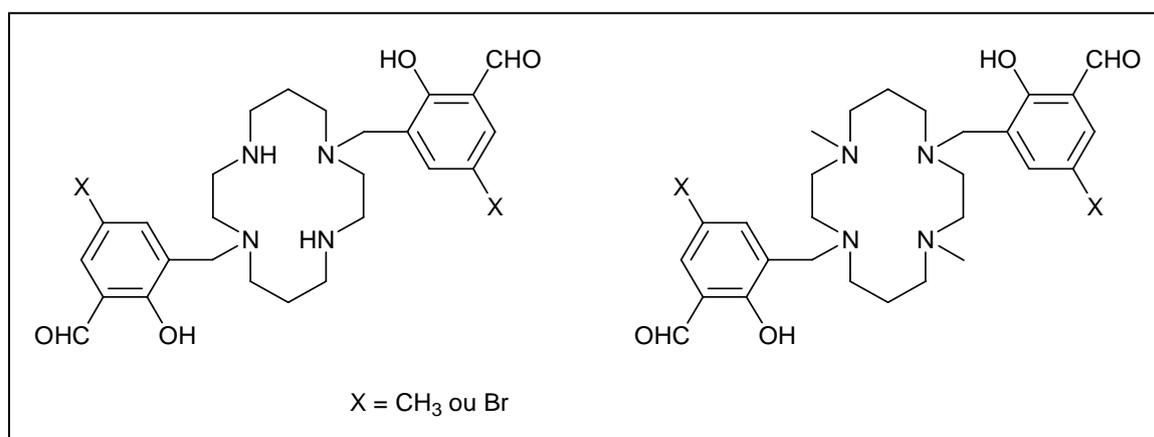
<sup>215</sup> Gentshev, P.; Moller, N.; Krebs, B. *Inorg. Chim. Acta* **2000**, 300-302, 442.

<sup>216</sup> (a) Abuhijleh, A. L.; Pollite, J.; Woods, C. *Inorg. Chim. Acta*. **1994**, 215, 131. (b) Kaizer, J.; Pap, J.; Speier, G.; Parkany, L.; Korecz, L.; Rockenbauer, A. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, 91, 190.

<sup>217</sup> (a) Malachowski, M. R.; Carden, J.; Davidson, M. G.; Driessen, W. L.; Reedijk, J. *Inorg. Chim. Acta*. **1997**, 257, 59. (b) Subramanian, P. S.; Suresh, E.; Dastidar, P. *Polyhedron* **2004**, 23, 2515. (c) Abuhijleh, A. L. *J. Inorg. Biochem.* **1994**, 55, 255. (d) Yonemura, M.; Ohba, M.; Furutachi, H.; Matsumura, Y.; Okawa, H.; Fenton, D. E. *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 2711. (e) Chen, Z.-F.; Liao, Z.-R.; Li, D.-F.; Li, W.-K.; Meng, X.-G. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, 98, 1315.

<sup>218</sup> Jancso, A.; Paksi, Z.; Jakab, N.; Gyurcsik, B.; Rockenbauer, A.; Gajda, T. *Dalton Trans.* **2005**, 3187.

l'équipe de Furbee Jun et *al.*<sup>219</sup> qui utilisent des complexes à base de ligands de type tripode, ou encore les complexes décrit par Nishida et *al.*<sup>220</sup> D'autres complexes ont également été synthétisés à partir de cyclames *N*-substitués (Schéma III-6),<sup>221</sup> et à partir de ligands à base phénolique.<sup>222</sup> Tous ces travaux ont montré que les potentialités catalytiques des complexes dépendent de plusieurs facteurs tels que la basicité du milieu, la nature des groupements donneurs, la géométrie et l'encombrement stérique autour du centre métallique. Il a été notamment établi que dans le cas des complexes de géométrie carrée plane, l'activité catalytique est fortement liée à la distorsion de la géométrie carrée. Ainsi, les complexes déformés présentent une activité catalytique supérieure à celle des complexes non déformés.



*Schéma III-6 : Ligands de type cyclames N-substitués synthétisés par Narayanan et coll.*

L'objectif initial de ce travail est de synthétiser des complexes amphiphiles mononucléaires cuivriques capables d'activer les processus enzymatiques de la tyrosinase par un apport exogène d'ions Cu (II). En effet, il a été démontré qu'un apport exogène du cuivre à l'enzyme de la tyrosinase peut rendre cette dernière plus active, et augmente ainsi son aptitude à transformer la tyrosine en catéchol puis en quinone.<sup>2</sup>

Dans ce contexte, il nous semblait également intéressant de tester directement les capacités de ces complexes à catalyser l'oxydation du catéchol en quinone.

<sup>219</sup> Malachowski, M. R.; Huynh, H. B.; Tomlinson, L. J.; Kelly, R. S.; Furbee Jun, J. W. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1995**, 31.

<sup>220</sup> Oishi, N.; Nishida, Y.; Ida, K.; Kida, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 2847.

<sup>221</sup> Sreedaran, S.; Bharathi, K.; Rahiman, A.; Rajesh, K.; Nirmala, G.; Narayanan, V. *J. Coord. Chem.* **2008**, *61*, 3594.

<sup>222</sup> Boghaei, D. M.; Behzad, M.; Bezaatpour, A. *J. Mol. Catal. A : Chem.* **2005**, *241*, 1.

### **III-4-2) Catalyse de l'oxydation du 3,5 di-*tert*-butyl catéchol (DTBC) en 3,5 di-*tert*-butyl quinone (DTBQ) dans le méthanol en présence des complexes métalliques synthétisés**

#### **III-4-2-1) Généralités**

La technique d'étude la plus usitée est la spectrophotométrie UV-visible car elle permet de suivre la formation de la quinone en fonction du temps. La quinone a une bande d'absorption spécifique située à 400 nm avec un coefficient d'extinction molaire  $\epsilon$  élevé de l'ordre de  $1900 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ .<sup>223</sup> Le suivi de la réaction s'effectue dans un réacteur ouvert afin de permettre à l'oxygène de l'air de jouer son rôle dans le mécanisme catalytique.

Le substrat utilisé classiquement pour évaluer l'activité catalytique des complexes de cuivre est le 3,5-di-*tert*-butyl catéchol (DTBC) qui s'oxyde en 3,5-di-*tert*-butyl quinone (DTBQ). Ce substrat a été choisi en raison du faible potentiel rédox du couple catéchol / quinone qui rend la réaction d'oxydation par l'oxygène de l'air thermodynamiquement possible.<sup>224</sup>

La plupart des études liées à ce type de catalyse oxydative se font majoritairement dans le méthanol. Certaines de ces études ont été également réalisées en milieu acétonitrile principalement en raison de la faible solubilité des complexes étudiés dans le méthanol.<sup>225</sup>

Nous avons testé l'activité des complexes cuivriques synthétisés vis-à-vis de l'oxydation du 3,5-di-*tert*-butyl catéchol (DTBC) en 3,5-di-*tert*-butyl quinone (DTBQ) en milieu méthanolique car nos complexes sont solubles dans ce solvant.

D'autre part, afin d'exploiter les propriétés amphiphiles des complexes synthétisés, nous avons étudié la même réaction, cette fois en milieu aqueux micellaire. Les solutions micellaires ont été préparées à partir de deux types de tensioactifs, le premier étant un tensioactif ionique : le bromure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAB), et le second étant non ionique : l'éther de cétyl polyoxyéthylène glycol (BRIJ 58). L'intérêt des systèmes micellaires se manifeste par le fait qu'ils reproduisent plus fidèlement l'environnement hydrophobe du milieu biologique dans lequel s'effectue les divers processus enzymatiques, ce qui devait nous apporter théoriquement des informations plus pertinentes sur l'activité des complexes en milieu physiologique.

<sup>223</sup> Wegner, R.; Gottschaldt, M.; Görls, H.; Jäger, E.-G.; Klemm, D. *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 2143.

<sup>224</sup> (a) Yuan, D. R.; Yan, J. M.; Zhi Yu, C.; Xie, R. G. *Chin. Chem. Lett.* **2005**, 16, 147. (b) Palavicini, S.; Granata, A.; Monzani, E.; Casella, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 18031.

<sup>225</sup> (a) Harmalker, S.; Jones, S.; Sawyer, D. *Inorg. Chem.* **1983**, 22, 2790. (b) Jocher, C.; Pape, T.; W. Seidel, W.; Gamez, P.; Reedijk, J.; Hahn, F. E. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 4914. (c) Koval, I.; Belle, C.; Selmeçzi, K.; Philouze, C.; Saint-Aman, E.; Schuitema, A. M.; Gamez, P.; Pierre, J.-L.; Reedijk, J. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, 10, 739.

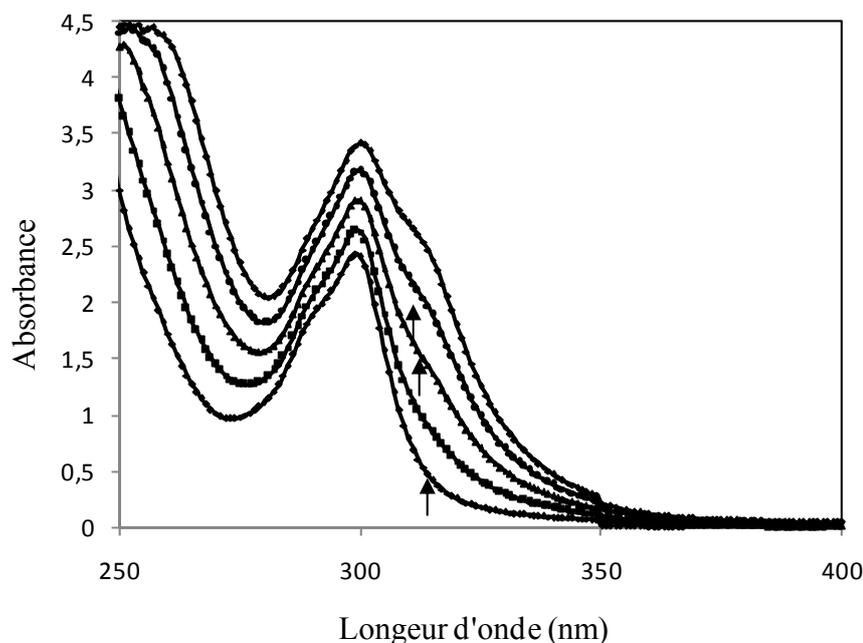
Par ailleurs, afin de vérifier la coordination du substrat 3,5-di-*tert*-butyl catéchol (DTBC) avec le complexe, des études préliminaires de complexation entre les complexes cuivriques synthétisés et le tétrachloro-catéchol (TCC) ont également été effectuées. Ce dernier présente un potentiel rédox plus élevé que celui du 3,5-di-*tert*-butyl catéchol (DTBC) et ne donne pas lieu à une réaction d'oxydation.

### III-4-2-2) Résultats et discussion

#### III-4-2-2-a) Interaction des complexes cuivriques synthétisés avec le tétrachloro catéchol (TCC)

L'étude des interactions entre le TCC et le complexe permet d'évaluer l'affinité du substrat pour le catalyseur et indirectement, la faisabilité de la réaction d'oxydation.<sup>226</sup> Nous avons réalisé un suivi spectrophotométrique du titrage d'une solution de TCC par une solution de complexe. Les manipulations ont été réalisées avec les complexes  $\text{Cu}_2(\text{OGMPU})_2$ ,  $\text{Cu-OGEHU}$  et  $\text{Cu-OGEPU}$ .

La figure suivante montre une modification significative des bandes d'absorption dans la zone de transfert de charge du spectre UV-visible d'une solution de TCC après addition du complexe cuivrique  $\text{Cu-OGEPU}$  (Figure III-16).



<sup>226</sup> (a) Reim, J.; Krebs, B. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1997**, 3793. (b) Mukherjee, J.; Mukherjee, R. *Inorg. Chim. Acta.* **2002**, 337, 429.

Figure III-16 : Modifications enregistrées au niveau de la région 250 – 400 nm lors du titrage d'une solution de TCC à  $1.10^{-3}$  M par 0,1 à 0,5 équivalent en complexe Cu-OGEPU

L'intensité de la transition centrée initialement à 300 nm augmente progressivement en fonction de la quantité de complexe ajoutée. On remarque également l'apparition d'un deuxième maximum d'absorbance vers 320 nm, ce dernier augmente d'intensité en fonction de la concentration du complexe (Figure III-16).

Dans la région 400-600 nm, le titrage du complexe Cu-OGEPU par le TCC montre que la transition centrée à 680 nm diminue d'intensité et se déplace vers les basses énergies (Figure III-17). Une nouvelle transition attribuée à une espèce de type phénolate ou catécholates / Cu (II) apparaît vers 420 nm, son intensité augmente jusqu'à un équivalent de TCC ajouté, et se stabilise lorsque la concentration de TCC augmente au-delà de un équivalent. Les titrages du complexe Cu-OGEHU avec le TCC montrent les mêmes particularités rencontrées lors de l'étude spectrophotométrique avec le complexe Cu-OGEPU.

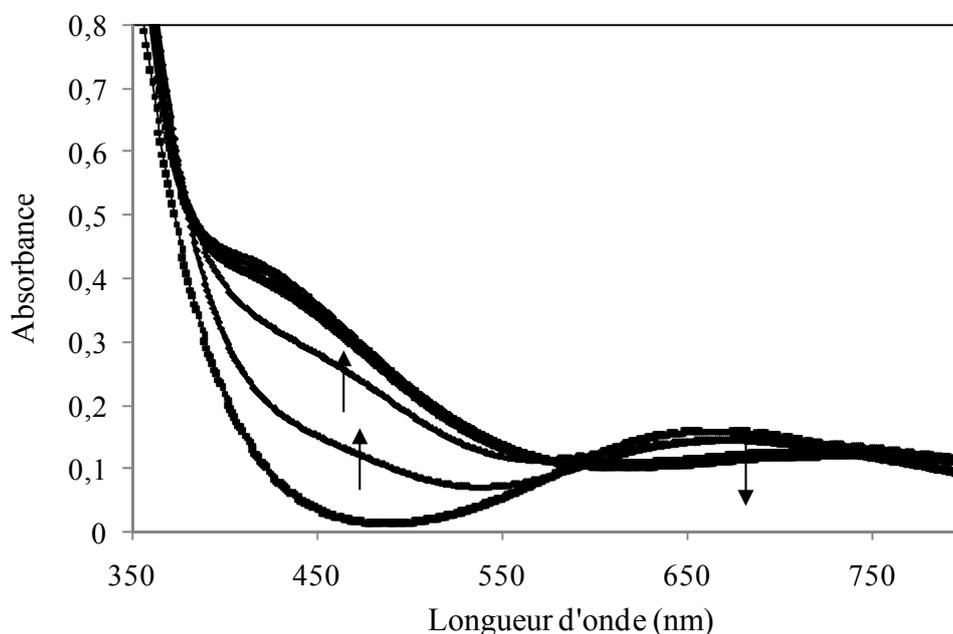


Figure III-17 : Modifications enregistrées au niveau du spectre UV-visible lors du titrage d'une solution de complexe Cu-OGEPU à  $1,6.10^{-3}$  M par 0,4 à 2 équivalents en TCC

Ces observations montrent clairement que le catéchol interagit avec les complexes cuivriques Cu-*OGEHU* et Cu-*OGEPU*.

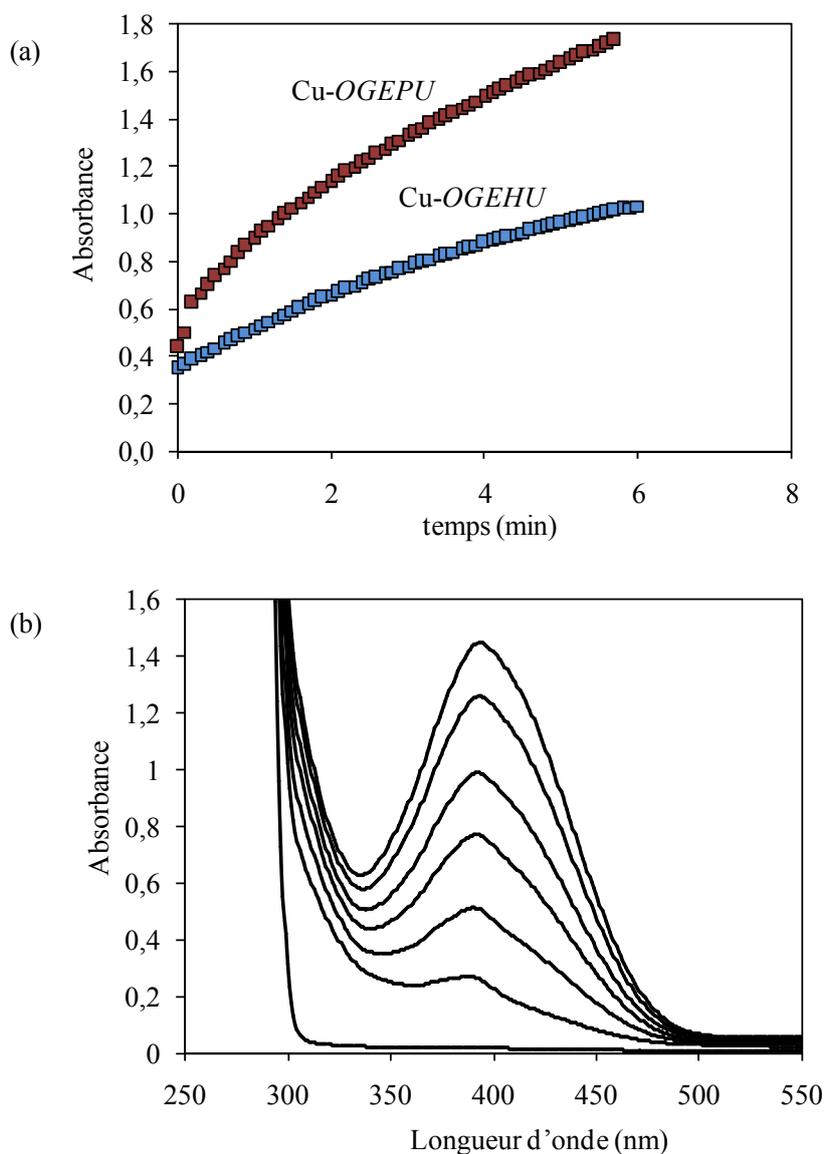
Le titrage d'une solution de complexe dinucléaire Cu<sub>2</sub>*OGMPU*<sub>2</sub> par le TCC ne montre pas de changements significatifs au niveau du spectre UV-visible. On peut en conclure l'absence d'interactions entre ces deux entités

#### III-4-2-2-b) Suivi de la réaction d'oxydation en milieu méthanolique

##### Protocole expérimental :

L'oxydation est réalisée dans les conditions classiques décrites à plusieurs reprises dans la littérature (milieu méthanolique, [DTBC] / [Cu] entre 5 et 50).

La figure suivante représente un suivi de l'activité catalytique des deux complexes Cu-*OGEHU* et Cu-*OGEPU* vis-à-vis de la réaction d'oxydation du DTBC en DTBQ.



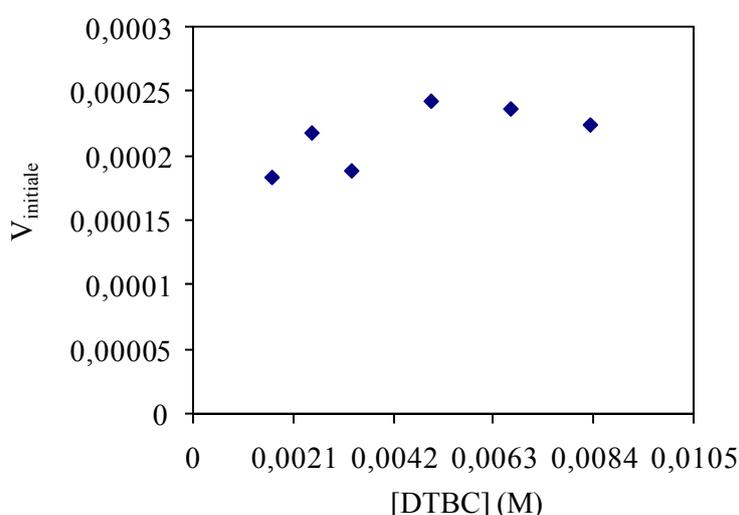
*Figure III-18 : (a) : Suivi de l'évolution de l'absorbance en fonction du temps pour l'oxydation du DTBC en DTBQ en présence des complexes Cu-OGPEU et Cu-OGHEU ;  $R = [DTBC] / [Complexe] = 25$ , avec  $[DTBC] = 8,8 \cdot 10^{-3} M$ . (b) : Evolution de la bande à 400 nm caractéristique de la formation de la DTBQ*

Pour un rapport  $R = [DTBC] / [Complexe] = 25$ , les taux de conversion du DTBC en DTBQ en présence des complexes cuivriques Cu-OGPEU et Cu-OGHEU sont respectivement de l'ordre de 9,8 et 3,9% après 5 minutes.

Des manipulations identiques ont été réalisées en présence du complexe dinucléaire de cuivre  $\text{Cu}_2(\text{OGMPU})_2$ , celui-ci n'a pas montré une activité catalytique significative certainement en rapport avec la faible affinité du substrat pour ce complexe mise en évidence antérieurement.

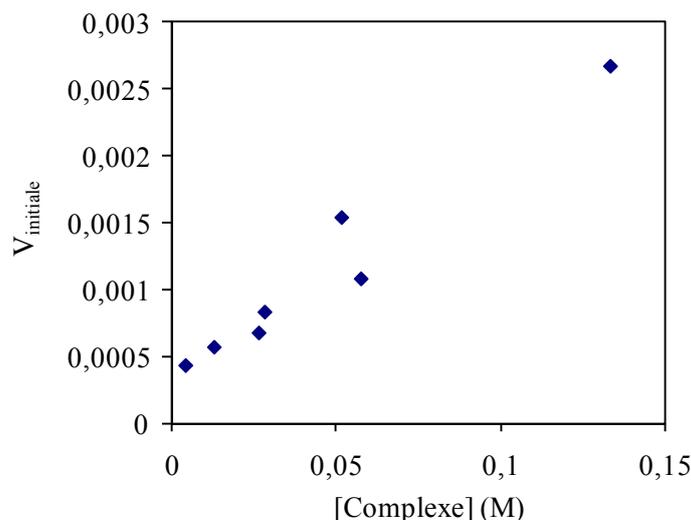
L'étude des variations de la vitesse de la réaction en fonction de la concentration en substrat ou de complexes permet d'obtenir des informations sur le mécanisme de la réaction d'oxydation. Les vitesses initiales ont été déterminées par un suivi des variations de l'absorbance à 400 nm pendant cinq minutes.

Pour l'étude de l'influence de la concentration du substrat, les conditions expérimentales ont été définies comme suit : la concentration en complexe est égale à  $3,33 \cdot 10^{-4}$  M, et celle du substrat varie entre  $1,67 \cdot 10^{-3}$  et  $3,33 \cdot 10^{-2}$  M. En travaillant dans un rapport de l'ordre de ( $R = [\text{DTBC}] / [\text{Complexe}] < 50$ ), on remarque que la vitesse initiale de la réaction d'oxydation ne dépend pas de la concentration en substrat (DTBC), et elle reste constante avec une activité de l'ordre de  $1.3 \mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$  de DTBQ pour le complexe Cu-OGEPU, et  $0.53 \mu\text{mole} / \text{min} / \text{mg}$  pour le complexe Cu-OGEHU (Figure III-19).



*Figure III-19 : Evolution de la vitesse initiale de la réaction d'oxydation du DTBC en DTBQ en fonction de la concentration en substrat engagée*

La même expérience a été réalisée à concentration du substrat constante  $[\text{DTBC}] = 8,8 \cdot 10^{-3}$  M, et concentration en complexe variable entre  $4,35 \cdot 10^{-4}$  M et  $2,67 \cdot 10^{-3}$  M (Figure III-20).



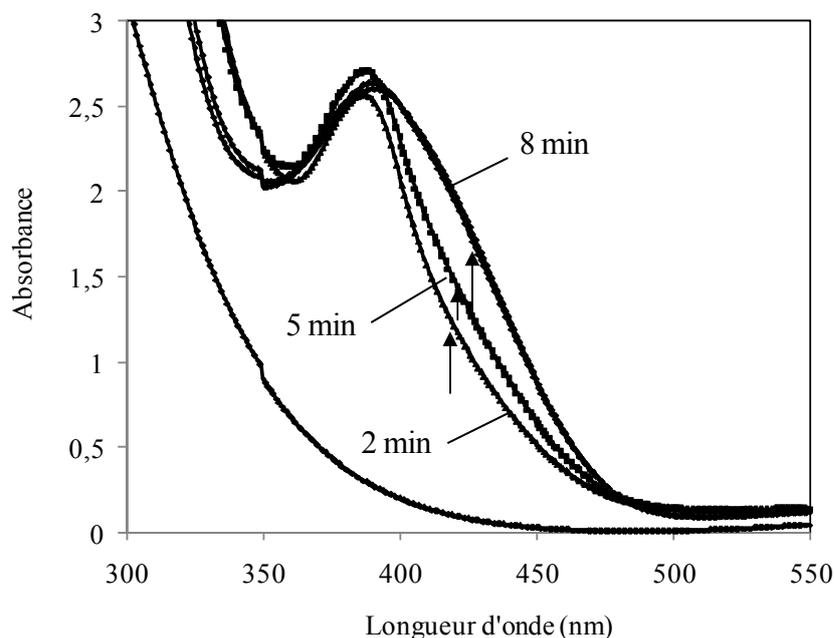
*Figure III-20 : Evolution de la vitesse initiale de la réaction d'oxydation en fonction de la concentration en complexe engagée*

La vitesse initiale de la réaction d'oxydation du DTBC en DTBQ est linéairement dépendante de la concentration de complexe métallique engagé. Ainsi, on peut déduire que la cinétique de cette réaction d'oxydation est de pseudo premier ordre par rapport à la concentration du complexe.

L'ensemble de ces résultats indique que la réaction de réoxydation de l'espèce dinucléaire de cuivre par l'oxygène de l'air constitue l'étape limitante pour tout le cycle catalytique.<sup>227</sup>

Nous avons également observé une diminution drastique de la vitesse initiale de la réaction d'oxydation pour des rapports de  $[DTBC] / [Complexe] > 50$ . Ce phénomène nous a conduit à vérifier l'existence d'un processus de complexation compétitif qui concerne la formation d'une espèce parasite de type cuivre-quinone et limite la formation du complexe intermédiaire de la réaction d'oxydation : cuivre-catéchol. Ce processus a été mis en évidence à partir du changement de l'allure des spectres électroniques d'une solution de DTBC en présence du complexe Cu-*OGEP* introduit en concentration stœchiométrique (Figure III-21).

<sup>227</sup> Gonzales-Alvares, M.; Alzuet, G.; Borrás, J.; Garcia-Granda, S.; Montejo-Bernardo, J. M. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *96*, 443.



*Figure III-21 : Changement de l'allure du spectre UV-visible après 10 minutes de réactivité, d'une solution de DTBC à  $1,3 \cdot 10^{-3}$  M en présence d'un équivalent du complexe Cu-OGÉPU.*

Le déplacement du maximum d'absorbance vers les grandes longueurs d'onde après dix minutes de réaction montre que l'oxydation du DTBC est suivie par la formation d'une espèce de type cuivre (II)-DTBQ. Ainsi, l'application d'un modèle cinétique, comme celui de Michaelis-Menten couramment utilisé pour ce type de réaction ne semble pas être envisageable avec nos systèmes.

### **III-4-3) Catalyse de l'oxydation du 3,5 di-*tert*-butyl catéchol DTBC en 3,5 di-*tert*-butyl quinone DTBQ en milieu aqueux micro-hétérogène en présence des complexes métalliques synthétisés**

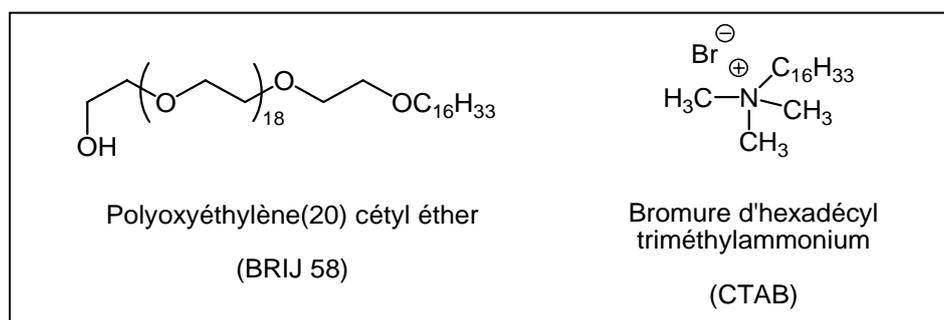
#### **III-4-3-1) Généralités**

L'oxydation du DTBC très faible en milieu aqueux peut être augmentée en présence d'une phase micellaire constituée par des molécules d'agents tensioactifs. Il nous a semblé intéressant de tester l'activité catalytique des complexes Cu-OGÉHU et Cu-OGÉPU en phase micellaire.

Les milieux micellaires présentent divers avantages par rapport au milieu méthanolique. Ils permettent non seulement d'élaborer les réactions en phase aqueuse, mais aussi de mimer le caractère amphiphile qu'engendrent les milieux biologiques. De plus, ces milieux permettent

d'accélérer les vitesses de réaction dans le domaine de la catalyse. Des travaux importants ont été décrits dans la littérature concernant l'utilisation des complexes métalliques comme catalyseurs dans certaines réactions en milieu micellaire telles que l'oxydation du DTBC,<sup>228</sup> ou encore l'hydrolyse des esters et des phospho-esters.<sup>229</sup>

Nous avons choisi d'utiliser deux types de tensioactifs, un tensioactif cationique : le bromure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAB), et un tensioactif non ionique : l'éther de cétyl polyoxyéthylène glycol cétyl éther (BRIJ 58).



*Schéma III-7 : Structure chimique des tensioactifs CTAB et BRIJ 58*

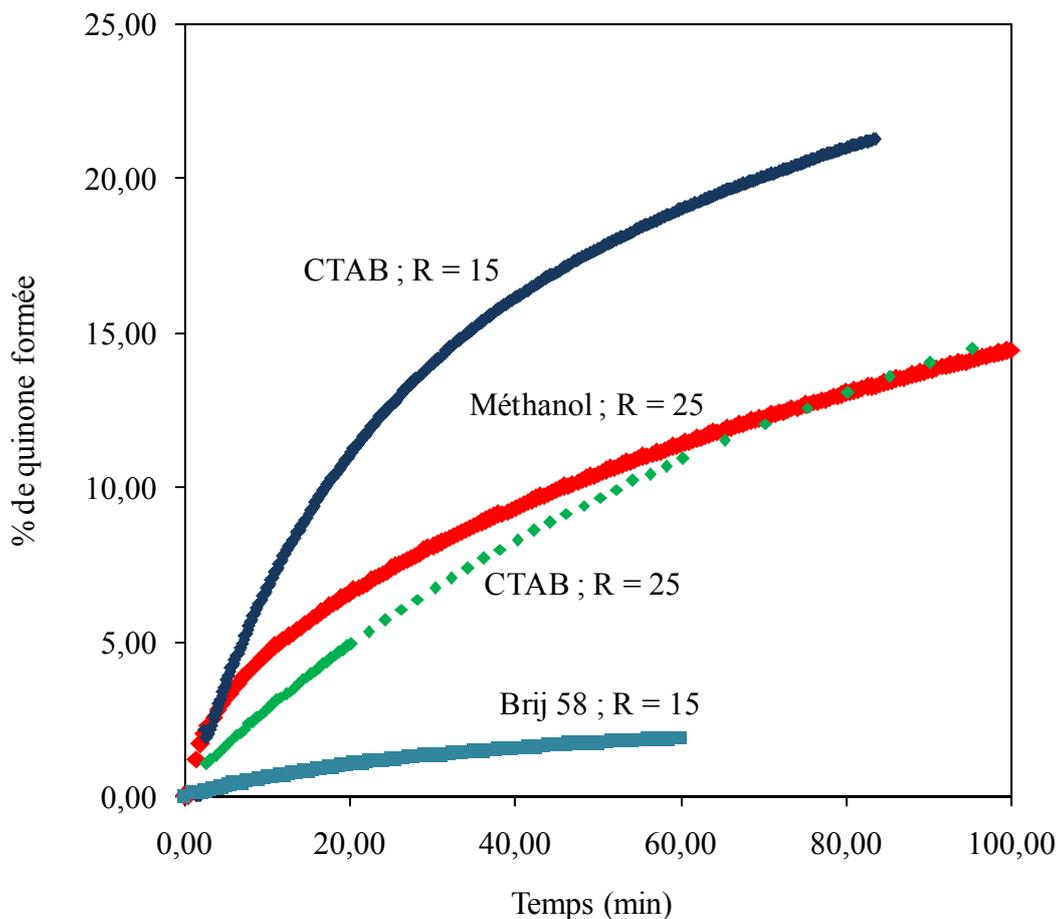
### **III-4-3-2) Catalyse de l'oxydation du DTBC en DTBO en milieu aqueux micro-hétérogène CTAB**

Le DTBC a été solubilisé à une concentration de 1 mM dans une solution aqueuse de CTAB ou de Brij 58 à  $1.10^{-2}$ M. Des solutions millimolaires de complexes Cu-OGEHU et Cu-OGEPU ont été préparées directement dans l'eau et ajoutées aux solutions micellaires du DTBC.

Comme précédemment l'avancement de la réaction a été suivi par spectrophotométrie UV-visible. Les résultats sont présentés sur la figure suivante dans le cas du complexe Cu-OGEHU.

<sup>228</sup> (a) Lim, Y. Y.; Lim, K. H.; Khan, M. N. *Coll. Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **1997**, 121, 239. (b) You, J.-S.; Yu, X.-Q.; Su, X.-Y.; Wang, T.; Xiang, Q.-X.; Yang, M.; Xie, R.-G. *J. Mol. Catal A: Chem.* **2003**, 202, 17. (c) Siqing, C.; Xiancheng, Z.; Xiangguang, M.; Xiaoqi, Y. *J. Coll. Interface Sci.* **2000**, 224, 333.

<sup>229</sup> (a) Scrimin, P.; Tecilla, P.; Tonellato, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 5087. (b) Scrimin, P.; Ghirlanda, G.; Tecilla, P.; A. Moss, R. *Langmuir* **1996**, 12, 6235.



*Figure III-22 : Comparaison des activités catalytique du complexes Cu-OGEHU vis à vis de l'oxydation du DTBC et DTBQ en milieu méthanolique et en milieu micellaire (CTAB)  $[DTBC] = 1.10^{-3} M$  et  $[Cu-OGEHU] = 3,9.10^{-5} M$*

En milieu CTAB, pour un rapport  $R = [DTBC] / [Cu] = 15$ , on remarque après 30 minutes de réaction un taux de conversion du DTBC en DTBQ de l'ordre de 14%.

Par ailleurs, dans un rapport de  $R = [DTBC] / [Complexe] = 25$ , on a comparé les résultats obtenus en milieu micellaire (CTAB), avec ceux obtenus dans le méthanol pour le complexe Cu-OGEHU. Cette figure montre que le complexe Cu-OGEHU conserve en milieu micellaire (CTAB) une activité catalytique identique à celle observée en milieu méthanolique.

En présence de BRIJ 58 l'activité oxydante du complexe Cu-OGEHU chute énormément, puisque dans un rapport  $R = [DTBC] / [Cu] = 15$ , on remarque qu'en 30 minutes de réactivité, on obtient une conversion du DTBC en DTBQ de l'ordre de 1,3% soit 10 fois moins importante que celle obtenu en milieu CTAB pour ce même complexe

Les essais réalisés avec le complexe Cu-*OGEP*U (non représentés ici) indiquent un comportement similaire à celui du complexe Cu-*OGEH*U, avec néanmoins une réactivité moindre en milieu CTAB qu'en milieu méthanol.

Ces premiers résultats montrent clairement l'intérêt d'utiliser ces complexes pour la catalyse de réactions d'oxydation en phase micellaire. Nos résultats montrent des taux de conversion intéressants du DTBC en DTBQ. Toutefois, les conditions expérimentales restent à optimiser. Pour aboutir à des systèmes efficaces d'un point de vue catalytique, il faudrait : i) prendre en compte l'influence du pH sur la réaction d'oxydation, cela revient à identifier la forme du complexe la plus réactive vis-à-vis du DTBC, ii) étudier d'une manière plus approfondie les phénomènes d'agrégation des ligands ainsi que des complexes cuivriques dans l'eau, avec une caractérisation physicochimique complète des complexes en phase aqueuse, iii) effectuer une étude thermodynamique de la réaction de complexation en milieu micellaire pour obtenir des données sur la solubilité des complexes dans ce milieu.

L'ensemble des informations recueillies permettrait de définir des améliorations possibles dans le design du ligand en modifiant par exemple la longueur de la chaîne alkyle et la nature de la partie complexante.

#### **III-4-3-2) Conclusion**

Lors de cette étude en milieu micellaire, de bonnes conversions du DTBC en DTBQ en présence des complexes cuivriques amphiphiles synthétisés ont été obtenues. Ces résultats sont tout à fait comparables à ceux obtenus dans le méthanol dans le cas du complexe Cu-*OGEH*U. Toutefois, les conditions expérimentales restent à améliorer afin d'obtenir des résultats encore plus performants non seulement en milieu aqueux micro hétérogène ionique (CTAB), mais aussi en milieu aqueux micro hétérogène non ionique (BRIJ 58).

#### **III-4-4) Action des ligands et des complexes synthétisés sur la tyrosinase**

Après les études dédiées à la mesure de l'activité catalytique propre des complexes cuivriques vis-à-vis de la réaction d'oxydation du 3,5-di-*tert*-butyl catéchol en quinone, nous avons souhaité étudier l'influence de ces complexes et des ligands associés sur l'activité de la tyrosinase. Pour cette enzyme à cuivre, l'apport de Cu (II) exogène ou, à l'inverse, la présence d'un ligand capable de « confisquer » le cofacteur métallique pourrait influencer la vitesse de la réaction enzymatique.

### III-4-4-1) Mise au point du test d'activité de la tyrosinase

Nous avons mis au point au laboratoire le test enzymatique permettant d'évaluer l'activité de la tyrosinase, en nous appuyant sur un protocole proposé par Chen.<sup>230</sup> L'activité de l'enzyme est déterminée par spectrophotométrie UV-visible en suivant l'évolution de la réaction d'oxydation de la L-DOPA en Dopachrome à 475 nm. Pour le test standard, le milieu d'incubation (1 mL) contient i) le substrat L-DOPA (0,5 mM), ii) la tyrosinase de champignon (40 unités), iii) l'inhibiteur, dans un tampon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$  50 mM (pH 6,8).

Dans les conditions décrites ci-dessus, nous avons pu déterminer la constante de Michaelis  $K_m$  associée à cette transformation. Les courbes cinétiques (Figure III-23) ont été mesurées à différentes concentrations en substrat (0,20 à 1,5 mM) : la vitesse de réaction est indiquée par la pente des droites. Un tracé selon Lineweaver-Burk conduit à  $K_m = 0,38$  mM (Figure III-24). Cette valeur est en accord avec les données de la littérature (typiquement,  $K_m = 0,48$  mM).

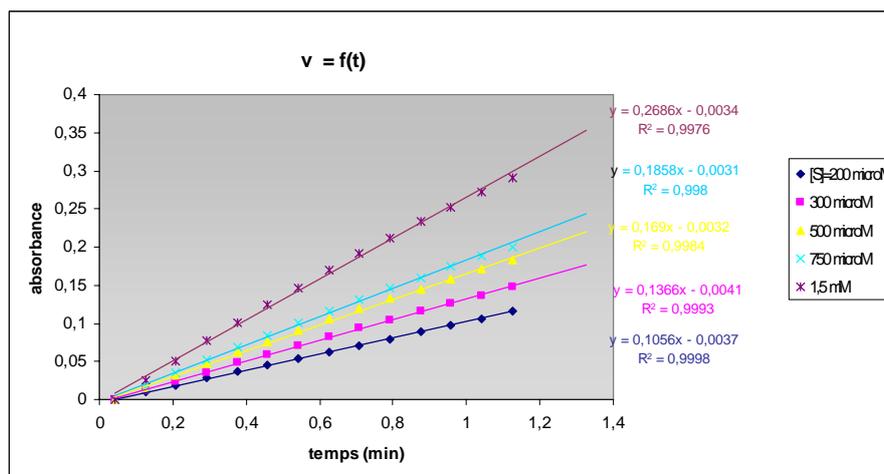


Figure III-23 : Courbes cinétiques mesurées à différentes concentrations en substrat

<sup>230</sup> Chen, Q. X.; Kubo, I. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, 50, 4108.

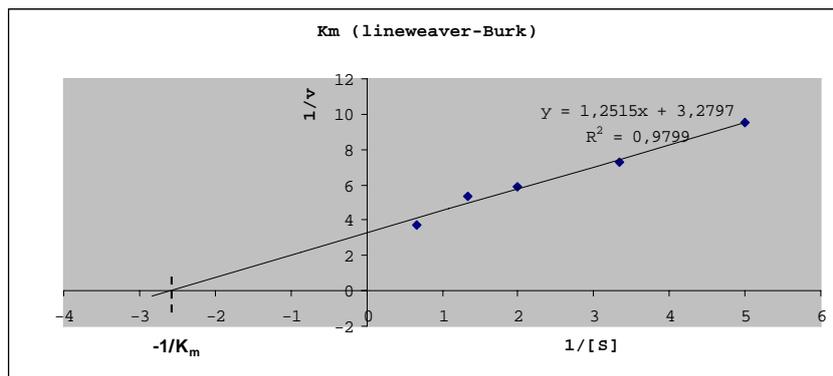
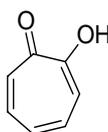


Figure III-24 : Tracé selon Lineweaver-Burk pour la détermination de la constante de Michaelis  $K_m$

Nous avons souhaité contrôler notre protocole expérimental par analyse de la tropolone, un inhibiteur standard de la tyrosinase.



tropolone

Nous avons mesuré l'activité de la tyrosinase en présence de tropolone, à différentes concentrations (0,2-20  $\mu\text{M}$ ). Les courbes cinétiques correspondantes sont rapportées ci-dessous (Figure III-25)

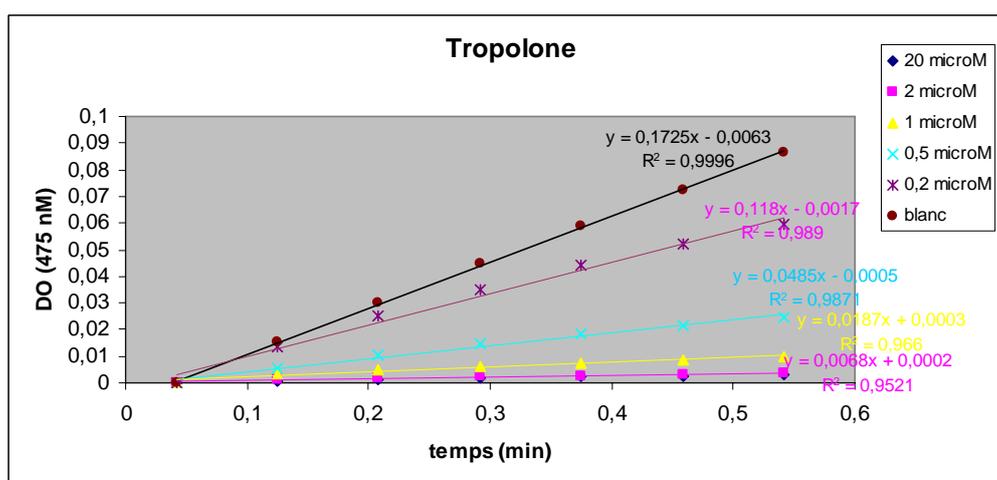


Figure III-25 : Mesure de l'activité de la tyrosinase en présence de la tropolone

Le traitement cinétique des données nous a permis de déterminer une IC<sub>50</sub> (concentration en tropolone conduisant à une diminution de 50% de la vitesse initiale) de 0,35 µM. Cette valeur est du même ordre de grandeur que celle de la littérature (IC<sub>50</sub>=0,40 µM), ce qui valide notre protocole expérimental.<sup>231</sup>

### III-4-4-2) Influence des ligands et complexes cuivriques sur l'activité de la tyrosinase

#### III-4-4-2-a) Inhibition de la tyrosinase par les ligands D-galactoside uronamides

Dans cette première série d'essais nous avons souhaité déterminer le pouvoir inhibiteur des ligands. Pour chaque composé **2a**, **3a**, **4a**, **5a** et **6a** nous avons mesuré dans un premier temps la vitesse de transformation V<sub>i</sub> de la L-DOPA à une concentration en inhibiteur de **10 mM**.

Le % d'inhibition de l'enzyme est donné par :

$$\% I = \left( \frac{V_0 - V_i}{V_0} \right) \times 100$$

V<sub>0</sub> : vitesse en absence d'inhibiteur  
V<sub>i</sub> : vitesse en présence d'inhibiteur

La figure ci-dessous illustre l'action du ligand **3a** sur la tyrosinase.

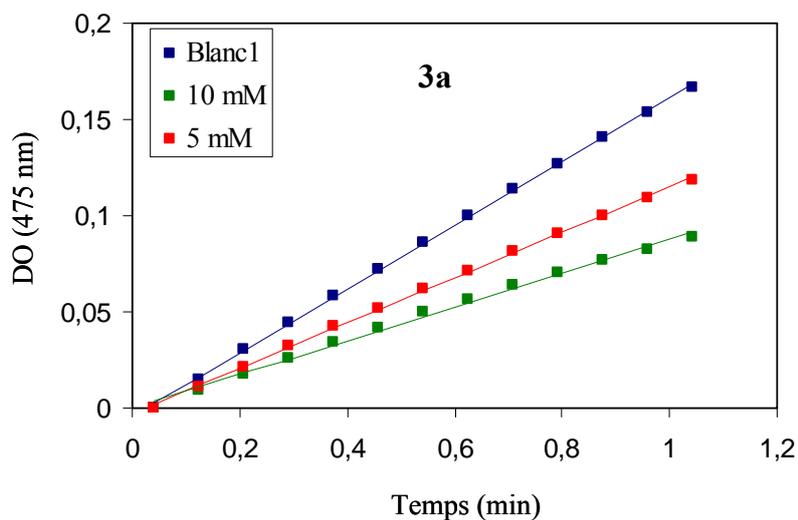


Figure III-26 : Suivi cinétique de l'inhibition de la tyrosinase en présence du ligand **3a**

<sup>231</sup> Kahn, V.; Andrawis, A. *Phytochemistry* **1985**, 24, 905.

Cette première série de mesure a montré que le pouvoir inhibiteur des ligands est très variable suivant la nature de la partie complexante (Tableau III-8). Les ligands **4a** et **5a** ont un effet très faible sur l'activité de la tyrosinase à cette concentration (8% et 25% d'inhibition, respectivement). Une inhibition modeste de 45% est observée avec **3a** alors que les dérivés **2a** et **6a** conduisent à une inhibition totale de l'activité enzymatique à une concentration de 10 mM.

Tableau III-8 : Taux d'inhibition et valeurs d'IC<sub>50</sub> des différents ligands synthétisés sur l'action de la Tyrosinase en cycle diphénolase

Ligand	Concentration (mM)	Inhibition (%)	IC50 (mM)
<b>2a</b> (OGMPU)	<b>10</b>	<b>98</b>	6,10
	5	43	
<b>3a</b>	<b>10</b>	<b>45</b>	11,23
	5	29	
<b>4a</b> (OGEHU)	<b>10</b>	<b>8</b>	nd <sup>a</sup>
	5	6	
<b>5a</b> (OGEPU)	<b>10</b>	<b>25</b>	nd <sup>a</sup>
	5	19	
<b>6a</b>	0,5	40	0,7
	2	98	
a) nd : non déterminé			

Pour les composés **2a**, **3a**, **6a**, une détermination de l'IC<sub>50</sub> a pu être réalisée par mesure de l'activité enzymatique à des concentrations plus faibles en inhibiteur (Tableau III-8). En général les composés ont été testés à 5 concentrations différentes et l'IC<sub>50</sub> est déterminée par des tracés selon Dixon comme illustré ci-dessous pour le composé **3a**.

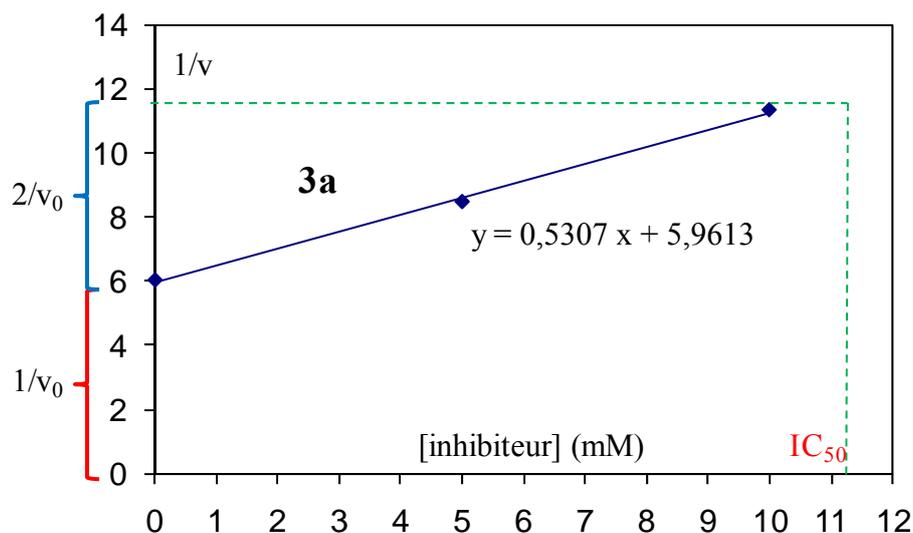


Figure III-27 : Détermination de la valeur d'IC<sub>50</sub> pour le ligand **3a**

Les ligands D-galactoside uronamide synthétisés présentent une inhibition vis-à-vis de la tyrosinase de l'ordre du millimolaire. Ces valeurs restent faibles comparées à celles rencontrées dans la littérature.<sup>232</sup>

Cette inhibition mise en évidence pour ces ligands est probablement due à l'effet complexant de ces derniers, qui rentrent en compétition avec la tyrosinase pour la complexation des atomes cuivriques présents dans le site actif de l'enzyme.

#### III-4-4-2-b) Evolution de l'activité tyrosinase en présence des complexes cuivriques

Après avoir étudié l'activité inhibitrice des ligands D-galactoside uronamide, nous nous sommes intéressés à l'activité des complexes cuivriques: Cu<sub>2</sub>OGMPU<sub>2</sub> (Cu<sub>2</sub>-(**2a**)<sub>2</sub>), Cu-OGEHU (Cu-**4a**) et Cu-OGEPU (Cu-**5a**), en utilisant le protocole décrit précédemment.

De façon surprenante, nous avons montré que les complexes présentaient, eux-aussi, une activité inhibitrice de la tyrosinase. Le tableau suivant résume les résultats obtenus concernant les taux d'inhibition, ainsi que les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour les différents complexes.

<sup>232</sup> (a) Liu, J.; Cao, R.; Yi, W.; Ma, C.; Wan, Y.; Zhou, B.; Ma, L.; Song, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1773.  
 (b) Zhuang, J.-X.; Li, W.-G.; Zhong, X.; Zhou, J.-J.; Chen, Q.-X. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2009**, *24*, 251.

*Tableau III-9 : Taux d'inhibition de la tyrosinase et valeurs d'IC<sub>50</sub> des différents complexes synthétisés sur l'action de la Tyrosinase en cycle diphénolase*

Complexe	Concentration (mM)	Inhibition (%)	IC <sub>50</sub> (mM)
Cu <sub>2</sub> (OGMPU) <sub>2</sub>	0,35	40	0,40
	0,4	50	
Cu-OGEHU	0,2	21	0,38
	0,35	44	
	0,5	63	
	1	90	
Cu-OGEPU	0,2	41	0,25
	0,35	56	
	0,5	72	

Ces résultats montrent que les complexes cuivriques présentent des valeurs d'IC<sub>50</sub> inférieures à celles des ligands correspondants. Ce résultat est très surprenant car des travaux de la littérature ont montré qu'un apport exogène de cuivre aurait tendance à activer l'enzyme, et augmenter ainsi la cinétique d'oxydation.<sup>2</sup>

Cet effet inhibiteur des complexes cuivriques peut être lié à plusieurs facteurs tels que i) les conditions opératoires : la nature du tampon peut jouer un rôle dans la dé-coordination des complexes, ou ii) la formation de complexes mixtes avec le substrat L-DOPA, ce qui rendrait ce dernier moins disponible dans le milieu pour être oxydé par la tyrosinase.

#### III-4-4-2-c) Conclusion

Les premiers tests enzymatiques ont montré que tout comme les ligands, les complexes cuivriques ont un effet inhibiteur sur la tyrosinase.

Finalement, ces tests enzymatiques nous ont amené à nous interroger sur trois points essentiels :

- 1) Est-ce que le complexe cuivrique se décomplexe dans la solution tampon, ce qui induirait une libération du ligand neutre, qui serait responsable de l'inhibition de la tyrosinase ? Il faudrait mettre en place de nouveaux modes opératoires, en travaillant dans un tampon plus alcalin et capable d'assurer la stabilité des complexes métalliques.

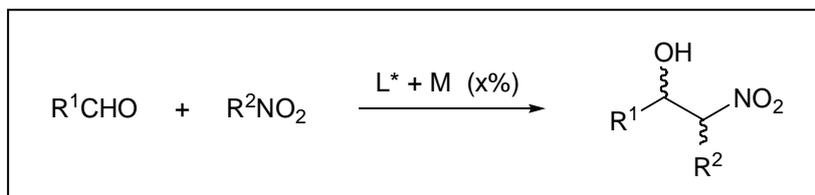
- 2) Est ce que la formation de structures mixtes entre les complexes cuivriques et le substrat L-DOPA serait la cause de l'inhibition enzymatique ? Pour répondre à cette question, des études complémentaires doivent être mises en œuvres, telles que, des études RPE sur des solutions « enzyme + substrat » en présence et en absence du complexe, ceci peut mettre en évidence la présence de complexe mixte en fonction des spectres RPE obtenu, ou encore travailler en excès de substrat, et voir l'influence de ce paramètre sur l'activité de l'enzyme.
- 3) Ces complexes sont-ils vraiment, d'une manière inattendue, des inhibiteurs de la tyrosinase ? Si oui, il faut comprendre leur mode d'action afin d'améliorer leur performance en synthétisant des complexes cuivriques plus adaptés qui peuvent former des complexes mixtes stables en présence du substrat L-DOPA.

### III-4-5) Réaction de Henry

#### III-4-5-1) Introduction à la réaction de Henry

La réaction de Henry est une nitroaldolisation qui permet la formation d'une liaison C–C de façon très efficace. Cette réaction de couplage entre un nucléophile généré à partir d'un nitroalcane et un dérivé carbonyle a été découverte en 1895.<sup>233</sup> Le produit de cette réaction, un  $\beta$ -nitroalcool, représente un intermédiaire polyvalent en synthèse organique. Cependant, les domaines d'application de cette transformation sont restés inexplores jusqu'à la fin du XX<sup>ème</sup> siècle, à cause de l'absence de catalyseurs permettant l'obtention d'un seul isomère majoritaire pour cette transformation.

La première version asymétrique de la réaction de Henry a été rapportée par Shibasaki en 1992.<sup>234</sup> Ainsi, dès lors, différentes études ont été réalisées sur cette réaction, et plusieurs complexes métalliques, en particulier des complexes de Cu (II) ont montré leur efficacité.<sup>235</sup>



<sup>233</sup> Henry, L. C. R. *Hebd. Seances. Acad. Sci.* **1895**, 120, 1265.

<sup>234</sup> Sasai, H.; Takeyuki, S.; Arai, T.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 4418.

<sup>235</sup> (a) Luzio, F. A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 915. (b) Shibasaki, M.; Yoshikawa, N. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 2187. (c) Trost, B. M.; Yeh, V. S. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 114, 889. (d) Palomo, C.; Oiarbide, M.; Laso, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 117, 3949. (e) Boruwa, J.; Gogoi, N.; Saikia, P. P.; Barua, N. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 315.

Schéma III-8 : Réaction de Henry

Différents types de ligands et de métaux ont été testés pour cette transformation asymétrique, afin de favoriser l'obtention d'un seul stéréoisomère majoritaire. A titre d'exemple, l'équipe de Shibasaki<sup>234,236</sup> a rapporté l'utilisation du BINOL comme ligand chiral, associé à des terres rares. D'autre part, Trost et *al.*<sup>237</sup> ont révélé une nouvelle classe de complexes dinucléaires de Zinc pour la mise en place de cette transformation asymétrique. Ils ont réussi à obtenir des excès énantiomériques de l'ordre de 93% à partir d'aldéhydes  $\alpha$ -branchés en  $\beta$ -nitroalcools. Cependant, les rendements, ainsi que les excès énantiomériques pour les aldéhydes linéaires restent très faibles.

Plusieurs complexes cuivriques chiraux ont été décrits pour ce type de transformation, en particulier par l'équipe de Jorgensen,<sup>238</sup> qui a réalisé la synthèse d'une série de ligands de type bis(oxazoline) qui en combinaison avec Cu(OTf)<sub>2</sub>, avec la présence d'une base telle que la triéthylamine (Et<sub>3</sub>N), conduit à des rendements de réaction de l'ordre de 95% avec 92% d'excès énantiomérique (Schéma III-9).

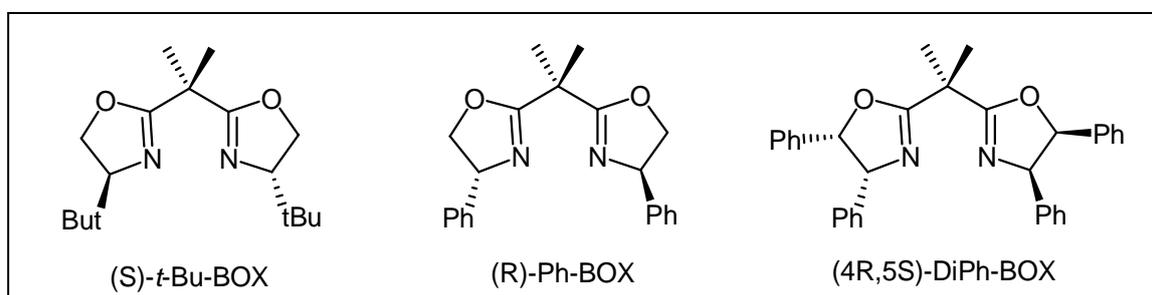


Schéma III-9 : Ligands bis(oxazoline) synthétisés par l'équipe de Jorgensen

D'un autre côté, Evans et *coll.*<sup>239</sup> ont développé de nouveaux complexes Cu-bis(oxazoline) qui ont un effet catalytique très important sur la réaction de nitroaldolisation asymétrique en présence d'une variété d'aldéhydes avec d'excellents rendements et excès énantiomériques (Schéma III-10). L'avantage que représente ces nouveaux catalyseurs par rapport à ceux décrits par l'équipe de Jorgensen, est que la mise au point de la réaction de Henry dans ce cas

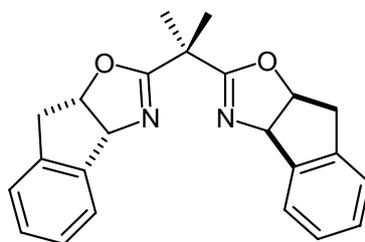
<sup>236</sup> Takaoka, E.; Yoshikawa, N.; Yamada, Y.; Sasai, H.; Shinasaki, M. *Heterocycles* **1997**, *46*, 157.

<sup>237</sup> (a) Trost, B. M.; Yeh, V. S. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 861. (b) Trost, B. M.; Yeh, V. S. C. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2621.

<sup>238</sup> (a) Christensen, C.; Juhl, K.; Jorgensen, K. A. *Chem. Commun.* **2001**, 2222. (b) Christensen, C.; Juhl, K.; Hazell, R.; Jorgensen, K. A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4875.

<sup>239</sup> Evans, D. A.; Seidel, D.; Rueping, M.; Lam, H. W.; Shawn, J. T.; Downey, C. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12692.

n'a pas besoin d'un apport externe de base. Le design de ces catalyseurs permet de créer une charge modérée sur le complexe métal ligand, qui, en se liant au nitroalcane permet de déprotoner ce dernier, et déclencher ainsi le processus d'aldolisation.

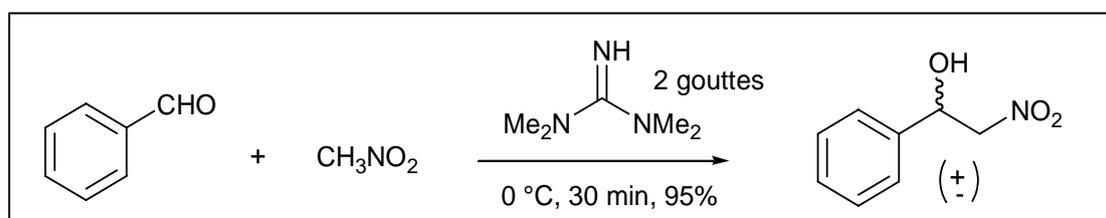


(4R,5S)-Indane-BOX

*Schéma III-10 : Ligands bis(oxazoline) synthétisés par l'équipe d'Evans*

### III-4-5-2) Catalyse de la réaction de Henry en présence du complexe métallique $Cu_2OGMPU_2$

Nous avons souhaité étudier les potentiels du complexe  $Cu_2OGMPU_2$  comme catalyseur de la réaction de nitroaldolisation entre le benzaldéhyde et le nitrométhane. Dans un premier temps, nous avons synthétisé le mélange racémique selon une méthode décrite par Simoni,<sup>240</sup> et qui nous servira de référence lors des analyses HPLC (Schéma III-11).



*Schéma III-11 : Réaction de Henry par l'équipe de Simoni*

Nous avons isolé le 1-phényl-2-nitroéthanol avec un rendement de l'ordre de 95%, en suivant le protocole décrit.

L'analyse du mélange racémique sur une colonne HPLC Chirale OD-H en utilisant comme éluant : Hexane / isopropanol (85 / 15), révèle la présence des deux isomères R et S avec des temps de rétention de : (R)-1-phényl-2-nitroéthanol ( $t_r = 12,93$  min) et (S)-1-phényl-2-nitroéthanol ( $t_r = 15,27$  min) (Figure III-28).

<sup>240</sup> Simoni, D.; Invidiata, F. P.; Manfredini, S.; Ferroni, R.; Lampronti, I.; Roberti, M.; Pollini, G. P. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2749.

3<sup>ème</sup> Chapitre : Etude de complexation des ligands uronamides avec les ions Cu (II), synthèse des complexes cuivriques à l'état solide et applications

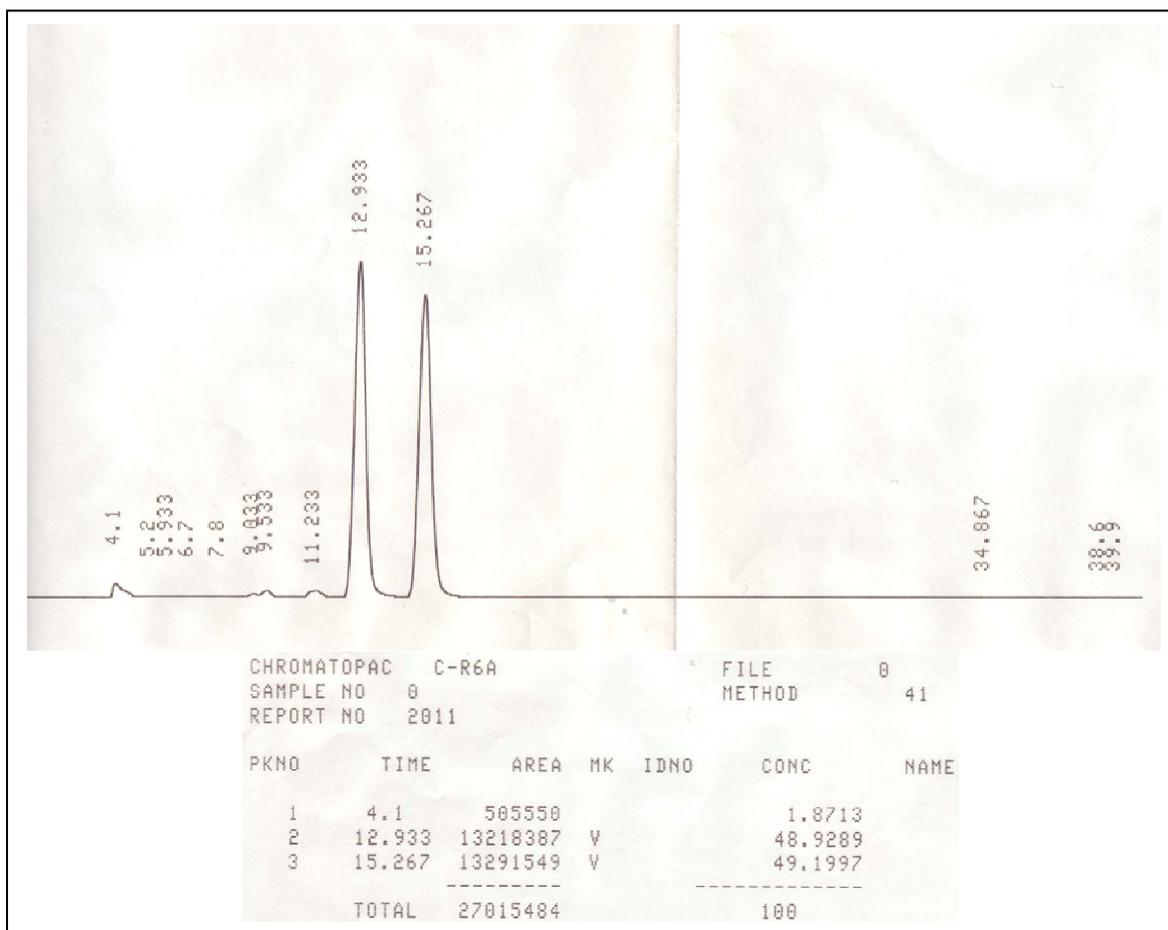
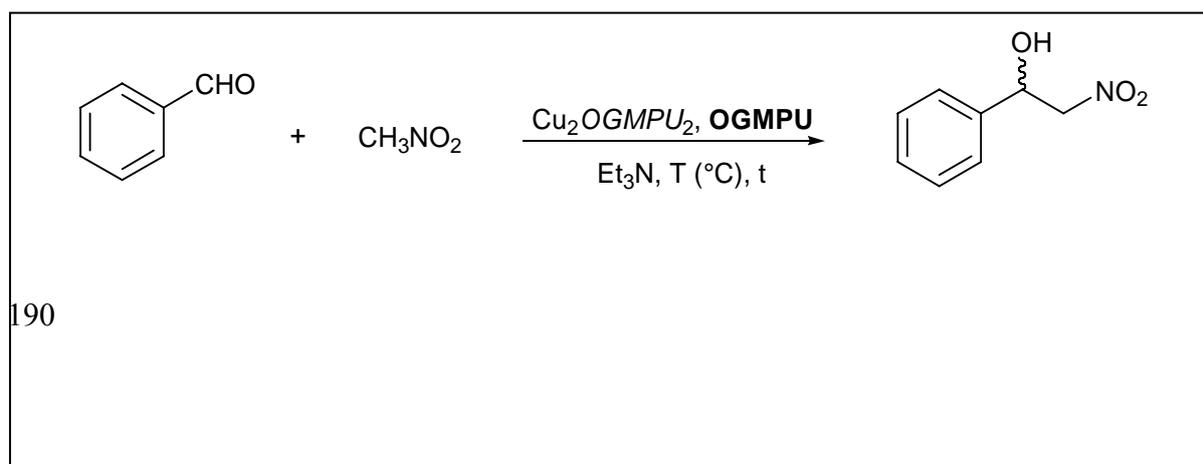


Figure III-28 : Analyse du mélange racémique sur une colonne HPLC chirale OD-H

Ensuite, nous avons réalisé différents essais en présence du complexe  $Cu_2OGMPU_2$ . Le tableau suivant résume les résultats significatifs obtenus lors de cette étude.

Tableau III-10 : Résultats obtenus pour la réaction de Henry en présence du complexe  $Cu_2OGMPU_2$



Essai	% (NEt <sub>3</sub> )	% (OGMPU)	% (Cu <sub>2</sub> OGMPU <sub>2</sub> )	t	Rdt (%)	e.e
0	0	0	10	20 h	0	0
1	7	0	0	12 h	91	0
2	7	0	10	12 h	62	0
3	0	5	10	8 j	60	0

L'utilisation du complexe seul n'induit pas la réaction d'aldolisation à cause de son caractère peu basique. La réaction ne marche qu'en présence de base (essai 1, tableau III-10), puisqu'avec la triéthylamine, un rendement de 91% est obtenu en faveur du mélange racémique. Par ailleurs, la combinaison du complexe Cu<sub>2</sub>OGMPU<sub>2</sub> et de la base ne permet pas d'induire un excès énantiomérique et on observe une diminution au niveau du rendement du produit racémique. Enfin, l'utilisation de 5% du ligand OGMPU et 10% du complexe cuivrique correspondant permet d'obtenir un rendement de 60% au bout de 8 jours, mais malheureusement, aucun excès énantiomérique n'a été obtenu pour cette réaction.

#### **III-4-6) Conclusion générale**

Les complexes cuivriques synthétisés ont montré une capacité d'activation vis-à-vis de la réaction d'oxydation du 3,5 di-*tert*-butyl catéchol (DTBC) en 3,5 di-*tert*-butyl quinone (DTBQ) non seulement en milieu méthanolique, milieu dans lequel ce type d'oxydation catalytique est souvent réalisé, mais aussi en milieu micellaire en présence de tensioactif ionique (CTAB) ou non ionique (BRIJ 58). Différents rapports  $R = [DTBC] / [Cu]$  ont été testés pour ce type de réaction, et ont donné des conversions de substrat assez prometteuses en milieu micellaire, étude qui pourrait se développer dans des projets ultérieurs grâce à l'innocuité de ce milieu, en comparaison au méthanol qui est le solvant de choix pour cette oxydation.

D'autre part, nous avons réalisé des tests biologiques sur la tyrosinase, et plus exactement sur l'activité diphenolase qui vise l'oxydation de la L-DOPA en Dopachrome. Ces tests ont été effectués dans un premier temps sur les ligands **2a-6a**, qui ont montré un faible pouvoir inhibiteur compris entre 6 et 96 mM. Seul le ligand **6a** présente une valeur d'IC<sub>50</sub> encourageante de 7 mM et qui est comparable à certains inhibiteurs de la littérature.<sup>232</sup> Dans un deuxième temps, nous avons testé l'action des complexes synthétisés sur l'évolution de

l'activité de la tyrosinase. Les résultats obtenus montrent que les complexes sont de meilleurs inhibiteurs de l'enzyme avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> comprises entre 0,25 et 0,4 mM. Cette inhibition est très probablement due à la complexation du substrat L-DOPA avec le cuivre exogène apporté par le complexe, ce qui rend le substrat moins disponible dans le milieu sous sa forme non complexée, et donc une diminution du taux de sa conversion en Dopachrome. Pour vérifier cette hypothèse, des études sont en cours concernant l'influence de la quantité de la L-DOPA dans le milieu sur le pourcentage d'activité de la tyrosinase.

Par ailleurs, dans le domaine de la catalyse organométallique, malgré les différents essais réalisés pour la catalyse de la réaction de Henry, aucun excès énantiomérique n'a été observé en présence du complexe cuivrique chiral Cu<sub>2</sub>OGMPU<sub>2</sub>. Le potentiel de ces dérivés semble donc limité pour cette transformation.

### **III-5) Partie expérimentale**

#### **III-5-1) Préparation des solutions pour l'étude thermodynamique**

Les solutions sont préparées en utilisant de l'eau distillée filtrée sur filtre Millipore de porosité 0,2 µm afin de limiter le développement éventuel de microorganismes lors de leur stockage. Elles sont ajustées à une force ionique de 0,1 par ajout d'un sel de fond, le chlorure de sodium NaCl.

Les solutions d'acide chlorhydrique HCl et d'hydroxyde de sodium NaOH à 0,1 mol.L<sup>-1</sup> sont préparées par dilution de solutions molaires PROLABO. Les solutions molaires sont préparées à partir de Normadose PROLABO.

Les solutions de cations métalliques sont préparées à une concentration de 0,1 mol.L<sup>-1</sup> dans l'eau à partir des nitrates correspondants. Leur titre exact est déterminé par spectrométrie d'émission atomique. Des solutions moins concentrées sont préparées par dilution en présence de sel de fond.

### **III-5-2) Etude thermodynamique et structurale des complexes en solution**

#### **III-5-2-1) Protométrie**

##### **III-5-2-1-a) Principe**

La protométrie est utilisée pour déterminer les constantes d'acidité des ligands. Elle est également adaptée à l'étude des réactions de complexation lorsque celles-ci s'accompagnent d'une variation de pH due à la libération des protons du ligand. Cette méthode est basée sur la comparaison des courbes de neutralisation par la base du ligand seul et en présence de métal dans des rapports  $R = [L] / [M]$  variables, [L] et [M] étant respectivement les concentrations analytiques en ligand et en cation métallique introduits en solution. Les réactions de complexation entraînant une libération de protons supplémentaires par rapport à la neutralisation du ligand seul, la solution aura un caractère acide d'autant plus fort que le complexe sera stable. Le plus souvent, l'analyse des points d'inflexion permet de déterminer la stœchiométrie des complexes formés.

##### **III-5-2-1-b) Dispositif expérimental et acquisition des données**

La chaîne de mesures informatisée comprend :

- une microburette METROHM Dosimat 765 munie d'une unité interchangeable de 1 mL. L'extrémité de la pointe plongeant dans la solution est munie d'une soupape anti-diffusion en téflon,
- un pH-mètre à microprocesseur METROHM 713 permettant de mesurer le pH au millième à l'aide d'une électrode combinée METROHM AG 9101 (élément de référence Ag/AgCl et solution de remplissage KCl 3 mol.L<sup>-1</sup>). La microburette et le pH-mètre sont pilotés par un logiciel développé au laboratoire,

- une cellule de mesure reliée à un bain thermostaté HAAKE K20 à circulation d'eau.

L'étalonnage du pH-mètre a été effectué avant chaque dosage, à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique de titre connu exactement ( $1.10^{-2}$  mol.L<sup>-1</sup>) et de force ionique égale à 0,1. Les titrages protométriques sont effectués à  $20 \pm 0,1$  °C, sous balayage d'azote. L'azote est préalablement saturé par barbotage dans une solution de NaCl 1 M, afin d'éviter l'évaporation de la solution dans la cellule de mesure.

Le produit ionique de l'eau a été déterminé à la force ionique de 0,1 et à 20 °C. Cette détermination est basée sur l'exploitation des points expérimentaux de plusieurs courbes de titrage de l'acide chlorhydrique, à différentes concentrations, par l'hydroxyde de sodium. Dans nos conditions, la valeur du produit ionique dans le système eau / méthanol a été déterminée à 13,82, et dans l'eau à 13,91. Au cours d'une série de dosages, nous effectuons régulièrement des titrages de solutions d'acide chlorhydrique afin de s'assurer de la reproductibilité de la réponse de l'électrode au cours du temps spécialement en milieu alcalin. La valeur du pK<sub>e</sub> est prise en compte lors de l'affinement des titrages protométriques pour calculer les constantes d'acidité et de formation.

L'acquisition des données protométriques (couples V, pH) a été réalisée à l'aide d'un logiciel mis au point au laboratoire qui permet entre autre de :

- choisir les différents incréments de volume de soude ajoutés au cours du dosage,
- d'imposer un critère de stabilité sur la mesure du pH ainsi que le nombre de mesures sur lequel ce critère doit être vérifié. En général, nous utilisons un critère de stabilité de 0,001 unité pH et pour chaque ajout de réactif 30 mesures successives de pH sont réalisées. Chacune des mesures est ensuite comparée à la valeur moyenne calculée sur l'ensemble des 30 mesures. La mesure est validée lorsque que le critère de stabilité est vérifié sur 30 mesures consécutives. Le logiciel permet également de déceler une éventuelle dérive du pH due notamment à une précipitation de complexes ou d'hydroxydes métalliques.

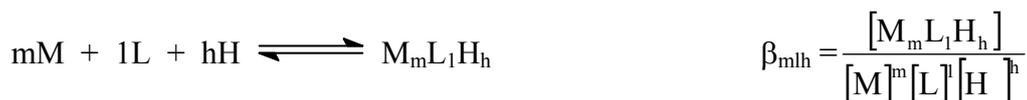
#### III-5-2-1-c) Mesures protométriques et exploitation des données

Les titrages de solutions de volume total 25 mL, en présence et en absence de métal à différents rapports [L] / [M], ont été effectués par de l'hydroxyde de sodium 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. En outre, les titrages sont réalisés en présence d'un excès d'acide chlorhydrique à une concentration de  $4,0.10^{-3}$  ou  $6,0.10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> selon les ligands étudiés afin de démarrer à un pH suffisamment faible et de reprotoner le ligand. De même, il convient de préciser que dans

la majorité des cas, la concentration en ligand reste constante et seule la concentration du cation métallique varie.

Les données des titrages (couples volume-pH) sont exploitées pour déterminer les constantes de formation des espèces complexes par le programme d'affinement Hyperquad.<sup>241</sup>

Les constantes de formation des complexes sont déterminées en affinant les courbes de neutralisation à partir des hypothèses déduites de l'analyse qualitative d'un ensemble de titrages. Le programme Hyperquad est basé sur une méthode des moindres carrés non linéaire, consistant à minimiser la somme pondérée des carrés des résidus sur les variables expérimentales : volume de potasse V et pH. Les constantes globales de formation  $\beta_{mlh}$  d'un complexe  $M_mL_lH_h$  correspondent aux équilibres du type (les charges sont omises) :



En chaque point i (correspondant à un couple volume de potasse, pH), les trois équations bilan suivantes doivent être vérifiées simultanément :

$$C_{Mi} = [M]_i + \sum_{mlh} m\beta_{mlh} [M]_i^m [L]_i^l [H]_i^h$$

$$C_{Li} = [L]_i + \sum_{mlh} l\beta_{mlh} [M]_i^m [L]_i^l [H]_i^h$$

$$C_{Hi} = [H]_i + \sum_{mlh} h\beta_{mlh} [M]_i^m [L]_i^l [H]_i^h$$

Les résidus sur les variables expérimentales sont définis par :

$$R_{Vi} = V_i(\text{expérimental}) - V_i(\text{ajusté})$$

$$R_{pHi} = \text{pH}_i(\text{expérimental}) - \text{pH}_i(\text{ajusté})$$

La somme S à minimiser s'écrit :  $S = \sum (W_{Vi} R_{Vi}^2 + W_{pHi} R_{pHi}^2)$

où  $W_{Vi}$  et  $W_{pHi}$  sont les poids respectifs à attribuer à chaque variable.

<sup>241</sup> Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Talanta* **1996**, *43*, 1739 .

Il convient de préciser que dans le cas particulier de l'étude d'un ligand seul ( $m = 0$  et  $l = 1$ ), les constantes de protonation  $\beta_{0lh}$  sont reliées aux constantes d'acidité par la relation :

$$\beta_{0lh} = \prod_{i=1}^h K_{a_{h+1-i}}^{-1}$$

La qualité de l'affinement est contrôlée de différentes façons. Un des critères est la bonne superposition des courbes calculées et expérimentales qui peuvent être visualisées à l'écran. Un second critère consiste à analyser l'écart type global  $\sigma$  entre les courbes calculées et expérimentales. Il est défini par  $\sigma = \sqrt{S/(n-p)}$  où  $n$  est le nombre de points et  $p$  le nombre de paramètres à affiner. Le processus de calcul se fait par corrections successives, après introduction de valeurs approchées des paramètres à affiner, jusqu'à la convergence obtenue lorsque les corrections relatives entre deux cycles successifs sont toutes inférieures à une valeur fixée arbitrairement à  $10^{-4}$ . Nous pouvons considérer que l'affinement est satisfaisant lorsque l'écart type est inférieur à 10 unités pour une courbe de 150 couples volume-pH. Dans le cas du programme Hyperquad, la déviation standard sur  $n$  mesures est calculée de la façon

suivante :

$$\sigma_A = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (A_k - \bar{A})^2} \quad \text{avec} \quad \bar{A} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n A_k$$

où  $A_k$  est le nombre fini des valeurs réelles  $A_1, \dots, A_n$   
et  $\bar{A}$  la moyenne de ses valeurs.

Les valeurs affinées sont les constantes de formation des différentes espèces présentes en solution. Les titres des solutions peuvent également être affinés en considérant une erreur relative maximum de 2 % provenant de la préparation des solutions et des prélèvements effectués pour le dosage.

Enfin, le logiciel Hyperquad permet d'exploiter simultanément plusieurs titrages protométriques ce qui permet de diminuer la valeur de l'écart type et de préciser la formation éventuelle d'espèces minoritaires. Les valeurs des constantes de formation sont utilisées pour établir le diagramme de spéciation des différents systèmes étudiés en utilisant le programme Hyss.<sup>242</sup>

<sup>242</sup> Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Hyperquad Simulation and Speciation* **1998 – 2000**.

### **III-5-2-2) Spectrophotométrie UV-visible**

#### **III-5-2-2-a) Principe**

La spectrophotométrie UV-visible est utilisée de manière complémentaire à la protométrie. En effet, cette méthode consiste à suivre l'évolution des concentrations des espèces absorbantes en solution en fonction du pH. Le tracé des courbes, représentant la variation de l'absorbance ou la longueur d'onde correspondant à l'absorbance maximum de la solution ( $\lambda_{\max}$ ) en fonction du pH, peut nous renseigner sur le nombre d'espèces absorbantes et préciser leur domaine de prépondérance.

Le programme Hyperquad permet l'affinement des titrages spectrophotométriques afin de déterminer les constantes de formation des espèces solubles. Cela nécessite l'enregistrement d'une quarantaine de spectre par titrage, de pH 2 à 11, et de longueur d'onde variant de 200 à 900 nm. A partir des valeurs des constantes de formation affinées, le logiciel permet également de déterminer les spectres d'absorption de chacune des espèces absorbantes considérées dans le calcul. Des informations structurales sur les complexes formés en solution peuvent être déduites de ces spectres.

#### **III-5-2-2-b) Instrumentation**

Les titrages spectrophotométriques ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceau UV-visible UV2401PC Shimadzu en utilisant des cuves en quartz de 1 cm de trajet optique. L'enceinte du spectrophotomètre est thermostatée à 20 °C. L'appareil est relié à un microordinateur. Le logiciel UV-Probe, commercialisé par Perkin-Elmer, permet l'enregistrement et la visualisation des spectres.

Le spectrophotomètre est équipé d'un système de pompe à piston permettant ainsi le transfert de la solution de la cellule de titrage à la cuve de mesure du spectre. Les titrages spectrophotométriques sont alors effectués selon un protocole expérimental similaire à celui des études protométriques.

### **III-5-2-3) Résonance paramagnétique électronique (RPE)**

#### **III-5-2-3-a) Principe**

La résonance paramagnétique électronique est une technique qui permet l'étude des molécules contenant des électrons non appariés. Elle possède deux grandes applications : la détection de radicaux organiques et la caractérisation de métaux de transition ayant des propriétés

paramagnétiques. Elle repose sur l'interaction entre un champ magnétique et un moment magnétique permanent d'origine électronique. Elle permet alors d'obtenir des informations sur la géométrie et la structure électronique des composés.

### Cas des complexes de cuivre (II)

L'électron possède en plus de sa charge électrique un moment angulaire intrinsèque, le spin de valeur  $s = 1/2$ , auquel est associé un moment magnétique. Le moment magnétique  $\vec{\mu}$  de l'électron célibataire s'exprime en fonction de son moment cinétique intrinsèque  $\vec{S}$  par la relation suivante :

$$\vec{\mu} = \gamma \left( \frac{h}{2\pi} \right) \vec{S} = -g_e \beta_e \vec{S}$$

Avec  $h$  désignant la constante de Planck ( $6,62 \cdot 10^{-34}$  J.s),  $\gamma$  le rapport gyromagnétique,  $\beta_e$  le magnéton de Bohr ( $9,2740 \cdot 10^{-24}$  J.T<sup>-1</sup>) et  $g_e$  le facteur de Landé ( $g_e = 2,0023$  pour l'électron libre). Dans un champ magnétique, ce moment magnétique est quantifié ce qui entraîne la quantification des niveaux d'énergie (Figure III-29).

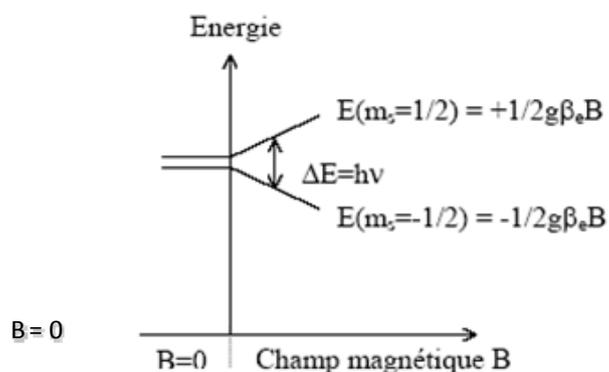


Figure III-29 : Dégénérescence des niveaux d'énergie d'un système de spin 1/2 en présence d'un champ magnétique.

Lorsque l'énergie induite par une onde électromagnétique incidente et la différence entre deux niveaux d'énergie sont égales, le système absorbe l'énergie de cette onde, provoquant le phénomène de résonance paramagnétique électronique. En pratique, on opère à fréquence fixe en faisant varier le champ magnétique pour obtenir la résonance. Le spectre enregistré représente la courbe dérivée de l'absorption en fonction du champ. L'ion cuivre(II) possède un nombre impair d'électron pour un spin total  $S = 1/2$ . Sa dégenérescence peut être levée par action d'un champ magnétique, permettant ainsi l'observation d'un spectre RPE.

Dans les complexes métalliques, l'électron possède, en plus de son spin, un moment orbitalaire non nul ( $L \neq 0$ ). Il en résulte une interaction entre le moment magnétique orbitalaire et le moment magnétique de spin, appelée couplage spin-orbite. Ce couplage donne un moment magnétique total qui modifie la valeur du facteur de Landé de l'ion libre ( $g = 2,0023$ ). L'étude de  $g$  nous renseigne sur la symétrie du champ de ligand autour de l'ion métallique. En effet, un spectre RPE est défini par les deux paramètres  $g$  et  $A$ , désignant respectivement la position du signal et l'espacement entre les raies observées. Ce sont des tenseurs orientés selon les directions  $x$ ,  $y$ ,  $z$  et ils peuvent être résolus à basse température. Expérimentalement, le champ magnétique est placé de façon à être colinéaire à l'un des axes (par convention l'axe  $z$ ). Dans ce cas, nous avons, pour une symétrie axiale tétragonale ( $D_{4h}$  ou  $C_{4v}$ ), les paramètres  $g_x = g_y = g_{\perp}$  et  $g_z = g_{\parallel}$  ainsi que  $A_x = A_y = A_{\perp}$  et  $A_z = A_{\parallel}$ .

### Structure hyperfine

Lorsque le noyau de l'atome auquel appartient l'électron non apparié a un moment magnétique différent de zéro, une structure hyperfine apparaît dans les spectres. En présence d'un champ magnétique ce couplage, qui résulte de l'interaction entre le spin électronique et le spin nucléaire du métal, a pour effet de diviser chaque sous-niveau en  $2I+1$  sous-niveaux nucléaires ( $I$  = nombre quantique de spin nucléaire). En accord avec les règles de sélection  $\Delta M_s = \pm 1$  et  $\Delta M_l = 0$ , on observe  $2I+1$  raies (soit  $(2nI+1)$  raies) pour  $n$  noyaux équivalents). Dans le cas d'un complexe mononucléaire de cuivre(II), le couplage hyperfin entre le spin nucléaire ( $3/2$ ) et le spin électronique ( $1/2$ ) lève la dégénérescence des états de spin et conduit à l'éclatement du signal en quatre pics (Figure III-30).

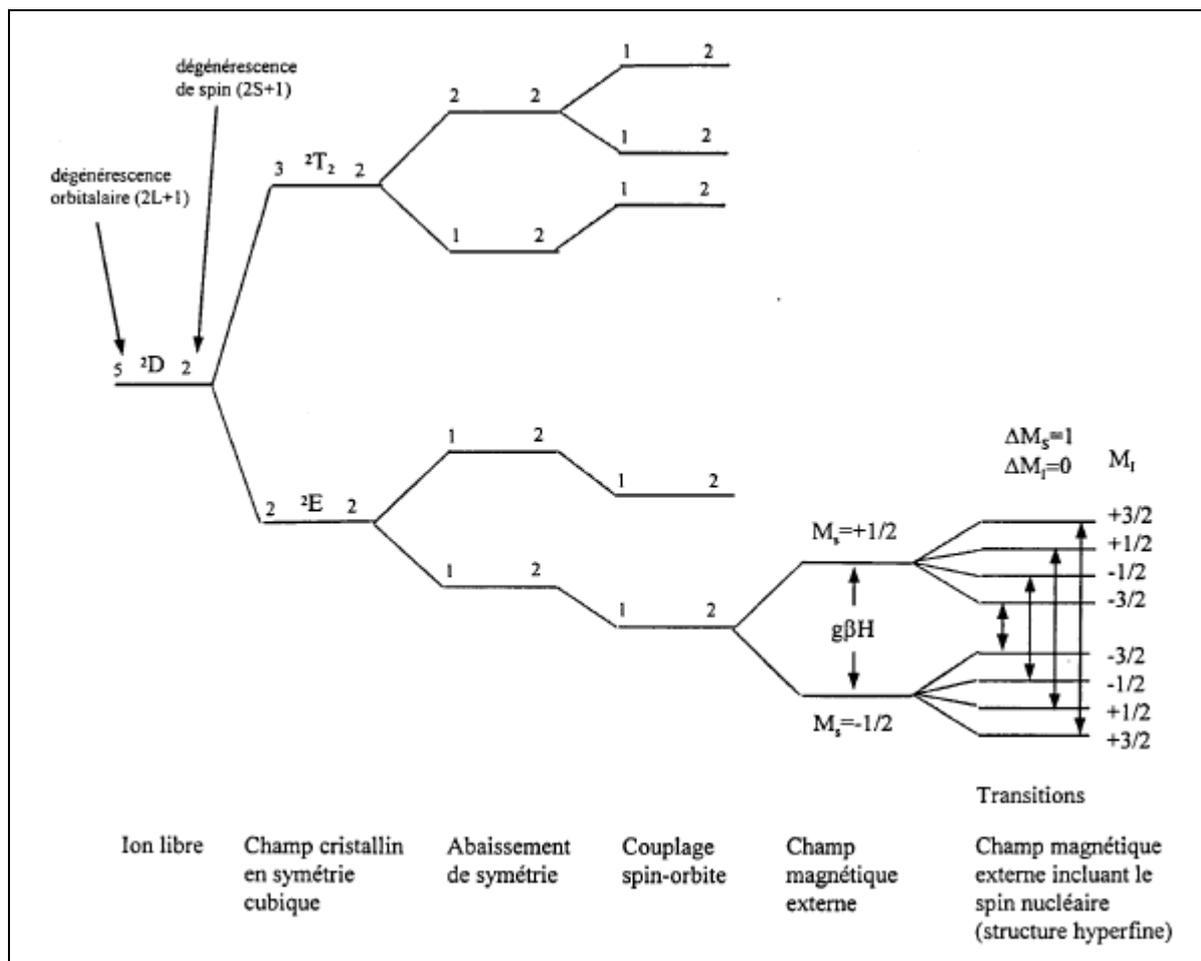


Figure III-30 : Diagramme des niveaux d'énergie du cuivre (II) en champ cristallin et magnétique.<sup>243</sup> Transitions RPE autorisées ( $\Delta M_s = \pm 1$ ,  $\Delta M_I = 0$ ).

### Structure superhyperfine

Le couplage superhyperfine résulte de l'interaction magnétique entre le spin électronique du cuivre et le spin nucléaire des noyaux l'entourant. Par exemple, la présence d'un atome d'azote de spin nucléaire  $I = 1$  dans la sphère de coordination entraîne la subdivision des niveaux d'énergie. De ce fait, chaque raie hyperfine se voit décomposée en trois transitions que l'on appelle structure superhyperfine. Lorsqu'un complexe possède  $n$  atomes coordonnés ayant le même spin nucléaire, chaque raie de structure hyperfine sera décomposée en  $(2nI_i+1)$  raies superhyperfines, et ainsi pour chaque valeur de  $g$ , nous observerons théoriquement  $(2I+1)(2nI_i+1)$  raies RPE.

<sup>243</sup> Alger, R. S. *Electron Paramagnetic Resonance Technics and Applications*, ed. Intersciences. 1968, New-York.

Par ailleurs, comme le cuivre naturel présente deux isotopes ( $^{63}\text{Cu}$  et  $^{65}\text{Cu}$ ), de moments magnétiques légèrement différents, le recouvrement des raies ainsi que leur largeur provoque une dissymétrie du spectre et l'on n'observe généralement pas la quatrième transition.

#### III-5-2-3-b) Instrumentation

Les spectres de résonance paramagnétique électronique ont été enregistrés à l'ICMR en bande X à 9,43 GHz à l'aide d'un spectromètre Brüker ESP 300 à double cavité résonante, étalonné avec un échantillon de dpph (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) pour lequel g vaut 2,0037. Les spectres ont été enregistrés à froid (150 °K) ou à température ambiante (293 °K).

### III-5-3) Caractérisation et réactivité des complexes obtenus à l'état solide

#### III-5-3-1) Spectrométrie ICP/AES

##### III-5-3-1-a) Principe

La spectrométrie d'émission atomique (AES) par couplage à plasma induit (ICP) constitue un des outils privilégiés pour le dosage des éléments métalliques en solution. Cette technique est employée pour déterminer le titre exact des solutions utilisées dans les études protométriques et spectrophotométriques, ainsi que le pourcentage de métal présent dans les complexes synthétisés à l'état solide, en complément de l'analyse élémentaire. Le principe est basé sur la formation d'un plasma dans un flux de gaz rare, le plasma étant formé à partir d'une décharge électrique créée dans un flux d'argon gazeux. C'est une méthode d'analyse élémentaire utilisant les radiations émises par les éléments dans les domaines du visible et de l'ultra-violet. L'échantillon est injecté dans un plasma, à des températures élevées (6000 °C à 10000 °C) où il est atomisé. À ces températures, la plupart des éléments émettent des rayonnements énergétiques, à des longueurs d'onde caractéristiques (324,75 nm pour le cuivre) qui sont mesurés pour déterminer la concentration des éléments que l'on veut doser.

##### III-5-3-1-b) Instrumentation

L'appareil utilisé est un Varian Liberty Série II pour le dosage des cations métalliques de cuivre et cobalt. Le spectromètre d'émission atomique est constitué d'un système d'introduction de l'échantillon (nébuliseur et chambre de nébulisation), d'une torche à plasma induit et de ses arrivées de gaz associées, d'un générateur de radiofréquences, d'un spectromètre optique, de détecteurs et d'un contrôle informatisé du stockage des données et de leur analyse.

Les mesures ont été réalisées à partir d'échantillons solides, sous forme de poudres ou de cristaux, dissous en milieu acide.

### III-5-3-2) Susceptibilité magnétique

#### III-5-3-2-a) Principe

La mesure de la susceptibilité magnétique  $\chi$  permet généralement de préciser la structure électronique externe ainsi que la géométrie des ions métalliques engagés dans les composés de coordination. Les effets magnétiques sont de deux types :

- le diamagnétisme, qui provient du mouvement des électrons, est présent dans tous les composés,
- le paramagnétisme, provient, lorsqu'il existe, de mouvements angulaires de spin et orbital des électrons célibataires de la sous-couche d externe du métal.

Dans le cas des ions métalliques de la première série de transition, le moment magnétique, exprimé en magnéton de Bohr (M.B.) s'écrit :

$$\mu_e = \sqrt{L(L+1) + 4S(S+1)}$$

avec L le nombre quantique orbital et S le nombre quantique de spin.

Or, d'après la relation de Langevin :

$$\chi_M = \frac{N\beta^2 \mu_e^2}{3 k T}$$

N : nombre d'Avogadro

k : constante de Boltzmann

T : température absolue

$\beta$ : magnéton de Bohr

La valeur de  $\mu_e$  exprimée en magnéton de Bohr est alors:  $\mu_e = 2,828 \sqrt{\chi_M \cdot T}$

avec  $\chi_M = \chi_m \times M$  où  $\chi_m$  est la susceptibilité par gramme et M la masse molaire.

La valeur de  $\chi_M$  utilisée doit être corrigée du diamagnétisme sous-jacent par la méthode de Pascal :<sup>244</sup>

$$\chi_M = \sum n_L \chi_L + \sum \lambda$$

avec  $n_A$  : nombre d'atomes A

$\chi_L$  : diamagnétisme de chaque atome

$\lambda$  : corrections de constitution (ordre de liaison, noyau aromatique...)

Cependant ces équations ne sont valables que lorsqu'il n'y a pas d'interaction entre deux métaux, c'est-à-dire lorsque la valeur de  $\chi_M$  corrigée, divisée par deux, correspond à la valeur de la susceptibilité magnétique attendue pour un seul métal.

#### III-5-3-2-b) Instrumentation et mesures expérimentales

Les mesures du magnétisme à température ambiante sont réalisées à l'aide d'une balance Curie-Cheneveau. Cette balance permet de mesurer les susceptibilités magnétiques massiques  $\chi_m$  des composés à étudier, par comparaison avec un corps de susceptibilité magnétique connue  $\chi_m'$ . La substance de référence utilisée est  $\text{HgCo}(\text{SCN})_4$  dont la susceptibilité massique  $\chi_m'$  est égale à  $16,44 \cdot 10^{-6}$  uem cgs à 20 °C, avec  $\frac{d\chi_m'}{dT} = -0,05 \cdot 10^{-6}$  uem cgs.K<sup>-1</sup>.

La susceptibilité massique  $\chi_m'$  est proportionnelle à la déviation  $\Delta$  mesurée à l'aide de la balance.

#### III-5-4) Tests enzymatiques : Action des ligands et des complexes synthétisés sur la Tyrosinase

##### III-5-4-1) Préparation des solutions

###### Solution Tampon $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$ à 50 mM (pH 6,8)

Une masse de 1,3803 g (10 mmol) a été solubilisé dans 196 mL d'eau distillée, ensuite l'ajout de 4 mL d'une solution de soude 1 M a permis d'ajuster le pH de la solution à la valeur 6,8.

###### Solution de L-DOPA à 5 mM (pH 6,8)

Dans une fiole de 10 mL est pesée exactement une masse de 0,0099 g ( $5 \cdot 10^{-2}$  mmol) de L-DOPA, puis le solide est solubilisé dans la fiole en présence de 10 mL de la solution tampon

<sup>244</sup> Earnshaw, A. *Introduction to Magnetochemistry* 1968, Vol. 5, London : Academic Press.

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 6,8). A la fin de la préparation, la solution est saturée en oxygène par barbotage du gaz.

#### Solution de Tyrosinase à 5 mM (pH 6,8)

Une quantité exacte de 1 mg (1000 unités) de tyrosinase est pesée, puis solubilisée dans 5 mL de la solution tampon Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 6,8). Ce volume est réparti sur 5 eppendorfs (1 mL de solution / eppendorf, ou 200 U / eppendorf), qui sont conservés au congélateur. Chaque eppendorf entamé est conservé pendant une durée de 8 heures à 0 °C et à l'abri de la lumière.

#### Solution de ligands et complexes

Toutes les solutions de ligands et de complexes ont été préparées à une concentration de 100 mM dans un volume de 2 mL d'eau distillée et filtrée. Par ailleurs, la solution du ligand **6a**, ainsi que celles des complexes ont été diluées à partir de leurs solutions mères 100 mM à 10 mM.

#### III-5-4-2 )Protocole opératoire pour les tests enzymatiques

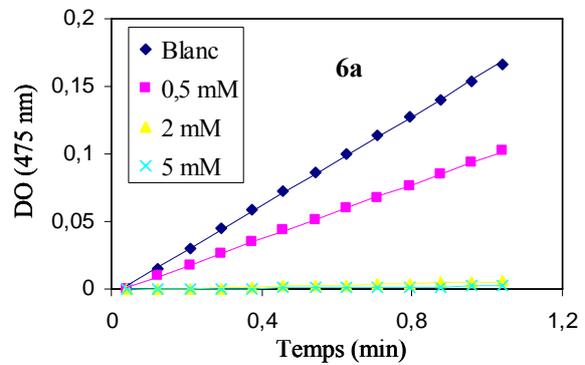
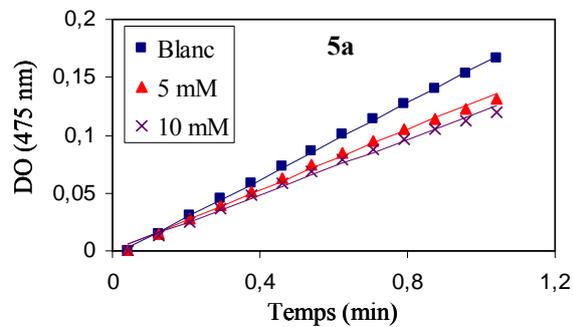
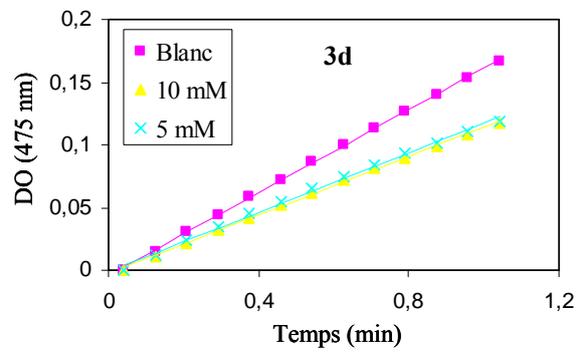
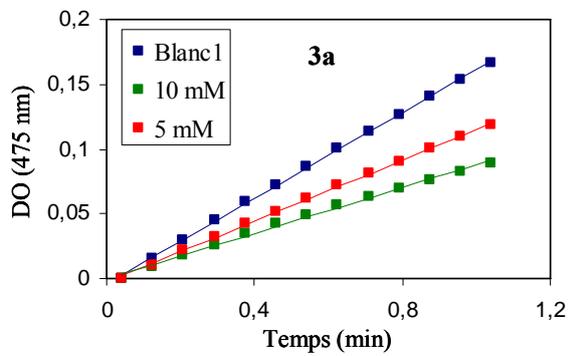
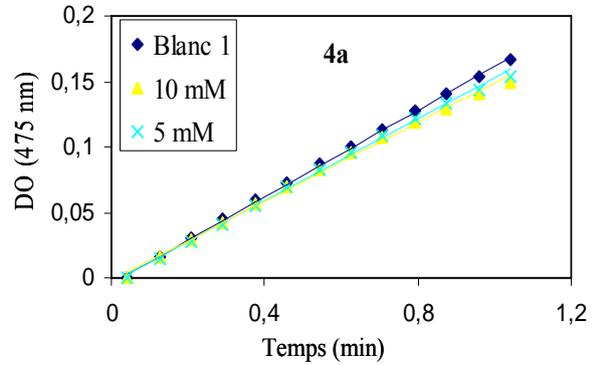
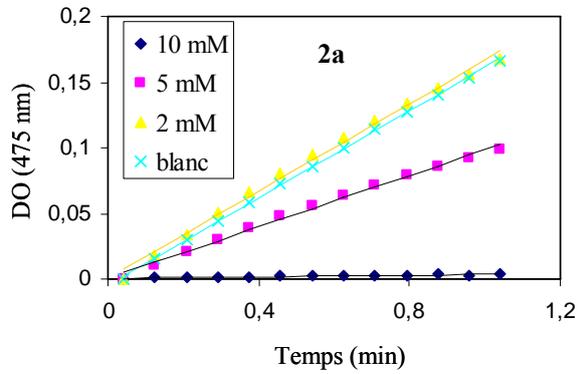
Les tests enzymatiques ont été réalisés en utilisant un volume total de 1 mL à une concentration constante en L-DOPA de 0,5 mM, dans un milieu tampon Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 6,8) (50 mM) en présence d'enzyme, et des différentes concentrations de ligands ou complexes à tester.

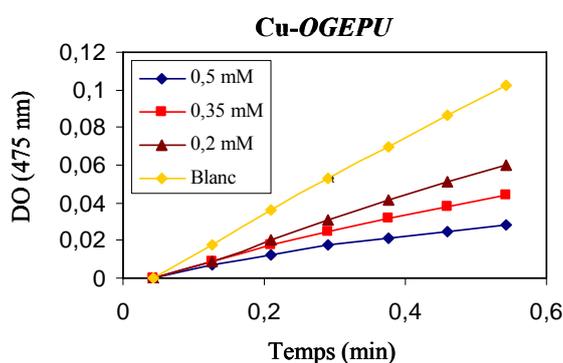
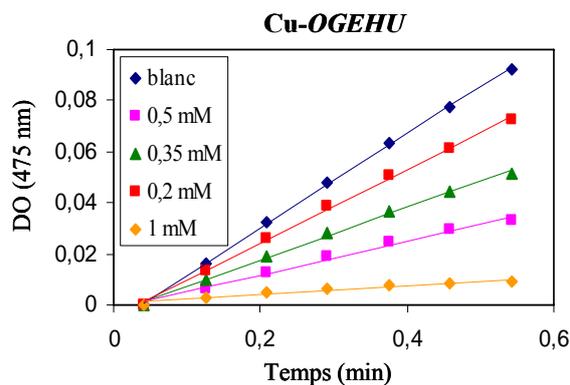
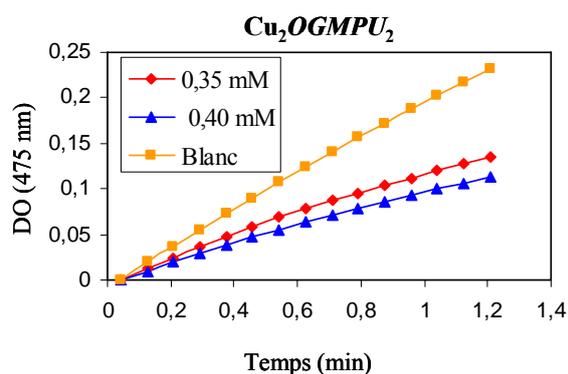
La mise en place du test de tyrosinase a commencé par la réalisation d'essais primaires à blanc (substrat + enzyme + tampon) afin de trouver les meilleures conditions de travail, et s'assurer de l'activité de l'enzyme. À partir de ces essais, on a fixé le nombre d'unités d'enzymes à utiliser par test à 40 U (unité).

On met dans la cuve, en présence de 40 µL de la solution de tyrosinase à 1000 U / mL, un volume variant entre 20 et 100 µL de solutions de ligands ou de complexes à 100 ou 10 mM, puis on complète avec la solution tampon jusqu'à 1 mL. Le mélange est laissé incubé pendant 5 minutes dans l'appareil UV-visible, puis on ajoute un volume de 100 µL d'une solution de L-DOPA à 50 mM, et on lance directement le suivi spectrophotométrique UV-visible en fonction du temps.

L'activité de l'enzyme est déterminée en suivant par spectrophotométrie UV-visible, l'évolution de la densité optique à 475 nm qui est caractéristique de l'oxydation de la L-DOPA en Dopachrome.

***III-5-4-3) Suivi cinétique de l'inhibition de la tyrosinase par le biais des ligands et des complexes synthétisés***





### **III-5-5) Mode opératoire général pour la réaction de HENRY**

Dans un ballon de 25 mL sont placés 0,053 g de benzaldéhyde (0,5 mmol) avec 0,305 g de nitrométhane (5 mmol) en suspension. L'agitation est réalisée pendant 10 minutes sous azote, puis 1 mL d'éthanol préalablement dégazé est ajouté, ensuite 5  $\mu$ L de triéthylamine (0,05 mmol). Ensuite 0,025 g de complexe Cu<sub>2</sub>OGMPU<sub>2</sub> (0,05 mmol) est additionnée, et laissé tourner sous atmosphère inerte à température ambiante. A la fin de la réaction, une solution de saturée de NaCl est ajoutée puis le mélange réactionnel est acidifié avec une solution de HCl à 5%, puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub>. Le brut réactionnel est pruiifié sur colonne chromatographique avec comme éluant acétate d'éthyle / éther de pétrole (1 / 9). Pour la mesure de l'excès énantiomérique, on utilise une colonne HPLC Chirale OD-H en utilisant comme éluant : Hexane / isopropanol (85 / 15), les temps de rétention sans de l'ordre de : benzaldéhyde ( $t_r = 6,39$  min) ; (R)-1-phényl-2-nitroéthanol ( $t_r = 12,93$  min) ; (S)-1-phényl-2-nitroéthanol ( $t_r = 15,27$  min).

*SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE GLYCOCRYPTANDS À  
BASE SUCRE*



## **IV Synthèse et caractérisation de glyco-cryptands à base sucre**

### **IV-1) Introduction**

Dans la continuité des travaux précédents dédiés à la synthèse de ligands uronamides complexants à partir de l'acide D-galacturonique, nous nous sommes intéressés à l'élaboration d'une nouvelle gamme de composés cycliques de type glyco-cryptands. Ces molécules à cages complexantes auront pour rôle de chélater les cations métalliques par le biais des hétéroatomes présents sur leurs structures.

La synthèse de ces macrocycles nécessite une étape clé de fermeture de cycle. Celle-ci peut être généralement réalisée par un couplage de type C–C ou C–N, en exploitant par exemple la réaction de Pauson-Khand,<sup>245</sup> la métathèse des alcènes,<sup>246</sup> ou encore des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire.<sup>247</sup>

Nous allons présenter dans ce chapitre la synthèse d'une nouvelle gamme de molécules macrocycliques de type glyco-cryptand, en utilisant la cycloaddition 1,3-dipolaire, et la métathèse ényne comme réactions clés pour la fermeture de cycle.

### **IV-2) Molécules macrocycliques à base sucre : Synthèses et applications**

Les molécules macrocycliques sont des « building-blocks » importants en chimie supramoléculaire,<sup>248</sup> de part leurs caractéristiques particulières de molécules poreuses,<sup>249</sup> ou de récepteurs artificiels.<sup>250</sup> Il est largement admis que les produits naturels complexes présentent des activités biologiques plus intéressantes que les petites molécules.<sup>251</sup> Ceci est dû au grand nombre de conformations spatiales que peuvent adopter ces édifices, qui augmente leurs chances de lier un ou plusieurs sites récepteurs. Les macrolides entrent dans cette catégorie de molécules : il s'agit de composés macrocycliques de type lactone souvent liés à

<sup>245</sup> Hotha, S.; Maurya, S. K.; Gurjar, M. K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5329.

<sup>246</sup> Ruttens, B.; Blom, P.; Van Hoof, S.; Hubrecht, I.; Van der Eycken, J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5514.

<sup>247</sup> (a) Chandrasekhar, S.; Rao, C.; Nagesh, C.; Reddy, C.; Sridhar, B. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5869. (b) Maurya, S. K.; Hotha, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3307.

<sup>248</sup> (a) Nepogodiev, S. A.; Stoddart, J. F. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1959. (b) Elemans, J. A. A. W.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2000**, *39*, 3419.

<sup>249</sup> (a) Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743. (b) Lee, J. W.; Samal, S.; Selvapalam, N.; Kim, H.-J.; Kim, K. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 621.

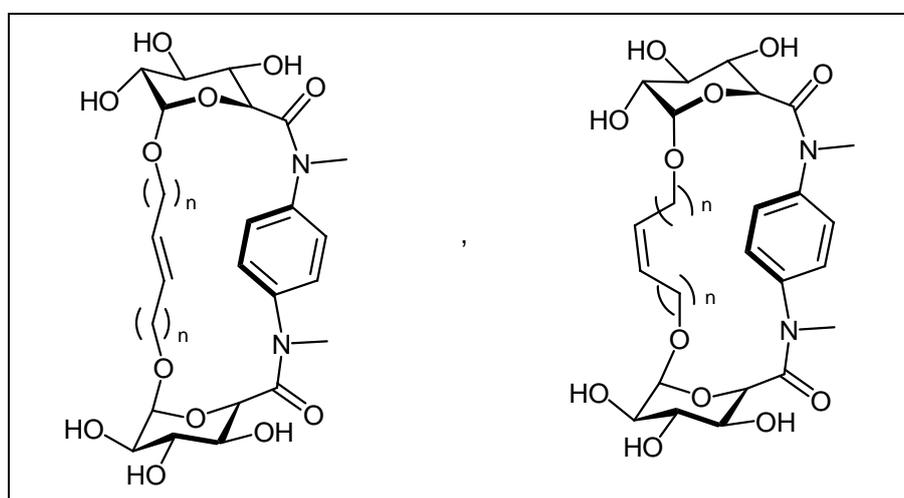
<sup>250</sup> (a) Belle, T. W.; Hext, N. M. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 589. (b) Goswami, S.; Mukherjee, R.; Ray, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1283.

<sup>251</sup> Schreiber, S. L. *Science* **2000**, *287*, 1964.

un ou plusieurs sucres neutres ou aminés. Ces composés macrocycliques sont considérés comme des produits possédant des potentiels thérapeutiques très intéressants.<sup>252</sup>

D'autre part, les monosaccharides représentent des supports biologiquement appropriés pour le rapprochement des groupements pharmacophores vers les différents récepteurs.<sup>253</sup> Cette reconnaissance est facilitée par la présence des groupements hydroxyles rattachés à des centres chiraux, ainsi qu'aux différentes conformations que peuvent prendre ces monosaccharides.

Dans ce contexte, l'équipe de Murphy<sup>254</sup> s'est intéressée à la synthèse et la caractérisation de différents monosaccharides cycliques de type glucuronamides en réalisant des fermetures de cycle par métathèse (RCM) (Schéma IV-1).



*Schéma IV-1 : Exemples des monosaccharides synthétisés par l'équipe de Murphy*

Nous présenterons dans la suite de cette partie des exemples de macromolécules cycliques décrites dans la littérature qui ont montré une activité biologique ou complexante intéressante.

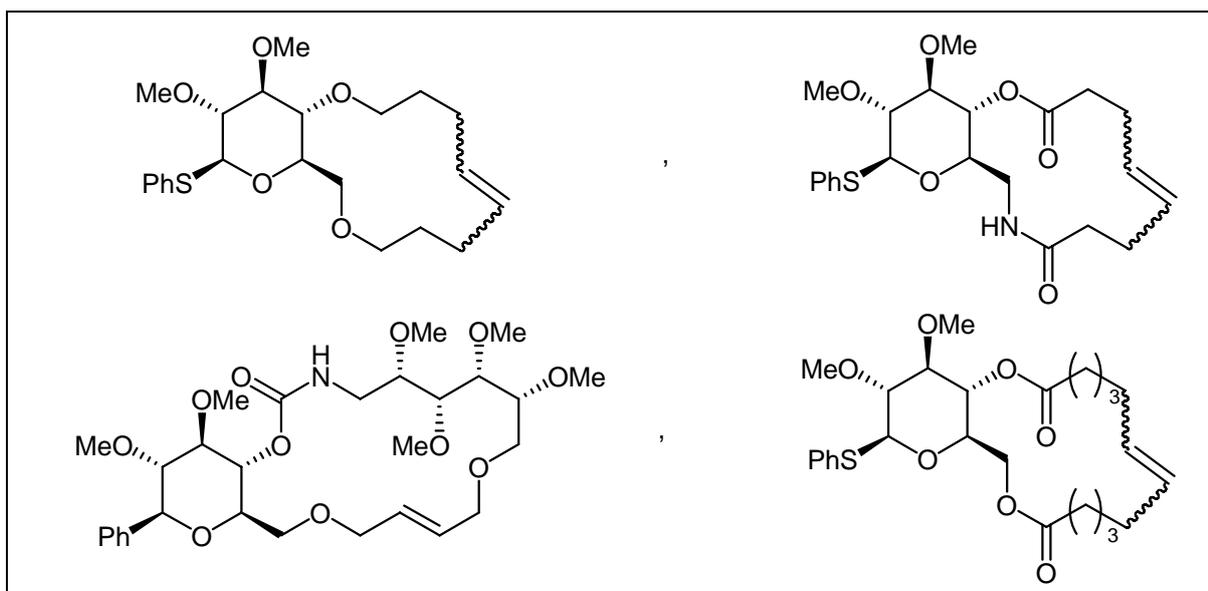
<sup>252</sup> (a) Myles, D. C. *Curr. Opin. Biotech.* **2003**, *14*, 627. (b) Ortholand, J. Y.; Ganesan, A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 271. (c) Metaferia, B. B.; Chen, L.; Baker, H. L.; Huang, X.-Y.; Bewley, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2434.

<sup>253</sup> (a) Hirschmann, R.; Nicolaou, K. C.; Pietranico, S.; Salvino, J.; Leahy, E. M.; Sprengeler, P. A.; Furst, G.; Smith, A. B., III; Strader, C. D.; Cascieri, M. A.; Candelore, M. R.; Donaldson, C.; Vale, W.; Maechler, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9217. (b) Nicolaou, K. C.; Salvino, J. M.; Raynor, K.; Pietranico, S.; Reisine, T.; Freidinger, R. M.; Hirschmann, R. dans *Peptides Chemistry, Structure, and Biology. Proceedings of the 11<sup>th</sup> American Peptide Symposium*; Rivier, J. E., Marshall, G. R., Eds.; ESCOM: Leiden, **1990**; p 881-884

<sup>254</sup> (a) Velasco-Torrijos, T.; Murphy, P. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3961. (b) Velasco-Torrijos, T.; Murphy, P. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 261.

#### IV-2-1) Molécules macrocycliques à base sucre à visée biologique

L'équipe de Van der Eycken<sup>255</sup> s'est intéressée ces dernières années à la synthèse de nouveaux macrolides non naturels à base sucre (Schéma IV-2). Une étape clé de métathèse (RCM) a été utilisée pour réaliser la fermeture de cycle. Ces macrolides ont montré une bonne activité envers certaines bactéries Gram-positives et Gram-négatives.



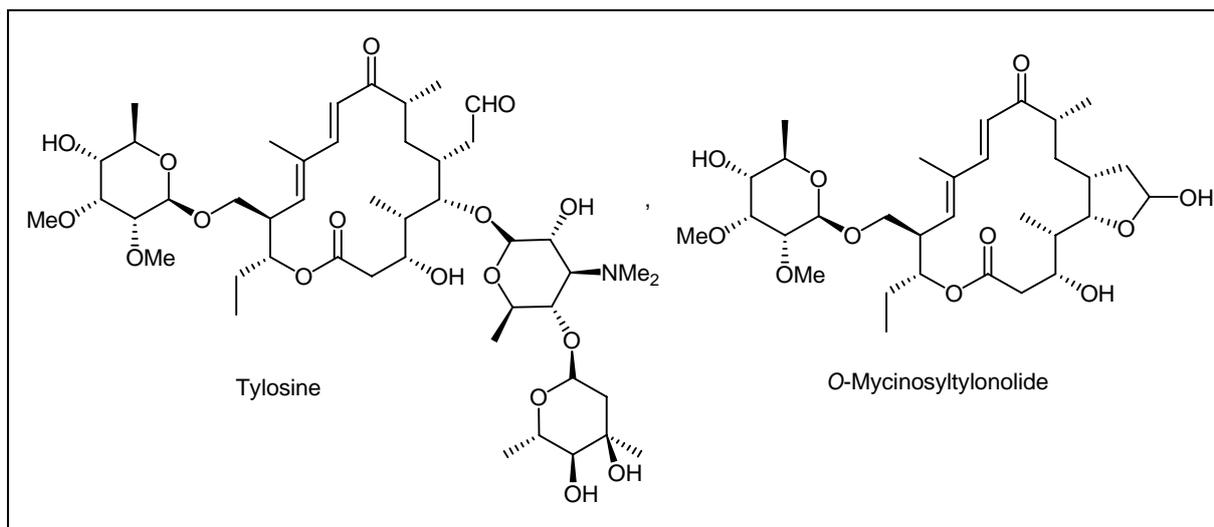
*Schéma IV-2 : Exemple de macrolides synthétisés par l'équipe de Van der Eycken*

D'autre part, la tylosine<sup>256</sup> est considérée comme l'un des plus importants et des plus complexes antibiotiques macrolides appartenant à la famille des cycles à 16 chaînons. Elle est souvent utilisée comme substance nutritive, et agent thérapeutique. L'équipe de Nicolaou a réalisé la synthèse totale de l'*O*-mycinosyltylonolide, un précurseur synthétique de la tylosine, qui est considérée comme le produit principal de dégradation de cet antibiotique (Schéma IV-3). Cette synthèse a été réalisée à partir du D-glucose et du L-(+)-rhamnose en utilisant comme étape-clé de fermeture de cycle une réaction de Wittig-Horner intramoléculaire.<sup>257</sup>

<sup>255</sup> (a) Sas, B.; Van der Eycken, J.; Vanhemel, J.; Blom, P.; Vandekerckhove, J.; Ruttens, B. *PCT Int. Appl. WO 2002-US32817*, **2003**. (b) Blom, P.; Ruttens, B.; Van Hoof, S.; Hubrecht, I.; Van der Eycken, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10109.

<sup>256</sup> (a) Hamill, R. L.; Haney, M. E., Jr.; Stamper, M.; Wiley, P. F. *Antibiot. Chemother. (Washington, D. C.)* **1961**, *11*, 328. (b) Omura, S.; Matsubara, H.; Nakagawa, A.; Furusaki, A.; Matsumoto, T. *J. Antibiot. Chemother. (Washington, D. C.)* **1980**, *33*, 915.

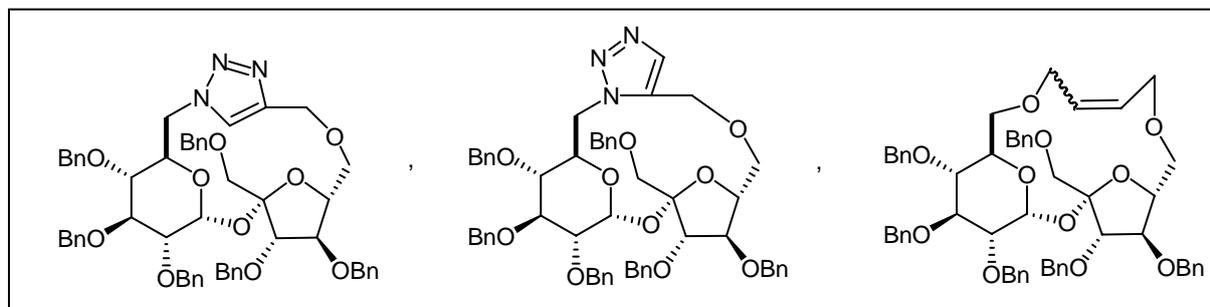
<sup>257</sup> (a) Nicolaou, K. C.; Pavia, M. R.; Seitz, S. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2027. (b) Nicolaou, K. C.; Seitz, S. P.; Pavia, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2030.



*Schéma IV-3 : La tylosine, et son produit majoritaire de dégradation la O-mycinosyltylonolide*

#### **IV-2-2) Molécules macrocycliques à base sucre pour la complexation des cations**

Dans le domaine de la complexation, l'équipe de Jarosz s'est intéressée à la synthèse de macromolécules cycliques dérivées du saccharose pour chélater différents types de cations. Ces composés macrocycliques ont été synthétisés en réalisant des fermetures de cycle par métathèse RCM,<sup>258</sup> ou encore par cycloaddition 1,3-dipolaire (Schéma IV-4).<sup>259</sup>



*Schéma IV-4 : exemples de molécules macrocycliques à base de saccharose synthétisées par l'équipe de Jarosz*

Ces molécules, ainsi que d'autres dérivés macrocycliques<sup>260</sup> ont fait l'objet d'une étude de complexation avec des cations de type potassium et ammonium, le tableau suivant résume

<sup>258</sup> Jarosz, S.; Listkowski, A.; Mach, M. *Pol. J. Chem.* **2001**, 75, 683.

<sup>259</sup> Jarosz, S.; Lewandowski, B.; Listkowski, A. *Synthesis* **2008**, 913.

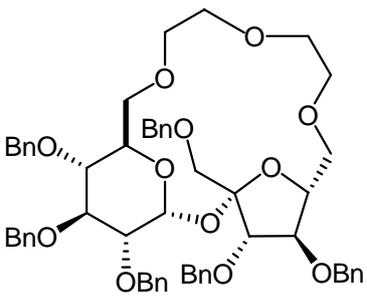
<sup>260</sup> Jarosz, S.; Listkowski, A.; Lewandowski, B.; Ciunik, Z.; Brzuskiwicz, A. *Tetrahedron* **2005**, 61, 8485.

quelques résultats de constantes d'association obtenus pour certains composés hétérocycliques.<sup>261</sup>

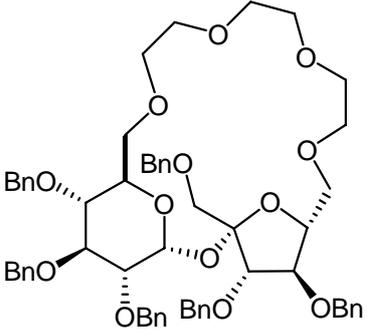
*Tableau IV-1 : Composés macrocycliques à base de saccharose synthétisés par l'équipe de Jarosz pour la complexation des cations*

Composé	$K_a$ (mol.dm <sup>-3</sup> ) (acétone- <i>d</i> <sub>6</sub> )	
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
<b>IV-1-A</b>	17	258
<b>IV-1-B</b>	25	66
<b>IV-1-C</b>	125	234

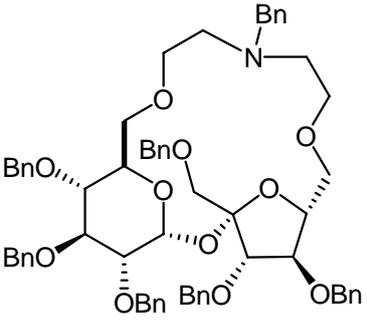
  



**IV-1-A**



**IV-1-B**



**IV-1-C**

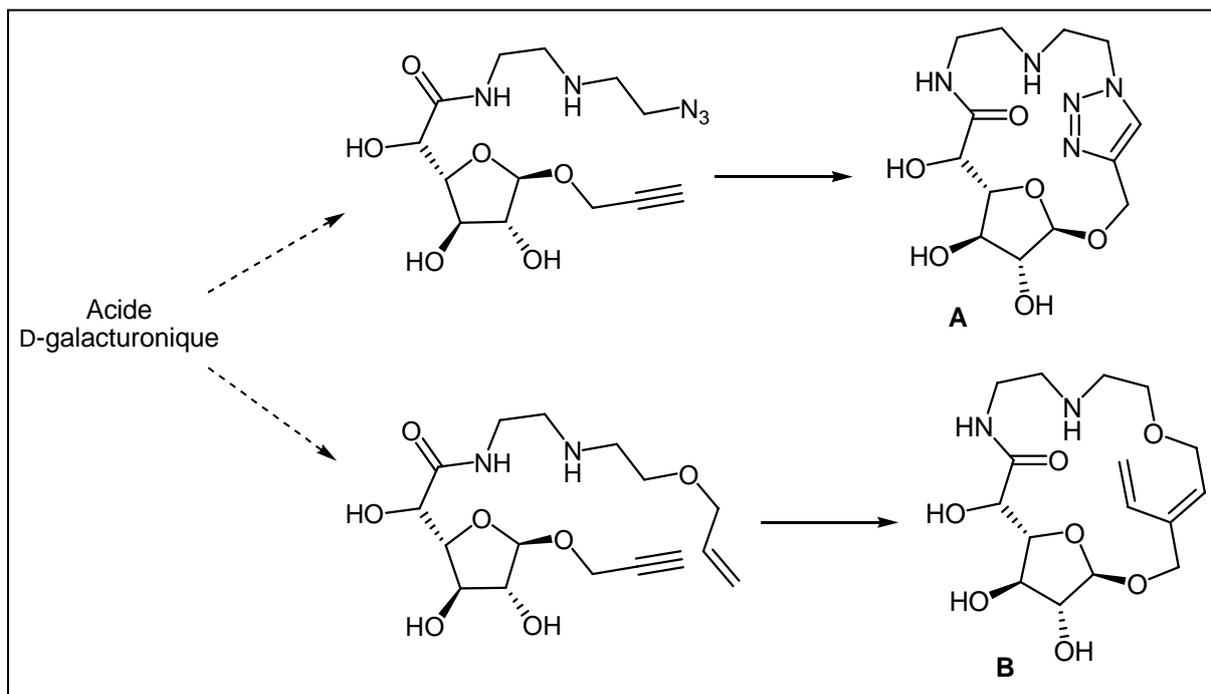
### IV-2-3) Objectif du travail

Peu d'exemples de macrocycles à base sucre (glyco-cryptands) non naturels ont été décrits dans la littérature. Le potentiel biologique de cette famille de composé semble pourtant prometteur, en particulier en introduisant dans la structure des hétéroatomes permettant de complexer fortement et sélectivement des ions métalliques. L'étape clé de la synthèse de ces composés est la fermeture du cycle : différentes méthodes ont été utilisées dans la littérature. En nous appuyant sur ces travaux, nous avons souhaité synthétiser des nouvelles molécules cages polyfonctionnelles de type glyco-cryptand à partir de l'acide D-galacturonique. L'étape clé de cyclisation pourra être réalisée par :

<sup>261</sup> Jarosz, S.; Lewandowski, B. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 965.

- 1) Une cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire entre un azoture porté par le substituant en C-6, et une triple liaison sur la position anomérique.
- 2) Une réaction de métathèse RCM ènyne permettant la ligation entre une double et une triple liaison présentes de part et d'autre de la même molécule.

Le schéma suivant illustre les glyco-cryptands visés à partir de l'acide D-galacturonique



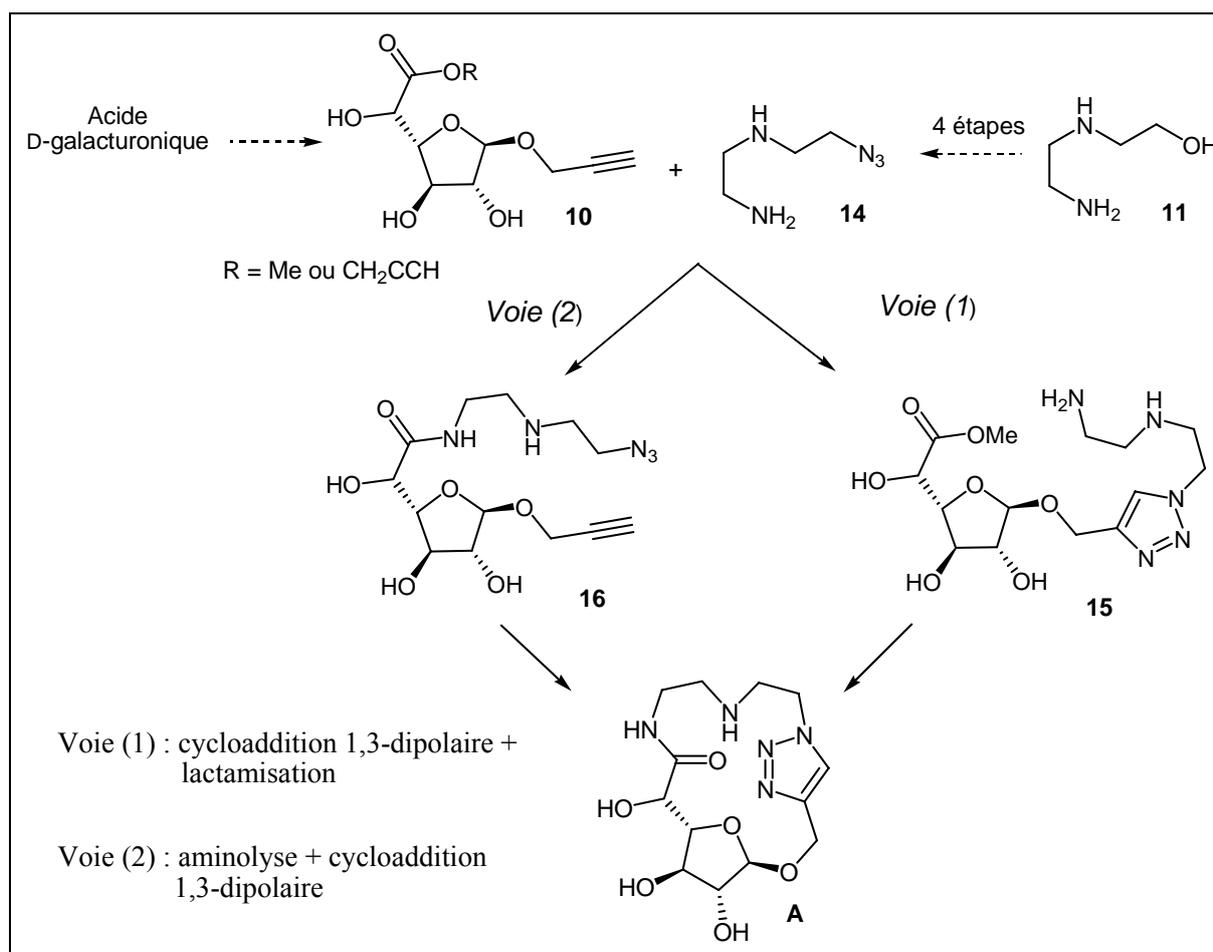
*Schéma IV-5 : Molécules cages visées à partir de l'acide D-galacturonique*

### IV-3) Synthèse et caractérisation de glyco-cryptands à partir de l'acide D-galacturonique

#### IV-3-1) Ligation par cycloaddition 1,3-dipolaire

##### IV-3-1-1) Méthodologie de synthèse du glyco-cryptand A

Le schéma suivant illustre les deux voies de synthèse envisagées pour l'obtention du glyco-cryptand A.

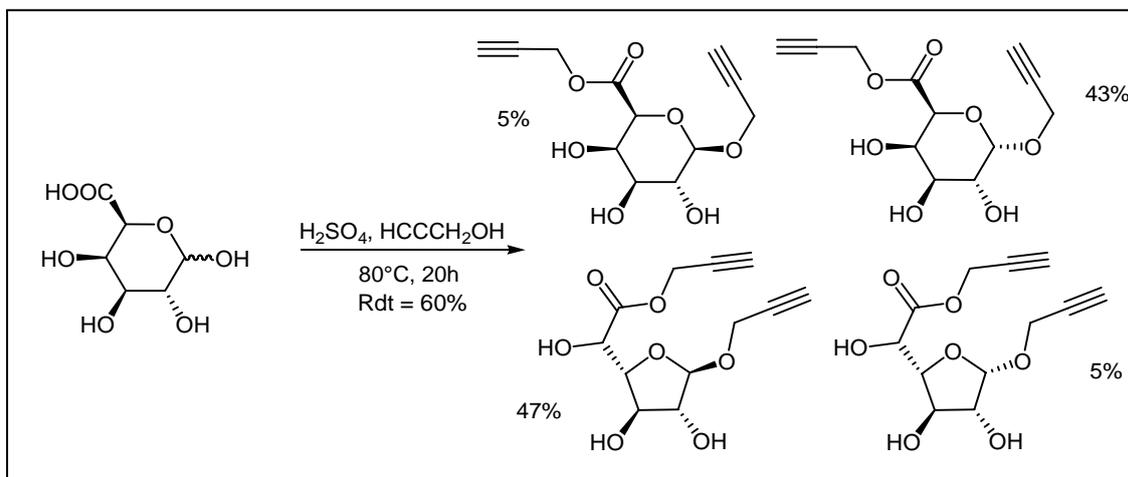


*Schéma IV-6 : Méthodologie de synthèse du glyco-cryptand A*

La première voie consiste à réaliser une cycloaddition 1,3-dipolaire entre l'azoture **14** et l'alcyne terminal **10**, puis à enchaîner par une lactamisation. D'un autre côté, il est également possible d'inverser l'ordre de ces deux réactions, et de commencer ainsi par l'aminolyse, avant d'effectuer la fermeture de cycle par une cycloaddition 1,3-dipolaire. Quelle que soit la voie de synthèse suivie, elle nécessite la préparation préliminaire de l'ester et de l'amine clés **10** et **14**.

#### IV-3-1-2) Synthèse de l'ester glycoside 10

Au cours d'essais préliminaires, nous avons souhaité réaliser la synthèse directe du propargyl ( $\beta$ -D-galactofuranoside)uronate de propargyle en une seule étape à partir de l'acide D-galacturonique, dans les conditions de réaction décrites dans le deuxième chapitre. Malheureusement, cette réaction conduit à un mélange complexe de produits pyranosiques et furanosiques de distribution très proche de celle rencontrée précédemment avec l'octanol, et avec un rendement maximum qui ne dépasse pas 60% (Schéma IV-7).

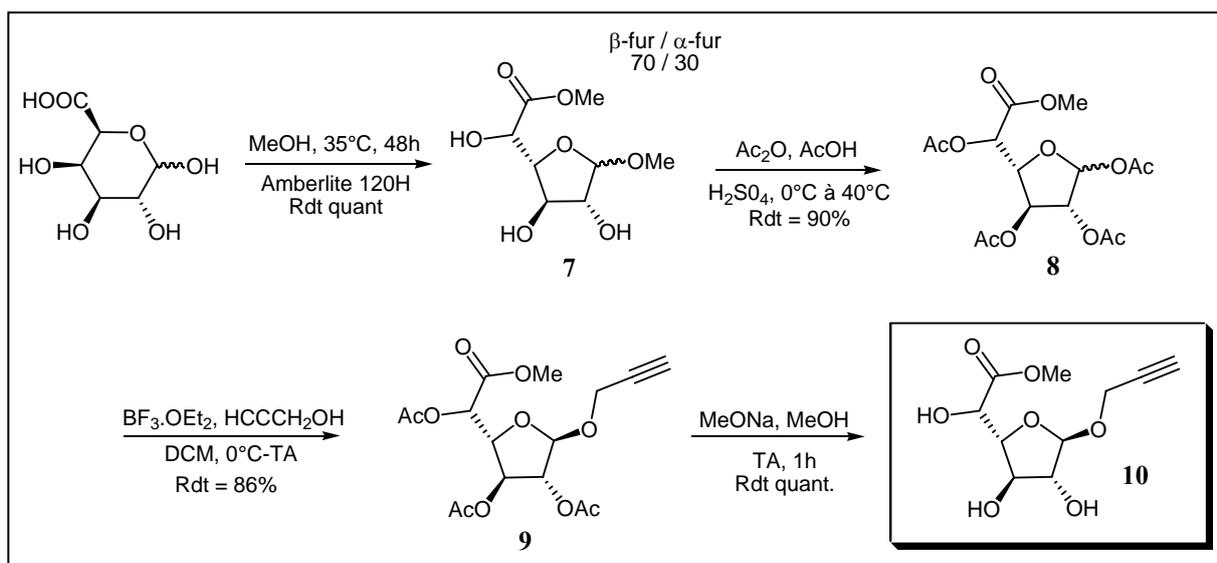


*Schéma IV-7 : Réaction d'estérification O-glycosylation de l'acide D-galacturonique en présence de l'alcool propargylique*

La séparation des quatre isomères par chromatographie est fastidieuse, et l'anomère majoritaire β-furanosique est obtenu avec un rendement de maximal de 20%.

Finalement, cette piste a été délaissée, et notre étude s'est ensuite orientée vers la préparation de l'ester méthylique **10** selon une voie de synthèse à quatre étapes, mais permettant d'obtenir un seul isomère avec de bons rendements (Schéma IV-8).

La synthèse de ce produit passe tout d'abord par une réaction d'estérification O-glycosylation de l'acide D-galacturonique en présence de méthanol à 35 °C pendant 2 jours. Dans ces conditions, seule la forme furanosique est obtenue, avec un ratio β-fur : α-fur de l'ordre de 70 / 30 comme décrit dans les travaux de Marino et *coll.*<sup>103</sup> Ensuite une réaction de peracétylation par l'anhydride acétique en milieu acide conduit au composé **8**. Une glycosidation du produit **8** en présence de l'alcool propargylique permet l'obtention exclusive de l'anomère β-furanosique **9** grâce à la participation du groupement acétyle voisin orientant l'attaque de l'alcool sélectivement par la face β. Enfin, le produit **10** est obtenu après déprotection des groupements acétates en présence de méthanolate de sodium.

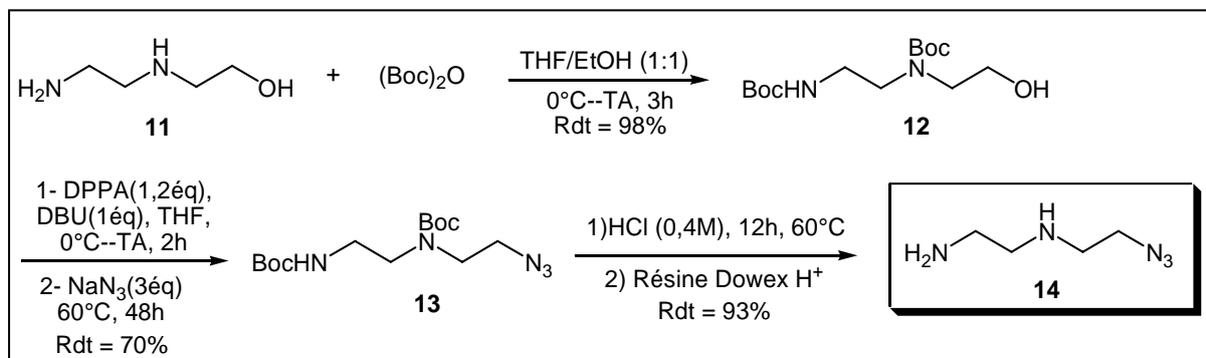


*Schéma IV-8 : Schéma de synthèse du composé 10*

L'ester glycoside **10** a été obtenu avec un rendement global de 77% en quatre étapes à partir de l'acide D-galacturonique.

#### IV-3-1-3) Synthèse du composé 14

La synthèse de l'amine **14** se fait à partir du 2-(2-aminoéthylamino)éthanol commercial. La première réaction est la protection des fonctions amines par un groupement carbamate (Boc). Une activation de la fonction hydroxyle est ensuite réalisée, en passant par un intermédiaire phosphorylé généré en présence de l'azoture du diphenyl phosphore (DPPA). Cet intermédiaire réagit avec l'azoture de sodium pour conduire à l'azoture **13**. Enfin, une déprotection en milieu acide, suivie d'une neutralisation sur résine échangeuse permet d'obtenir l'azoture **14** avec de bons rendements.



*Schéma IV-9 : Schéma de synthèse de l'azoture 14*

L'azoture **14** a été obtenu avec un rendement global de 61% en 4 étapes à partir de l'alcool **11**.

#### IV-3-1-4) Synthèse du glycocryptand A

##### IV-3-1-4-a) Généralités sur la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire

La cycloaddition 1,3-dipolaire est une transformation importante en chimie organique, puisqu'elle permet l'obtention d'une large gamme de molécules comportant un hétérocycle à cinq chaînons.<sup>262</sup>

Les composés de type 1,2,3-triazoles possèdent des propriétés biologiques comme anti-VIH,<sup>263</sup> antiallergique,<sup>264</sup> antibactérien,<sup>265</sup> activité herbicide et fongicide.<sup>266</sup> Ces produits peuvent être synthétisés par cycloaddition 1,3-dipolaire entre un azoture et un alcyne par le biais d'une cycloaddition 1,3-dipolaire.<sup>267</sup> Cette réaction de cycloaddition peut être réalisée thermiquement ou catalysée en présence des ions Cu (I) (Schéma IV-10).<sup>268</sup> D'autre part, la chimie « Click » développée par Meldal et Sharpless qui se base sur l'utilisation du cuivre (I) pour la catalyse de la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen a rencontré un vif succès car elle permet non seulement d'obtenir des rendements quantitatifs en composés de type 1,2,3-triazole, mais aussi une sélectivité qui favorise l'obtention du régioisomère 1,4-triazole.

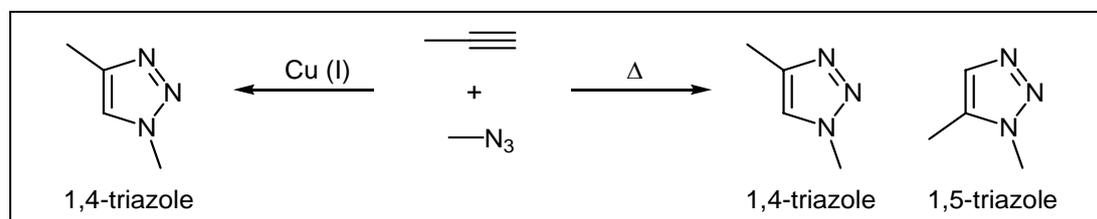


Schéma IV-10 : Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen entre un azoture et un alcyne par activation thermique et catalysée par les ions Cu (I)

<sup>262</sup> Padwa, A.; Pearson, W. H. *Synthetic applications of 1,3-dipolar cycloaddition chemistry toward heterocycles and natural products*. **2003**, Wiley, Chichester, UK.

<sup>263</sup> Alvarez, R.; Velazquez, S.; San-Felix, A.; Aquaro, S.; De Clercq, E.; Perno, C.-F.; Karlsson, A.; Balzarini, J.; Camarasa, M. J. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4185.

<sup>264</sup> Buckel, D. R.; Rockell, C. J. M.; Smith, H.; Spicer, B. A. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2269.

<sup>265</sup> Genin, M. J.; Allwine, D. A.; Andersson, D. J.; Barbachyn, M. R.; Emmert, D. E.; Garmon, S. A.; Graber, D. R.; Grega, K. C.; Hester, J. B.; Hutchinson, D. K.; Morris, J.; Reischer, R. J.; Ford, C. W.; Zurenko, G. E.; Hamel, J. C.; Schaadt, R. D.; Spter, D.; Yagi, B. H. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 953.

<sup>266</sup> Wamhoff, H. dans *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A. R., Rees, C. W., Eds.; Pergamon : Oxford, **1984**; Vol. 5, p 669.

<sup>267</sup> (a) Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 565. (b) Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 633. (c) Woodward, R. B.; Hoffmann, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, *8*, 781.

<sup>268</sup> (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596. (b) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, L. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.

IV-3-1-4-b) Essais de synthèse du glyco-cryptand A par cycloaddition 1,3-dipolaire suivie d'une lactamisation

La première tentative de synthèse implique une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre l'azoture **14** et l'alcyne **10**. Cette réaction a été réalisée dans l'eau à température ambiante en utilisant 1% de sulfate de cuivre pentahydraté et 2% d'ascorbate de sodium. Cette réaction est instantanée, mais il faut absolument respecter l'ordre de l'ajout des réactifs, c'est-à-dire mettre tout d'abord l'alcyne en présence de sulfate de cuivre, ensuite ajouter l'ascorbate de sodium, puis laisser la réaction sous agitation pendant 5 minutes avant d'ajouter l'azoture **14**. Le schéma suivant illustre cette réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire intermoléculaire.

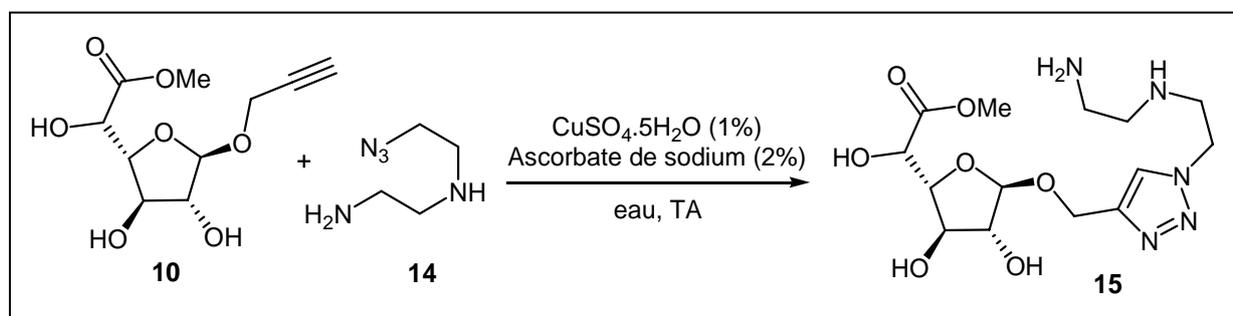


Schéma IV-11 : Cycloaddition 1,3-dipolaire entre l'alcyne **10** et l'azoture **14**

Le 1,4-triazole **15** a été obtenu avec un rendement quantitatif.

La dernière étape de synthèse du glyco-cryptand **A** consiste en la cyclisation du produit **15** par le biais d'une réaction de lactamisation qui met en œuvre l'amine primaire et l'ester méthylique présents sur cette molécule.

Afin d'éviter des réactions d'aminolyse intermoléculaire, nous avons travaillé dans un milieu très dilué (1 mg / mL) dans le méthanol ou le DMF à reflux.

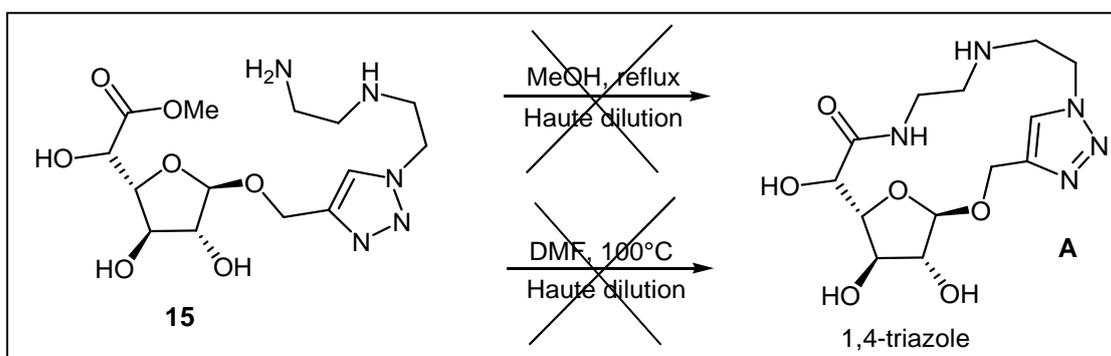


Schéma IV-12 : Fermeture de cycle par lactamisation du composé **15**

Malgré de nombreuses tentatives, même en présence d'une base comme la *N,N*-diisopropyléthylamine (DIEA), aucun de ces essais ne nous a permis d'aboutir au glycocriptand souhaité.

IV-3-1-4-c) Synthèse du glycocriptand A par une réaction d'aminolyse suivie d'une cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire

Après les échecs cumulés concernant la réaction de lactamisation, nous avons décidé de changer la voie de synthèse, en réalisant tout d'abord une réaction d'aminolyse entre l'ester **10** et l'amine **14**, suivie d'une cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire.

La première étape d'aminolyse a été réalisée dans le THF à 45 °C pendant 20 heures comme le montre le schéma suivant. Elle conduit à l'amide **16** avec un rendement de 65% (Schéma IV-13).

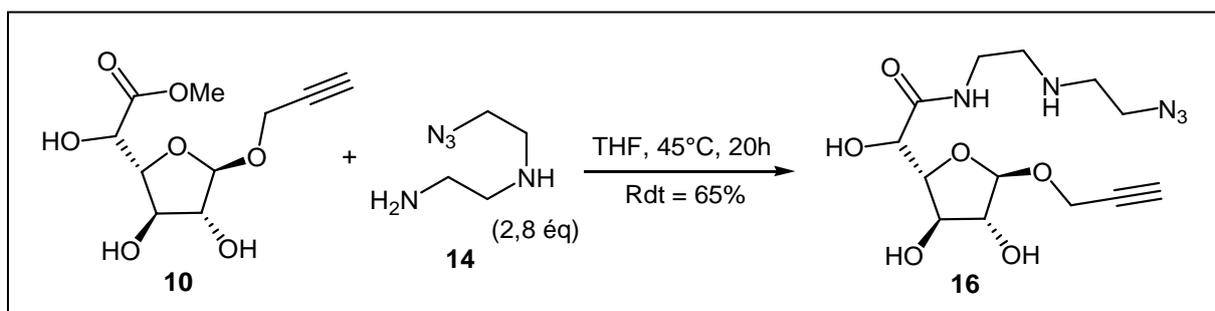
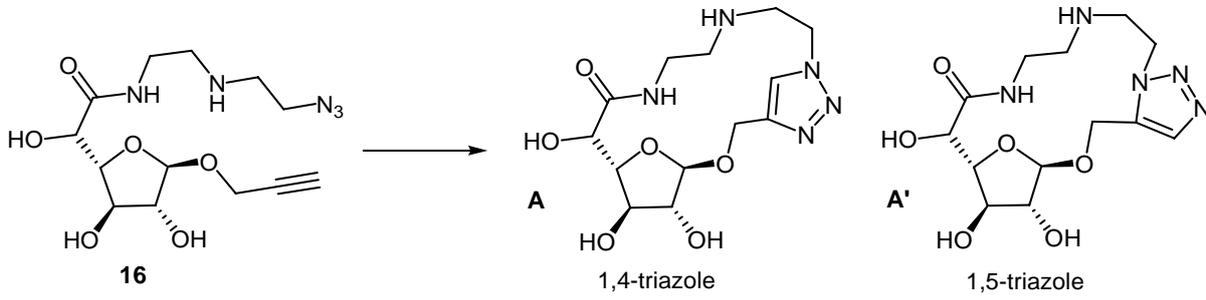


Schéma IV-13 : Réaction d'aminolyse pour la formation du composé 16

Cependant, il faut noter que la mise en place de cette réaction à une température légèrement supérieure à 45 °C, ou encore pendant un temps supérieur à 24 heures induit la formation d'un produit secondaire, qui est le fruit d'une cycloaddition 1,3-dipolaire intermoléculaire sous contrôle thermique. Ce produit secondaire possède un  $R_f$  très proche de celui du composé **16**, ce qui rend la purification très difficile.

Enfin, la dernière étape de la synthèse du glycocriptand A est réalisée par le biais d'une cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire entre l'azoture et la fonction alcyne, en présence de Cu (I) à très haute dilution. Le tableau suivant illustre les différents résultats obtenus pour cette cycloaddition.

Tableau IV-2 : Réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire



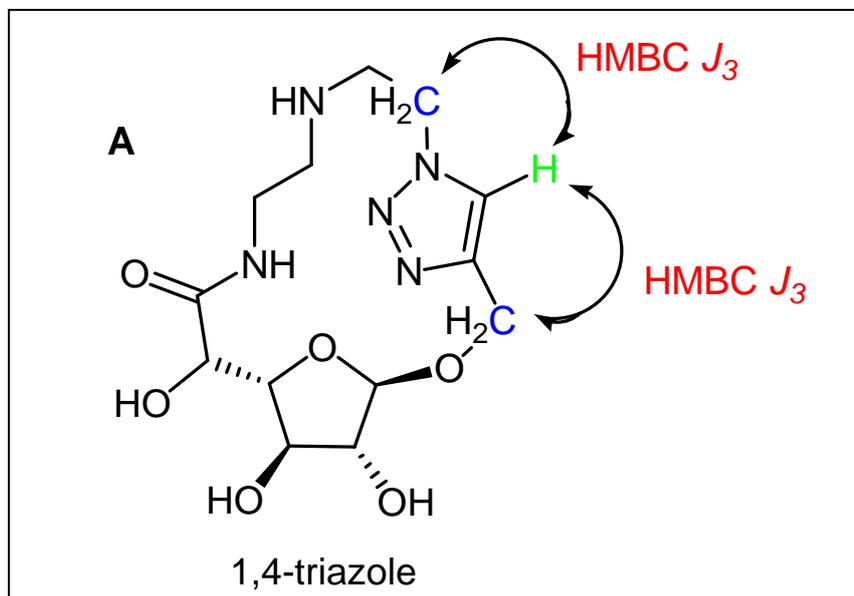
Entrées	Conditions de réaction	Rendement	% (A / A')
1	Ascorbate de sodium (2%) Sulfate de cuivre (1%) Eau, haute dilution, T.A, 24 h	84	80 / 20
2	Iodure de cuivre (2 éq), DIEA (10 éq) THF/CH <sub>3</sub> CN (3 : 1), haute dilution, T.A, 3 j	90	70 / 30
3	Iodure de cuivre (2 éq), DIEA (10 éq) Eau, haute dilution, T.A, 4 j	55	0/100

La cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire a été réalisée dans différentes conditions comme le montre le tableau ci-dessus, soit en utilisant le sulfate de cuivre (II) en présence d'un agent réducteur qui est l'ascorbate de sodium, ou encore en utilisant directement une source de cuivre (I) comme l'iodure de cuivre en présence de 10 équivalents de la *N,N*-diisopropyléthylamine.

En fonction des conditions de réaction, nous obtenons soit le produit 1,4-triazole **A** connu sous le nom du produit de Sharpless, soit le produit anti-Sharpless **A'** qui est le 1,5-triazole. Ces deux composés sont séparables par chromatographie sur gel de silice en utilisant un éluant de type CHCl<sub>3</sub> / méthanol / NH<sub>4</sub>OH (6 : 4 : 1), avec des R<sub>f</sub> de l'ordre de 0,4 pour le glyco-cryptand **A** et 0,15 pour le **A'**.

L'attribution des deux glyco-cryptands **A** et **A'** aux deux structures comportant respectivement un noyau 1,4-triazole et 1,5-triazole a été réalisée par RMN. En effet, l'utilisation de la séquence HMBC nous a révélé la présence d'une corrélation entre l'hydrogène présent sur le

motif triazole ( $H_{tr}$ ), et les deux carbones présents d'une part est d'autre du motif triazole (Schéma IV-14).

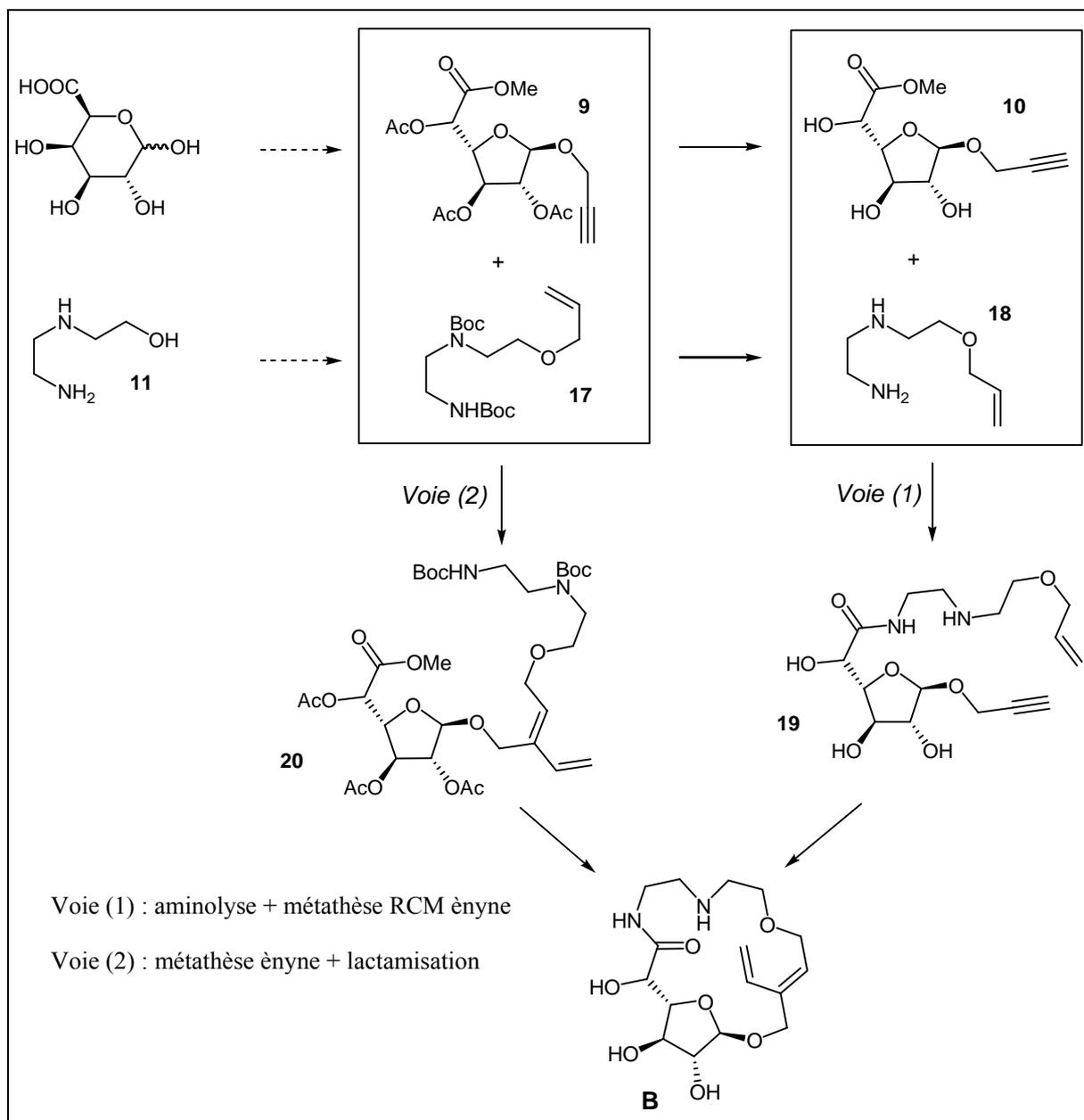


*Schéma IV-14 : Corrélations HMBC identifiées pour le régioisomère 1,4-triazole*

### **IV-3-2) Stratégie de synthèse du glyco-cryptand B**

#### **IV-3-2-1) Méthodologie de synthèse du glyco-cryptand B**

Le schéma suivant illustre les deux voies de synthèse envisagées pour l'obtention du glyco-cryptand **B**.



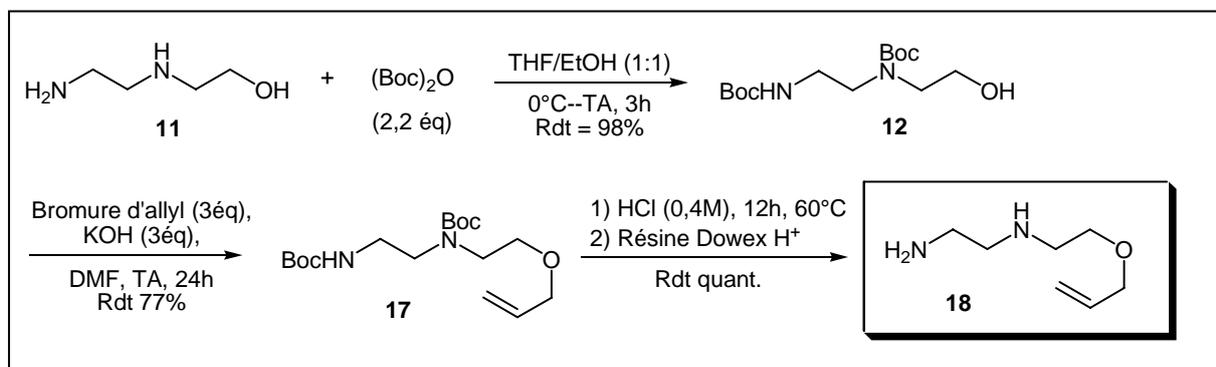
*Schéma IV-15 : Méthodologie de synthèse du glyco-cryptand B*

La première voie envisageable pour cette synthèse prévoit la fermeture du cycle par le biais d'une réaction de métathèse de type ényne, en couplant d'une part une triple liaison terminale présente sur la position anomérique du sucre **20**, et d'autre part une fonction alcène terminale présente sur la chaîne amidique de la position 6 du même composé **20**. Cette chaîne polyhétéroatomique sera greffée par une réaction d'aminolyse entre l'ester méthylique dérivé d'acide D-galacturonique **10**, et l'amine primaire *O*-allylée **18** obtenue à partir du composé commercial 2-(2-aminoéthylamino)éthanol.

Par ailleurs, une deuxième voie de synthèse semble être envisageable, par une réaction de métathèse croisée de type ényne entre la double liaison présente sur l'amine protégée **17** d'une part, et la triple liaison du groupement propargyle en position anomérique de l'acide D-galacturonique **9**, suivie d'une réaction d'aminolyse intramoléculaire du composé **20** après déprotection des fonctions amines.

#### IV-3-2-2) Synthèse de l'amine O-allylée **18**

La synthèse du composé **18** se fait à partir de l'intermédiaire **12** préalablement décrit (Schéma IV-9). Une réaction d'allylation de la fonction alcool en utilisant le bromure d'allyle, conduit à l'éther **17**. Puis, une déprotection des groupements carbamates suivie d'une neutralisation sur résine échangeuse d'ions permet d'obtenir l'amine O-allylée **18**.



*Schéma IV-16 : Schéma de synthèse des composés **17** et **18***

Le composé **18** a été obtenu avec un rendement de 75% en 3 étapes à partir du 2-(2-aminoéthylamino)éthanol **11**.

#### IV-3-2-3) Tentatives de synthèse du glyco-cryptand **B**

##### IV-3-2-3-a) Généralités sur la réaction de métathèse ényne

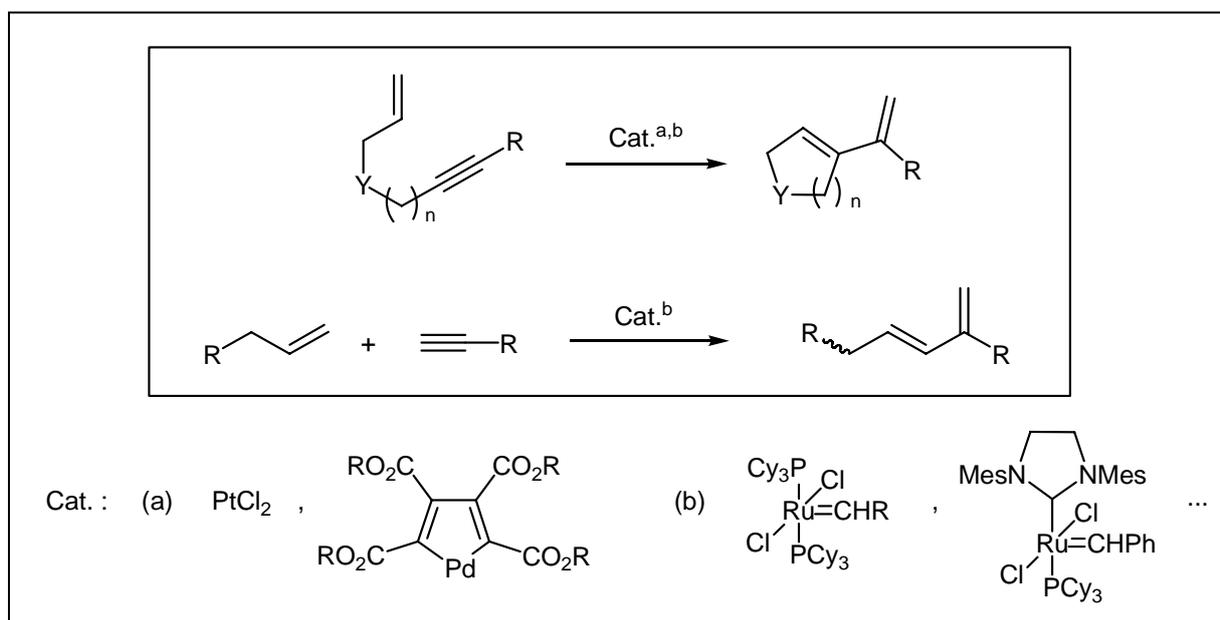
La métathèse des énynes peut être définie comme étant une réorganisation de liaisons entre un alcène, et un alcyne à travers un couplage de type C–C afin de produire un composé de type 1,3-diène (Schéma IV-17).<sup>269</sup> Elle est utilisée pour des applications à la fois inter et intramoléculaires. La première réaction de métathèse RCM ényne pour la fermeture de cycle a été décrite par Katz et Sivavec en 1985.<sup>270</sup>

<sup>269</sup> Diver, S.; Giessert, A. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1317.

<sup>270</sup> Katz, T. J.; Sivavec, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 737.

Le mécanisme de la métathèse des ènynes est semblable à celui des alcènes mais reste tout de même moins étudié que celui de la métathèse des alcènes.<sup>271</sup> La réorganisation de la liaison ènyne est favorisée par la stabilité enthalpique du 1,3-diène conjugué produit à la fin de la réaction.

La stéréosélectivité de la réaction est souvent faible dans le cas des métathèses intermoléculaires, mais elle peut être contrôlée dans le cas des couplages intramoléculaires. Les catalyseurs de cette réaction sont de type carbène-métal, et on rencontre parfois des catalyseurs qui sont aussi bien utilisés pour la métathèse des alcènes et celle des ènynes, comme ceux de Grubbs de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération.

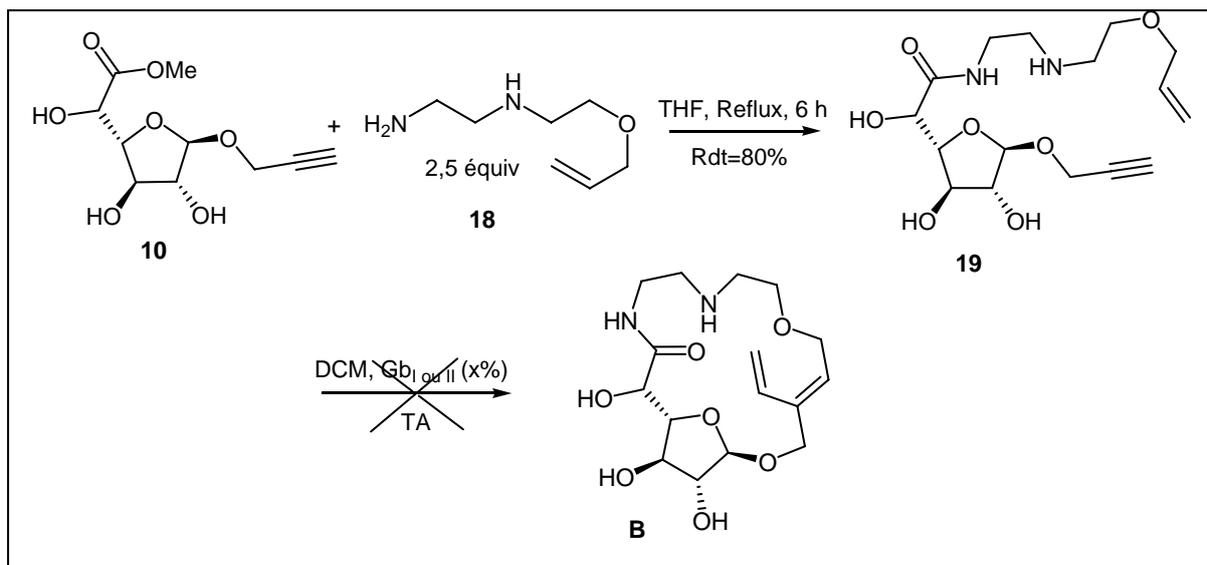


*Schéma IV-17 : Métathèse ènyne inter- et intramoléculaire et des exemples de catalyseurs*

#### *IV-3-2-3-b) Tentatives de synthèse du glyco-cryptand **B** par la voie (1)*

Le premier essai de synthèse du glyco-cryptand **B** a été effectué par une réaction d'aminolyse entre l'amine **18** et l'ester glycoside **10** au reflux du THF pendant 6 heures. Ensuite, différents essais de cyclisation par une métathèse ènyne ont été réalisées en utilisant les catalyseurs de Grubbs de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération, avec des pourcentages de catalyseurs allant jusqu'à 20%. Malheureusement, la réaction de métathèse (RCM) ènyne ne se fait pas. Seul le produit de départ est isolé du milieu réactionnel (Schéma IV-18).

<sup>271</sup> Hérisson, J.-L.; Chauvin, Y. *Makromol. Chem.* **1971**, *141*, 161.

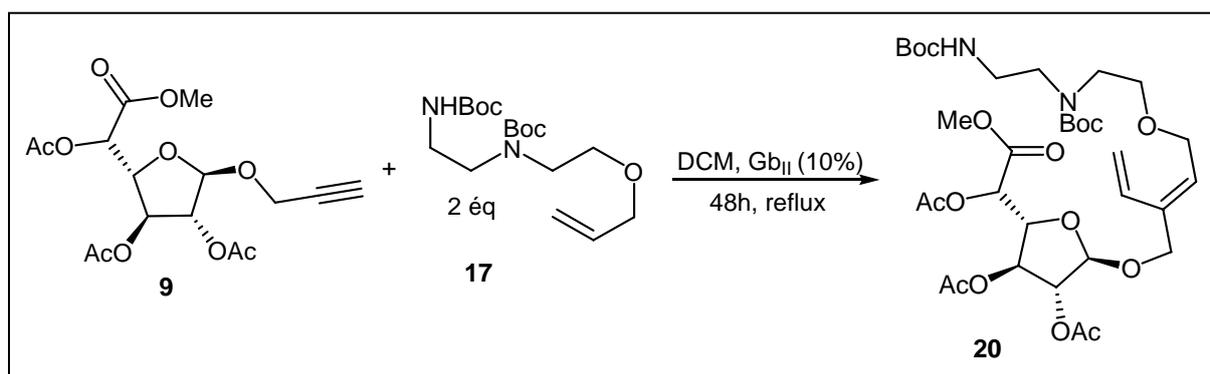


*Schéma IV-18 : Première tentative de synthèse du glyco-cryptand **B***

La réaction de métathèse ènyne réalisée sur le composé **19** n'a pas pu aboutir à la synthèse du glyco-cryptand **B**, ceci est très probablement dû à la présence des fonctions alcool et amine libres qui peuvent empoisonner le catalyseur.

*IV-3-2-3-c) Tentatives de synthèse du glyco-cryptand **B** par la voie (2)*

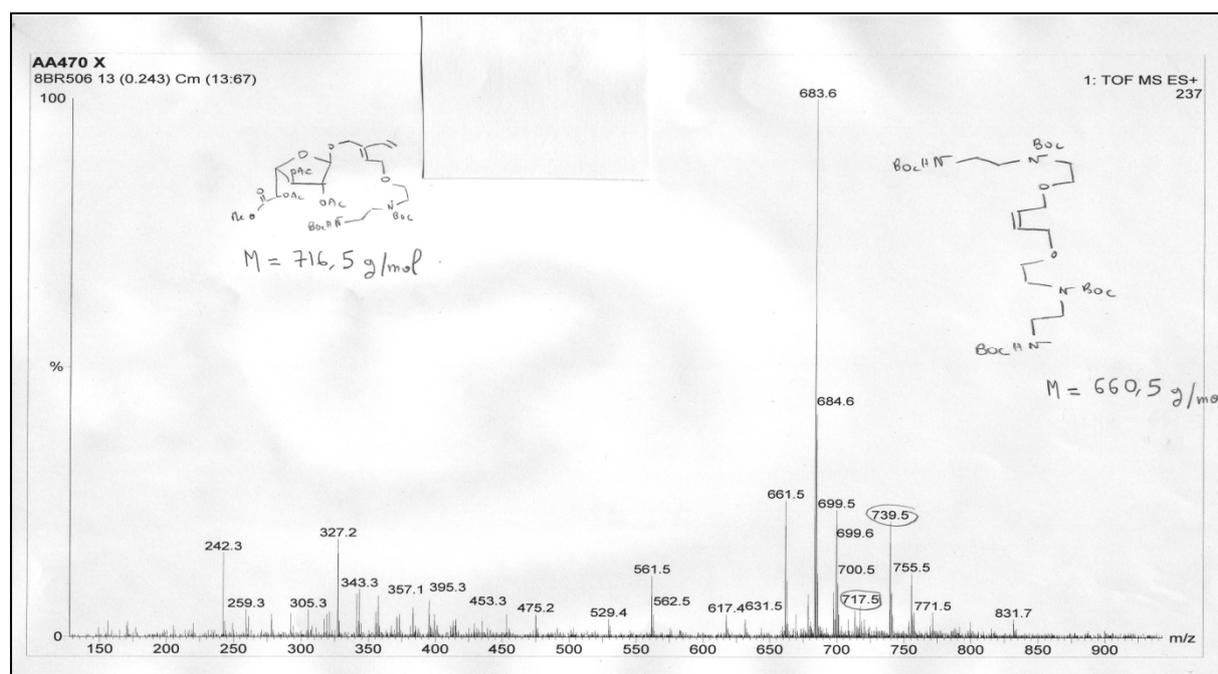
Après les différents essais infructueux de métathèse ènyne réalisé sur le sucre non protégé **19**, nous avons réalisé cette réaction de métathèse ènyne croisée en combinant le sucre protégé **9** à l'amine protégée **17**, afin d'obtenir le diène **20**, comme illustré dans le schéma suivant.



*Schéma IV-19 : Métathèse ènyne croisée entre le sucre **9** et l'amine **17** protégés*

Différentes conditions expérimentales ont été testées en utilisant plusieurs catalyseurs, mais les meilleures conditions restent l'utilisation de 10% du catalyseur de Grubbs de 2<sup>ème</sup> génération au reflux du dichlorométhane pendant 48 heures.

D'après le spectrogramme de masse ci-dessous, on remarque la présence d'un pic à  $m/z = 739,5$  qui correspond à l'espèce  $C_{33}H_{52}N_2O_{15}Na$  (**20** + Na). Par ailleurs, la présence d'une deuxième espèce à  $m/z = 683,6$  laisse supposer la formation d'un produit secondaire issu d'une autre réaction de métathèse croisée entre deux amines protégées *O*-allylées **17** (Figure IV-1).



*Figure IV-1 : Spectrogramme de masse après purification de la métathèse ényne croisée entre les composés 9 et 17*

Malheureusement, la purification du produit s'avère très difficile, à cause de son  $R_f$  très proche de celui du produit secondaire, avec l'obtention d'un rendement inférieur à 50%.

Des essais d'amélioration des conditions expérimentales sont toujours en cours afin d'obtenir le produit **20** avec une pureté et un rendement supérieurs à ceux obtenus lors des premiers essais.

#### IV-4) Conclusion

Dans le cadre de l'élaboration de nouvelles molécules complexantes dérivées de l'acide D-galacturonique, nous avons réalisé la synthèse de nouveaux ligands de type glycocryptand **A**

et **A'**. Ces composés possèdent des « cages » comportant des hétéroatomes de type donneur d'électrons, qui sont potentiellement capables de complexer des cations métalliques tels que les ions cuivre (II).

La synthèse de ces glyco-cryptands a été réalisée en 10 étapes à partir de l'acide D-galacturonique et l'amine commerciale : 2-(2-aminoéthylamino)éthanol, en utilisant comme réaction clé pour la fermeture du cycle, une cycloaddition 1,3-dipolaire connue couramment sous le nom de «click chemistry». Cette réaction a permis d'obtenir deux produits macrocycliques **A** et **A'** respectivement de type 1,4- et 1,5-triazole.

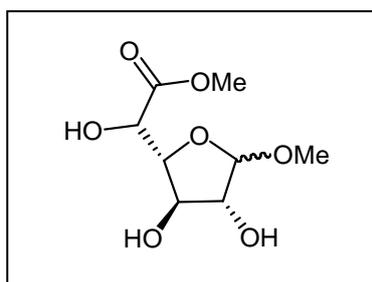
Enfin, une étude thermodynamique de la complexation de ces glyco-cryptands avec les ions cuivre (II) en fonction du pH est prévue très prochainement, ainsi que l'élaboration de synthèse des complexes cuivriques à l'état solide.

Par contre, des essais de cyclisation par une réaction de type métathèse ényne n'a pas permis d'accéder au macrocycle **B** visé même si des essais complémentaires restent à réaliser.

#### IV-5) Partie Expérimentale

##### ❖ Méthyl (D-galactofuranoside)uronate de méthyle (7)

5 g d'acide D-galacturonique (25,7 mmol) est mis en suspension dans 100 mL de méthanol pur, en présence de 5 g de résine Amberlite IR 120-H, puis laissé sous agitation à 35 °C pendant 48 heures. À la fin de la réaction, la résine est éliminée par filtration, puis le méthanol est évaporé sous pression réduite à l'évaporateur rotatif.



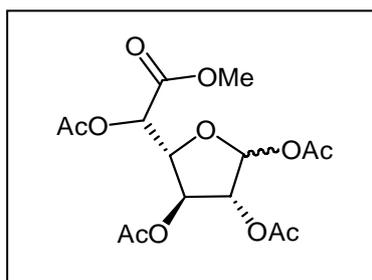
Huile jaune ( $R_f = 0,15-0,2$  dans l'acétate d'éthyle)

Rendement : quantitatif.

Référence : Bordoni, A.; Lima, C.; Marino, K.; de Lederkremer, R. M.; Marino, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1863.

##### ❖ 1,2,3,5-Tetra-O-acétyl (D-galactofuranoside)uronate de méthyle (8)

Dans un ballon sont placés 7,5 mL d'anhydride acétique (80 mmol, 8,15 g) en présence de 0,3 mL d'acide sulfurique concentré. Dans un deuxième ballon, une quantité de 1 g du composé 7 est ajoutée à 7,5 mL d'anhydride acétique (80 mmol, 8,15 g), et 7,5 mL d'acide acétique (131 mmol, 7,86 g). Ensuite, le contenu du premier ballon est transvasé dans le deuxième en maintenant ce dernier à basse température (0 °C), puis la réaction est laissée sous agitation durant 5 minutes à 0 °C, puis à 40 °C pendant 2 heures. À la fin de la réaction, un volume de 20 mL de dichlorométhane est ajouté au milieu réactionnel, puis le mélange est neutralisé en ajoutant goutte à goutte une solution saturée de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . La phase organique est extraite, puis séchée sur  $\text{MgSO}_4$ , et le dichlorométhane est évaporé sous pression réduite à l'évaporateur rotatif.



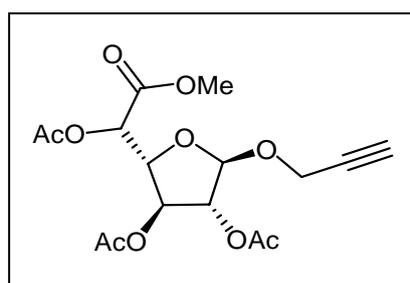
Huile jaune ( $R_f = 0,45$  dans un éluant : acétate d'éthyle / éther de pétrole (6 : 4))

Rendement : 90%.

Référence : Matsuhiro, B.; B. Zanlungo, A.; G. S. Dutton, G. *Carbohydr. Res.* **1981**, 97, 11.

❖ **Propargyl 2,3,5-tri-O-acétyl (D-galactofuranoside)uronate de méthyle (9)**

Dans 25 mL de dichlorométhane fraîchement distillé, une suspension de 0,87 g du sucre **8** (2,31 mmol) est mise en présence de 4 équivalents d'alcool propargylique (0,54 mL, 9,24 mmol). Le mélange réactionnel est maintenu ensuite à 0 °C sous atmosphère inerte, puis un volume de 1,46 mL de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (11,5 mmol) est ajouté au mélange réactionnel, qui est maintenu sous agitation à basse température pendant 20 heures. À la fin de la réaction, 50 mL de dichlorométhane, et 30 mL d'une solution saturée de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , sont ajoutés au milieu réactionnel, puis la phase organique est extraite et séchée sur  $\text{MgSO}_4$ . Le brut réactionnel est évaporé sous pression réduite à l'évaporateur rotatif.



Solide incolore

Point de fusion : 73 °C.

Rendement : 86%.

Analyse élémentaire:  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_{10} \cdot \frac{1}{4} \text{H}_2\text{O}$  ; (%) Expérimental : C 51,12 ; H 5,45

(%) Théorique : C 50,99 ; H 5,48

SMHR (ES) : m/z calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_{10}\text{Na}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 395,0954$  ; trouvée = 395,0962.

Infra rouge : (KBr)/ $\text{cm}^{-1}$  1740 (C=O) et 2119 (triple liaison).

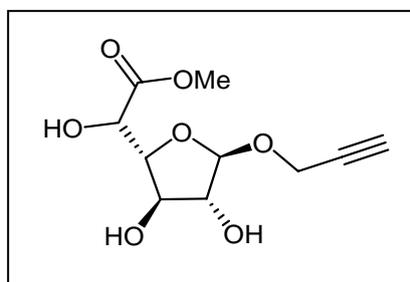
Pouvoir rotatoire:  $[\alpha]_D^{20} = -71$  ( $c = 0,84$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,10 (6H, s, 2 OAc), 2,21 (3H, s, OAc), 2,43 (1H, t,  $J$  2,2,  $\text{OCH}_2\text{CCH}$ ), 3,79 (3H, s, OMe), 4,22 (2H, d,  $J$  2,2,  $\text{OCH}_2\text{CCH}$ ), 4,54 (1H, dd,  $J$  5,5 et 2,7, H-3), 5,04 (1H, d,  $J$  5,5, H-4), 5,12 (1H, s, H-5), 5,28 (1H, s, H-1), 5,42 (1H, d,  $J$  2,7, H-2).

RMN  $^{13}\text{C}$  (62,9 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 20,5-20,8 (3  $\text{OCOCH}_3$ ), 52,8 ( $\text{COOCH}_3$ ), 54,3 ( $\text{OCH}_2\text{CCH}$ ), 70,6 (C-2), 75,2 ( $\text{OCH}_2\text{CCH}$ ), 76,7 (C-4), 78,3 ( $\text{OCH}_2\text{CCH}$ ), 81,2 (C-3), 81,4 (C-5), 104,0 (C-1), 167,6 (C-6), 169,6-170,3 (3  $\text{OCOCH}_3$ ).

#### ❖ Propargyl (D-galactofuranoside)uronate de méthyle (10)

Une suspension de 3 g du sucre protégé **9** (2,31 mmol) est maintenue sous agitation dans 40 mL de méthanol pur sous atmosphère inerte. Ensuite, un équivalent de méthanolate de sodium solide (0,43 g) est ajouté au mélange réactionnel, qui est maintenu sous agitation pendant une heure. À la fin de la réaction, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout de la résine amberlite IR 120-H jusqu'à pH neutre. La résine est filtrée et le méthanol est évaporé sous pression réduite à l'évaporateur rotatif.



Huile orange

Rendement: quantitatif.

Analyse élémentaire:  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_7$ ; (%) Expérimental : C 48,54; H 5,98

(%) Théorique : C 48,78 ; H 5,73

SMHR (ES):  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{Na}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 269,0637$ ; trouvée = 269,0630.

Infra rouge: (KBr)/ $\text{cm}^{-1}$  1744 (C=O) et 2120 (triple liaison).

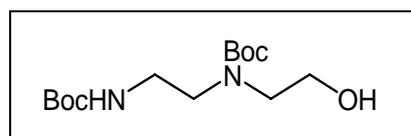
Pouvoir rotatoire:  $[\alpha]_D^{20} = -131,5$  ( $c = 1,00$ , méthanol).

RMN  $^1\text{H}$  (250 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 2,90 (1H, t,  $J$  2,4,  $\text{OCH}_2\text{CCH}$ ), 3,81 (3H, s, OMe), 4,09 (1H, dd,  $J$  3,4 et 1,8, H-2), 4,20 (1H, dd,  $J$  6,0 et 3,4, H-3), 4,29 (2H, d,  $J$  2,4,  $\text{OCH}_2\text{CCH}$ ), 4,33 (1H, dd,  $J$  6,0 et 2,7, H-4), 4,53 (1H, d,  $J$  2,7, H-5), 5,16 (1H, d,  $J$  1,8, H-1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, D<sub>2</sub>O) : 53,4 (OMe), 55,3 (OCH<sub>2</sub>CCH), 69,7 (C-5), 76,3 (C-3), 76,4 (OCH<sub>2</sub>CCH), 79,5 (OCH<sub>2</sub>CCH), 81,3 (C-2), 84,5 (C-4), 106,8 (C-1), 174,0 (C-6).

❖ **N-(2-Hydroxyéthyl)-N,N'-bis-(tert-butyloxy-carbonyl)-1,2-diaminoéthane (12)**

Une suspension de 3 g (28,8 mmol) du composé commercial 2-(2-aminoéthylamino)éthanol est maintenue sous agitation et à 0 °C dans 20 mL d'un mélange THF / éthanol (1 : 1). Ensuite, une quantité de 13,8 g (63,36 mmol) du di-*tert*-butyldicarbonate est solubilisée dans 15 mL d'un mélange THF / éthanol (1 : 1), et ajoutée au mélange réactionnel, puis le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante durant 3 heures. À la fin de la réaction, le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne chromatographique de gel de silice, en utilisant tout d'abord : acétate d'éthyle / éther de pétrole (2 : 8) comme éluant pour éliminer l'anhydride en excès, puis : acétate d'éthyle / éther de pétrole (3 : 2) pour récupérer la diamine protégée **12**.



Huile incolore (R<sub>f</sub> = 0,30 dans un éluant : acétate d'éthyle / éther de pétrole (3 : 7))

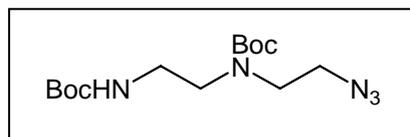
Rendement : 98%.

Référence : Schütte, M. T.; Schumacher, P.; Unger, C.; Mülhaupt, R.; Kratz, F. *Inorg. Chim. Acta* **1998**, 267, 133.

❖ **N-(2-azidoéthyl)-N,N'-bis-(tert-butyloxy-carbonyl)-1,2-diaminoéthane (13)**

Une quantité de 4 g (13,1 mmol) de la diamine protégée **12** avec un volume de 3,41 mL (15,7 mmol) de l'azoture du diphenyl phosphoryle (DPPA) sont mis en solution dans 45 mL de THF distillé, puis le mélange réactionnel est maintenu avec agitation sous atmosphère inerte. Ensuite, un volume de 1,96 mL (13,1 mmol) de la 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ène (DBU) est additionné dans le milieu réactionnel à 0 °C. La réaction est ensuite laissée sous agitation à température ambiante durant 2 heures. Une masse de 2,56 g (39 mmol) d'azoture de sodium est ajoutée au mélange réactionnel, qui est ensuite porté au reflux du THF sous agitation pendant 4 jours. À la fin de la réaction, des volumes de 100 mL d'éther éthylique et 20 mL d'eau distillée sont ajoutés au mélange réactionnel. La phase organique est extraite, séchée sur

MgSO<sub>4</sub>, puis le solvant est évaporé sous pression réduite à l'évaporateur rotatif. Enfin, le brut réactionnel est passé sur colonne chromatographique de gel de silice, en utilisant l'acétate d'éthyle / éther de pétrole (2 : 8) comme éluant, afin de récupérer l'azoture désiré **13**.



*Solide blanc*

*Point de Fusion* : 65 °C.

*Rendement* : 70%.

*Analyse élémentaire*: C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> ; (%) Expérimental : C 51,27 ; H 8,21 ; N 20,98.

(%) Théorique : C 51,05 ; H 8,26 ; N 21,26

*SMHR (ES)* : m/z calculée pour C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 330,2141 ; trouvée = 330,2146.

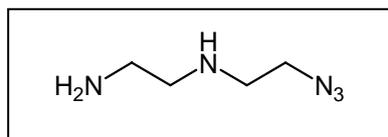
*Infra rouge* : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1680 (C=O) et 2113 (N<sub>3</sub>).

*RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)* : 1,41 (9H, s, 3 CH<sub>3</sub>), 1,45 (9H, s, 3 CH<sub>3</sub>), 3,26 (2H, t, J 5,5 BocHNCH<sub>2</sub>), 3,35 (6H, m, BocHNCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(Boc)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 4,97 (1H, m, NHBoc).

*RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CDCl<sub>3</sub>)* : 28,5 (6 CH<sub>3</sub>), 39,5 (BocHNCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 47,4 (CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 49,8 - 49,9 (CH<sub>2</sub>N(Boc)CH<sub>2</sub>), 80,6 (2 (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CO), 156,0 - 156,1 (2 (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>COCON).

#### ❖ N-(2-azidoéthyl)-1,2-diaminoéthane (14)

Une masse de 2,2 g (6,68 mmol) de l'azoture de diamine protégée **13** est solubilisée dans 10 mL d'éthanol, dans lequel est ajouté 10 mL d'une solution aqueuse de HCl 1 M. Le mélange réactionnel est porté à 60 °C pendant une nuit. À la fin de la réaction, un volume de 10 mL de chloroforme est ajouté au mélange réactionnel. Après extraction, l'eau est évaporée sous pression réduite pour obtenir le sel d'amine déprotégée. Ce dernier est passé sur résine acide échangeuse d'ions (Dowex) avec une élution utilisant une solution d'ammoniaque à 1 M pour récupérer l'amine neutre déprotégée **14**.



Huile jaune

Rendement : 93%.

Analyse élémentaire: C<sub>4</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub> ; (%) Expérimental : C 23,85 ; H 6,38 ; N 34,47.

(%) Théorique : C 23,77 ; H 6,48 ; N 34,66.

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 130,1093 ; trouvée = 130,1087.

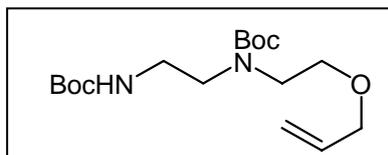
Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 2112 (N<sub>3</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, D<sub>2</sub>O) : 2,36 (2H, dd, J 8,8 et 8,4 CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,70 (4H, m, CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>), 3,43 (2H, t, J 5,9, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, D<sub>2</sub>O) : 40,0 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 47,3 (CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 50,2 (CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 50,8 (CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>).

❖ **N-(2 O-allyléthyl)-N,N'-bis-(tert-butylloxycarbonyl)-1,2-diaminoéthane (17)**

Une suspension de 8,49 g (27,8 mmol) de l'amine protégée **12** est maintenue sous agitation dans 100 mL de DMF distillé, puis 3 équivalents de bromure d'allyle (7,28 mL, 83,6 mmol) sont ajoutés. Puis 4,68 g (83,6 mmol) d'hydroxyde de potassium solide sont ajoutés au mélange réactionnel par fractions de 0,5 g. Le mélange réactionnel est ensuite laissé sous agitation à température ambiante pendant une nuit. À la fin de la réaction, un mélange éther diéthylique / eau (4 : 1) est ajouté au mélange réactionnel. La phase organique est extraite puis séchée sur MgSO<sub>4</sub> et le solvant est évaporé sous pression réduite. Enfin, le résidu est passé sur colonne chromatographique de gel de silice, en utilisant l'acétate d'éthyle / éther de pétrole (2 : 8) comme éluant, pour récupérer le composé **17**.



*Huile incolore*

*Rendement* : 77%.

*Analyse élémentaire*: C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ½ H<sub>2</sub>O ; (%) Expérimental : C 57,93 ; H 9,23 ; N 8,00

(%) Théorique : C 57,77 ; H 9,41 ; N 7,92

*SMHR (ES)* : m/z calculée pour C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 345,2389 ; trouvée = 345,2396.

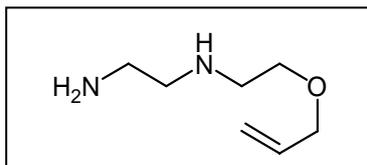
*Infra rouge* : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1697 (CO).

*RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)* : 1,39 (9H, s, 3 CH<sub>3</sub>), 1,49 (9H, s, 3 CH<sub>3</sub>), 3,24 (2H, t, J 5,2 BocHNCH<sub>2</sub>), 3,27 (4H, m, CH<sub>2</sub>N(Boc)CH<sub>2</sub>), 3,53 (2H, m, CH<sub>2</sub>N(Boc)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 3,94 (d, 2H, J 5,4, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5,18 (m, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5,86 (dt, 1H, J 11,0, 5,4, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>).

*RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, CDCl<sub>3</sub>)* : 28,4 (6 CH<sub>3</sub>), 39,8 (BocHNCH<sub>2</sub>), 48,1–48,2 (CH<sub>2</sub>N(Boc)CH<sub>2</sub>), 68,8 (CH<sub>2</sub>N(Boc)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 72,0 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 79,0–80,0 (2 (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CO), 117,1 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 134,6 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 156,1–156,2 (2 (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>COCON).

#### ❖ N-(2-O-allyléthyl)-1,2-diaminoéthane (18)

Une masse de 3,7 g (11,20 mmol) de diamine protégée **17** est solubilisée dans 10 mL d'éthanol pur, puis un volume de 10 mL d'une solution aqueuse de HCl 1 M est ajouté au mélange réactionnel. La température est portée à 60 °C pendant une nuit. À la fin de la réaction, 10 mL de chloroforme, sont rajoutés au mélange réactionnel. La phase aqueuse est ensuite extraite, puis le solvant est évaporé sous pression réduite, afin de récupérer le sel d'amine déprotégée. Ce dernier est passé sur résine acide échangeuse d'ions (Dowex), avec une élution utilisant une solution d'ammoniaque à 1 M pour récupérer l'amine neutre déprotégée **18**.



Huile incolore

Rendement : quantitatif.

Analyse élémentaire: C<sub>7</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O · ¼ H<sub>2</sub>O; (%) Expérimental : C 38,17 ; H 8,41 ; N 12,88  
(%) Théorique : C 37,93 ; H 8,41 ; N 12,64

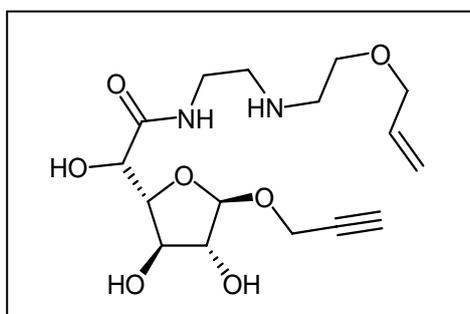
SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>7</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O [M + H]<sup>+</sup> = 145,1341 ; trouvée = 145,1345

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, D<sub>2</sub>O) : 2,67 (2H, m, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,75 (4H, m, CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>), 3,58 (2H, t, J 5,5, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4,00 (2H, d, J 5,9, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5,24 (m, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5,89 (1H, dt, J 11,5 et 5,9, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, D<sub>2</sub>O) : 41,2 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 49,2 (CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OAllyl), 51,2 (CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OAllyl), 70,3 (CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OAllyl), 73,4 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 120,0 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 135,6 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>).

❖ Propargyl (β-D-galactofuranoside éthylamino-[N-éthyl-[O-allyl]])uronamide (19)

Une solution de 0,98 g (3,98 mmol) de l'ester **10** est maintenue en présence de 2,5 équivalents de l'amine libre **18** (1,43 g, 9,95 mmol) sous agitation dans 3 mL de THF fraîchement distillé. Le mélange réactionnel est chauffé au reflux du THF pendant 6 heures. À la fin de la réaction, le THF est évaporé sous pression réduite et le brut réactionnel est passé ensuite sur colonne chromatographique de gel de silice en utilisant comme éluant CHCl<sub>3</sub> / méthanol / NH<sub>4</sub>OH (6 : 4 : 1), afin de récupérer l'amide désiré **19**.



Huile jaune

Rendement : 80%.

Analyse élémentaire: C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; (%) Expérimental : C 53,72; H 7,12; N 7,67

(%) Théorique : C 53,62 ; H 7,31 ; N 7,82

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 359,1818 ; trouvée = 359,1824.

Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1655 (C=O), 3391 (OH) et 2120 (triple liaison).

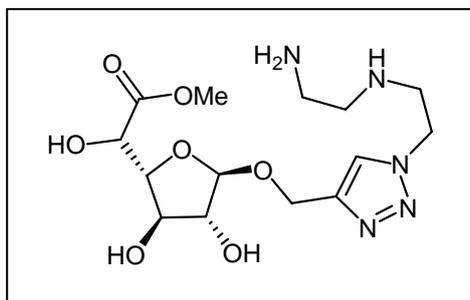
Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 61 (c = 0,47, méthanol).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, D<sub>2</sub>O) : 3,22 (4H, m, CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 3,29 (1H, t, J 6,6, OCH<sub>2</sub>CCH), 3,65 (2H, m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,74 (2H, m, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4,15 (2H, d, J 5,6, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4,20 (1H, d, J 3,3 H-2), 4,27 (1H, dd, J 6,0 et 3,3, H-3), 4,37 (2H, d, J 6,6, OCH<sub>2</sub>CCH), 4,43 (1H, d, J 6,0, H-4), 4,46 (1H, s, H-5), 5,25 (1H, s, H-1), 5,40 (2H, m, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 6,02 (1H, dt, J 10,6 et 5,6, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, D<sub>2</sub>O) : 35,5 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 45,8–45,9 (CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 53,5 (OCH<sub>2</sub>CCH), 64,6 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 68,6 (C-5), 70,5–70,6 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub> et OCH<sub>2</sub>CCH), 75,1 (C-3), 77,2 (OCH<sub>2</sub>CCH), 79,7 (C-2), 82,8 (C-4), 105,0 (C-1), 117,4 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 132,5 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 173,4 (C-6).

#### ❖ Amine (15)

Une masse de 0,04 g (0,162 mmol) de l'ester **10** est solubilisée dans 0,5 mL d'eau distillée, ensuite sont ajoutés respectivement des volumes de 0,065 mL (2%) d'une solution d'ascorbate de sodium (5.10<sup>-2</sup> M), et de 0,032 mL (1%) d'une solution de sulfate de cuivre pentahydraté (5.10<sup>-2</sup> M). Une masse de 0,021 g (0,162 mmol) de l'azoture **14** est additionnée au mélange réactionnel. La transformation est instantanée, et lyophilisée après 5 minutes de réaction.



Huile jaune

Rendement : quantitatif.

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup> = 398,1652 ; trouvée = 398,1645.

Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1656 (C=O), 3403 (OH).

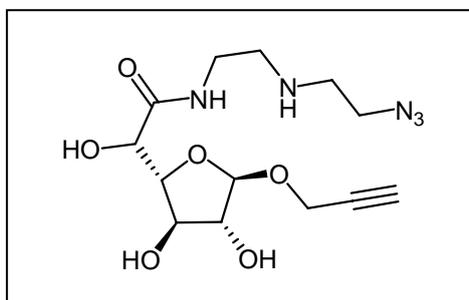
Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -44 (c = 0,33, eau).

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, D<sub>2</sub>O) : 2,88 (2H, dd, J 8,0, 5,7, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3,18 (4H, m, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>), 3,65 (2H, m, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,78 (3H, s, OMe), 3,97 (1H, d, J 3,3, H-2), 4,15 (1H, dd, J 6,6 et 3,3 H-3), 4,23 (1H, dd, J 6,6 et 2,5, H-4), 4,43 (1H, d, J 2,5, H-5), 4,72 (2H, m, OCH<sub>2</sub>CNNN(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)CH), 5,04 (1H, s, H-5), 4,46 (1H, s, H-5), 5,25 (1H, s, H-1), 8,05 (1H, t, OCH<sub>2</sub>CNNN(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)CH).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, D<sub>2</sub>O) : 41,05 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 47,7 (NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 50,0 (NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 52,2 (OMe), 55,4 (NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 62,9 (OCH<sub>2</sub>CNNN(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)CH), 71,7 (C-5), 78,2 (C-3), 83,3 (C-2), 86,0 (C-4), 109,5 (C-1), 127,8 (OCH<sub>2</sub>CNNN(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)CH), 146,3 (OCH<sub>2</sub>CNNN(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)CH), 176,1 (C-6).

#### ❖ Propargyl (β-D-galactofuranoside éthylamino-[N-2-azidoéthyl]uronamide (16)

Une masse de 0,28 g (1,14 mmol) de l'ester **10** avec 2,84 équivalents de l'azoture **14** (0,418 g, 3,23 mmol) sont solubilisés dans 1 mL de THF fraîchement distillé, puis le mélange est chauffé à 45 °C pendant une nuit. À la fin de la réaction, le THF est évaporé sous pression réduite à basse température, puis le résidu réactionnel purifié par colonne chromatographique de gel de silice en utilisant comme éluant CHCl<sub>3</sub> / méthanol / NH<sub>4</sub>OH (6 : 4 : 1), afin de récupérer l'amide désiré **16**.



Huile jaune

Rendement : 65%.

Analyse élémentaire: C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> · ½ H<sub>2</sub>O ; (%) Expérimental : C 44,43 ; H 6,37 ; N 20,02  
(%) Théorique : C 44,31 ; H 6,29 ; N 19,88

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 344,1570 ; trouvée = 344,1583.

Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1649 (C=O) et 3143 (OH).

Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 119 (c = 0,52, méthanol).

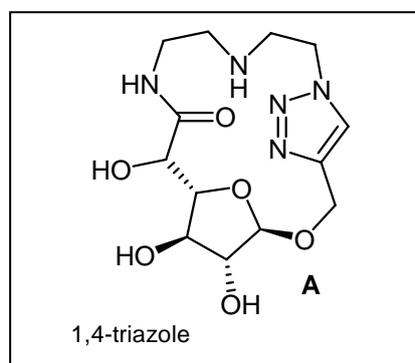
RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, D<sub>2</sub>O) : 2,72 (4H, m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 2,81 (1H, t, J 6,7, OCH<sub>2</sub>CCH), 3,45 (4H, m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 4,06 (1H, dd, J 3,3 et 1,4, H-2), 4,14 (1H, dd, J 6,0 et 3,3, H-3), 4,24 (2H, d, J 6,4 et 2,7, OCH<sub>2</sub>CCH), 4,28 (1H, dd, J 6,4 et 2,4, H-4), 4,30 (1H, d, J 2,4, H-5), 5,12 (1H, d, J 1,4, H-1).

RMN <sup>13</sup>C (62,9 MHz, D<sub>2</sub>O) : 40,7 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 49,2 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 49,4 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 52,8 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 57,0 (OCH<sub>2</sub>CCH), 72,3 (C-5), 78,5 (OCH<sub>2</sub>CCH), 78,8 (C-3), 81,0 (OCH<sub>2</sub>CCH), 83,4 (C-2), 86,4 (C-4), 108,5 (C-1), 176,4 (C-6).

#### ❖ Glyco-cryptands (A) & (A')

Une suspension de 0,182 g (0,53 mmol) de l'amide **16** est maintenue sous agitation dans 180 mL d'eau distillée, puis sont ajoutés respectivement des volumes de 0,53 mL (1%) d'une solution de sulfate de cuivre (1.10<sup>-2</sup> M), et de 1,06 mL (2%) d'une solution d'ascorbate de sodium (1.10<sup>-2</sup> M). La réaction est agitée à température ambiante pendant 24 heures, puis lyophilisée. Le résidu est purifié par une colonne chromatographique de gel de silice en utilisant comme éluant CHCl<sub>3</sub> / méthanol / NH<sub>4</sub>OH (6 : 4 : 1), afin de récupérer les deux glyco-cryptands **A** et **A'** dans un rapport 8 : 2.

#### ➤ glyco-cryptand A



Huile jaune

Rendement : 67% (Ascorbate de sodium (2%), Sulfate de cuivre (1%) dans l'eau à haute dilution à température ambiante durant 24 heures.

SMHR (ES) : m/z calculée pour  $C_{13}H_{22}N_5O_6$   $[M + H]^+ = 344,1570$  ; trouvée = 344,1579

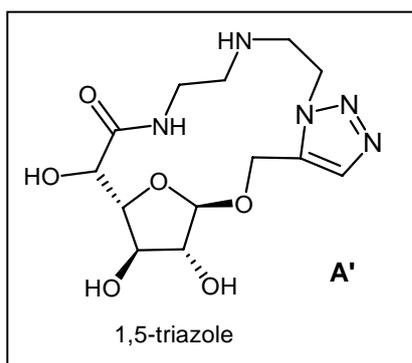
Infra rouge : (KBr)/ $cm^{-1}$  1655 (C=O) et 3401 (OH).

Pouvoir rotatoire:  $[\alpha]_D^{20} = -18$  ( $c = 0,67$ , méthanol).

RMN  $^1H$  (500 MHz,  $D_2O$ ) : 2,83 (1H, ddd,  $J$  13,0, 9,6 et 2,5,  $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 2,95 (1H, ddd,  $J$  13,0, 4,5 et 2,8,  $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 3,32 (2H, ddd,  $J$  13,1, 7,5 et 2,5,  $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 3,47 (2H, ddd,  $J$  13,1, 9,6 et 2,8,  $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 4,03 (1H, dd,  $J$  6,6 et 4,6, H-3), 4,08 (1H, dd,  $J$  4,6 et 2,3, H-2), 4,16 (1H, m, H-4), 4,17 (1H, m, H-5), 4,63 (2H, m,  $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 4,68 (1H, d,  $J$  14,2,  $OCH_2CNNN(CH_2CH_2NH)CH$ ), 4,99 (1H, d,  $J$  14,2,  $OCH_2CNNN(CH_2CH_2NH)CH$ ), 5,10 (1H, d,  $J$  2,3, H-1). 7,96 (1H, s,  $OCH_2CNNN(CH_2CH_2NH)CH$ ).

RMN  $^{13}C$  (125 MHz,  $D_2O$ ) : 37,4 ( $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 46,7 ( $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 47,4 ( $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 49,1 ( $CONHCH_2CH_2NHCH_2CH_2$ ), 63,9 ( $OCH_2CNNN(CH_2CH_2NH)CH$ ), 69,5 (C-5), 75,7 (C-3), 81,2 (C-2), 82,8 (C-4), 110,1 (C-1), 124,9 ( $OCH_2CNNN(CH_2CH_2NH)CH$ ), 145,9 ( $OCH_2CNNN(CH_2CH_2NH)CH$ ), 174,8 (C-6).

➤ glycocryptand A'



Solide incolore

Point de Fusion :  $F_{\text{déc}} = 204$  °C.

Rendement : 55% (Iodure de cuivre (2 éq), DIEA (10 éq) dans un mélange THF/ $CH_3CN$  (3 : 1) à haute dilution, à température ambiante pendant 3 jours.

SMHR (ES) : m/z calculée pour C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> [M + H]<sup>+</sup> = 344,1570 ; trouvée = 344,1562

Infra rouge : (KBr)/cm<sup>-1</sup> 1655 (C=O) et 3387 (OH).

Pouvoir rotatoire: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 25 (c = 0,64, méthanol).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, D<sub>2</sub>O) : 2,98 (2H, t, J 5,3, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,36 (2H, dd, J 3,6 et 1,5, H-2), 4,10 (1H, dd, J 6,6 et 3,6, H-3), 4,19 (1H, dd, J 6,6 et 2,0, H-4), 4,29 (1H, d, J 2,0, H-5), 4,62 (2H, s, OCH<sub>2</sub>CNNN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH)CH), 4,64 (2H, m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 5,02 (1H, d, J 1,5, H-1), 7,99 (1H, s, OCH<sub>2</sub>CNNN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH)CH).

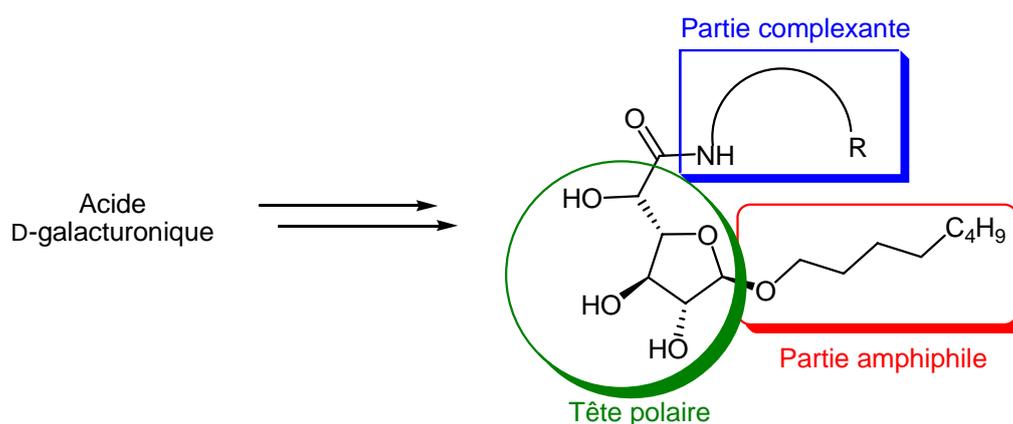
RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, D<sub>2</sub>O) : 37,5 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 47,4 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 47,5 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 48,5 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 60,5 (OCH<sub>2</sub>CNNN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH)CH), 69,9 (C-5), 76,5 (C-3), 81,4 (C-2), 83,7 (C-4), 107,4 (C-1), 125,7 (OCH<sub>2</sub>CNNN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH)CH), 144,5 (OCH<sub>2</sub>CNNN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH)CH), 174,8 (C-6).



*CONCLUSION GÉNÉRALE*



L'objectif de mon travail consistait à développer de nouvelles voies de valorisation de l'acide D-galacturonique, co-produit important de l'industrie sucrière. Nous avons synthétisé une nouvelle famille de molécules amphiphiles et complexantes en effectuant une première étape d'estérification *O*-glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol, puis une réaction d'aminolyse de l'ester qui permet le greffage de la chaîne hétéroatomique pour la complexation des ions Cu (II).



L'étude des propriétés physicochimiques de ces molécules a permis de déterminer des valeurs de CMC comprises entre 0,65 et 3 mM et des tensions superficielles entre 25 et 32 mN.m<sup>-1</sup>. Ces résultats montrent que le comportement de cette famille de tensioactifs est intéressant et les valeurs obtenues sont comparables à des tensioactifs à base sucre ayant une chaîne alkyle C<sub>10</sub>.

D'autre part, des études de complexation de ces ligands amphiphiles ont été réalisées en présence des ions Cu (II) en fonction du pH, afin de définir les différentes espèces présentes dans chaque gamme de pH, ainsi que les constantes de stabilité correspondant aux différents complexes présents en solution. Ensuite, des complexes métalliques ont été synthétisés à l'état solide, puis utilisés pour tester leur potentiel catalytique dans la réaction d'oxydation du DTBC en DTBQ. Cette réaction qui a été mise au point dans le méthanol, ainsi qu'en milieu aqueux micro-hétérogène, a montré que ces complexes cuivriques possédaient la faculté de catalyser cette réaction avec une activité équivalente dans les deux milieux.

Une des perspectives de ce travail consistera à élargir le champ d'application de ces complexes en catalyse oxydative vers d'autres types de réactions plus intéressantes d'un point de vue industriel.

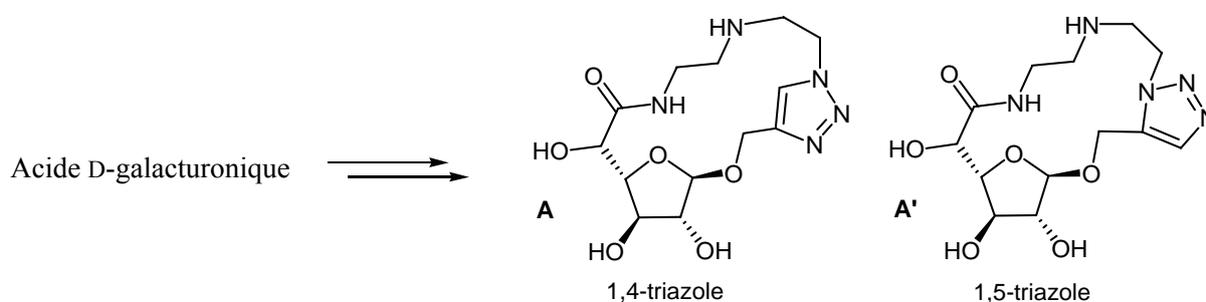
La possibilité de travailler dans ces systèmes micellaires serait un atout majeur vers le développement de procédés plus propres, comme par exemple l'oxydation du 2,6-diméthylphénol qui constitue une étape clé vers la fabrication de polyphénylène d'éther (PPE).

La mise en place de ces procédés nécessitera une approche fondamentale pour appréhender de manière plus précise la réactivité des complexes dans ces milieux notamment pour évaluer la quantité de sites actifs incorporés dans le cœur de la micelle.

Nous avons également étudié l'influence des ligands et des complexes de Cu (II) sur l'activité catalytique de la tyrosinase. Dans tous les cas, les composés inhibent la biocatalyse de la L-Dopa en dopachrome à des concentrations inférieures ou égales à 10 mM. Le complexe Cu-*OGEPU* est le meilleur inhibiteur de la série, qui présente une  $IC_{50}$  de 0,25 mM. Ces résultats préliminaires devront être affinés pour tenter de comprendre le mécanisme d'inhibition mis en jeu.

Par ailleurs, une perspective de ce travail visera la synthèse de molécules amphiphiles susceptibles de complexer deux atomes de Cu (II), qui pourraient avoir des propriétés physicochimiques et complexantes plus intéressantes pour la catalyse des réactions d'oxydation élaborées par voie enzymatique. Un exemple concret de ces composés concerne la synthèse de molécules de type bolaforme ayant deux têtes sucres amphiphiles et un espaceur polyfonctionnalisé pour la complexation de cations métalliques.

Enfin, nous avons synthétisé avec succès des molécules cages polyfonctionnelles de type glyco-cryptands à partir de l'acide D-galacturonique, en utilisant comme réaction clé pour la fermeture de cycle, la cycloaddition 1,3-dipolaire. L'étude des propriétés complexantes de ces macrolides originaux sera réalisée prochainement au laboratoire.



## Résumé

Le travail de thèse réalisé décrit la synthèse de ligands amphiphiles de type uronamides, les propriétés physicochimiques ainsi qu'une étude de complexation avec les ions Cu (II). La synthèse de ces nouvelles molécules amphiphiles et complexantes a été réalisée à partir de l'acide D-galacturonique, en élaborant une séquence réactionnelle directe, écoresponsable et peu coûteuse, avec une étude détaillée des conditions expérimentales accompagnant chaque transformation mise en jeu afin d'optimiser le processus.

Cette nouvelle famille de molécules a pour objectif final de complexer les ions Cu (II) et de les transporter à travers l'épiderme afin d'activer certaines enzymes responsables du déclenchement du cycle de la mélanogénèse, en l'occurrence la tyrosinase et la catéchol oxydase.

Les propriétés physicochimiques et complexantes des ligands préparés ont été étudiées au cours de ce travail. L'étude physico-chimique de cette famille de composés de type *n*-octyl D-galacturonamides a montré qu'ils possédaient de très bonnes qualités tensioactives par comparaison aux *n*-octyl glycosides.

D'autre part, des études de complexation ont été réalisées en présence des ions Cu (II) en fonction du pH, afin de définir les différentes espèces présentes dans chaque gamme de pH, ainsi que leurs constantes de stabilité. Des complexes métalliques ont été synthétisés à l'état solide, puis utilisés pour tester leur potentiel catalytique dans la réaction d'oxydation modèle du 3,5-di-*tert*-butyl catéchol en 3,5-di-*tert*-butyl quinone. Cette réaction réalisable dans le méthanol ainsi qu'en milieu aqueux micro-hétérogène, a montré que ces complexes cuivriques possédaient la faculté de catalyser cette réaction avec une activité équivalente dans les deux milieux.

Enfin, une dernière partie a été consacrée à l'élaboration d'une voie d'accès originale vers des macrocycles à base d'acide D-galacturonique pour la conception d'une nouvelle gamme de glyco-cryptands permettant la complexation sélective des cations.

Mots-Clés : Pectine, Acide D-galacturonique, Glycosylation, Aminolyse, Activation par les micro-ondes, Glyco-cryptands, Cuivre, Complexation, Catalyse oxydative.



## **Abstract**

This PhD work describes the synthesis of amphiphilic D-galacturonamide ligands, their physico-chemical properties and their complexation with copper (II) ions. These original ligands were synthesized from D-galacturonic acid, the major component of pectins from sugar beet pulp, the co-product of sugar industry. The final aim of these amphiphilic glycoligands was their use as copper ions carriers through the skin for the activation of enzymes responsible for the release of the melanogenesis cycle such as tyrosinase and catechol oxidase.

The synthesis of the glycoligands used a direct, cheap and eco-compatible two step reaction sequence from D-galacturonic acid: *O*-glycosylation esterification and aminolysis of ester function. A detailed study of the experimental conditions (temperature, time, acid catalyst, amount of alcohol, thermal or microwave activation) for each step was developed in order to optimize the synthetic process.

The physico-chemical properties were studied and the prepared ligands showed interesting tensioactive properties compared to the known *n*-octyl glycosides.

Studies of complexation with copper (II) ions were achieved, as function of the pH, to define the various species present in every range of pH as well as their stability constants. Metallic complexes were synthesized in the solid state and used to assess their catalytic activities in the model oxidation reaction of 3,5-di-*tert*-butyl catechol to 3,5-di-*tert*-butyl quinone. These complexes can catalyze this oxidation reaction in methanol and also, interestingly, in a micro-heterogeneous aqueous medium with the same activity in both media.

Free ligands as well as the corresponding copper complexes proved to be weak inhibitors for the tyrosinase activity.

Finally, a last part of this work was devoted to the elaboration of synthetic routes towards macrocycles ligands from D-galacturonic acid and to the conception of a new range of glyco-cryptands for selective cations complexation.

**Keywords:** Pectin, D-galacturonic acid, Glycoligands, Glycosylation, Aminolysis, Microwave activation, Glyco-cryptands, Copper, Complexation, Oxidative catalysis.



*RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES*



## **Références Bibliographiques**

- [1] (a) Tounsi, N.; Dupont, L.; Mohamadou, A.; Cadiou, C.; Aplicourt, M.; Plantier-Royon, R.; Massicot, F.; Portella, C. *New. J. Chem.* **2004**, *28*, 785. (b) Tounsi, N.; Dupont, L.; Mohamadou, A.; Aplicourt, M.; Plantier-Royon, R.; Massicot, F.; Harakat, D.; Portella, C. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 2423. (c) Tounsi, N.; Dupont, L.; Mohamadou, A.; Aplicourt, M.; Plantier-Royon, R.; Massicot, F.; Portella, C. *Actual. Chim.* **2006**, *293*, 12. (d) Tounsi, N.; Dupont, L.; Guillon, E.; Aplicourt, M. *Inorg. Chim. Acta.* **2007**, *360*, 2598.
- [2] Gupta, S. K. *Skin darkening (sunless tanning) compositions based on enhancement of melanin synthesis by tyrosinase promoters*. Etats Unis, US 2005/0175556 A1. **2005-08-11**.
- [3] Portail de la betterave, *Site de la betterave.com*, <http://www.labetterave.com>, page consultée le 08 Juillet 2009.
- [4] Whistler, R. L.; BeMiller, J. N. *Pectins*, dans *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*, Eagan Press, St. Paul, Minnesota, **1997**, 203.
- [5] Sakai, T.; Sakamoto, T.; Hallaert, J.; Vandamme E. J. *Adv. Appl. Microbiol.* **1993**, *39*, 213.
- [6] Donato, L. *Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques*, Thèse de l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires, **2004**.
- [7] Courtois, J.; Sasia, G. *AVH Association 9<sup>th</sup> Symposium*, Reims, **Mars 2002**.
- [8] Malovikova, A.; Rinaudo, M.; Milas, M. *Carbohydr. Polym.* **1993**, *22*, 92.
- [9] Ousalem, M.; Busnel, J. P.; Nicolai, T. *Int. J. Biol. Macromol.* **1993**, *15*, 209.
- [10] Kar, F.; Arslan, N. *Carbohydr. Polym.* **1999**, *40*, 277.
- [11] Voragen, A.; Thibault, J. F.; Pilnik, W.; Axelos, M. A. V.; Renard, C. M. G. C. **1995**, *Pectins*, dans *Food Polysaccharides and their Applications*. Editeur : Stephen, A. M.; New York; Marcel Dekker : 287.
- [12] Thakur, B. R.; Rakesh, K. S.; Handa, K. H. *Critical Reviews in Food Science and nutrition* **1997**, *37*, 47.
- [13] Rhombouts, F. M.; Thibault, J. F. *Carbohydr. Res.* **1986**, *154*, 189.
- [14] Lau, J.; McNeil, M.; Darvill, A. G.; Alberstheim, P. *Carbohydr. Res.* **1985**, *137*, 111.
- [15] Doesburg J. J. *Pectic substances in fresh and preserved fruits and vegetables*, **1965**, I. B. V. T. Commun.; 25, Institute for research on storage and processing of horticultural produce; p 40-50; Wageningen, Pays-Bas.
- [16] Albersheim, P. *Sci. Am.* **1975**, *3*, 81.
- [17] Kiss, J. *Adv. Carb. Chem. Biochem.* **1974**, *29*, 230.

- [18] Rombouts, F. M.; Thibault, J. F. dans *Economic Microbiology*, **1980**, Vol 5, Ed Rose, A. H.; Academic Press, N-Y.
- [19] Baron, A., *Contribution à l'étude du mécanisme d'action de la pectinestérase d'Aspergillus niger*, **1978**, Thèse de doctorat de l'université de Rennes.
- [20] Neukom, H. *Schweitz. Landwirtsch. Forsch.* **1963**, 2, 112.
- [21] Bertho, J.-N. *Glycosylations sélectives à partir d'acides uroniques libres: Applications à la synthèse de nouvelles molécules amphiphiles*, **1994**, Thèse de doctorat de l'université de Rennes 1.
- [22] (a) Sneyder, G. R.; Serianni, A. S. *Carbohydr. Res.* **1991**, 210, 21. (b) Sneyder, G. R.; Serianni, A. S. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 2694.
- [23] Rotondo, A.; Rotondo, E.; Casella, G. A.; Grasso, G. *Dalton Trans.* **2008**, 596.
- [24] Tajima, K. *Chem. Lett.* **1985**, 49.
- [25] Grant, G. T.; Morris, E. R.; Rees, D. A.; Smith, P. J. S.; Thom, D. *FEBS Lett.* **1973**, 32, 195.
- [26] Axelos, M. A. V.; Thibault, J.-F. The chemistry of low-methoxyl pectin gelation. Dans *The Chemistry and Technology of Pectin*. Editeur: Walter, R. H. **1991**; New York, Academic Press: p 109.
- [27] Braccini, I.; Perez, S. *Biomacromolecules* **2001**, 2, 1089.
- [28] (a) Dronnet, V. M.; Renard, C. M. G. C.; Axelos, M. A. V.; Thibault, J.-F. *Carbohydr. Polym.* **1996**, 30, 253. (b) Kartel, M. T.; Kupchik, L. A.; Veisov, B. K. *Chemosphere* **1999**, 38, 2591.
- [29] Thom, D.; Grant, G. T.; Morris, E. R.; Rees, D. A. *Carbohydr. Res.* **1982**, 100, 29.
- [30] Kohnova, Z.; Kohn, R. *Chem. Listy* **1981**, 75, 1051.
- [31] (a) Kohn, R. *Carbohydr. Res.* **1987**, 160, 343. (b) Branca, M.; Micera, G.; Dessi, A. *Inorg. Chim. Acta* **1988**, 153, 61.
- [32] Gyurcsik, B.; Nagy, L. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 203, 81.
- [33] Micera, G.; Dessi, A.; Kozlowski, H.; Radomska, B.; Urbanska, J.; Decock, P.; Dubois, B.; Olivier, I. *Carbohydr. Res.* **1989**, 188, 25.
- [34] Branca, M.; Micera, G.; Sanna, D. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1990**, 1997.
- [35] Makridou, C.; Cromer-Morin, M.; Scharff, J.-P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1977**, 59.
- [36] Kohn, R.; Hirsch, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1986**, 51, 1150.
- [37] Aruga, R. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, 54, 1233.
- [38] Synytsya, A.; Urbanova, M.; Setnicka, V.; Tkadlecova, M.; Havlicek, J.; Raich, I.; Matejka, P.; Synytsya, A.; Copikova, J.; Volka, K. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 2391.
- [39] Garriba, E.; Lodyga-Chruscinska, E.; Sanna, D.; Micera, G. *Inorg. Chim. Acta.* **2001**, 322, 87.
- [40] Knirel, Y.; Sharshkov, A.; Dmitrev, B.; Kochetkov, N. *Carbohydr. Res.* **1984**, 133, C12-C14.
- [41] Vogel, C.; Jeschke, U.; Kramer, S.; Ott, A.-J. *Liebigs Ann. Recueil* **1997**, 737.

- [42] (a) Gromska, W.; Mayer, H. *Eur. J. Biochem.* **1976**, *62*, 391. (b) Branefors-Helander, P.; Kenne, L.; Lindberg, B.; Petersson, K.; Unger, P. *Carbohydr. Res.* **1981**, *97*, 285. (c) Dengler, T.; Jann, B.; Jann, K. *Carbohydr. Res.* **1986**, *150*, 233. (d) Hofmann, P.; Jann, B.; Jann, K. *Carbohydr. Res.* **1985**, *139*, 261.
- [43] Kobayachi, E.; Motoki, K.; Uchida, T.; Fukushima, H.; Koezuka, Y. *Oncol. Res.* **1995**, *7*, 529.
- [44] (a) Mattner, J.; Debord, K. L.; Ismail, N.; Goff, R. D.; Cantu, C.; Zhou, D.; Saint-Mezard, P.; Wang, V.; Gao, Y.; Hoebe, K.; Schneewind, O.; Walker, D.; Beutler, B.; Teyton, L.; Savage, P.; Bendelac, A. *Nature* **2005**, *434*, 525. (b) Kinjo, Y.; Wu, D.; Kim, G.; Xing, G.-W.; Poles, M. A.; Ho, D. D.; Tsuji, M.; Kawahara, K.; Wong, C.-H.; Kronenberg, M. *Nature* **2005**, *434*, 520.
- [45] Long, X.; Deng, S.; Mattner, J.; Zang, Z.; Zhou, D.; McNary, N.; Goff, R. D.; Teyton, L.; Bendelac, A.; Savage, P. B. *Nature Chem. Biol.* **2007**, *3*, 559.
- [46] Stallforth, P.; Adibekian, A.; Seeberger, P. H. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1573.
- [47] Pilgrim, W.; Murphy, P. V. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 939.
- [48] (a) Moller, U.; Hobert, K.; Donnestarg, A.; Wagner, P.; Muller, D.; Fehlhaber, H.-W.; Markus, A.; Welzel, P. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1635. (b) Luning, J.; Moller, U.; Muller, D.; Welzel, P.; Markus, A.; Van Heijenoort, Y.; Van Heijenoort, J. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 10587.
- [49] (a) Asano, N. *Glycobiology* **2003**, *13*, 93R. (b) Chang, C.-F.; Ho, C.-W.; Wu, C.-Y.; Chao, T.-A.; Wong, C.-H.; Lin, C.-H. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1301. (c) Pearson, M. S. M.; Mathé-Allainmat, M.; Fargeas, V.; Lebreton, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2159.
- [50] (a) Mitrakou, A.; Tountas, N.; Raptis, A. E.; Bauer, R. J.; Schulz, H.; Raptis, S. A. *Diabetic Med.* **1998**, *15*, 657. (b) Scott, L. J.; Spencer, C. M. *Drugs* **2000**, *59*, 521.
- [51] (a) Laver, W. G.; Bischofberger, N.; Webster, R. G. *Sci. Am.* **1999**, *280*, 78. (b) Lew, W.; Chen, X.; Kim, C. U. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *7*, 663.
- [52] Rommel, M.; Ernst, A.; Harms, K.; Koert, U. *Synlett* **2006**, 1067.
- [53] (a) Pabba, J.; Mohal, N.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **2006**, *89*, 1373. (b) Pabba, J.; Vasella, A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3619. (c) Pabba, J.; Rempel, B. P.; Withers, S. G.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **2006**, *4*, 635.
- [54] Phippen, E. L.; McReady, R. M. *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 262.
- [55] Yu, B.; Li, B.; Zhang, J.; Hui, Y. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4871.
- [56] Bordoni, A.; de Lederkemer, R. M.; Marino, C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 1703.
- [57] Paulsen, B. S.; Barsett, H. *Adv. Polym. Sci.* **2005**, *186*, 69.
- [58] (a) Jones, J. K. N.; Stacey, M. *J. Chem. Soc.* **1947**, 1340. (b) Daas, P. J. H.; Arisz, P. W.; Schols, H. A.; De Ruiter, G. A.; Voragen, A. G. *J. Anal. Biochem.* **1998**, *257*, 195. (c) Nemati, N.; Karapetyan, G.; Nolting, B.; Endress, H.-U.; Vogel, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1730.
- [59] Ryan, C. A. *Biochemistry* **1988**, *27*, 8879.
- [60] Nakahara, Y.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1988**, *173*, 306.

- [61] Mukaiyama, T. Murai, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **1981**, 431.
- [62] Pozsgay, V. *Synthesis of oligosaccharides related to plant, vertebrate, and bacterial cell-wall glycans*, dans Ogura, H.; Hasegawa, A.; Suami-kodansha, T.; (Eds), *Carbohydrates, Synthetic Methods and Application in Medicinal Chemistry*, VCH, Weinheim, **1992**, p. 188.
- [63] (a) Darvilland, A. G.; Albersheim, P. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **1984**, 35, 243. (b) McNeil, M.; Darvill, A. G.; Fry, S. C.; Albersheim, P. *Annu. Rev. Biochem.* **1984**, 53, 625.
- [64] Nakahara, Y.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1989**, 194, 95.
- [65] Nakahara, Y.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1990**, 205, 146.
- [66] Kochetkov, N. K.; Betaneli, V. I.; Ovchinnikov, M. V.; Backinowsky, L. V. *Tetrahedron* **1981**, 37, 149.
- [67] (a) Malysheva, N. N.; Kochetkov, N. K. *Carbohydr. Res.* **1982**, 105, 173. (b) Vogel, C.; Steffan, W.; Boye, H.; Kristen, H.; Betaneli, V. I.; Ott, A. Y.; Kochetkov, N. K. *Carbohydr. Res.* **1992**, 237, 131.
- [68] Steffan, W.; Vogel, C.; Kristen, H. *Carbohydr. Res.* **1990**, 204, 109.
- [69] Vogel, C.; Steffan, W.; Ott, A.; Betaneli, V. *Carbohydr. Res.* **1992**, 237, 115.
- [70] Rolin, C.; Nielsen, B. U.; Glahn, P.-E. *Pectin*, dans Dumitriu, S. (Ed), *Polysaccharides*, Marcel Dekker, New York, **1998**, p. 337.
- [71] Burns, J. K. *The polygalacturonases and lyases*, dans Walter, R. H. (Ed), *The Chemistry and Technology of Pectin*, Academic Press, New York, **1991**, p. 165.
- [72] Magaud, D.; Grandjean, C.; Doutheau, A.; Anker, D.; Shevchik, V.; Cotte-Pattat, N.; Robert-Baudouy, J. *Carbohydr. Res.* **1998**, 314, 189.
- [73] Clausen, M. H.; Jorgensen, M. R.; Thorsen, J.; Madsen, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, 1, 543.
- [74] (a) Leewenburgh, M. A.; Kuller, C.; Duynstee, H. I.; Overkleeft, H. S.; Van der Marcel, G. A.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron* **1999**, 55, 8253. (b) Hotha, S.; Anegundi, R. I.; Natu, A. A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 4585. (c) Flessner, T.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 7805.
- [75] (a) Schimdt, R. R. « *Comprehensive Organic Synthesis* » Vol. 6, Pergamon Press, **1991**, p. 33. (b) Panintrarux, C.; Adachi, S.; Araki, Y.; Kimura, Y.; Matsuno, R. *Enzyme Microb. Technol.* **1995**, 17, 32. (c) Vulfson, E. N.; Patel, R.; Beecher, J. E.; Andrews, A. T.; Law, B. A. *Enzyme Microb. Technol.* **1990**, 12, 950. (d) Yi, Q.; Sarney, D. B.; Khan, J. A.; Vulfson, E. N. *Biotechnol. Bioeng.* **1998**, 60, 385.
- [76] (a) Krohm, K. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1987**, 25, 930. (b) Clarke, M. *Nature* **1988**, 335, 752. (c) Deisenhofer, J.; Michel, H. *Angew. Chem.* **1989**, 101, 872. (d) Chahid, Z.; Montet, D.; Pina, M.; Graille, J. *Biotechnol. Lett.* **1992**, 14, 281. (e) Van Rantwijk, F.; Woudenberg-van Oosterom, M.; Sheldon, R. A. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **1999**, 6, 511. (f) Ismail, A.; Soultani, S.; Ghoul, M.

- J. Biotechnol.* **1999**, *69*, 135. (g) Ducret, A.; Trani, M.; Lortie, R. *Biotechnol. Bioeng.* **2002**, *77*, 752. (h) Gargouri, M.; Smaali, I.; Maugard, T.; Legoy, M. D.; Marzouki, N. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, *29*, 89.
- [77] (a) Ruback, W.; Schmidt, H. dans *Carbohydrates as Organic Raw Materials III*; Van Bekkum, H., Röper, H., Voragen, F., Eds. VCH: Weinheim / New York, **1996**, p. 231. (b) von Rybinski, W.; Hill, K. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 1328. (c) Straathof, A. J. J.; Van Bekkum, H.; Kieboom, A. P. G. *Starch* **1988**, *40*, 438.
- [78] (a) Fischer, E. *Ber.* **1893**, *26*, 2400. (b) Fischer, E.; Beensch, L. *Ber.* **1894**, *27*, 2478. (c) Fischer, E. *Ber.* **1895**, *28*, 1145. (d) Fischer, E. *Ber.* **1914**, 1980.
- [79] Helferich, B.; Schmitz-Hillebrecht, E. *Ber.* **1933**, *66*, 378.
- [80] (a) Vill, V.; Böcker, T.; Thiem, J.; Fischer, F. *Liquid Cryst.* **1989**, *6*, 349. (b) Böcker, T.; Thiem, J. *Tenside Surf. Det.* **1989**, *26*, 5.
- [81] Klotz, W.; Schmidt, R. R. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 683.
- [82] (a) Michael, A. *Am. Chem. J.* **1879**, *1*, 305. (b) Koenigs, W.; Knorr, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, *34*, 957.
- [83] (a) Defaye, J.; Wong, E.; Pedersen, C. *Chem. Abstr.* **1986**, *105*, 227221h. (b) Hayashi, M.; Hashimoto, S.; Noyori, R. *Chem. Lett.* **1984**, 1747. (c) Szarek, W. A.; Gryniewicz, G.; Doboszewski, B.; Hay, G. W. *Chem. Lett.* **1984**, 1751. (d) Defaye, J.; Pedersen, C. *Zuckerindustrie* **1991**, *116*, 271.
- [84] (a) Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212. (b) Focher, B.; Savelli, G.; Torri, G. *Chem. Phys. Lipids* **1990**, *53*, 141.
- [85] West, A. C.; Schuerch, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1333.
- [86] Corma, A.; Iborra, S.; Velty, A. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2411.
- [87] (a) Hanessian, S.; Banoub, J. *Carbohydr. Res.* **1977**, *59*, 261. (b) Hanessian, S.; Banoub, J. *Methods Carbohydr. Chem.* **1980**, *8*, 243.
- [88] (a) Bollenback, G. N.; Long, J. W.; Benjamin, D. G.; Lindquist, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 3310. (b) Honma, K.; Nakazima, K.; Uematsu, T.; Hamada, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, *24*, 394.
- [89] (a) Böcker, T.; Thiem, J. *Tenside Surf. Det.* **1989**, *26*, 318. (b) Thiem, J.; Böcker, T. *Spec. Publ. -R. Soc. Chem.* **1992**, *107*, 123.
- [90] (a) Veeneman, G. H.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 275. (b) Toshima, K.; Nozaki, Y.; Tatsuta, K. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6887.
- [91] Wessel, H. P.; Ruiz, N. *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 901.
- [92] Hanessian, S.; Bacquet, C.; Lehong, N. *Carbohydr. Res.* **1980**, *80*, C17.
- [93] Koide, K.; Ohno, M.; Kobayashi, S. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7065.
- [94] Praly, J.-P.; Lemieux, R. U. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 213.

- [95] (a) Smirnyagin, V.; Bishop, C. T. *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 3085. (b) Brown, G. M.; Dubreuil, P.; Ichhaporia, F. M.; Desnoyer, J. E. *Can. J. Chem.* **1970**, *48*, 2525.
- [96] Straathof, A. J. J.; Romein, J.; Van Rantwijk, F.; Kieboom, A. P. G.; Van Bekkum, H. *Starch* **1987**, *39*, 362.
- [97] Cheetham, N. W. H.; Sirimane, P. *Carbohydr. Res.* **1983**, *112*,1.
- [98] Keglevic, D. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1979**, *36*, 57.
- [99] Jansen, E. F.; Jang, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1475.
- [100] Chanez, M.; Sag, G. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1956**, 1500.
- [101] Larsson, K.; Petersson, G. *Carbohydr. Res.* **1974**, *34*, 323.
- [102] (a) Petit, S.; Favre, S.; De Baynast, R. *Fr. Patent FR 2679563*, A.R.D. **1991**. (b) Petit, S.; Ralainirina, R.; Favre, S.; De Baynast, R. *Eur Patent EP 0635516*, A.R.D. **1992**. (c) Ferrières, V.; Bertho, J.-N.; Plusquellec, D.; De Baynast, R. *Fr Patent FR 2717177*, A.R.D. **1994**.
- [103] Bordoni, A.; Lima, C.; Marino, K.; de Lederkremer, R. M.; Marino, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1863.
- [104] Cotton, F. A.; Wilkinson, G. « *Advanced Inorganic Chemistry* » 5<sup>th</sup> ed., Wiley-Interscience Pub. **1988**, p. 174.
- [105] (a) Bertho, J.-N.; Ferrières, V.; Plusquellec, D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1391. (b) Ferrières, V.; Bertho, J.-N.; Plusquellec, D. *Carbohydr. Res.* **1998**, *311*, 25.
- [106] Böhme AG, H. Th. *Br. Patent GB 384230*, **1932** & *GB 393769*, **1933**.
- [107] Boettner, F. E. *U.S Patent 3219656*, Rohm & Haas Co. **1963**.
- [108] Fabry, B. dans *Alkyl Polyglycosides-Technology, Properties and Applications* p. 211-223, (Eds. : Hill, K.; von Rybinski, W.; Stoll, G.) VCH, Weinheim, **1997**.
- [109] (a) Baron, C.; Thompson, T. E. *Biochim. Biophys. Acta.* **1975**, *382*, 276. (b) Rosevear, P.; VanAken, T.; Baxter, J.; Ferguson-Miller, S. *Biochemistry* **1980**, *19*, 4108.
- [110] Hill, K.; Rhode, O. *Fett/lipid* **1999**, *101*, 25.
- [111] (a) Karlheinz, H.; Weuthen, M.; Koehler, H. P. *US Patent 5480979*, **1996**. (b) Karlheinz, H.; Weuthen, M.; Koehler, H. P. *US Patent 5698684*, **1997**. (c) Koeltzow, D. E.; Urfer, A. D. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1984**, *61*, 1651.
- [112] Milius, A.; Brancq, B. *Oléagineux, corps gras, lipides*, **1995**, *2*, 177.
- [113] Rico-Lattes, I.; Perez, E.; Lattes, A.; Godefroy, L. *Fr 2765121*, **1997**.
- [114] (a) Kuhlbrandt, W. *Quart. Rev. Biophys.* **1988**, *21*, 429; **1992**, *25*, 1. (b) Plusquellec, D.; Chevalier, G.; Talibard, R.; Wroblewski, H. *Anal. Biochem.* **1989**, *179*, 145. (c) Brenner-Henaff, C.; Valdor, J. F.; Plusquellec, D.; Wroblewski, H. *Anal. Biochem.* **1993**, *212*, 117.
- [115] (a) Jeffrey, G. A. *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19*, 168. (b) Goodby, J. W. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1984**, *110*, 205. (c) Van Doren, H. A.; Wingert, L. M. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1991**, *198*, 381. (d) Jeffrey, G. A.; Wingert, L. M. *Liq. Cryst.* **1992**, *12*, 179.

- [116] Sakya, P.; Seddon, J. M.; Templer, R. H. *J. Phys. II Fr.* **1994**, *4*, 1311.
- [117] Auvray, X.; Labulle, B.; Petipas, C.; Bertho, J.-N.; Benvegno, T.; Plusquellec, D. *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 1373.
- [118] Fuhrhop, J. H.; Fritsch, D. *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19*, 130.
- [119] Fuhrman, J. F.; McCallum, K.; Davis, A. A. *Nature*, **1992**, *356*, 14.
- [120] Zana, R. dans *Specialist surfactants*, Ed. par Robb, ID., Chapman et Hall, Glasgow. 4<sup>ème</sup> Chapitre, **1996**.
- [121] (a) Auzély-Velty, R.; Benvegno, T.; Plusquellec, D.; Mackenzie, G.; Haley, J. A.; Goodby, J. W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2511. (b) Lecollinet, G.; Auzély-Velty, R.; Danel, M.; Benvegno, T.; Mackenzie, G.; Goodby, J. W. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3139.
- [122] Guilbot, J.; Benvegno, T.; Legros, N.; Plusquellec, D.; Dedieu, J. C.; Gulik, A. *Langmuir*, **2001**, *17*, 613.
- [123] Soussan, E.; Pasc-Banu, A.; Consola, S.; Labrot, T.; Perez, E.; Blanzat, M.; Oda, R.; Vidal, C.; Rico-Lattes, I. *ChemPhysChem*, **2005**, *6*, 2492.
- [124] (a) Harouse, J. M.; Bhat, S.; Spitalnik, S. I.; Laughlin, M.; Stefano, K.; Silberberg, D. H.; Gonzales-Scarano, F. *Science*, **1991**, *253*, 320. (b) Yah, N.; Baghididian, S.; Moreau, M.; Fantini, J. *J. Virol.* **1992**, *66*, 4848.
- [125] Cook, D. G.; Fantini, J.; Spitalnik, S. L.; Gonzales-Scarano, F. *Virol.* **1994**, *201*, 206.
- [126] Fantini, J.; Hammache, D.; Delezay, O.; Yah, N.; André-Barrès, C.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 724.
- [127] (a) Blanzat, M.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A. *New. J. Chem.* **1993**, *23*, 1063. (b) Blanzat, M.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A.; Gulik, A. *Chem. Commun.* **2003**, 244.
- [128] Rico-Lattes, I.; Gouzy, M.-F.; André-Barrès, C.; Guidetti, B.; Lattes, A. *New. J. Chem.* **1998**, *22*, 451.
- [129] Sakakura, A.; Koshikari, Y.; Ishihara, K. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5017.
- [130] (a) Gedye, R.; Smith, F.; Westaway, K.; Ali, H.; Baldisera, L.; Laberge, L.; Rousell, J. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 279. (b) Giguere, R. J.; Bray, T. L.; Duncan, S. M.; Majetich, G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4945.
- [131] (a) Roberts, B. A.; Strauss, C. R. *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 653. (b) Kappe, C. O.; Stadler, A. *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**. (c) *Microwaves Assisted Organic Synthesis*, Tierney, J. P.; Lidström, P. Eds; Blackwell Publishing, Oxford, **2005**. (d) de la Hoz, A.; Diaz-Ortiz, A.; Moreno, A. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 164. (e) Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250. (f) Loupy, A. *Microwaves in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**. (g) Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225.

- [132] (a) Bose, A. K.; Manhas, M. S.; Ganguly, S. N.; Sharma, A. H.; Banik, B. K. *Synthesis* **2002**, 1578. (b) Perreux, L.; Loupy, A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 9199.
- [133] (a) Strauss, C. R.; Varma, R. S. *Top. Curr. Chem.* **2006**, 266, 199. (b) Nuchler, M.; Ondruschka, B.; Lautenschlager, W. *Synthetic Commun.* **2001**, 31, 1277. (c) Loupy, A.; Petit, A.; Hamelin, J.; Texier-Boullet, F.; Jacquault, P.; Mathé, D. *Synthesis*, **1998**, 1213. (d) Limousin, C.; Cléophax, J.; Petit, A.; Loupy, A.; Lukacs, G. *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, 16, 327.
- [134] Corsaro, A.; Chiacchio, U.; Pistara, V.; Romeo, G. *Curr. Org. Chem.* **2004**, 8, 511.
- [135] Yoshimura, Y.; Shimizu, H.; Hinou, H.; Nishimura, S.-I. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 4701.
- [136] Ballell, L.; Joosten, J. A.; el Maate, F. A.; Liskamp R. M. J.; Pieters, R. J. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 6685.
- [137] (a) Seibel, J.; Hillringhaus, L.; Moraru, R. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 507. (b) Matsushita, T.; Hinou, H.; Kurogochi, M.; Shimizu, H.; Nishimura, S.-I. *Org. Lett.* **2005**, 7, 877.
- [138] Bornaghi, L. F.; Poulsen, S.-A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 3485.
- [139] Rat, S.; Mathiron, D.; Michaud, P.; Kovensky, J.; Wadouachi, A. *Tetrahedron*, **2007**, 63, 12424.
- [140] Allam, A.; Behr, J.-B.; Dupont, L.; Nardello-Rataj, V.; Plantier-Royon, R. *Carbohydr. Res.* **2009**, in press.
- [141] (a) *Information Chimie avril 1993*, 347, 67. (b) Lattes, A.; Rico, I. *Pour la Science* **1992**, 173, 44.
- [142] (a) Menger, F. M.; Littau, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 1451. (b) Rosen, M. J. *Chemtech* **1993**, 30.
- [143] (a) Orecchioni, A.; Puisieux, F.; Seiller, M. Galénica 5 agents de surface et émulsion (les systèmes dispersés), **1983**, *Technique et Documentation Lavoisier*, p 153. (b) Gorius, O. *Synthèse, analyse et caractérisation de polyglycosides d'alkyle. Application au développement et à l'industrialisation de bases autoémulsifiantes d'origine végétale*, Thèse de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, **2000**.
- [144] (a) De Gennes, P. G.; Taupin, C. *J. Phys. Chem.* **1982**, 86, 2294. (b) Lardet, D.; Thomalla, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1988**, 524.
- [145] (a) Myers, D. *Surfactant Science and Technology* VCH Publishers, Inc. Weinheim, Germany, **1988**. (b) Auvray, X.; Perche, T.; Petipas, C.; Anthore, R.; Marti, M. J.; Rico-lattes, I.; Lattes, A. *Langmuir* **1992**, 8, 2671.
- [146] Chattopadhyay, A.; London, E. *Anal Biochem.* **1984**, 139, 408.
- [147] Menger, F. M.; Portnoy, C. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 4698.
- [148] Gibbs, J. W. The collected works of J. W. Gibbs vol. I, *Longmans, Green*, London, **1928**, 119.
- [149] Rosen, M. J. *Surfactant and interfacial phenomena*, *A Wiley, Interscience Pub.* **1978**.

- [150] Furton, K. G.; Norelus, A. *J. Chem. Ed.* **1993**, *70*, 254.
- [151] (a) Klevens, H. B. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1953**, *30*, 74. (b) Schick, M. J.; Becher, P. Nonionic surfactants, vol. 1, *Surfactant Sciences Series*, Marcel Dekker, **1996**, p 478-515
- [152] Draize, J. H.; Woodard, G.; Calvery, H. O. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1944**, *82*, 377.
- [153] Lin, I. J.; Moudgil, B. M.; Somasundaran, P. *Colloid Polymer Sci.* **1974**, *252*, 407.
- [154] Mukerjee, P. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1967**, *1*, 241.
- [155] Krafft, F.; Wiglow, H.; *Ber. Otsch. Chem. Ges.* **1895**, *28*, 2566.
- [156] Satge, C. *Etude de nouvelles stratégies de valorisation de mono et polysaccharides*, Thèse de l'Université de Limoges, Limoges, **2002**.
- [157] Landréat, C. *Glycosidation des pentoses sans solvant. Application à la synthèse de tensioactifs glycosidiques à partir de co-produits agricoles*, Thèse de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, **1996**.
- [158] Furton, K. G.; Norelus, A. *J. Chem. Ed.* **1993**, *70*, 254.
- [159] Mitchell, D. J.; Tiddy, G. J. T.; Waring, L.; Bostock, T.; Mc Donald, M. P. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1983**, *79*, 975.
- [160] (a) Israelachvili, J. *Intermolecular & Surface Forces*, McGraw-Hill, **1991**. (b) Hall, C.; Tiddy, G. J. T.; Pfannemüller, B. *Liq. Cryst.* **1991**, *9*, 527.
- [161] Estrine, B. *Synthèse de molécules à propriétés tensioactives par transformation de pentoses issus du fractionnement des agro-ressources*, Thèse de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, **2002**.
- [162] Nickel, D.; Speckmann, H. D.; von Rybinski, W. *Tenside Surfactants Deterg.* **1995**, *32*, 470.
- [163] Shinoda, K.; Yamaguchi, T.; Hori, R. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *34*, 237.
- [164] Böcker, T.; Thiem, J.; *Tenside Surfactants Deterg.* **1989**, *26*, 318.
- [165] Nickel, D.; Nitsch, C.; Kurzendörfer, P.; von Rybinski, W. *Progr. Colloid Polym. Sci.* **1992**, *89*, 249.
- [166] Roussel, M.; Benvegna, T.; Lognoné, V.; Le Deit, H.; Soutrel, I.; Laurent, I.; Plusquellec, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3085-3094.
- [167] Ferlin, N.; Grassi, D.; Ojeda, C.; Castro, M. J. L.; Grand, E.; Fernandez Cirelli, A.; Kovensky, J. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 839.
- [168] Rhode, O.; Weuthen, M.; Nickel, D. In Hill, K.; von Rybinski, W.; Stoll, G.; Eds.; *Alkyl Polyglycosides. Technology, Properties and Applications*: VCH: Weinheim. **1997**, p 139-149.
- [169] Boyd, B. J.; Drummond, C. J.; Krodkiewska, I.; Grieser, F. *Langmuir*, **2000**, *16*, 7359.
- [170] Garofalakis, G.; Murray, B. S.; Sarney, D. B. *J. Coll. Interface Sci.* **2000**, *229*, 391.
- [171] (a) Sanders, J. N.; Chenoweth, S. A.; Schwarz, F. P. *J. Inorg. Biochem.* **1988**, *70*, 71. (b) Bouckaert, J.; Poortmans, F.; Wyns, L.; Loris, R. J. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 16144.
- [172] Sinnott, M. L. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171.

- [173] Jacobson, R. H.; Zhang, X.-J.; DuBose, R. F.; Matthews, B. W. *Nature*, **1994**, *369*, 761.
- [174] (a) Richard, J. P.; Westerfeld, J. G.; Lin, S. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 11703. (b) Richard, J. P.; Westerfeld, J. G.; Lin, S.; Beard, J. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 11713. (c) Richard, J. P.; Huber, R. E.; Lin, S.; Heo, C.; Amyes, T. L. *Biochemistry*, **1996**, *34*, 12377.
- [175] Bogumil, R.; Kappl, R.; Hüttermann, J.; Witzel, H. *Biochemistry*, **1997**, *36*, 2345.
- [176] Richard, J. P.; Crugeiras, J.; Nagorski, R. W. *J. Phys. Org. Chem.* **1998**, *11*, 512.
- [177] (a) Rammo, J.; Schneider, H.-J. *Liebigs Ann.* **1996**, 1757. (b) Kajimura, A.; Sumaoka, J.; Komiyama, M. *Carbohydr. Res.* **1998**, *309*, 345.
- [178] Chen, Y.; Li, X.; Gegenheimer, P. *Biochemistry* **1997**, *36*, 2425.
- [179] Bandwar, R. P.; Flora, S. J. S.; Rao, C. P. *Biometals* **1997**, *10*, 337.
- [180] Oliver, J. D.; Strickland, L. C. *Acta Crystallogr.* **1986**, *C42*, 952.
- [181] (a) Huebers, H. *Blut* **1983**, *47*, 61. (b) Schneider, W.; Erni, I.; Hegetschweiler, K. *European Patent* 190676 B1, **1988**.
- [182] (a) Bresford, C. H.; Palmer, J.; Kenny, M. W. *Scan. J. Haematol, Suppl.* **1977**, *32*, 175. (b) Lindwall, S.; Domeij, K.; Gagner-Milchert, I.; Hellstrom, V. *Scan. J. Haematol.* **1977**, *32*, 150. (c) Oluboyede, O. A.; Ajayi, O. A. *Curr. Ther. Res.* **1980**, *27*, 81.
- [183] Burger, K.; Zay, I.; Takacs-Nagy, G. *Inorg. Chim. Acta.* **1983**, *80*, 231.
- [184] (a) Sanders, J. F. *Mich. Med.* **1968**, *7*, 726. (b) Berg, K. A.; Bowen, L. H.; Hedges, S. W.; Bereman, R. D.; Vance, C. T. *J. Inorg. Biochem.* **1984**, *22*, 125.
- [185] Whitfield, D. M.; Stojkovski, S.; Sarkar, B. *Coord. Chem. Rev.* **1993**, *122*, 171.
- [186] (a) Hegetschweiler, K.; Erni, I.; Schneider, W.; Schmalte, H. *Helv. Chim. Acta.* **1990**, *73*, 97. (b) Schmitt, L.; Schlewer, G.; Spiess, B. *J. Inorg. Biochem.* **1992**, *45*, 13. (c) Mernissi-Arifi, K.; Wherer, C.; Schlewer, G.; Spiess, B. *J. Inorg. Biochem.* **1994**, *55*, 263.
- [187] Burger, K.; Takacs-Nagy, G.; Réthey, I.; Illés, J.; Stefko, B. *European Patent No. 413 016 B1* Bull. 93/51 Gedeon Richter A. G. 22.12. **1993**.
- [188] Kohn, R. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1982**, *47*, 3424.
- [189] Singh, P. R.; Jones, S. G.; Gale, G. R.; Jones, M. M.; Smith, A. B.; Atkins, L. M. *Chem. Biol. Interact.* **1990**, *74*, 79.
- [190] Gibby, W. A.; Bogdan, A.; Ovitt, W. *Invest. Radiol.* **1989**, *24*, 302.
- [191] Kashige, N.; Kojima, M.; Nakashima, Y.; Watanabe, K.; Tachifuji, A. *Agric. Biol. Chem.* **1990**, *54*, 677.
- [192] (a) Stolmar, M.; Floriani, C.; Gervasio, G.; Viterbo, D. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1997**, 1119. (b) Riediker, M.; Hafner, A.; Piantini, U.; Rihs, G.; Togni, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 499.
- [193] Angyal, S. J. *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 181.

- [194] (a) Makridou, C.; Morin, M.; Scharff, J.-P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1977**, 59. (b) Dubois, B.; Vandorpe, B.; Olivier, I. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1991**, 128, 181.
- [195] Figueroa, N.; Chakrabarti, B.; *Biopolymers* **1978**, 17, 2415.
- [196] Aruga, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, 54, 1233.
- [197] (a) Payne, P.; Magee, R. J. *Proc. Indian Acad. Sci.* **1982**, 91, 31. (b) Stojkovski, S.; James, B. D.; Payne, R.; Magee, R. J. *J. Inorg. Biochem.* **1994**, 54, 33.
- [198] Cook, I. B.; Magee, R. J.; Payne, R.; Ternai, B. *Aust. J. Chem.* **1986**, 39, 1307.
- [199] Database, NIST Standard Reference, *Critically Selected Stability Constants.* **1995**, Webbook.nist.gov.
- [200] Tounsi, N. *Synthèse et étude des propriétés complexantes de ligands dérivés des acides lactique et tartrique. Application à la réaction d'oxydation du catéchol*, **2006**, Thèse de doctorat de l'université de Reims Champagne-Ardenne.
- [201] (a) Kowalik-Jankowska, T.; Ruta, M.; Wisniewska, K.; Lankiewicz, L. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, 95, 270. (b) Sanna, D.; Gabor Agoston, C.; Sovago, I.; Micera, G. *Polyhedron* **2001**, 20, 937. (c) Varnagy, K.; Sovago, I.; Süli-Vargha, H.; Sanna, D.; Micera, G. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, 81, 35.
- [202] McLachlan, G. A.; Fallon, G. D.; Martin, R. L.; Spiccia, L. *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 254.
- [203] Brown, S. J.; Tao, X.; Stephan, D. W.; Mascharak, P. K. *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 3377.
- [204] Sakaguchi, U.; Addison, W. A. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1979**, 600.
- [205] Ray, M.; Mukherjee, R.; Richardson, J. F.; Mashuta, M. S.; Buchanan, R. M. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1994**, 965.
- [206] (a) Chavez, F. A.; Olmstead, M. M.; Mascharak, P. K. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 1410. (b) Rowland, J. M.; Thornton, M. L.; Olmstead, M. M.; Mascharak, P. K. *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 1069.
- [207] Matoba, Y.; Kumagai, T.; Yamamoto, A.; Yoshitsu, H.; Sugiyama, M. *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 8981.
- [208] Eicken, C.; Zippel, F.; Büldt-Karentzopoulos, K.; Krebs, B. *FEBS Lett.* **1998**, 436, 293.
- [209] Himmelwright, R. S.; Eickman, N. C.; LuBien, C. D.; Solomon, E. I.; Lerch, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7339.
- [210] Decker, H.; Tuzek, F. *Trends Biochem.Sci.* **2000**, 25, 392.
- [211] (a) Ghosh, D.; Mukherjee, R. *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 6597. (b) Monzani, E.; Quinti, L.; Perotti, A.; Casella, L.; Gullotti, M.; Randaccio, L.; Geremia, S.; Nardin, G.; Faleschini, P.; Tabbi, G. *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 553. (c) Casella, L.; Monzani, E.; Gullotti, M.; Cavagnini, D.; Cerina, G.; Santagostini, L.; Ugo, R. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 7516. (d) Ackermann, J.; Meyer, F.; Kaifer, E.; Pritzkow, H. *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 247.

- [212] Santagostini, L.; Gullotti, M.; Monzami, E.; Casella, L.; Dillinger, R.; Tuczec, F. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 519.
- [213] (a) Andrade Alves, W.; Bagatin, I. A.; Da Costa Ferreira, A. M. *Inorg. Chim. Acta* **2001**, *321*, 11. (b) Andrade Alves, W.; Alfonso De Almeida-Filho, S.; Vieira De Almeida, M.; Paduan Filho, A.; Castilla Becerra, C.; Da Costa Ferreira, M. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2003**, *198*, 63.
- [214] (a) Triller, M. U.; Pursche, D.; Hsieh, W.-Y.; Pecoraro, V. L.; Rompel, A.; Krebs, B. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 6274. (b) Than, R., Feldmann, A. A.; Krebs, B. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *182*, 211.
- [215] Gentshev, P.; Moller, N.; Krebs, B. *Inorg. Chim. Acta* **2000**, *300-302*, 442.
- [216] (a) Abuhijleh, A. L.; Pollite, J.; Woods, C. *Inorg. Chim. Acta.* **1994**, *215*, 131. (b) Kaizer, J.; Pap, J.; Speier, G.; Parkany, L.; Korecz, L.; Rockenbauer, A. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *91*, 190.
- [217] (a) Malachowski, M. R.; Carden, J.; Davidson, M. G.; Driessen, W. L.; Reedijk, J. *Inorg. Chim. Acta.* **1997**, *257*, 59. (b) Subramanian, P. S.; Suresh, E.; Dastidar, P. *Polyhedron* **2004**, *23*, 2515. (c) Abuhijleh, A. L. *J. Inorg. Biochem.* **1994**, *55*, 255. (d) Yonemura, M.; Ohba, M.; Furutachi, H.; Matsumura, Y.; Okawa, H.; Fenton, D. E. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 2711. (e) Chen, Z.-F.; Liao, Z.-R.; Li, D.-F.; Li, W.-K.; Meng, X.-G. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 1315.
- [218] Jancso, A.; Paksi, Z.; Jakab, N.; Gyurcsik, B.; Rockenbauer, A.; Gajda, T. *Dalton Trans.* **2005**, 3187.
- [219] Malachowski, M. R.; Huynh, H. B.; Tomlinson, L. J.; Kelly, R. S.; Furbee Jun, J. W. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1995**, 31.
- [220] Oishi, N.; Nishida, Y.; Ida, K.; Kida, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 2847.
- [221] Sreedaran, S.; Bharathi, K.; Rahiman, A.; Rajesh, K.; Nirmala, G.; Narayanan, V. *J. Coord. Chem.* **2008**, *61*, 3594.
- [222] Boghaei, D. M.; Behzad, M.; Bezaatpour, A. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2005**, *241*, 1.
- [223] Wegner, R.; Gottschaldt, M.; Görls, H.; Jäger, E.-G.; Klemm, D. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2143.
- [224] (a) Yuan, D. R.; Yan, J. M.; Zhi Yu, C.; Xie, R. G. *Chin. Chem. Lett.* **2005**, *16*, 147. (b) Palavicini, S.; Granata, A.; Monzani, E.; Casella, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18031.
- [225] (a) Harmalker, S.; Jones, S.; Sawyer, D. *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 2790. (b) Jocher, C.; Pape, T.; W. Seidel, W.; Gamez, P.; Reedijk, J.; Hahn, F. E. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 4914. (c) Koval, I.; Belle, C.; Selmeczi, K.; Philouze, C.; Saint-Aman, E.; Schuitema, A. M.; Gamez, P.; Pierre, J.-L.; Reedijk, J. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 739.
- [226] (a) Reim, J.; Krebs, B. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1997**, 3793. (b) Mukherjee, J.; Mukherjee, R. *Inorg. Chim. Acta.* **2002**, *337*, 429.
- [227] Gonzales-Alvares, M.; Alzuet, G.; Borrás, J.; Garcia-Granda, S.; Montejo-Bernardo, J. M. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *96*, 443.

- [228] (a) Lim, Y. Y.; Lim, K. H.; Khan, M. N. *Coll. Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **1997**, *121*, 239. (b) You, J.-S.; Yu, X.-Q.; Su, X.-Y.; Wang, T.; Xiang, Q.-X.; Yang, M.; Xie, R.-G. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2003**, *202*, 17. (c) Siqing, C.; Xiancheng, Z.; Xiangguang, M.; Xiaoqi, Y. *J. Coll. Interface Sci.* **2000**, *224*, 333.
- [229] (a) Scrimin, P.; Tecilla, P.; Tonellato, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5087. (b) Scrimin, P.; Ghirlanda, G.; Tecilla, P.; A. Moss, R. *Langmuir* **1996**, *12*, 6235.
- [230] Chen, Q. X.; Kubo, I. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, *50*, 4108.
- [231] Kahn, V.; Andrawis, A. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 905.
- [232] (a) Liu, J.; Cao, R.; Yi, W.; Ma, C.; Wan, Y.; Zhou, B.; Ma, L.; Song, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1773. (b) Zhuang, J.-X.; Li, W.-G.; Zhong, X.; Zhou, J.-J.; Chen, Q.-X. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2009**, *24*, 251.
- [233] Henry, L. C. R. *Hebd. Seances. Acad. Sci.* **1895**, *120*, 1265.
- [234] Sasai, H.; Takeyuki, S.; Arai, T.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4418.
- [235] (a) Luzio, F. A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 915. (b) Shibasaki, M.; Yoshikawa, N. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2187. (c) Trost, B. M.; Yeh, V. S. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *114*, 889. (d) Palomo, C.; Oiarbide, M.; Laso, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *117*, 3949. (e) Boruwa, J.; Gogoi, N.; Saikia, P. P.; Barua, N. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 315.
- [236] Takaoka, E.; Yoshikawa, N.; Yamada, Y.; Sasai, H.; Shinasaki, M. *Heterocycles* **1997**, *46*, 157.
- [237] (a) Trost, B. M.; Yeh, V. S. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 861. (b) Trost, B. M.; Yeh, V. S. C. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2621.
- [238] (a) Christensen, C.; Juhl, K.; Jorgensen, K. A. *Chem. Commun.* **2001**, 2222. (b) Christensen, C.; Juhl, K.; Hazell, R.; Jorgensen, K. A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4875.
- [239] Evans, D. A.; Seidel, D.; Rueping, M.; Lam, H. W.; Shawn, J. T.; Downey, C. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12692.
- [240] Simoni, D.; Invidiata, F. P.; Manfredini, S.; Ferroni, R.; Lampronti, I.; Roberti, M.; Pollini, G. *P. Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2749.
- [241] Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Talanta* **1996**, *43*, 1739 .
- [242] Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Hyperquad Simulation and Speciation* **1998 – 2000**.
- [243] Alger, R. S. *Electron Paramagnetic Resonance Technics and Applications*, ed. Intersciences. **1968**, New-York.
- [244] Earnshaw, A. *Introduction to Magnetochemistry* **1968**, Vol. 5, London : Academic Press.
- [245] Hotha, S.; Maurya, S. K.; Gurjar, M. K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5329.
- [246] Ruttens, B.; Blom, P.; Van Hoof, S.; Hubrecht, I.; Van der Eycken, J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5514.
- [247] (a) Chandrasekhar, S.; Rao, C.; Nagesh, C.; Reddy, C.; Sridhar, B. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5869. (b) Maurya, S. K.; Hotha, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3307.

- [248] (a) Nepogodiev, S. A.; Stoddart, J. F. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1959. (b) Elemans, J. A. A. W.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2000**, *39*, 3419.
- [249] (a) Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743. (b) Lee, J. W.; Samal, S.; Selvapalam, N.; Kim, H.-J.; Kim, K. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 621.
- [250] (a) Belle, T. W.; Hext, N. M. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 589. (b) Goswami, S.; Mukherjee, R.; Ray, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1283.
- [251] Schreiber, S. L. *Science* **2000**, *287*, 1964.
- [252] (a) Myles, D. C. *Curr. Opin. Biotech.* **2003**, *14*, 627. (b) Ortholand, J. Y.; Ganesan, A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 271. (c) Metaferia, B. B.; Chen, L.; Baker, H. L.; Huang, X.-Y.; Bewley, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2434.
- [253] (a) Hirschmann, R.; Nicolaou, K. C.; Pietranico, S.; Salvino, J.; Leahy, E. M.; Sprengeler, P. A.; Furst, G.; Smith, A. B., III; Strader, C. D.; Cascieri, M. A.; Candelore, M. R.; Donaldson, C.; Vale, W.; Maechler, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9217. (b) Nicolaou, K. C.; Salvino, J. M.; Raynor, K.; Pietranico, S.; Reisine, T.; Freidinger, R. M.; Hirschmann, R. dans *Peptides Chemistry, Structure, and Biology. Proceedings of the 11<sup>th</sup> American Peptide Symposium*; Rivier, J. E., Marshall, G. R., Eds.; ESCOM: Leiden, **1990**; p 881-884
- [254] (a) Velasco-Torrijos, T.; Murphy, P. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3961. (b) Velasco-Torrijos, T.; Murphy, P. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 261.
- [255] (a) Sas, B.; Van der Eycken, J.; Vanhemel, J.; Blom, P.; Vandekerckhove, J.; Ruttens, B. *PCT Int. Appl. WO 2002-US32817*, **2003**. (b) Blom, P.; Ruttens, B.; Van Hoof, S.; Hubrecht, I.; Van der Eycken, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10109.
- [256] (a) Hamill, R. L.; Haney, M. E., Jr.; Stamper, M.; Wiley, P. F. *Antibiot. Chemother. (Washington, D. C.)* **1961**, *11*, 328. (b) Omura, S.; Matsubara, H.; Nakagawa, A.; Furusaki, A.; Matsumoto, T. *Antibiot. Chemother. (Washington, D. C.)* **1980**, *33*, 915.
- [257] (a) Nicolaou, K. C.; Pavia, M. R.; Seitz, S. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2027. (b) Nicolaou, K. C.; Seitz, S. P.; Pavia, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2030.
- [258] Jarosz, S.; Listkowski, A.; Mach, M. *Pol. J. Chem.* **2001**, *75*, 683.
- [259] Jarosz, S.; Lewandowski, B.; Listkowski, A. *Synthesis* **2008**, 913.
- [260] Jarosz, S.; Listkowski, A.; Lewandowski, B.; Ciunik, Z.; Brzuskiwicz, A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8485.
- [261] Jarosz, S.; Lewandowski, B. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 965.
- [262] Padwa, A.; Pearson, W. H. *Synthetic applications of 1,3-dipolar cycloaddition chemistry toward heterocycles and natural products*. **2003**, Wiley, Chichester, UK.
- [263] Alvarez, R.; Velazquez, S.; San-Felix, A.; Aquaro, S.; De Clercq, E.; Perno, C.-F.; Karlsson, A.; Balzarini, J.; Camarasa, M. J. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4185.
- [264] Buckel, D. R.; Rockell, C. J. M.; Smith, H.; Spicer, B. A. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2269.

- [265] Genin, M. J.; Allwine, D. A.; Andersson, D. J.; Barbachyn, M. R.; Emmert, D. E.; Garmon, S. A.; Graber, D. R.; Grega, K. C.; Hester, J. B.; Hutchinson, D. K.; Morris, J.; Reischer, R. J.; Ford, C. W.; Zurenko, G. E.; Hamel, J. C.; Schaadt, R. D.; Stper, D.; Yagi, B. H. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 953.
- [266] Wamhoff, H. dans *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A. R., Rees, C. W., Eds.; Pergamon : Oxford, **1984**; *Vol. 5*, p 669.
- [267] (a) Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 565. (b) Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 633. (c) Woodward, R. B.; Hoffmann, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, *8*, 781.
- [268] (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596. (b) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, L. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.
- [269] Diver, S.; Giessert, A. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1317.
- [270] Katz, T. J.; Sivavec, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 737.
- [271] Hérisson, J.-L.; Chauvin, Y. *Makromol. Chem.* **1971**, *141*, 161.



*TABLES DES ILLUSTRATIONS*



**Liste des figures**

Figure I-1	: Betterave sucrière -----	23
Figure I-2	: Composition moyenne des pulpes de betteraves résiduelles -----	27
Figure I-3	: Représentation schématique des zones « lisses » et « chevelues » des pectines -----	29
Figure I-4	: Composition chimique des différentes parties structurales de la chaîne pectique ----	30
Figure I-5	: Modèle proposé pour la coordination du Co (II) avec les molécules d'acide D-galacturonique -----	42
Figure I-6	: Hypothèses de complexation des ions VO (IV) avec l'acide D-galacturonique -----	42
Figure II-1	: Appareil micro-onde pour la synthèse organique de type CEM « Discover Microwave » -----	92
Figure II-2	: Les courbes de tension superficielle en fonction de la concentration en ligand amphiphile pour la détermination des CMC -----	119
Figure II-3	: Etude de la solubilité des ligands uronamides dans l'eau à différentes températures, et à différentes concentrations massiques -----	122
Figure III-1	: Erythromycine A -----	138
Figure III-2	: Courbes de neutralisation des ligands galacturonamides (milieu NaCl 0,1 M, [HCl] = $4.10^{-3}$ M, [L] = $1,6.10^{-3}$ M) -----	142
Figure III-3	: Courbes de $h = f(\text{pH})$ du ligand seul (courbe verte), et en présence des ions de Cu (II) (courbe bleue) ; [OGMPU] = [Cu (II)] = $2.10^{-3}$ M ; R = [L] / [M] = 1 ; (méthanol / eau 1 : 1) -----	145
Figure III-4	: Suivi par RPE de l'évolution de la complexation du ligand OGMPU avec les ions Cu (II) en fonction du pH, [OGMPU] = [Cu (II)] = $2.10^{-3}$ M ; R = [L] / [M] = 1 ; (méthanol / eau 1 : 1) -----	146
Figure III-5	: Courbe de neutralisation affinée du système Cu (II)-OGMPU (milieu NaCl, 0,1 mol.L <sup>-1</sup> , [OGMPU] = [Cu (II)] = $8.10^{-4}$ M -----	148
Figure III-6	: Courbes de répartition des espèces pour le système OGMPU / Cu (II) [OGMPU] = [Cu (II)] = $2.10^{-3}$ M ; R = [L] / [M] = 1 ; (méthanol / eau 1 : 1) -----	148
Figure III-7	: Courbes de $h = f(\text{pH})$ pour les deux ligands OGEHU et OGEPU en présence et en absence des ions Cu (II) ; [L] = [Cu (II)] = $2.10^{-3}$ M ; [C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] = $4.10^{-3}$ M ; R = [L] / [M] = 1 ; à 25 °C et à force ionique 0,1 -----	150
Figure III-8	: Suivi de l'évolution de l'absorbance de longueurs d'ondes entre 500 et 750 nm en fonction du pH pour les deux systèmes Cu (II) / (OGEHU) et Cu (II) / (OGEPU) --	151
Figure III-9	: Spectres RPE des complexes Cu <sup>2+</sup> -OGEHU en présence d'oxalates de sodium (milieu NaCl 0,1 mol.L <sup>-1</sup> , [L]= $2.10^{-3}$ mol.L <sup>-1</sup> , [M <sup>2+</sup> ]= $2.10^{-3}$ mol.L <sup>-1</sup> , [C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ]= $4.10^{-3}$ mol.L <sup>-1</sup> ) -----	152
Figure III-10	: (a) Courbes de répartition des espèces pour le système OGEHU / Cu (II) en fonction du pH. (b) Courbes de répartition des espèces pour le système OGEPU / Cu (II) ; [L] = [Cu (II)] = $2.10^{-3}$ M -----	155
Figure III-11	: Spectres d'absorption molaire calculés des complexes de cuivre avec le ligand OGMPU (milieu NaCl 0,1 M ; [L]= $1.10^{-3}$ M ; [Cu <sup>2+</sup> ]= $1.10^{-3}$ M) -----	156
Figure III-12	: Spectres RPE de l'espèce CuLH <sub>3</sub> simulée pour le système Cu -OGEPU (milieu NaCl 0,1 mol.L <sup>-1</sup> , [L] = $1.10^{-3}$ M, [Cu <sup>2+</sup> ] = $1.10^{-3}$ M, [C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] = $2.10^{-3}$ M) -----	157
Figure III-13	: Spectre RPE d'une structure super hyperfine de l'espèce CuLH <sub>3</sub> -----	159
Figure III-14	: Hypothèses de structures des complexes cuivriques avec les trois ligands -----	160
Figure III-15	: réactions chimiques impliquées dans la biosynthèse des mélanines -----	164

Figure III-16	: Modifications enregistrées au niveau de la région 250 – 400 nm lors du titrage d'une solution de TCC à $1.10^{-3}$ M par 0,1 à 0,5 équivalent en complexe Cu-OGEPU -----	172
Figure III-17	: Modifications enregistrées au niveau du spectre UV-visible lors du titrage d'une solution de complexe Cu-OGEPU à $1,6.10^{-3}$ M par 0,4 à 2 équivalents en TCC-----	172
Figure III-18	: (a) : Suivi de l'évolution de l'absorbance en fonction du temps pour l'oxydation du DTBC en DTBQ en présence des complexes Cu-OGEHU et Cu-OGEPU ; $R = [DTBC] / [Complexe] = 25$ , avec $[DTBC] = 8,8.10^{-3}$ M. (b) : Evolution de la bande à 400 nm caractéristique de la formation de la DTBQ-----	174
Figure III-19	: Evolution de la vitesse initiale de la réaction d'oxydation du DTBC en DTBQ en fonction de la concentration en substrat engagée -----	175
Figure III-20	: Evolution de la vitesse initiale de la réaction d'oxydation en fonction de la concentration en complexe engagée-----	176
Figure III-21	: Changement de l'allure du spectre UV-visible après 10 minutes de réactivité, d'une solution de DTBC à $1,3.10^{-3}$ M en présence d'un équivalent du complexe Cu-OGEPU. -----	177
Figure III-22	: Comparaison des activités catalytique du complexes Cu-OGEHU vis à vis de l'oxydation du DTBC et DTBQ en milieu méthanolique et en milieu micellaire (CTAB) $[DTBC] = 1.10^{-3}$ M et $[Cu-OGEHU] = 3,9.10^{-5}$ M -----	179
Figure III-23	: Courbes cinétiques mesurées à différentes concentrations en substrat-----	181
Figure III-24	: Tracé selon Lineweaver-Burk pour la détermination de la constante de Michaelis $K_m$ -----	182
Figure III-25	: Mesure de l'activité de la tyrosinase en présence de la tropolone -----	182
Figure III-26	: Suivi cinétique de l'inhibition de la tyrosinase en présence du ligand <b>3a</b> -----	183
Figure III-27	: Détermination de la valeur d'IC50 pour le ligand <b>3a</b> -----	185
Figure III-28	: Analyse du mélange racémique sur une colonne HPLC chirale OD-H-----	190
Figure III-29	: Dégénérescence des niveaux d'énergie d'un système de spin $\frac{1}{2}$ en présence d'un champ magnétique. -----	198
Figure III-30	: Diagramme des niveaux d'énergie du cuivre (II) en champ cristallin et magnétique. Transitions RPE autorisées ( $\Delta M_S = \pm 1$ , $\Delta M_I = 0$ ). -----	200
Figure IV-1	: Spectrogramme de masse après purification de la métathèse ényne croisée entre les composés <b>9</b> et <b>17</b> -----	227

**Liste des Schémas**

Schéma I-1	: Processus de production des pulpes de betteraves -----	25
Schéma I-2	: Deux séries de chaînes majoritairement rencontrées dans les substances pectiques ---	29
Schéma I-3	: Hydrolyse alcaline des pectines -----	32
Schéma I-4	: Isomérisation de l'acide D-galacturonique en solution-----	33
Schéma I-5	: Mécanisme supposé pour la mutarotation ( $\alpha / \beta$ ) pyranose, et ( $\alpha / \beta$ ) furanose en présence des ions Sn (IV)-----	36
Schéma I-6	: Dégradation de l'acide D-galacturonique dans un système anhydride acétique / base-	37
Schéma I-7	: Représentation schématique de la gélification des pectines -----	38
Schéma I-8	: Complexes présents à pH alcalin lors de la complexation des ions VO (IV) avec l'acide D-galacturonique -----	40
Schéma I-9	: Synthèse de complexes métalliques d'acide D-galacturonique selon Volka et collaborateurs-----	41
Schéma I-10	: dérivés de l'acide D-galacturonique présents chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -----	43
Schéma I-11	: dérivés de type galacturonamide synthétisés par l'équipe de Ott-----	43
Schéma I-12	: Composés décrit dans la littérature ciblant les cellules NKT -----	44
Schéma I-13	: Composés de type GSL synthétisés-----	45
Schéma I-14	: Synthèse d'analogues de galacturonosylcéramide présents chez les <i>Sphingomonas yanoikuyae</i> -----	45
Schéma I-15	: Synthèse de nouveaux composés de type $\alpha$ -glycosphingolipides-----	46
Schéma I-16	: Nouveaux analogues de la Moenomycine de type A -----	46
Schéma I-17	: Cétal bicyclique de l'acide D-galacturonique par l'équipe de Koert -----	47
Schéma I-18	: Analogues de l'acide D-galacturonique inhibiteurs de la $\beta$ -glucuronidase du foie de bœuf-----	48
Schéma I-19	: Dérivés phosphorylés d'acide D-galacturonique synthétisés par l'équipe de McReady -----	48
Schéma I-20	: Synthèse de composés désoxygénés de type 5-déoxy glycofuranosides par transfert d'électron « photoinduit » -----	49
Schéma I-21	: Synthèse de trisaccharide d'acide D-galacturonique par l'équipe d'Ogawa-----	50
Schéma I-22	: Parties oligosaccharidiques actives pour éliciter la phytoalexine chez les plantes -----	50
Schéma I-23	: Dérivés de l'acide dodécagalacturonique synthétisés par l'équipe d'Ogawa -----	51
Schéma I-24	: Synthèse d'oligomères par polycondensation décrite par l'équipe de Kochetkov-----	52
Schéma I-25	: Synthèse de monomères type donneurs comme précurseurs pour des réactions de glycosylation-----	52
Schéma I-26	: Synthèse de disaccharide par polycondensation-----	53
Schéma I-27	: Dimères synthétisés par l'équipe de Robert-Baudouy -----	54
Schéma I-28	: Synthèse de trisaccharides à partir de dérivés D-galactopyranosidiques-----	54
Schéma I-29	: Transformation de l'acide D-galacturonique en molécules multifonctionnelles-----	55
Schéma I-30	: Synthèse de macromolécules à base de sucre par fermeture de cycle-----	56
Schéma II-1	: Réaction de glycosylation-----	59
Schéma II-2	: Synthèse des glycosides par voie chimique -----	60
Schéma II-3	: Influence du groupe participant en C-2 sur la stéréosélectivité-----	62
Schéma II-4	: Synthèse de maltotrioside de n-dodécyle par la méthode d'Helferich-----	63
Schéma II-5	: Exemple d'équilibre tautomère dans la synthèse de glycoside -----	65

Schéma II-6	: Suivi de la réaction de l'acide D-galacturonique dans le méthanol en milieu acide à différentes conditions de temps et de température-----	66
Schéma II-7	: Produits mis en évidence par spectroscopie de Masse -----	67
Schéma II-8	: Réaction classique de Fischer sur l'acide D-galacturonique avec différentes chaînes d'alcools primaires-----	68
Schéma II-9	: Obtention exclusive de la forme furanosique après une réaction d'estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique avec du méthanol-----	69
Schéma II-10	: Estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique dans le méthanol -----	69
Schéma II-11	: Estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique avec le <i>n</i> -dodécanol-----	70
Schéma II-12	: Synthèse de ( <i>n</i> -alkyl-D-galactoside)uronate de <i>n</i> -alkyle-----	70
Schéma II-13	: Obtention sélective des acides ( <i>n</i> -alkyl D-galactoside)uroniques sous formes furanosiques ou pyranosiques selon les conditions de réaction-----	71
Schéma II-14	: Complexation des acides galactofuranoside uroniques avec le calcium-----	72
Schéma II-15	: Tensioactifs commerciaux à base de sucre -----	73
Schéma II-16	: Glycosidation ou transglycosidation selon les conditions de Fischer-----	75
Schéma II-17	: Synthèse d'un acide alkyl galacturonate de sodium-----	76
Schéma II-18	: Produits dérivés d'acide D-galacturonique et D-glucuronique ayant démontré de bonnes propriétés liquide-cristallines -----	78
Schéma II-19	: Composés bolaamphiphiles synthétisés par l'équipe de Plusquellec.-----	79
Schéma II-20	: Composés bolaamphiphiles de type tribloc cationique -----	80
Schéma II-21	: Composés bolaamphiphiles analogues du GalCer préparés par l'équipe de Rico-Lattes -----	81
Schéma II-22	: Equilibre prépondérant lors de la mise en solution de l'anomère $\alpha$ -pyranose -----	87
Schéma II-23	: Classification des ondes électromagnétiques-----	88
Schéma II-24	: Influence du champ électrique sur un produit dipolaire -----	89
Schéma II-25	: Glycosylation sur des sucres non protégés par activation aux micro-ondes -----	90
Schéma II-26	: Réaction d'estérification et / ou glycosylation par activation aux micro-ondes sur la D-glucopyranosylurono-6,1-lactone-----	91
Schéma II-27	: Essai d'aminolyse dans le THF à reflux -----	98
Schéma II-28	: Réaction d'aminolyse sur le <i>n</i> -octyl $\alpha$ -D-galactopyranoside uronate de <i>n</i> -octyle----	100
Schéma II-29	: Mélange d'amides obtenus après une réaction d'estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique suivie d'une réaction d'aminolyse-----	101
Schéma II-30	: Réaction d'aminolyse du <i>n</i> -octyl $\beta$ -D-galactofuranoside uronate de <i>n</i> -octyle à 180 °C par chauffage thermique -----	103
Schéma II-31	: Structure du tensioactif-----	104
Schéma II-32	: Organisation des tensioactifs en solution -----	106
Schéma II-33	: Détermination de la CMC -----	107
Schéma II-34	: Evolution du logarithme de la CMC avec la longueur de la chaîne alkyle sur les ( <i>n</i> -alkyl- $\beta$ -D-galactofuranoside)uronates de sodium-----	109
Schéma II-35	: Diagramme de phase d'un tensioactif soluble dans l'eau ; (1) : Solution aqueuse du monomère ; (2) : Phase solide + Solution du monomère ;(3) : Phase solide + Solution micellaire ; (4) : Solution micellaire ; (CS) : Courbe de Solubilité ; (CMC) : Concentration micellaire critique -----	111
Schéma II-36	: Représentation schématique d'un tensioactif -----	113
Schéma II-37	: Différentes formes d'agrégats-----	114

Schéma II-38 : Composés de type $\alpha$ -D-mannopyranoside uronate d'alkyle par l'équipe de Plusquellec	116
Schéma II-39 : Composés amphiphile dérivés de l'acide D-glucuronique synthétisés par l'équipe de Kovensky	117
Schéma II-40 : Tension de surface air-eau $\gamma$ en fonction du Log de la concentration du ligand <b>4a</b> à 25 °C	118
Schéma II-41 : Tensions superficielles et CMC des composés étudiés	120
Schéma III-1 : Structure des ligands étudiés	141
Schéma III-2 : Action de la tyrosinase et de la catéchol oxydase	163
Schéma III-3 : Mécanisme de la tyrosinase	165
Schéma III-4 : Les différentes formes du complexe cuivrique de type 3.	166
Schéma III-5 : Exemple de complexe mimant la tyrosinase	167
Schéma III-6 : Ligands de type cyclames <i>N</i> -substitués synthétisés par Narayanan et coll.	169
Schéma III-7 : Structure chimique des tensioactifs CTAB et BRIJ 58	178
Schéma III-8 : Réaction de Henry	188
Schéma III-9 : Ligands bis(oxazoline) synthétisés par l'équipe de Jorgensen	188
Schéma III-10 : Ligands bis(oxazoline) synthétisés par l'équipe d'Evans	189
Schéma III-11 : Réaction de Henry par l'équipe de Simoni	189
Schéma IV-1 : Exemples des monosaccharides synthétisés par l'équipe de Murphy	210
Schéma IV-2 : Exemple de macrolides synthétisés par l'équipe de Van der Eycken	211
Schéma IV-3 : La tylosine, et son produit majoritaire de dégradation la O-mycinosyltylonolide	212
Schéma IV-4 : exemples de molécules macrocycliques à base de saccharose synthétisées par l'équipe de Jarosz	212
Schéma IV-5 : Molécules cages visées à partir de l'acide D-galacturonique	214
Schéma IV-6 : Méthodologie de synthèse du glycocryptand <b>A</b>	215
Schéma IV-7 : Réaction d'estérification <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique en présence de l'alcool propargylique	216
Schéma IV-8 : Schéma de synthèse du composé <b>10</b>	217
Schéma IV-9 : Schéma de synthèse de l'azoture <b>14</b>	217
Schéma IV-10 : Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen entre un azoture et un alcyne par activation thermique et catalysée par les ions Cu (I)	218
Schéma IV-11 : Cycloaddition 1,3-dipolaire entre l'alcyne <b>10</b> et l'azoture <b>14</b>	219
Schéma IV-12 : Fermeture de cycle par lactamisation du composé <b>15</b>	219
Schéma IV-13 : Réaction d'aminolyse pour la formation du composé <b>16</b>	220
Schéma IV-14 : Corrélations HMBC identifiées pour le régioisomère 1,4-triazole	222
Schéma IV-15 : Méthodologie de synthèse du glycocryptand <b>B</b>	223
Schéma IV-16 : Schéma de synthèse des composés <b>17</b> et <b>18</b>	224
Schéma IV-17 : Métathèse ényne inter- et intramoléculaire et des exemples de catalyseurs	225
Schéma IV-18 : Première tentative de synthèse du glycocryptand <b>B</b>	226
Schéma IV-19 : Métathèse ényne croisée entre le sucre <b>9</b> et l'amine <b>17</b> protégés	226

**Liste des tableaux**

Tableau I-1	: Exemples de masses molaires moyennes mesurées pour différentes pectines -----	27
Tableau I-2	: Composition en sucre des pectines de betteraves « Résultats donnés en pourcentage molaire » -----	28
Tableau I-3	: Classification des enzymes pectinolytiques dépolymérisantes selon Neukom -----	33
Tableau I-4	: Déplacements chimiques et constantes de couplage des protons anomériques des différentes formes isomères de l'acide D-galacturonique -----	34
Tableau I-5	: Pourcentage des différentes formes isomères de l'acide D-galacturonique en fonction du temps et du solvant -----	34
Tableau I-6	: Produits issus de la dégradation de l'acide D-galacturonique dans l'anhydride acétique en fonction de la base, du temps et de la température -----	37
Tableau II-1	: Composition (en %) de quelques monosaccharides dans l'eau -----	64
Tableau II-2	: Synthèses sélectives de ( <i>n</i> -alkyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside) uronate de <i>n</i> -alkyle -----	71
Tableau II-3	: Etude des conditions optimales pour la réalisation de l'estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol dans les conditions thermiques -----	83
Tableau II-4	: Réaction d'estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique dans les conditions cinétiques -----	86
Tableau II-5	: Etude des conditions optimales pour la réalisation de l'estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique avec l'octanol par activation micro-ondes -----	93
Tableau II-6	: Réaction d'estérification- <i>O</i> -glycosylation de l'acide D-galacturonique avec différents alcools linéaires par activation aux micro-ondes :-----	96
Tableau II-7	: Etude de la réaction d'aminolyse du <i>n</i> -octyl $\beta$ -D-galactofuranoside uronate de <i>n</i> -octyle -----	99
Tableau II-8	: Etude de la réaction d'aminolyse du <i>n</i> -octyl $\beta$ -D-galactofuranoside uronate de <i>n</i> -octyle par activation aux micro-ondes -----	102
Tableau II-9	: Les différentes catégories des tensioactifs-----	104
Tableau II-10	: Concentrations Micellaires Critiques de certains glycosides d'alkyle-----	115
Tableau II-11	: Valeurs de CMC et de tension de surface des dérivés D-mannopyranoside uronate d'alkyle en comparaison avec les valeurs standards pour les tensioactifs PEG et APGly -----	116
Tableau II-12	: Valeurs de CMC et tension de surface des dérivés d'acide D-glucuronique en comparaison avec les valeurs standards pour le <i>n</i> -octyl $\alpha$ -D-glucopyranoside -----	117
Tableau II-13	: Mesure de la taille des micelles pour certains ligands synthétisés -----	124
Tableau III-1	: Constantes d'acidité mesurées pour les ligands galacturonamides à 25 °C et à force ionique 0,1 -----	143
Tableau III-2	: Constantes de formation des complexes à 25 °C et à force ionique 0,1-----	148
Tableau III-3	: Constantes de formation des complexes à 25 °C et à force ionique 0,1-----	153
Tableau III-4	: Paramètres spectroscopiques UV-visible des complexes de cuivre -----	156
Tableau III-5	: Paramètres spectraux RPE des complexes de cuivre en solution -----	158
Tableau III-6	: Caractérisation élémentaire des complexes synthétisés -----	161
Tableau III-7	: Etude spectrale des complexes cuivriques -----	162
Tableau III-8	: Taux d'inhibition et valeurs d'IC <sub>50</sub> des différents ligands synthétisés sur l'action de la Tyrosinase en cycle diphénolase-----	184
Tableau III-9	: Taux d'inhibition de la tyrosinase et valeurs d'IC <sub>50</sub> des différents complexes synthétisés sur l'action de la Tyrosinase en cycle diphénolase -----	186

Tableau III-10 : Résultats obtenus pour la réaction de Henry en présence du complexe $\text{Cu}_2\text{OGMPU}_2$	190
Tableau IV-1 : Composés macrocycliques à base de saccharose synthétisés par l'équipe de Jarosz pour la complexation des cations	213
Tableau IV-2 : Réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire	221