



UNIVERSITE DE LIMOGES
ECOLE DOCTORALE Science-Technologie-Santé



Faculté des Sciences et Techniques
Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Chimie Appliquée – Chimie des Substances Naturelles

Présentée par
Laetitia GACHARD-BOUTY

Soutenue le 26 Novembre 2003

**UTILISATION DE LA MÉTATHÈSE DES ALCÈNES
POUR LA SYNTHÈSE DE PORPHYRINES O- ET C-
GLYCOSYLÉES ÉTHYLÉNIQUES**

APPLICATION À LA PHOTOTHÉRAPIE DYNAMIQUE

Directeurs de Thèse : Docteur Robert GRANET, Professeur Pierre KRAUSZ

Rapporteurs :

M. P. Martin

Professeur, Université d'Artois

M. P. Rollin

Professeur, Université d'Orléans

Examineurs :

M. R. Granet

Ingénieur, Université de Limoges

M. P. Krausz

Professeur, Université de Limoges

Invités :

M. N. Ono

Professeur, Université de Matsuyama (Japon)

M. J. Christen

PAST, Université de Limoges

Résumé

En raison de leur caractère photosensible, les porphyrines ont retenu l'attention des chercheurs pour une application en photothérapie dynamique, notamment, pour le traitement de certains cancers. Les porphyrines glycosylées sont, dans ce domaine, particulièrement prometteuses car elles peuvent permettre de vectoriser le photosensibilisateur vers les cellules tumorales enrichies en récepteurs glucidiques. Au cours de ce travail, nous avons, dans un premier temps, réalisé la synthèse de porphyrines glycosylées éthyléniques appartenant à la famille des *méso*-tétraarylporphyrines. Une stratégie en deux étapes qui consiste à dimériser le précurseur glucidique allylique puis à faire réagir l'homodimère obtenu avec les mono *para*- et *ortho*-allyloxyphényltritolylporphyrines a été appliquée. La dihydroxylation asymétrique de ces composés a été ensuite effectuée afin d'en améliorer le caractère amphiphile. Les unités glucidiques fixées sont de deux types. La première série de porphyrines synthétisées appartient à la famille des porphyrines O-glycosylées. La seconde série est constituée de porphyrines C-glycosylées qui se révèlent particulièrement intéressantes en raison de leur aptitude à résister à l'hydrolyse enzymatique. Ces composés ont été caractérisés par spectroscopie UV-visible et spectrométrie de masse. Une étude détaillée de RMN (^1H et ^{13}C) a été effectuée sur les composés acétylés ou benzoylés au niveau de la partie glucidique. Enfin, les différents produits issus de cette étude ont été déprotégés et ont fait l'objet de tests biologiques *in vitro* sur des cellules K562 sous forme libre ou encapsulés par incorporation dans des liposomes.

Mots clés : photothérapie, cancer, porphyrines, glycosides, métathèse croisée, homodimère, dihydroxylation asymétrique, liposome.

Abstract

SYNTHESIS OF O- AND C-GLYCOSYLATED ETHYLENIC PORPHYRINS AND THEIR DERIVATIVES BY CROSS METATHESIS REACTIONS. APPLICATION TO PHOTODYNAMIC THERAPY.

In recent years, photodynamic therapy has received increasing attention as a new modality for selective treatment of solid tumors. Glycosylated porphyrins are especially promising compounds since it is possible that the sugar moiety might lead the conjugate to a cell surface target through specific binding to its receptor. In the present work, we describe, in a first time, the synthesis, *via* olefin metathesis, of new ethylenic glycoconjugated porphyrins which are derivatives of 5,10,15,20-tetraarylporphyrins. We applied a two-step procedure in which allylic saccharides were first homodimerized prior to the cross-metathesis reaction with mono *para*- and *ortho*-allyloxyphenyltritolylporphyrins. The asymmetric dihydroxylations of these compounds were then performed in order to increase the amphiphilic properties of the resulting porphyrins. The first synthesised compounds are O-glycosylated porphyrins and the second series, C-glycosylated porphyrins. These last ones are of special interest because of their capacity to resist to enzymatic hydrolysis. The products were characterised by UV-visible and NMR spectroscopy as well as by mass spectrometry. Finally, all the compounds were deacetylated or debenzoylated and *in vitro* biological tests were carried out so as to evaluate the activity in photodynamic therapy of the free or encapsulated into liposomes products.

Key words : phototherapy, cancer, porphyrins, glycosides, cross-metathesis, homodimer, asymmetric dihydroxylation, liposome.

A mes parents qui m'ont soutenue et encouragée durant toutes ces années, je leur dédicace ce travail et les remercie du fond du cœur pour m'avoir permis d'aller aussi loin dans mes études.

A mon mari, pour son aide précieuse et son amour. Merci d'avoir répondu présent quand j'en avais besoin et de m'avoir remonté le moral dans les moments de doute.

A ma famille pour sa confiance et son soutien. J'ai toujours trouvé une oreille attentive et ai apprécié les conseils qui m'ont été donnés. C'est en partie grâce à eux que j'ai pu évoluer au cours de ma thèse.

A mes amis, pour leur présence et leur fidélité.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles de l'Université de Limoges. Je tiens à remercier son directeur, Monsieur le Professeur P. Krausz, pour avoir mis à ma disposition les moyens financiers et matériels de mener à bien ce travail, pour ses conseils et son soutien tout au long de ces années, pour m'avoir permis de présenter le résultat de mes travaux lors de congrès ainsi que pour m'avoir accordé sa confiance et permis de m'impliquer dans l'organisation du congrès SyCOCAL II.

Je remercie les différents membres du jury de cette thèse : Messieurs les Professeurs P. Martin et P. Rollin pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce jury et enfin Monsieur J. Christen pour m'avoir guidée lors de la rédaction du nouveau chapitre de la thèse et pour ses nombreux conseils.

J'adresse un remerciement particulier à Monsieur Robert Granet, qui m'a encadrée toutes ces années, pour les conseils et encouragements qu'il n'a cessé de me prodiguer. Je garderai un souvenir nostalgique de nos longues discussions.

Je voudrais adresser mes profonds remerciements à Madame R. Zerrouki pour sa présence indéfectible notamment dans les moments difficiles. Par son soutien et son amitié, elle a su me redonner le courage et l'énergie dont j'avais besoin.

Je remercie sincèrement Monsieur le Professeur J.-C. Vareille, Directeur de l'Ecole Doctorale Science-Technologie-Santé qui m'a permis de terminer ma thèse dans de bonnes conditions et pour la confiance qu'il m'a témoignée.

Je remercie également le Conseil Régional de Haute-Vienne qui m'a accordé un financement sous la forme d'une bourse sur Fond Social Européen ainsi que le LCSN et l'Ecole Doctorale Science-Technologie-Santé qui m'ont attribué une bourse d'Université la dernière année afin que je puisse achever ce travail.

Ce travail a été réalisé en collaboration avec différentes personnes que je remercie également : Monsieur le Professeur J.-C. Blais du Laboratoire de Chimie Organique Structurale et Biologique de l'Université P. et M. Curie pour l'analyse de mes produits par spectrométrie de masse MALDI ; Monsieur le Professeur M. Guilloton du LCSN et Madame M. Enache, post-doctorante au LCSN pour les tests biologiques réalisés sur mes produits.

Enfin je remercie profondément les chercheurs et personnels du laboratoire, en particulier, Madame M. Constantin et Monsieur Y. Champavier, pour leur aide constante et l'affection qu'ils m'ont témoignée.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS	8
LISTE DES FIGURES	10
LISTE DES TABLEAUX.....	12
INTRODUCTION GÉNÉRALE	14
MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE	16
I - QUELQUES GÉNÉRALITÉS SUR LES PORPHYRINES.....	17
II - SYNTHÈSE DE PORPHYRINES <i>MÉSO</i> -SUBSTITUÉES.....	20
II.1 - Méthode d'Adler et Longo et ses variantes.....	21
II.2 - Méthode de Lindsey et ses variantes.....	22
II.3 - Méthode de Woodward et MacDonald et ses variantes	23
II.4 - Fonctionnalisation de porphyrines <i>meso</i> -substituées	26
III - CARACTÉRISATION DES PORPHYRINES <i>MÉSO</i> -SUBSTITUÉES	27
III.1 - Spectroscopie UV-visible	27
III.2 - Résonance magnétique nucléaire.....	29
III.2.1 - RMN du proton	29
III.2.2 - RMN du carbone 13.....	31
III.3 - Spectrométrie de masse.....	31
IV - APPLICATIONS	32
IV.1 - Généralités	32
IV.2 - La photothérapie dynamique	33
IV.2.1 - Historique	34
IV.2.1.1 - Généralités	34
IV.2.1.2 - La photothérapie dynamique des cancers (PDT).....	34
IV.2.2 - Principe et mécanisme de la PDT.....	36
IV.2.2.1 - Principe	36
IV.2.2.2 - Mécanisme de la PDT.....	37
IV.2.3 - Evolution de la PDT	38
IV.2.3.1 - Elaboration de nouveaux photosensibilisateurs.....	38
IV.2.3.2 - La chimiopotentialisation	40
IV.2.3.3 - Traitement de maladies autres que le cancer	40
IV.2.4 - Reconnaissance et sélectivité.....	42
IV.2.4.1 - Reconnaissance.....	42
IV.2.4.2 - Sélectivité	43
V - OBJECTIF DU TRAVAIL	44
SYNTHÈSE DE PRÉCURSEURS GLUCIDIQUES.....	48
I - INTRODUCTION	49
I - STRATÉGIE DE SYNTHÈSE.....	50
II - SYNTHÈSE DES PRÉCURSEURS O-GLYCOSIDIQUES.....	52
II.1 - Généralités.....	52
II.2 - Méthode utilisant des glucides acétylés	54
II.3 - Synthèse des allyl β -O-glycosides à partir des substrats pentabenzoylés correspondants.....	55

II.3.1 - Débenzoylation sélective en position anomérique	55
II.3.2 - Fixation du groupement trichloroacétimide	56
II.3.2.1 - Mise au point bibliographique.....	56
II.3.2.2 - Synthèse des trichloroacétimides de glycosyle	57
II.3.3 - Réaction de O-allylation.....	58
III - SYNTHÈSE DES PRÉCURSEURS C-GLYCOSIDIQUES.....	60
III.1 - Généralités	60
III.2 - Synthèse de l'allyl α -C-glycopyranoside à partir du trichloroacétimide de glycosyle.....	63
III.3 - Synthèse des allyl α -C-glycopyranosides à partir des substrats <i>peracétylés</i>	63
IV - SYNTHÈSE DES HOMODIMÈRES.....	64
IV.1 - Réaction de métathèse	64
IV.1.1 - Bref historique	64
IV.1.2 - Les systèmes catalytiques de la métathèse	66
IV.1.3 - Mécanisme	69
IV.1.4 - La métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres	70
IV.1.4.1 - Cas général.....	70
IV.1.4.2 - Cas particulier des réactions d'homodimérisation.....	73
IV.2 - Synthèse des homodimères glucidiques	74
V - CONCLUSION.....	80

SYNTHÈSE DE PORPHYRINES GLYCOSYLÉES ÉTHYLÉNIQUES ET DE LEURS DÉRIVÉS HYDROXYLÉS..... 81

I - INTRODUCTION	82
I - STRATÉGIE	82
II - SYNTHÈSE DES PORPHYRINES ALLYLIQUES.....	84
III - SYNTHÈSE DES PORPHYRINES O- ET C-GLYCOSYLÉES ÉTHYLÉNIQUES .	85
IV - DIHYDROXYLATION DES PORPHYRINES GLYCOSYLÉES ÉTHYLÉNIQUES	89
IV.1 - La dihydroxylation asymétrique : quelques données bibliographiques.....	89
IV.2 - Synthèse des porphyrines glycosylées dihydroxylées	94
V - DEPROTECTION DES PORPHYRINES GLYCOSYLÉES	97
VI - CARACTÉRISATIONS SPECTRALES	98
VI.1 - Spectroscopie UV-visible	98
VI.1.1 - Cas des <i>meso</i> -porphyrines glycosylées protégées	98
VI.1.2 - Cas des <i>meso</i> -porphyrines glycosylées déprotégées.....	99
VI.2 - Spectrométrie de masse	99
VI.2.1 - Cas des <i>meso</i> -porphyrines glycosylées protégées	99
VI.2.2 - Cas des <i>meso</i> -porphyrines glycosylées déprotégées.....	101
VI.3 - Spectroscopie RMN.....	102
VI.3.1 - RMN du proton.....	102
VI.3.1.1 - Influence de l'orientation de la substitution	107
VI.3.1.2 - Influence de la nature du glucide.....	108
VI.3.1.3 - Influence de la nature de l'hétéroatome lié au carbone anomérique	109
VI.3.1.4 - Influence de la double liaison	109
VI.3.2 - RMN du carbone 13.....	110
VI.3.2.1 - Influence de l'orientation de la substitution	114
VI.3.2.2 - Influence de la nature du glucide.....	115
VI.3.2.3 - Influence de la nature de l'hétéroatome lié au carbone anomérique	115
VI.3.2.4 - Influence de la double liaison	115
VII - CONCLUSION	116

PARTIE EXPÉRIMENTALE	117
I - RÉACTIFS ET SOLVANTS.....	118
I - ACTIVATION MICRO-ONDES	119
I.1 - Micro-ondes de laboratoire.....	119
I.2 - Micro-ondes domestique	119
II - ANALYSES	120
II.1 - Pouvoirs rotatoires.....	120
II.2 - Spectroscopie infrarouge.....	120
II.3 - Spectroscopie UV-visible.....	120
II.4 - Spectroscopie RMN	120
II.5 - Spectrométrie de masse.....	120
III - CHROMATOGRAPHIE	121
III.1 - Chromatographie sur couche mince analytique.....	121
III.2 - Chromatographie préparative.....	121
III.2.1 - Chromatographie sur colonne	121
III.2.2 - Chromatographie sur couche mince préparative.....	121
IV - SYNTHÈSES.....	122
 CONCLUSION GÉNÉRALE	 167
 BIBLIOGRAPHIE.....	 168
 ANNEXES.....	 178
GÉNÉRALITÉS SUR LES MICRO-ONDES	179
TESTS BIOLOGIQUES	181
STRUCTURE DES COMPOSÉS	193
 NOUVEAU CHAPITRE DE LA THÈSE.....	 197
I - CADRE GÉNÉRAL ET ENJEUX	198
II - DÉROULEMENT, GESTION ET COÛT	199
III - AUTRES ACTIVITÉS	201
III.1 - Membre du comité d'organisation du SyCOCAL II.....	201
III.2 - Participation à la vie de l'Ecole Doctorale STS.....	202
IV - COMPÉTENCES ET SAVOIR FAIRE	203
V - RÉSULTATS ET IMPACT DE LA THÈSE.....	207

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A	adénine
Ac	acétyle
ADMET	acyclic diene metathesis polymerisation (polymérisation de diènes acycliques par métathèse)
ADN	acide désoxyribonucléique
AIBN	aza-bis-isobutyronitrile
ar	aryle
Bn	benzyle
Boc	butyloxycarbonyle
Bu	butyle
Bz	benzoyle
Cbz	benzyloxycarbonyle
ç	cellule
CCM	chromatographie sur couche mince
CM	cross metathesis (métathèse croisée)
conf.	configuration
Cy	cyclohexyle
DBU	1,8-diazabicyclo[5,4,0]undéc-7-ène
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DDT	dichlorodiphényltrichloroéthane
DHQ	dihydroquinine
DHQD	dihydroquinidine
DMF	N,N-diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
ee	excès énantiomérique
EP	éther de pétrole
Eq.	équivalent
ESI	electrospray ionisation (ionisation électrospray)
Et	éthyle
Gal	galactose
gl	glycosyle
Glc	glucose
grpts	groupements
H ₂ TPP	5,10,15,20-tétraphénylporphyrine
H ₂ TTP	5,10,15,20-tétratoilylporphyrine
HDL	high density lipoprotein (protéine de haute densité)
HpD	hématoporphyrine dérivée
IND	indoline
IP	iodure de propidium
iPr	isopropyle

L	ligand
LDL	low density lipoprotein (protéine de faible densité)
M	métal
MALDI	matrix assisted laser desorption ionisation (ionisation par désorption laser assistée par matrice)
Me	méthyle
Mes	mésityle
PDT	photodynamic therapy (thérapie photodynamique)
Pf	Photofrin
Ph	phényle
PHAL	phthalazine
PYR	diphénylpyrimidine
pyr.	pyrrolique
RCM	ring closing metathesis (fermeture de cycle par métathèse)
Rdt	rendement
RMN	résonance magnétique nucléaire
ROM	ring opening metathesis (ouverture de cycle par métathèse)
ROMP	ring opening metathesis polymerization (polymérisation par ouverture de cycle par métathèse)
SIMS	secondary ion mass spectrometry (spectrométrie de masse des ions secondaires)
SM	spectrométrie de masse
T	Thymine
TA	température ambiante
TB(DM)S	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
TFA	acide trifluoroacétique
THF	tétrahydrofurane
TIPS	triisopropylsilyle
tol	tolyle

Note :

Dans ce travail, les indices **a** et **b** associés aux numéros de composés se réfèrent respectivement aux substitutions *para* et *ortho*.

LISTE DES FIGURES

Figure I-1. a) Porphyrine base libre ; b) Electrons impliqués dans la délocalisation c) Porphyrine métallée.	17
Figure I-2. a) Numérotation de Fischer ; b) Numérotation IUPAC.....	17
Figure I-3. Différents facteurs pouvant affecter le caractère plan du macrocycle.....	18
Figure I-4. Représentation des deux types de structure cristalline de la tétraphénylporphyrine. ^{3b}	19
Figure I-5. Exemples de macrocycles tétrapyrroliques naturels.....	19
Figure I-6. Formation de la tétraphénylporphyrine.	21
Figure I-7. Méthode dite des « aldéhydes mixtes ».....	22
Figure I-8. Méthode de Lindsey.....	22
Figure I-9. Synthèse de porphyrines <i>trans</i> -A ₂ B ₂ par une variante de la méthode de Woodward et MacDonald.....	24
Figure I-10. Réarrangement du polypyrrane 1 conduisant au produit <i>cis</i>	24
Figure I-11. Synthèse de porphyrines de type A ₃ B par une variante de la méthode de Woodward et MacDonald.....	25
Figure I-12. Exemple de porphyrines O- et S-glycosylées obtenues par fonctionnalisation.	27
Figure I-13. Allure des bandes Q pour les spectres d'absorption du type <i>etio</i> , <i>rhodo</i> , <i>oxorhodo</i> ou <i>phyllo</i> . 28	28
Figure I-14. Délocalisation des électrons π dans le cas des porphyrines métallées ou protonées.....	28
Figure I-15. Courant de cycle d'une porphyrine – Structure de la porphine.	29
Figure I-16. Axes de symétrie et figures attendues pour les protons β pyrroliques.	30
Figure I-17. Comportement des protons β pyrroliques des <i>meso</i> -arylporphyrines glycosylées. ^{25a}	31
Figure I-18. Quelques structures de psoralènes.	34
Figure I-19. Structures du Photofrin [®] , du Foscan [®] et de la Visudyne [®]	35
Figure I-20. Principe de la PDT.	36
Figure I-21. Mécanisme photochimique de la photothérapie dynamique. ⁴⁸	37
Figure I-22. Comparaison des spectres d'absorption de chlorine et bactériochlorine avec celui de la porphyrine correspondante.....	39
Figure I-23. Exemples de photosensibilisateurs de seconde génération.	40
Figure I-24. Structure de l'Antrin [®]	41
Figure I-25. Schéma de la membrane plasmique d'une cellule.....	42
Figure I-26. Effets potentiels jouant sur l'efficacité en PDT des porphyrines glycosylées éthyléniques.	47
Figure I-27. Schéma de la stratégie générale de synthèse adoptée.....	47
Figure II-1. Stratégie de synthèse des précurseurs glucidiques.	51
Figure II-2. Schéma général des réactions de O-glycosylation.....	52
Figure II-3. Activation des sulfonylcarbammates de glycosyle.	53
Figure II-4. Mécanisme des réactions de O-glycosylation.	53
Figure II-5. O-allylation à partir de substrats <i>peracétylés</i>	54
Figure II-6. Synthèse multi-étapes des composés 7 et 8.	55
Figure II-7. Débenzoylation sélective.	56
Figure II-8. Formation du produit thermodynamique ou cinétique suivant la base utilisée.....	57
Figure II-9. Synthèse des trichloroacétimidates de glycosyle 4 et 5.....	57

Figure II-10. Essai de O-allylation à partir du D-glucose acétylé 6.....	59
Figure II-11. Mécanisme de glycosylation.....	59
Figure II-12. Acétylation <i>via</i> les micro-ondes du D-galactose commercial.	59
Figure II-13. Schéma général des réactions de C-glycosylation.....	60
Figure II-14. a) Méthode de Keck ^{29a} (cas général de C-allylation) ; b), c) Variantes de la méthode de Keck. ^{29b,25c}	61
Figure II-15. Interactions favorisant la formation majoritaire des α - ou β -C-glycosides.....	62
Figure II-16. Essai de C-allylation par voie micro-ondes.	63
Figure II-17. C-allylation des D-galactose et D-glucose <i>peracétylés</i>	64
Figure II-18. Représentation simplifiée de la métathèse des alcènes.	65
Figure II-19. Les différents types de métathèse.....	66
Figure II-20. Mécanisme de métathèse proposé par Chauvin et coll. ³⁸	66
Figure II-21. Exemples de catalyseurs.....	67
Figure II-22. Exemples de catalyseurs de métathèse au ruthénium.	68
Figure II-23. Mécanismes de formation du complexe impliqué dans la métathèse.....	69
Figure II-24. Mécanisme de métathèse.....	70
Figure II-25. Métathèse croisée - Cas général.	71
Figure II-26. Exemple de métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres en présence du catalyseur A.	71
Figure II-27. Exemples de métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres en présence du catalyseur C.	72
Figure II-28. Exemple de métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres en présence du catalyseur G.	72
Figure II-29. Réaction d'homodimérisation – Cas général.	73
Figure II-30. Synthèse de sucres bolaamphiphiles.	73
Figure II-31. Exemple de réaction d'homodimérisation par métathèse.....	74
Figure II-32. Homodimérisation des monomères allyliques 7 et 8.....	74
Figure II-33. Numérotation adoptée pour désigner les différentes positions.....	76
Figure II-34. Interactions stériques expliquant les différences de déplacement en RMN ¹³ C.....	79
Figure III-1. Structures des <i>meso</i> -glycosylporphyrines synthétisées.....	82
Figure III-2. Stratégie de synthèse.....	82
Figure III-3. Synthèse de la mono <i>para</i> -allyloxyphényltritolylporphyrine.	84
Figure III-4. Synthèse des mono allyloxyphényltritolylporphyrines par la méthode de Little. ¹	84
Figure III-5. Synthèse du composé 24a à partir du sucre monomère C-allylique 11.....	86
Figure III-6. Stratégie de métathèse en deux étapes développée par Grubbs et coll. ³	86
Figure III-7. Mécanisme pouvant expliquer l'obtention majoritaire de l'hétérodimère.	87
Figure III-8. Synthèse du composé 24a à partir de l'homodimère 17.....	87
Figure III-9. Migration de la double liaison en série <i>ortho</i>	89
Figure III-10. Dihydroxylation dans un système biphasique.	90
Figure III-11. Exemples de ligands de première et seconde génération.	91
Figure III-12. Poche de liaison. ¹¹	92
Figure III-13. Mécanismes proposés pour la dihydroxylation.	92

Figure III-14. Modèle permettant de prévoir la sélectivité énantiofaciale. ¹¹	93
Figure III-15. Composition de l'AD-mix- β pour 1 kg de mélange.....	94
Figure III-16. Détermination de la configuration des produits obtenus.....	96
Figure III-17. Structure et configuration des produits de dihydroxylation 25a-28a.....	96
Figure III-18. Spectre UV-visible du composé C-glucosylé 23b.....	99
Figure III-19. Spectre de masse de la porphyrine C-glucosylée 24a.....	100
Figure III-20. Numérotation utilisée - Cas du produit O-galactosylé 20a.....	102
Figure III-21. Spectres RMN des porphyrines 20a et 25a.	103
Figure III-22. Comportement des protons β pyrroliques et aromatiques des composés 22a,b.	107
Figure A1-1. Comportement des dipôles dans un champ électrique.	179
Figure A1-2. Influence des micro-ondes.....	180
Figure A2-1. Chlorhydrate de doxorubicine.....	181
Figure A2-2. Représentation schématique des différentes voies d'incorporation des liposomes par les cellules.	184
Figure A2-3. Evaluation de la cytotoxicité du composé 30a.	187
Figure A2-4. Iodure de propidium.....	187
Figure A2-5. Activité en PDT des composés 33a et 35a par rapport au Photofrin®.....	189
Figure A2-6. Activité en PDT du composé 33b par rapport au Photofrin®.	190
Figure A2-7. Observation par microscopie confocale du produit 32a encapsulé dans des liposomes	192

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I-1. Structure des 7 groupes de porphyrines <i>meso</i> -substituées.....	20
Tableau I-2. Combinaisons conduisant aux <i>meso</i> -porphyrines <i>cis</i> -A ₂ B, <i>cis</i> -A ₂ BC, <i>trans</i> -AB ₂ C et ABCD..	26
Tableau II-1. Structures des précurseurs glucidiques sous leurs formes monomère et dimère.	49
Tableau II-2. Réactions de O-allylation.	58
Tableau II-3. Réactions de C-allylation en présence d'allyltriméthylsilane et de BF ₃ OEt ₂	62
Tableau II-4. Tolérance des catalyseurs.....	67
Tableau II-5. Rendements et rapports E/Z des homodimères 12 à 17.....	75
Tableau II-6. RMN ¹ H des dimères 12, 13 et 14 [δ en ppm, J(Hz)].....	76
Tableau II-7. RMN ¹ H des dimères 15, 16 et 17 [δ en ppm, J(Hz)].....	77
Tableau II-8. RMN ¹³ C des dimères 12, 13, 14, 15, 16 et 17 [δ en ppm].	78
Tableau II-9. Spectrométrie de masse en mode Electrospray positif.	79
Tableau III-1. Synthèse des porphyrines glycosylées éthyléniques 20 à 24.....	88
Tableau III-2. Ligands recommandés pour chaque type d'oléfines.	94
Tableau III-3. Synthèse des porphyrines dihydroxylées.....	95
Tableau III-4. Déprotection des porphyrines glycosylées.....	97
Tableau III-5. Spectres UV-visible des composés protégés dissous dans CH ₂ Cl ₂ . λ_{\max} (nm) [$\epsilon \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$].....	98
Tableau III-6. Spectres UV-visible des composés déprotégés. λ_{\max} (nm) [$\epsilon \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$].	99
Tableau III-7. m/z théorique et expérimental pour l'ion quasi-moléculaire [M-H] ⁺	100
Tableau III-8. m/z théorique et expérimental pour les produits déprotégés.....	101

Tableau III-9. RMN ¹ H des porphyrines <i>para</i> -substituées 20a, 21a et 25a [δ en ppm (<i>J</i> en Hertz)].....	104
Tableau III-10. RMN ¹ H des porphyrines O-et C-galactosylées 22a,b et 23a,b [δ en ppm (<i>J</i> en Hertz)]. .	105
Tableau III-11. RMN ¹ H des porphyrines O-et C-glucosylées 21b, 24a,b et 28a [δ en ppm (<i>J</i> en Hertz)].	106
Tableau III-12. Variation des déplacements chimiques ($\Delta\delta$).....	108
Tableau III-13. Variation des déplacements chimiques observés après dihydroxylation.....	110
Tableau III-14. RMN ¹³ C des porphyrines O-et C-glycosylées 20a, 21a, 23a, 24a , 25a et 28a (δ en ppm).	112
Tableau III-15. RMN ¹³ C des porphyrines O-et C-glycosylées 21b, 22a,b, 23b et 24b (δ en ppm).	113
Tableau III-16. Variation des déplacements chimiques ($\Delta\delta$).....	114
Tableau III-17. Variation des déplacements chimiques ($\Delta\delta$).....	115
Tableau IV-1. Origine des réactifs utilisés.	118
Tableau IV-2. Origine des solvants utilisés.	119
Tableau A4-1. Coût de la thèse.	200

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les porphyrines sont des macrocycles tétrapyrroliques conjugués formés de quatre unités pyrroliques reliées entre elles par des ponts méthines. Cette forte conjugaison en fait des composés très colorés et souvent photosensibles. Elles jouent un rôle essentiel dans les milieux vivants et participent, notamment, au transport et au stockage de l'oxygène moléculaire (hémoglobine, myoglobine), à l'oxydation de substrats (cytochromes) ou encore à la photosynthèse dans les plantes et bactéries photosynthétiques (chlorophylle). Chez l'homme, en raison d'une déficience du système enzymatique au cours de l'une des étapes de la biosynthèse de l'hème, elles peuvent être également à l'origine d'une grave maladie appelée porphyrie. Du fait de ce dysfonctionnement, les porphyrines intermédiaires synthétisées ne sont plus reconnues par l'organisme et s'accumulent, en particulier sous la peau, entraînant une photosensibilité cutanée des personnes atteintes de porphyrie. En recherchant un traitement contre la porphyrie, les biologistes se sont rendus compte que des molécules photosensibles associées à la lumière pouvaient constituer un outil thérapeutique efficace dans le traitement de certaines pathologies. Ils ont en cela ouvert la voie à un nouveau type de traitement fondé sur l'activation lumineuse de composés photosensibles : la photothérapie dynamique. Aujourd'hui, en effet, la photothérapie dynamique est utilisée couramment en particulier pour lutter contre la dégénérescence maculaire liée à l'âge ou contre certains cancers. Des traitements fondés sur ce principe et visant à apporter une solution aux maladies cardio-vasculaires, au sida, aux rejets de greffe... sont également à l'étude.

Parmi les nombreuses applications des porphyrines, la photothérapie dynamique a particulièrement retenu notre attention dans le cadre de ce travail. Ce dernier s'inscrit dans un programme de synthèse de porphyrines glycosylées développé au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles de l'Université de Limoges. La fixation d'unités glucidiques sur les macrocycles porphyriniques présente un double intérêt. D'une part, elles sont susceptibles de vectoriser sélectivement le photosensibilisateur vers les cellules tumorales enrichies en récepteurs spécifiques des glucides. D'autre part, en raison de la présence de groupements hydroxyle, elles rendent généralement possible la solubilisation des composés dans l'eau et facilitent ainsi leur transport dans l'organisme. La première partie est consacrée à une mise au point bibliographique suivie par la synthèse et la caractérisation de précurseurs O- et C-glycosidiques dimériques. Nous avons ensuite fixé par métathèse les unités glucidiques sur des *meso*-arylporphyrines allyliques en vue d'obtenir les porphyrines O- et C-glycosylées éthyléniques correspondantes. La présence d'un bras espaceur insaturé entre l'unité

glucidique et le macrocycle porphyrinique permet également de moduler les propriétés amphiphiles des composés obtenus par fonctionnalisation de la double liaison. Dans ce but, nous avons appliqué la réaction de dihydroxylation de Sharpless conduisant à la formation de composés munis de deux groupements hydroxyle supplémentaires. Les porphyrines C-glycosylées synthétisées au cours de ce travail, notamment, constituent une classe de composés particulièrement intéressante pour une application en photothérapie dynamique en raison de leur aptitude à résister à l'hydrolyse enzymatique. Les différents produits ont ensuite été déprotégés et soumis à des tests biologiques *in vitro* sous leur forme libre et encapsulés par incorporation dans des liposomes.

PREMIÈRE PARTIE

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

I - QUELQUES GÉNÉRALITÉS SUR LES PORPHYRINES

Le squelette de base des porphyrines est constitué de quatre unités pyrroliques reliées entre elles par des ponts méthines. La forme tautomère pour laquelle les deux NH pyrroliques internes sont en position *trans* (à l'opposé l'un de l'autre), représentée sur la figure I-1, est la forme la plus favorisée thermodynamiquement. Le macrocycle porphyrinique est un système aromatique comportant 22 électrons π parmi lesquels seulement 18 sont impliqués dans l'aromaticité (fig. I-1b). Ce caractère aromatique confère aux porphyrines une stabilité importante et une forte absorption dans le domaine du visible souvent associées à des propriétés photosensibilisatrices. En outre, les porphyrines peuvent être métallées par pratiquement tous les métaux par réaction avec les sels métalliques correspondants et constituent, sous cette forme, d'excellents agents d'oxydoréduction.

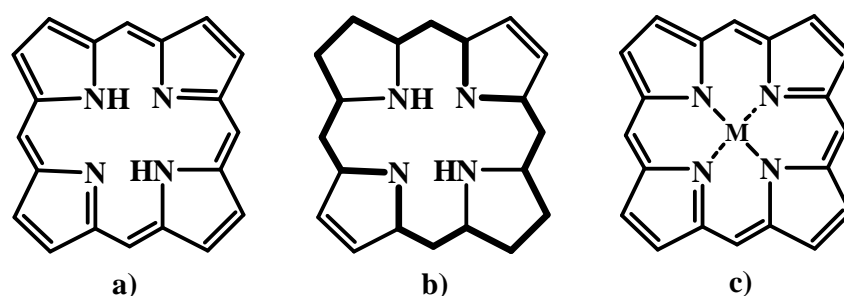


Figure I-1. a) Porphyrine base libre ; b) Electrons impliqués dans la délocalisation c) Porphyrine métallée.

Un premier système de numérotation (fig. I-2a) a été proposé par Fischer.¹ Dans celle-ci, les carbones tétrapyrroliques sont numérotés de 1 à 8 et les positions méthine, symbolisées par les lettres α , β , γ et δ . Elle a été progressivement abandonnée au profit d'une numérotation plus précise, représentée figure I-2b.²

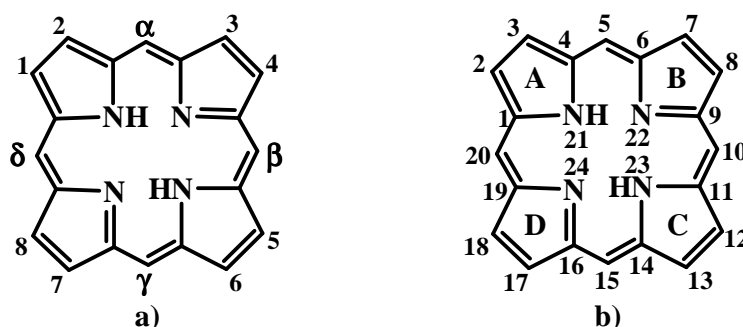
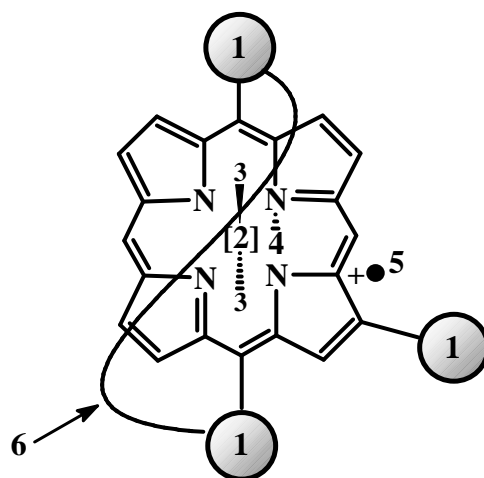


Figure I-2. a) Numérotation de Fischer ; b) Numérotation IUPAC.

Les positions méthine, également appelées positions *meso*, portent alors les numéros 5, 10, 15 et 20 et les carbones α et β pyrroliques sont notés respectivement 1, 4, 6, 9, 14, 16, 19 et 2, 3,

7, 8, 12, 13, 17, 18. On attribue aux atomes d'azote internes au macrocycle les numéros 21, 22, 23 et 24. Enfin, les quatre unités pyrroliques sont définies par les lettres A, B, C et D. Parce qu'elle permet de désigner l'ensemble des carbones de la structure porphyrinique, cette dernière numérotation se révèle plus adaptée que celle proposée par Fischer, notamment dans le cadre de l'analyse des composés par spectroscopie RMN du carbone 13 ou par diffraction des rayons X.

Des études cristallographiques ont permis de montrer que le motif de base des porphyrines possède une structure plane. Toutefois, différents facteurs (fig. I-3) peuvent entraîner des déformations du macrocycle, ce dernier perdant alors son caractère plan.^{3a}



1- Substitution par des groupements volumineux sur le macrocycle ; 2- Présence d'un métal ; 3- Présence de ligands axiaux ; 4- N-alkylation, N-arylation ou protonation ; 5- Formation d'un cation radicalaire ; 6- Insertion d'une chaîne entre deux positions *meso* ou β .

Figure I-3. Différents facteurs pouvant affecter le caractère plan du macrocycle.

Par exemple, lorsque le macrocycle est substitué par des groupements volumineux en position *meso* et/ou β (1), il a tendance à se déformer afin de limiter les interactions.^{3b} De la même façon, la présence d'un métal ou la protonation des deux azotes (2) ou encore l'existence de ligands axiaux (3) peuvent entraîner des distorsions du macrocycle.^{3c} Par ailleurs, les substituants périphériques tels que les groupements phényle fixés sur les positions *meso* adoptent une conformation non coplanaire avec le macrocycle afin de limiter les répulsions de Van der Waals entre les hydrogènes en position *ortho* des phényles et les protons β pyrroliques (fig. I-4).^{3b}

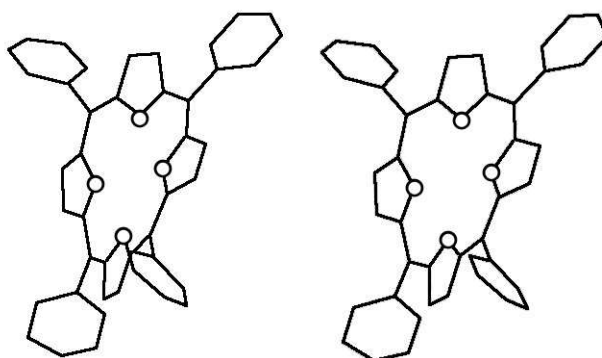


Figure I-4. Représentation des deux types de structure cristalline de la tétraphénylporphyrine.^{3b}

Les porphyrines jouent un rôle essentiel dans les milieux vivants. Elles se présentent généralement sous forme métallée et entrent, notamment, dans la composition de différentes chromoprotéines. Certaines d'entre elles ont un rôle physiologique respiratoire. Il s'agit de différentes sortes d'hémoglobine, des cytochromes qui sont des transporteurs d'électrons, des cruorines rencontrées chez les invertébrés ou encore des enzymes héminiques. Les porphyrines constitutives y sont alors métallées par du fer à des degrés d'oxydation divers. Ainsi, les hémoglobines, par exemple, sont constituées d'un groupement prosthétique appelé hème qui est la protoporphyrine IX métallée par du fer II et d'une partie protéique, la globine variant selon l'âge, l'espèce... (fig. I-5).

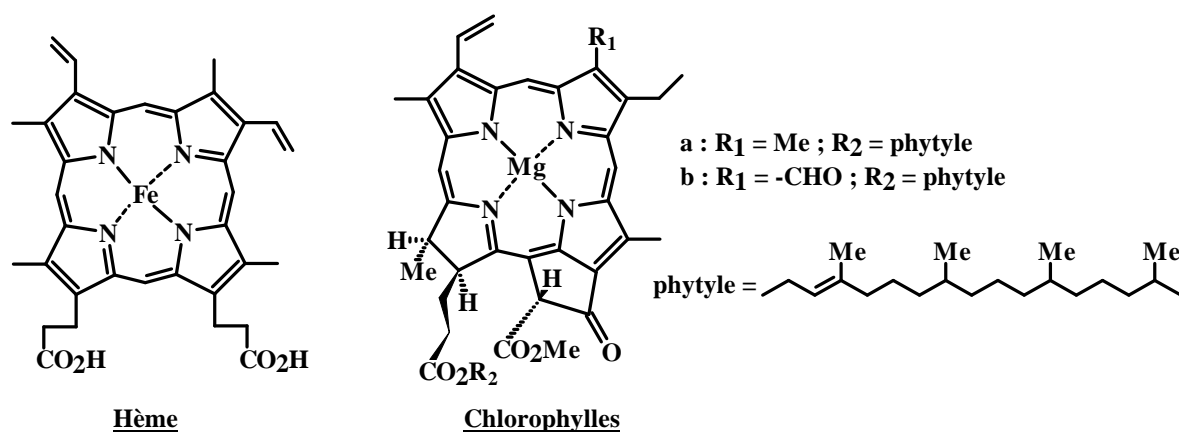


Figure I-5. Exemples de macrocycles tétrapyrroliques naturels.

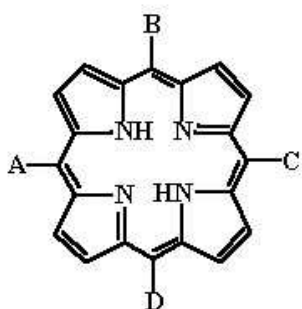
Leur rôle est d'assurer l'approvisionnement en oxygène ainsi que son stockage dans les tissus musculaires.⁴ Les enzymes héminiques - catalases et *peroxydases* - comportent le même groupement prosthétique. Leur fonction est de protéger les cellules des *peroxydes* et *superoxydes* formés au cours de la réduction du dioxygène. La réduction d'une des unités pyrroliques du macrocycle porphyrinique conduit à une nouvelle classe de composés appelés chlorines. Les chlorophylles issues des plantes vertes, représentées sur la figure I-5, en font

partie et sont des dérivées de la protoporphyrine IX comportant une cyclisation supplémentaire. Métallées par du magnésium, les chlorophylles a et b constituent le groupement prosthétique des chloroplastines et participent au processus de photosynthèse localisé dans les chloroplastes. Chloroplastines et phycobilines appartiennent, quant à elles, à la catégorie des chromoprotéines porphyriniques non respiratoires. Rappelons que l'on désigne sous le terme de photosynthèse l'ensemble des processus permettant aux organismes autotrophes d'utiliser l'énergie solaire pour synthétiser les substances organiques dont ils ont besoin.⁵ Elle se décompose en deux phases. La première, dite phase lumineuse, est celle dans laquelle se déroulent les réactions permettant de convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique. La seconde est la phase obscure au cours de laquelle, grâce à l'énergie produite, sont synthétisées, à partir du CO₂, les substances organiques nécessaires à la plante. Les chlorophylles a et b interviennent lors de la phase lumineuse en jouant surtout le rôle d'antennes collectrices. En effet, leur fonction principale consiste à capter l'énergie lumineuse et à la canaliser, par transferts successifs entre molécules de chlorophylle, vers les centres réactionnels. Il en résulte un accroissement de l'activité photochimique qui, sans cet apport d'énergie supplémentaire, serait très lente.

II - SYNTHÈSE DE PORPHYRINES MÉSOSUBSTITUÉES

Depuis de nombreuses années, en raison de leurs applications dans de nombreux domaines, la synthèse de porphyrines a suscité un regain d'intérêt. Nous nous proposons de faire un inventaire non exhaustif des différentes méthodes permettant d'accéder à des porphyrines *meso*-substituées. En fonction de la nature des substituants, on peut regrouper les *meso*-porphyrines tétrasubstituées en 7 groupes représentés dans le tableau I-1.

Tableau I-1. Structure des 7 groupes de porphyrines *meso*-substituées.



Substituants	Type
A=B=C=D	A ₄
A=D=C≠B	A ₃ B
A=D≠B=C	<i>cis</i> -A ₂ B ₂
A=C≠B=D	<i>trans</i> -A ₂ B ₂
A=D≠B≠C	<i>cis</i> -A ₂ BC
A≠C≠B=D	<i>trans</i> -AB ₂ C
A≠B≠C≠D	ABCD

II.1 - MÉTHODE D'ADLER ET LONGO ET SES VARIANTES

Les *meso*-arylporphyrines peuvent être élaborées par condensation d'un ou plusieurs aldéhydes sur du pyrrole. C'est en 1939 que Rothemund⁶ a rapporté, pour la première fois, la synthèse de la tétraphénylporphyrine. Cette dernière a été obtenue avec un rendement de 5% en chauffant dans un tube scellé du benzaldéhyde et du pyrrole dans la pyridine à 120°C pendant 48 heures (fig. I-6). Cependant, les rendements en porphyrines synthétisées par cette méthode restent faibles. Par ailleurs, les conditions dures dans lesquelles sont réalisées les réactions limitent le nombre d'aldéhydes pouvant servir de substrats sans subir de dégradations.

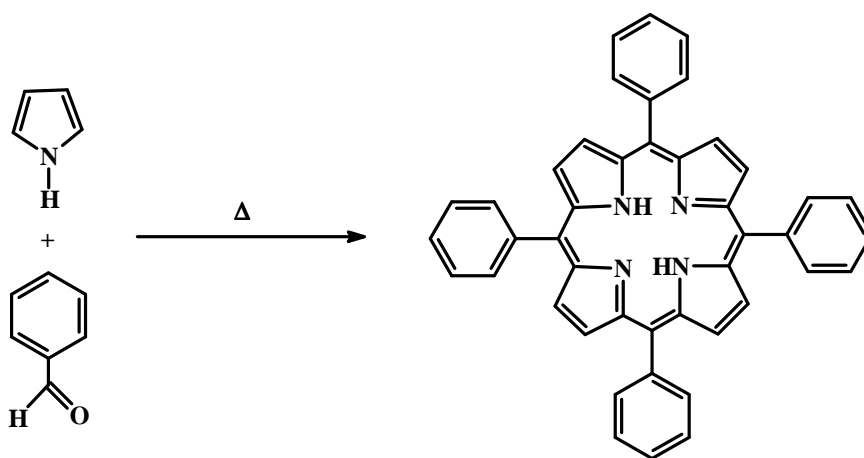


Figure I-6. Formation de la tétraphénylporphyrine.

Des améliorations ont été apportées à cette méthode par Adler et Longo.⁷ En effet, ces auteurs ont multiplié par quatre le rendement en tétraphénylporphyrine (20%) en opérant avec les mêmes réactifs dans l'acide propionique à reflux pendant 30 minutes et en laissant le milieu à l'air libre. Cette méthode reste largement utilisée lorsque de grandes quantités de porphyrines, en particulier appartenant au type A_4 , doivent être synthétisées. Cependant, elle présente plusieurs inconvénients parmi lesquels la formation de produits secondaires résiduels et la nécessité d'employer des aldéhydes pouvant supporter des conditions acides.

Little⁸, en 1975, a adapté cette méthodologie à l'élaboration de *meso*-arylporphyrines non symétriques correspondant aux types A_3B et A_2B_2 . Elle est illustrée sur la figure I-7 dans le cas général et est également connue sous le nom de méthode des « aldéhydes mixtes ». Elle consiste à condenser deux aldéhydes différents sur le pyrrole dans l'acide propionique à reflux. Cette condensation, en fonction des quantités stœchiométriques des réactifs introduits, conduit à la formation de produits différemment substitués.

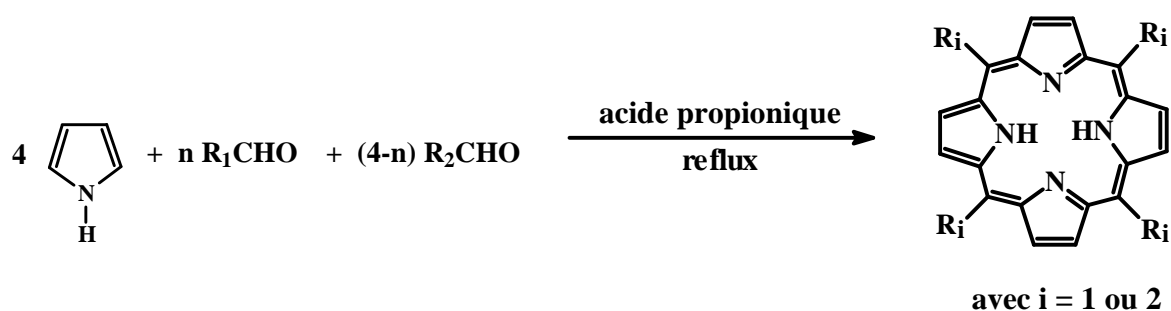


Figure I-7. Méthode dite des « aldéhydes mixtes ».

Cependant, les rendements obtenus par cette voie restent faibles (de l'ordre de 7%) en raison de la formation, en plus du composé attendu, de produits secondaires diversement substitués et des produits issus de la copolymérisation du pyrrole. Cette méthode implique de fastidieuses étapes de séparation et de purifications chromatographiques en particulier lorsque la porphyrine synthétisée n'est pas cristalline.

II.2 - MÉTHODE DE LINDSEY ET SES VARIANTES

La méthode proposée par Lindsey et coll.⁹ s'appuie sur la formation d'un intermédiaire porphyrinogène (fig. I-8) dont l'existence avait été antérieurement démontrée par Dolphin.¹⁰ En appliquant une stratégie similaire à celle de Gonsalves et coll.¹¹, Lindsey et coll.⁹ ont fait réagir un mélange de pyrrole et d'aldéhyde comportant un substituant alkyle avec une quantité catalytique d'un acide de Lewis dans le dichlorométhane anhydre. Ils ont ainsi pu isoler la tétraphénylporphyrine avec un rendement de 46% après oxydation par une quinone du porphyrinogène obtenu.

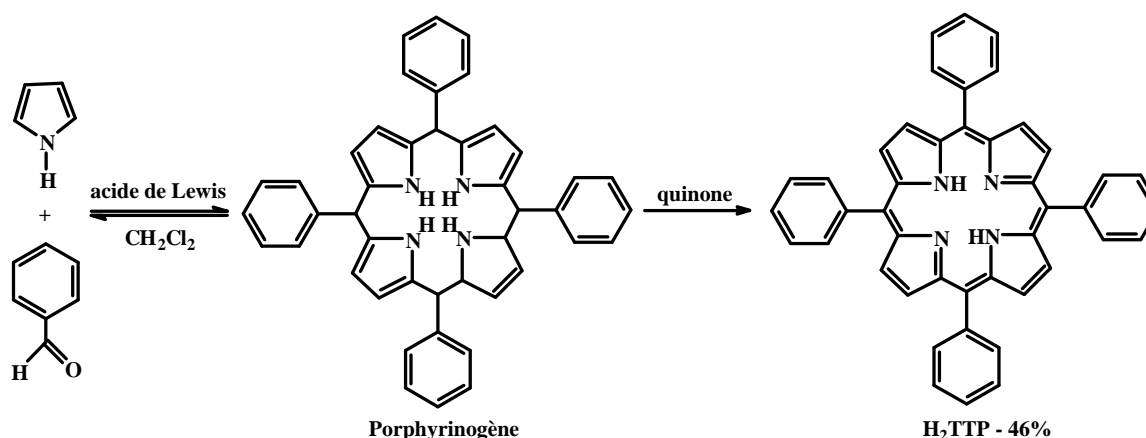


Figure I-8. Méthode de Lindsey.

Cependant, un inconvénient de cette méthode est qu'elle doit être appliquée en milieu dilué (environ $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$). En effet, elle repose sur le fait qu'un équilibre s'établit entre les

précurseurs et le porphyrinogène. Les conditions de dilution ont alors pour but de favoriser la formation de l'intermédiaire désiré aux dépens des polypyrrylméthanes à chaîne ouverte formés par ailleurs. Il a été constaté par la suite que les meilleurs résultats étaient obtenus lorsque des quantités équimoléculaires de pyrrole, de benzaldéhyde et de triéthylorthoacétate (ayant pour fonction de piéger l'eau) étaient utilisées. Les conditions de réaction sont, par ailleurs, légèrement modifiées pour la synthèse de tétraarylporphyrines substituées en *ortho* plus difficiles à préparer du fait de l'encombrement stérique qui en résulte.¹² En effet, il a été montré que l'ajout d'éthanol comme co-catalyseur permettait d'augmenter significativement le rendement. Il semblerait que l'éthanol favorise la dissociation du complexe formé entre l'aldéhyde substitué en *ortho* et l'acide de Lewis (par exemple, BF₃), facilitant ainsi la réaction. Une variante de cette méthode, consistant à opérer la réaction en augmentant la dilution des précurseurs (de l'ordre de 10⁻³ mol.L⁻¹) ainsi que le temps de réaction, permet de synthétiser des porphyrines dissymétriques telles que les *meso*-arylporphyrines de type A₃B ou encore A₂B₂.¹³ Plus récemment, une autre méthode dérivant de celle de Lindsey et remplaçant l'acide de Lewis par des argiles à caractère acide telles que la montmorillonite K10 a été proposée. Elle présente le double avantage de simplifier le traitement et d'être plus écologique.¹⁴ Une dernière variante met en jeu des sels de métaux de transition. En effet, Llama et coll.¹⁵ ont utilisé des sels de vanadium (V), de titane (IV) ou encore de manganèse (III) pour synthétiser différentes tétraarylporphyrines avec de bons rendements. Par exemple, la tétraphénylporphyrine a été obtenue avec un rendement de 68% à l'aide de VOCl₃. Il semblerait que le sel métallique agisse, dans ce cas, comme un oxydant permettant de convertir le porphyrinogène en porphyrine *via* un processus radicalaire.

II.3 - MÉTHODE DE WOODWARD ET MACDONALD ET SES VARIANTES

Woodward¹⁶ et MacDonald¹⁷ ont introduit les dipyrrométhanes comme précurseurs pour la synthèse de porphyrines. Plusieurs variantes permettant d'accéder à des porphyrines diversement substituées sur les positions β pyrroliques et/ou *meso* ont depuis vu le jour.^{13,18} Ainsi, une méthode classique permettant d'obtenir des porphyrines correspondant au type *trans*-A₂B₂ consiste à condenser un dipyrrométhane et un aldéhyde selon une procédure dérivant de la méthode initiale de Woodward et MacDonald (fig. I-9).

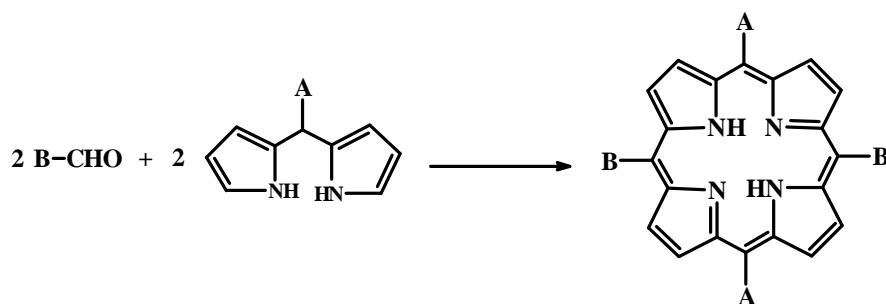


Figure I-9. Synthèse de porphyrines *trans*-A₂B₂ par une variante de la méthode de Woodward et MacDonald.

Ces réactions sont réalisées soit dans l'acide propionique à reflux, soit par catalyse acide dans le dichlorométhane suivie de l'oxydation du porphyrinogène intermédiaire.¹⁸ Cependant, cette méthode présente l'inconvénient de conduire à un mélange de plusieurs produits parmi lesquels les isomères *cis* et *trans* difficilement séparables. Il en résulte généralement de faibles rendements en porphyrines du type *trans*-A₂B₂. L'origine de la formation du produit *cis* ne peut s'expliquer par la condensation directe des deux précurseurs. Selon Lindsey et coll.¹⁹, il se produirait un réarrangement du polypyrrane **1** conduisant aux fragments pyrroloque et azafulvène **2** et **3** (fig. I-10). La recombinaison de ces derniers mène alors à l'isomère *cis* via l'intermédiaire polypyrrane **4**. Ces auteurs ont remarqué, par ailleurs, que l'emploi d'un dipyrrométhane encombré permettait d'obtenir sélectivement les porphyrines *trans*-A₂B₂.

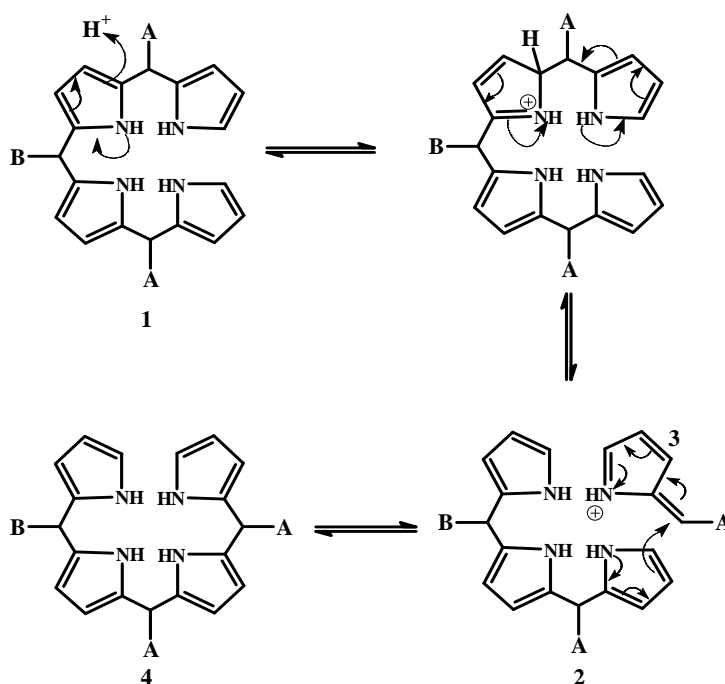


Figure I-10. Réarrangement du polypyrrane **1** conduisant au produit *cis*.

Plus récemment, les mêmes auteurs ont montré qu'on pouvait également obtenir sélectivement les porphyrines *trans*-A₂B₂ par auto-condensation d'un monocarbinol-dipyrrométhane synthétisé à partir du monoacyl-dipyrrométhane correspondant.²⁰ Une autre variante proposée par Lindsey et coll.²¹ et conduisant aux porphyrines du type A₃B consiste à faire réagir un dipyrrométhane non substitué en position 5 et 5' sur un deuxième dipyrrométhane préalablement diacylé sur les mêmes positions. Deux stratégies différant par la nature des substituants situés sur les unités dipyrrométhane ont ainsi permis de synthétiser des *meso*-porphyrines de type A₃B avec des rendements allant de 14 à 35%. Le schéma général de cette méthode est représenté sur la figure I-11.

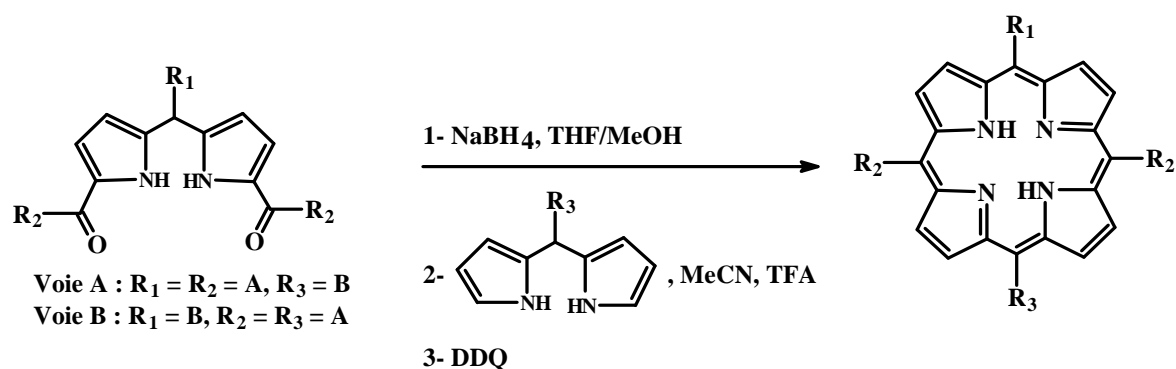


Figure I-11. Synthèse de porphyrines de type A₃B par une variante de la méthode de Woodward et MacDonald.

En adaptant cette procédure, ils ont proposé, par ailleurs, une méthode générale d'obtention des produits du type *cis*-A₂B₂, *cis*-A₂BC, *trans*-AB₂C ou encore ABCD. Les combinaisons permettant d'accéder spécifiquement à chaque type de porphyrines *meso*-substituées sont reportées dans le tableau I-2. Cette stratégie leur a permis de synthétiser des *meso*-porphyrines dissymétriques avec des rendements variant de 16 à 40% en utilisant une procédure de purification simplifiée par rapport aux méthodes existantes.

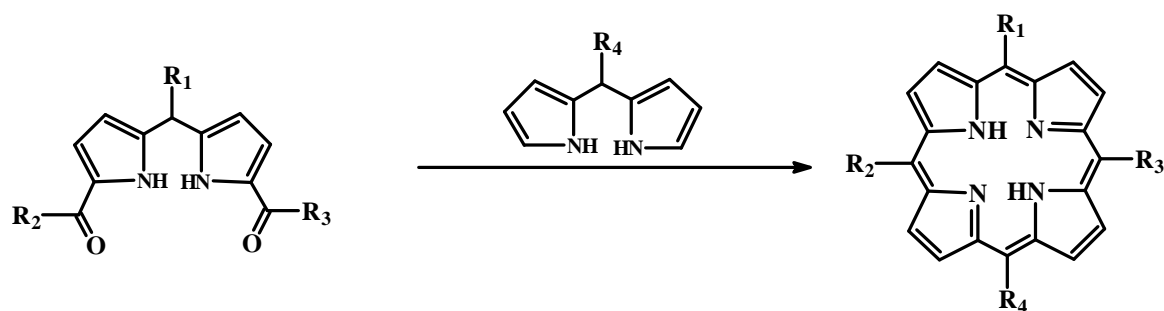


Tableau I-2. Combinaisons conduisant aux *meso*-porphyrines *cis*-A₂B, *cis*-A₂BC, *trans*-AB₂C et ABCD.

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Produit
A	A	B	B	<i>cis</i> -A ₂ B ₂
B	A	C	A	<i>cis</i> -A ₂ BC
A	A	B	C	<i>cis</i> -A ₂ BC
A	B	B	C	<i>trans</i> -AB ₂ C
B	A	C	B	<i>trans</i> -AB ₂ C
B	A	C	D	ABCD

A côté de cette méthode générale, il existe des méthodes de synthèse propres à chacun de ces composés. Ainsi, les porphyrines *cis*-A₂B₂ peuvent être obtenues par réaction d'un tripyrrane avec un pyrrole substitué par deux groupements carbinol²² ou encore par condensation d'un dialdéhyde et d'un aldéhyde avec le pyrrole.²³ Ces différentes méthodes nécessitent, néanmoins, plusieurs étapes de purification, ce qui les rend fastidieuses. Les porphyrines *trans*-AB₂C peuvent être synthétisées, quant à elles, par condensation d'un dipyrrométhane avec deux aldéhydes ou de deux dipyrrométhanes avec un aldéhyde.^{13b} Du fait des réarrangements se produisant en milieu acide, trois produits sont formés d'où la nécessité de procéder ici encore à plusieurs étapes de purification. La synthèse des *meso*-porphyrines comportant quatre substituants différents est plus délicate et donne généralement de faibles rendements. Par exemple, une voie d'accès à ce type de composés consiste à faire réagir un dipyrrométhane substitué en position 5 et 5' par des groupements carbinol avec un autre dipyrrométhane et conduit généralement au produit correspondant avec un rendement inférieur à 10%.²⁴

II.4 - FONCTIONNALISATION DE PORPHYRINES MESO-SUBSTITUÉES

L'élaboration de porphyrines *meso*-substituées peut être également effectuée par modification de porphyrines déjà fonctionnalisées.²⁵ Cette stratégie est couramment employée dans notre laboratoire, notamment, dans le but d'introduire un bras espaceur permettant d'éloigner le substituant du macrocycle porphyrinique (fig. I-12).^{25a,b} Par exemple, une

procédure utilisée classiquement consiste à effectuer une réaction de Williamson sur une porphyrine hydroxylée en présence d'une chaîne alkyle bromée et de carbonate de potassium sec dans du diméthylformamide anhydre. Des réactions de O-glycosylation en présence de SnCl₄ dans du dichlorométhane anhydre peuvent alors être réalisées et conduisent aux différents produits de couplage avec des rendements variant entre 12 et 75%.^{25a} Ces composés ont également été synthétisés en appliquant la méthode de Little⁸ et ont été obtenus avec des rendements similaires. Bien que plus rapide, cette deuxième voie de synthèse nécessite, néanmoins, la préparation préalable de précurseurs glucidiques dont la purification n'est pas toujours aisée.

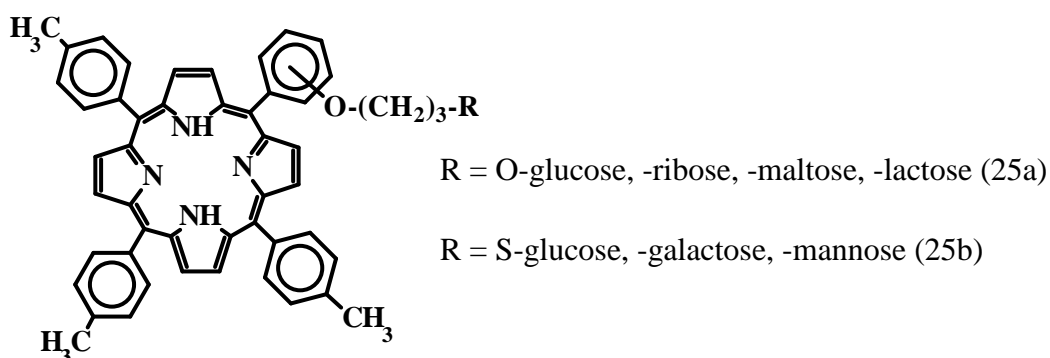


Figure I-12. Exemple de porphyrines O- et S-glycosylées obtenues par fonctionnalisation.

L'élaboration de *meso*-arylporphyrines S-glycosylées en position *ortho* ou *para* procède, quant à elle, par réaction des thioglycosides acétylés avec la porphyrine A₃B munie d'un bras espaceur bromé.^{25b} Cette classe de porphyrines est particulièrement intéressante pour une application en photothérapie dynamique du fait de la plus grande résistance des liaisons S-glycosidiques vis-à-vis de l'hydrolyse enzymatique.

III - CARACTÉRISATION DES PORPHYRINES *MÉSO*-SUBSTITUÉES

III.1 - SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE

En raison de leur aromaticité, les porphyrines, comme nous l'avons souligné précédemment, absorbent dans le domaine du visible ce qui implique évidemment une forte coloration. Les spectres d'absorption des porphyrines présentent une bande intense ($\epsilon > 10^4$) entre 390 et 430 nm appelée bande de Soret et quatre bandes de moindre intensité situées entre 480 et 700 nm appelées bandes Q et notées de I à IV par ordre décroissant des longueurs d'ondes. La bande de Soret est caractéristique de la conjugaison du macrocycle et est peu influencée par les modifications apportées à celui-ci. Les bandes Q, en revanche, y sont très

sensibles et varient suivant la nature et la position des substituants fixés sur le macrocycle. Les spectres les plus couramment rencontrés peuvent être regroupés en quatre grands types différant par la hauteur relative des bandes Q et nommés *etio*, *rhodo*, *oxorhodo* et *phyllo* (fig. I-13).

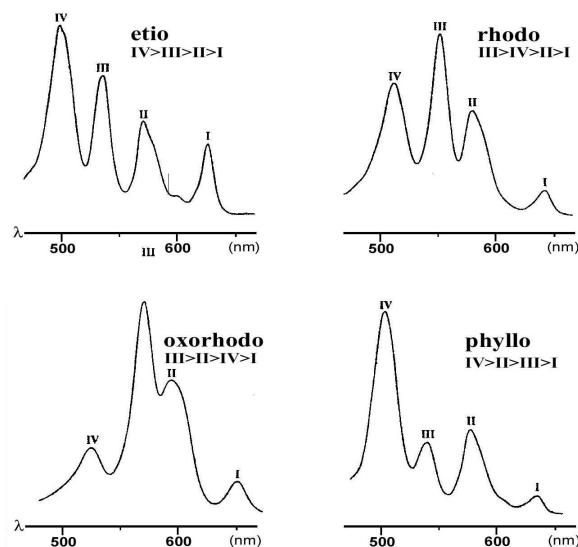


Figure I-13. Allure des bandes Q pour les spectres d'absorption du type *etio*, *rhodo*, *oxorhodo* ou *phyllo*.

Les modifications de la délocalisation des 18 électrons π résultant de la protonation ou de la métallation des porphyrines base libre génèrent un gain de symétrie qui se traduit généralement par la fusion des quatre bandes Q en deux bandes (fig. I-14). La bande de Soret reste, quant à elle, quasiment inchangée. Les variations observées du fait de la métallation sont sensibles à la nature et au degré d'oxydation du métal mais aussi, à la nature des ligands axiaux présents.

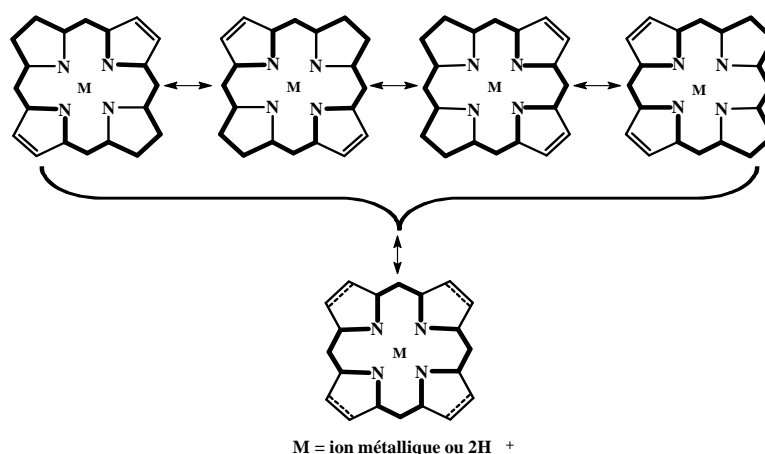


Figure I-14. Délocalisation des électrons π dans le cas des porphyrines métallées ou protonées.

III.2 - RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE

III.2.1 - RMN du proton

Comme tous les composés aromatiques, les porphyrines possèdent un courant de cycle important affectant l'ensemble des protons du macrocycle (fig. I-15).

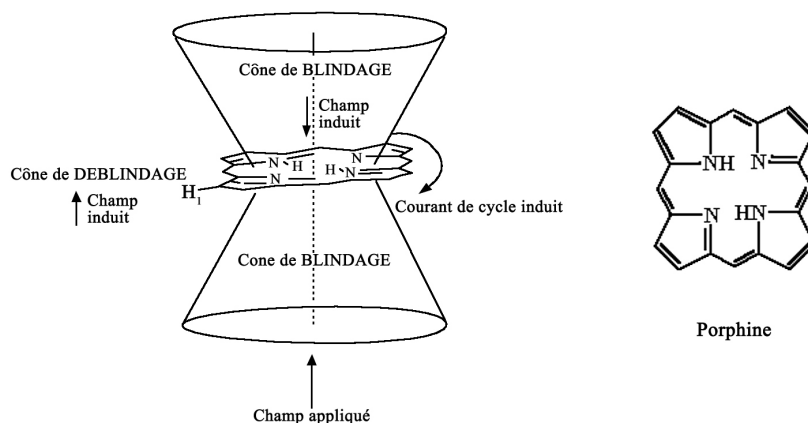


Figure I-15. Courant de cycle d'une porphyrine – Structure de la porphine.

Il en résulte que les protons se situant en périphérie du macrocycle sont déblindés alors que ceux qui occupent une position interne se retrouvent blindés. Dans le cas de la porphine, par exemple, les NH pyrroliques internes au macrocycle sont fortement blindés et résonnent à $-3,76$ ppm du fait de leur présence dans le cône de blindage. Les protons β pyrroliques, en revanche, se situant en périphérie et donc à l'extérieur du cône de blindage, sont déblindés et résonnent vers $9,74$ ppm.

La substitution des positions *meso* entraîne une diminution notable du courant de cycle et provoque, de ce fait, un blindage des protons β pyrroliques ainsi qu'un déblindage des protons NH internes par rapport à la porphine. En outre, l'introduction de substituants différents sur les positions *meso*, de part la modification de symétrie qu'elle génère, a une influence non négligeable sur les signaux correspondant aux protons β pyrroliques. Le schéma I-16 représente les différents axes de symétrie présents sur des *meso*-porphyrines tétrasubstituées. Les signaux attendus pour les protons β pyrroliques dans chaque cas de figure sont également indiqués.

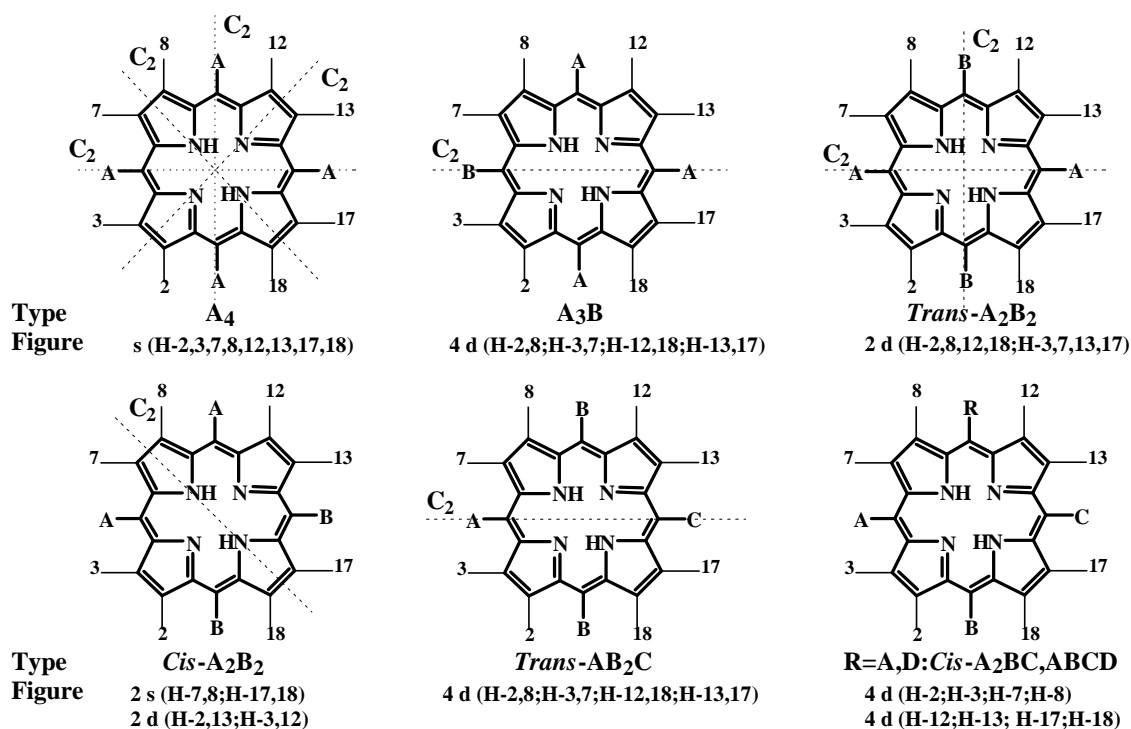


Figure I-16. Axes de symétrie et figures attendues pour les protons β pyrroliques.

Les protons β pyrroliques des porphyrines de type A_4 parfaitement symétriques résonnent, tout comme ceux de la porphine, sous la forme d'un unique singulet pouvant s'expliquer par la tautomérie des NH pyrroliques internes. Il a d'ailleurs été montré que lorsqu'on abaisse la température provoquant l'interruption de la tautomérie, les huit protons β pyrroliques ne sont plus équivalents.^{26a} On observe alors un dédoublement des signaux du fait de la perte de symétrie. Le plan passant par les positions *meso* 5 et 15 des porphyrines de type A_3B ou *trans*- AB_2C est plan de symétrie de la molécule. On devrait donc observer 4 doublets correspondant aux H-2,8, H-3,7, H-12,18 et H-13,17. Dans la pratique, bien que les protons portant les numéros 12, 13, 17 et 18 ne soient pas rigoureusement identiques, on constate, pour les porphyrines de type A_3B , que ces derniers résonnent souvent sous la forme d'un singulet. Les figures observées pour ce type de composés sont donc généralement 2 doublets et un singulet. Les composés de type *trans*- A_2B_2 possèdent 2 axes de symétrie. Les protons β pyrroliques résonnent donc sous la forme de deux doublets. Pour les porphyrines *cis*- A_2B_2 , il n'y a plus qu'un seul axe de symétrie entraînant l'équivalence des protons H-7,8 et H-17,18 qui résonnent sous la forme de deux singulets ainsi que des protons H-2,13 et H-3,12. Ces derniers résonnent sous la forme de doublets du fait de leur couplage avec le proton adjacent. Enfin, les composés de type *cis*- A_2BC et $ABCD$ ne possèdent aucun axe de symétrie. Les différents protons résonnent donc sous la forme de doublets.

Nous avons représenté, sur la figure I-17, les signaux obtenus pour les protons β pyrroliques de *meso*-arylporphyrines glucosylées en *para*, correspondant aux types A_4 , A_3B , *cis*- et *trans*- A_2B_2 .^{25a} Les figures sont conformes à celles attendues avec, dans le cas de la porphyrine A_3B , un singulet correspondant aux protons H-12,13,17,18.

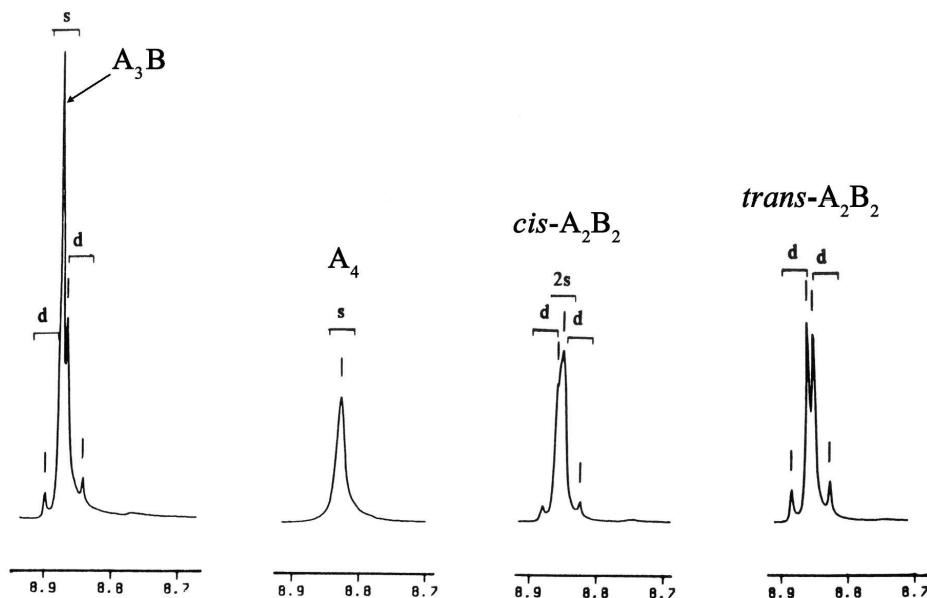


Figure I-17. Comportement des protons β pyrroliques des *meso*-arylporphyrines glucosylées.^{25a}

III.2.2 - RMN du carbone 13

Cette technique fournit un complément aux informations apportées par la spectroscopie RMN du proton et permet, bien souvent, d'en confirmer les attributions. En RMN du ^{13}C , la résonance des noyaux est relativement peu affectée par les courants de cycle mais demeure très sensible aux effets électroniques. Les spectres obtenus par cette technique peuvent être divisés en trois domaines principaux. Tout d'abord, les carbones α et β pyrroliques résonnent respectivement vers 145,0 et 130,0 ppm. Enfin, les carbones correspondant aux positions *meso* résonnent entre 95,0 et 120,0 ppm. Les carbones α pyrroliques, par ailleurs, sont sensibles à la tautomérie des NH internes et apparaissent le plus souvent sous la forme de figures élargies. Là encore, un abaissement de la température à -60°C permet d'observer deux signaux très nets correspondant chacun à quatre carbones α pyrroliques.^{26b}

III.3 - SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Un des avantages de la spectrométrie de masse est l'emploi d'une faible quantité d'échantillon (<1mg). Elle permet d'observer la masse molaire ainsi que des fragmentations correspondant à la perte de substituants périphériques. Du fait de la faible volatilité des

porphyrines, les méthodes classiques d'ionisation sont difficilement applicables. En effet, de telles méthodes nécessitent, lorsqu'elles sont appliquées aux porphyrines, de chauffer fortement l'échantillon ou encore d'introduire celui-ci directement dans la chambre d'ionisation. Il en résulte généralement un risque de dégradation thermique ou chimique du produit que l'on souhaite analyser. Afin de résoudre ce problème, des techniques d'ionisation, réalisées dans des conditions plus douces, sont utilisées. Par exemple, la méthode SIMS (bombardement atomique de l'échantillon par des ions césium) ou la méthode MALDI (désorption laser) sont particulièrement bien adaptées. Les spectres peuvent être également effectués par électronebulisation (ESI) en mode positif en utilisant les ions du polyéthylèneglycol comme référence interne. Dans le cas de la méthode SIMS, l'échantillon est un dépôt solide de porphyrine sur un support métallique. Pour les deux autres méthodes, le composé est dissous dans un solvant ou un mélange de solvants.

IV - APPLICATIONS

Les applications auxquelles sont destinées les porphyrines sont diverses et recouvrent de nombreuses disciplines. Elles font d'ailleurs l'objet d'un volume de la collection « The Porphyrin Handbook ».²⁷

IV.1 - GÉNÉRALITÉS

Dans le domaine de l'opto-électronique, la fixation de longues chaînes alkyles, notamment sur des *meso*-arylporphyrines, permet de produire des cristaux liquides d'un genre nouveau.²⁸ Sous forme métallée ou même parfois base libre, les porphyrines constituent, par ailleurs, d'excellents agents d'oxydoréduction thermique ou photochimique.²⁹ En particulier, la synthèse de nouvelles générations de porphyrines métallées a permis de reproduire ou de mimer un grand nombre de réactions catalysées par des enzymes héminiques et ainsi, de mieux appréhender les mécanismes régissant les êtres vivants.^{29a} La spécificité des complexes biologiques résultant des interactions protéines-métal de la porphyrine peut être retrouvée pour les complexes synthétiques par modulation du métal inséré et variation des substituants périphériques. Par la suite, l'application de ces nouveaux catalyseurs s'est élargie à la fonctionnalisation d'alcènes, notamment par dihydroxylation et époxydation, afin de valoriser les dérivés du pétrole ne pouvant être auto-oxydés.^{29b}

De la même façon, l'imitation du système de transfert d'énergie chez les organismes chlorophylliens a conduit, ces dernières années, à la synthèse de nombreuses porphyrines comprenant un donneur et un accepteur d'électrons.³⁰ Dans un contexte où la recherche de nouvelles énergies est un enjeu important, la mise au point de tels systèmes capables de

capturer et de stocker l'énergie solaire se révèle particulièrement intéressante. Dans le même ordre d'idée, on a pensé utiliser des porphyrines dans le cadre de la photodécomposition de l'eau résultant en la formation de dihydrogène utilisable comme combustible.³¹ Ce dernier est considéré, en effet, comme une solution de remplacement propre, bon marché et compétitive par rapport aux combustibles fossiles employés actuellement. Le procédé qui conduit à la formation de dihydrogène consiste à réduire l'eau par une espèce très réductrice, elle-même produite par photooxydation d'une substance organique. L'idéal serait de remplacer le donneur, généralement une amine ou un sucre réducteur, par l'eau elle-même. Le processus serait alors une photolyse de l'eau permettant de former à la fois du dihydrogène et de l'oxygène par oxydation de l'eau. Un tel système constitue théoriquement une source inépuisable d'énergie mais il demeure limité en raison de la consommation du donneur d'électron et de la dégradation du photosensibilisateur.

Dans un tout autre domaine, la découverte d'une *peroxydase* héminique, la ligninase ou LiP, capable d'oxyder la lignine, a incité les chercheurs à développer des catalyseurs reposant sur le même modèle.³² En effet, la lignine est un des sous-produits résultant de la production de pâte à papier et les techniques permettant jusqu'à présent de l'éliminer sont plus ou moins nocives pour l'environnement. L'utilisation de porphyrines et notamment, de porphyrines sulfonées métallées par du fer ou du manganèse, constitue une solution de remplacement aux méthodes existantes et présente l'avantage d'être plus respectueuse de l'environnement.^{32a} Toujours dans le secteur de l'agrochimie, il a été montré que des métallosulfonoporphyrines étaient capables de promouvoir l'oxydation de composés organiques chlorés.^{32b} De ce fait, leur utilisation afin d'éliminer des résidus non biodégradables comme le DDT pourrait se révéler particulièrement intéressante pour une application à l'échelle industrielle. Enfin, leur photosensibilité en font des candidates idéales pour une application médicale dans le cadre de la photothérapie dynamique.²⁷ C'est ce dernier aspect qui nous intéresse plus particulièrement et que nous allons maintenant développer.

IV.2 - LA PHOTOTHÉRAPIE DYNAMIQUE

On définit la photothérapie dynamique comme le procédé de photothérapie indirecte qui associe la lumière visible et la présence d'un photosensibilisateur à des conditions aérobies. Rappelons que le terme photothérapie désigne toute technique faisant usage de la lumière pour traiter des maladies. Cette technique repose essentiellement sur des transitions électroniques qui sont à l'origine de réactions photochimiques pouvant se poursuivre à l'obscurité.

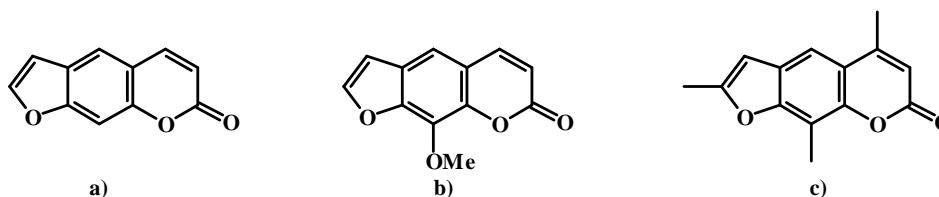
La photothérapie peut être divisée en deux grandes catégories :

- la photothérapie directe. Dans ce cas, aucun médicament n'est administré au patient. La lumière agit donc directement sur des molécules déjà présentes dans l'organisme,
- la photothérapie indirecte. Elle nécessite l'administration préalable d'un photosensibilisateur dont l'irradiation va permettre de produire les espèces actives. C'est le cas de la plupart des procédés utilisés ou développés actuellement.

IV.2.1 - Historique

IV.2.1.1 - Généralités

Les vertus curatives de la lumière sont connues depuis la nuit des temps. Déjà, dans l'Égypte antique, les malades atteints de *vitiligo* ou de psoriasis étaient traités par exposition à la lumière après application d'huile de bergamote sur les zones affectées. On sait aujourd'hui que cette dernière renferme des psoralènes (fig. I-18) lesquels sont, tout comme les porphyrines, des photosensibilisateurs potentiels. A la fin du XIX^{ème} siècle, il a été montré la possibilité de soigner par la lumière les patients atteints de *lupus vulgaris*, une maladie de la peau très courante à l'époque dans les pays nordiques.



a) Motif de base des psoralènes ; b) et c) Exemples de psoralènes utilisés dans le traitement du psoriasis.

Figure I-18. Quelques structures de psoralènes.

Après une période de stagnation pendant l'entre-deux-guerres, la photothérapie a suscité un regain d'intérêt et s'est développée, notamment, dans quatre axes très différents :

- la synthèse de la vitamine D dont la carence est à l'origine du rachitisme chez l'enfant,
- le traitement du psoriasis qui reste, malgré tout, incurable,
- l'usage de la photothérapie pour soigner les nouveaux-nés atteints de jaunisse,
- le traitement de certains cancers.

IV.2.1.2 - La photothérapie dynamique des cancers (PDT)

Bien que diverses études³³ aient mis en évidence l'existence d'un effet photodynamique bien avant cette date, c'est surtout dans les années 60 qu'ont eu lieu les premières avancées ayant permis de faire progresser cette technique. Tout d'abord, des travaux antérieurs ont conduit Lipson et coll.³⁴ à développer la synthèse de l'hématoporphyrine dérivée (HpD), obtenue par traitement de l'hématoporphyrine avec de l'acide acétique et de l'acide sulfurique, suivi de la

dissolution des produits acétylés formés dans une base alcaline. Diverses études ont montré que la HpD s'accumulait préférentiellement dans les tissus tumoraux plutôt que dans les tissus sains adjacents.³⁵ Il a été observé, par la suite, qu'en modifiant les conditions d'irradiation, on pouvait induire la destruction sélective des cellules tumorales.⁵⁸ Diamond et coll.^{36a} ont, notamment, rapporté la photodégradation *in vivo* de gliomes qui sont des tumeurs du système nerveux central. Ce sont d'ailleurs ces auteurs qui ont introduit le terme de photothérapie dynamique pour désigner ce procédé. De la même façon, Dougherty et coll.^{36b} ainsi que Kelly et Snell^{36c} ont montré que la combinaison d'hématoporphyrine dérivée et de lumière était capable de détruire les tumeurs. Suite à ces découvertes, de nombreuses études réalisées *in vitro* et *in vivo* ont été menées pour finalement conduire aux premiers essais cliniques dès le début des années 70.³⁷ Quelques années plus tard, Dougherty et coll.³⁸ ont isolé, par purification de la HpD par chromatographie d'exclusion, un sous-mélange plus connu aujourd'hui sous l'appellation de Photofrin[®] (fig. I-19). Le Photofrin[®] et le Foscan[®] sont, à l'heure actuelle, les seuls photosensibilisateurs tétrapyrroliques utilisés pour le traitement des cancers. D'autres produits parmi lesquels la Visudyne[®], déjà agréée pour soigner la dégénérescence maculaire liée à l'âge, sont en phase d'essais cliniques à différents stades de la procédure.³⁹

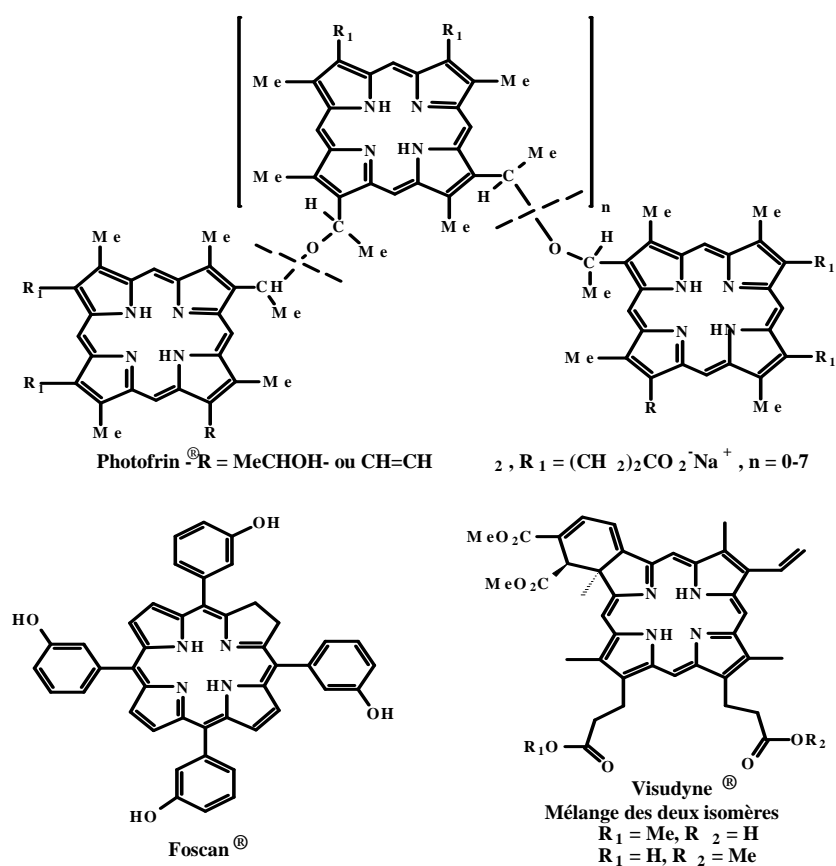


Figure I-19. Structures du Photofrin[®], du Foscan[®] et de la Visudyne[®].

IV.2.2 - Principe et mécanisme de la PDT

IV.2.2.1 - Principe

Comme nous l'avons souligné précédemment, la thérapie photodynamique repose sur la photooxydation en présence d'un colorant de tissus cibles ; elle est schématisée sur la figure I-20.

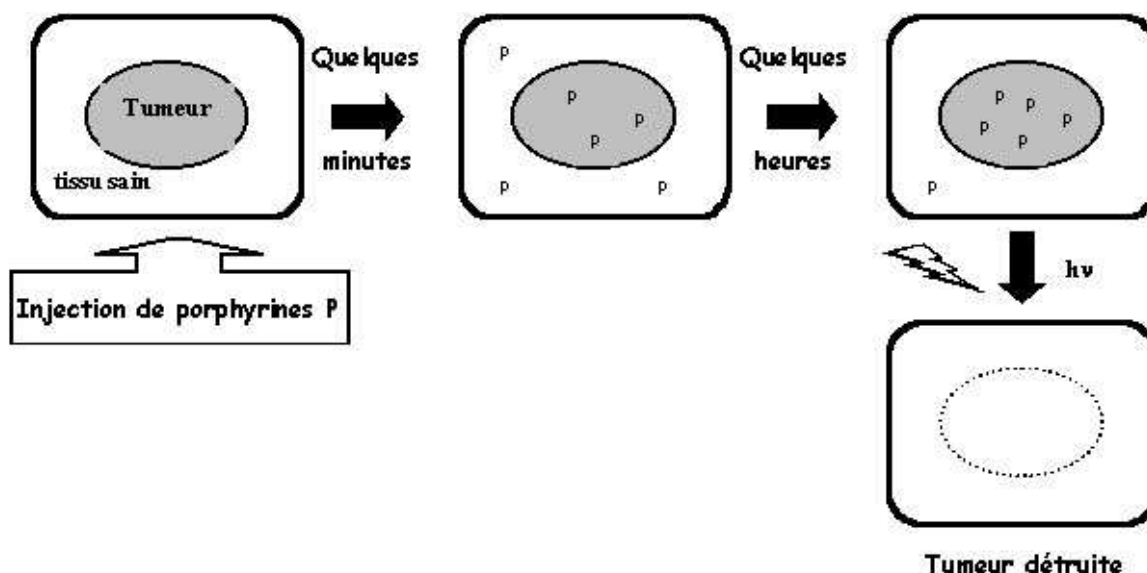


Figure I-20. Principe de la PDT.

Suite à leur injection, les porphyrines vont peu à peu s'accumuler préférentiellement dans les tissus tumoraux plutôt que dans les tissus sains adjacents. Après irradiation par de la lumière rouge et en présence d'oxygène, de telles molécules qui, seules, sont inoffensives peuvent devenir très cytotoxiques. Ainsi, une tumeur enrichie en photosensibilisateur pourra être détruite sélectivement. Les raisons de l'accumulation des porphyrines dans les tumeurs ne sont pas entièrement élucidées car il s'agit d'un processus complexe faisant intervenir différents facteurs.⁴⁰ De plus, ces derniers peuvent avoir une importance relative variable selon le type de tumeur, sa taille, sa microvascularisation ou encore selon le degré d'infiltration de la tumeur par les macrophages. Toutefois, il semble que ce phénomène ait un lien étroit avec les lipoprotéines de basse densité (LDL) qui sont, avec les lipoprotéines de haute densité (HDL), les principaux transporteurs sanguins des porphyrines.⁴¹ En effet, au cours des dernières années, un certain nombre de travaux ont souligné le rôle majeur des LDL dans cette accumulation sélective.⁴² Il a ainsi été montré que les cellules cancéreuses expriment plus de récepteurs spécifiques des LDL que les cellules normales.^{42a} En outre, diverses études réalisées *in vitro* et *in vivo* ont confirmé le rôle important du récepteur spécifique des LDL dans la capture cellulaire des porphyrines. Ainsi, Kessel^{42b} a pu mettre en évidence, chez des souris porteuses d'une tumeur pulmonaire, une corrélation entre la

rétenion de l'hématoporphyrine par différents tissus et le degré d'expression du récepteur des LDL dans ces derniers.

IV.2.2.2 - Mécanisme de la PDT

Les porphyrines et les structures qui en dérivent absorbent la lumière rouge à une longueur d'onde d'environ 600 nm. Après irradiation et absorption d'un photon, le sensibilisateur passe de l'état fondamental à un état excité triplet (T_1 , $\sim 10^{-2}$ s) via un état excité singulet (S_1 , $\sim 10^{-6}$ s) de courte durée de vie (fig. I-21). Le retour de l'état triplet excité est lent car cette transition est théoriquement interdite. Le sensibilisateur peut alors se désactiver par phosphorescence ou réagir avec son environnement selon deux mécanismes différents.⁴³

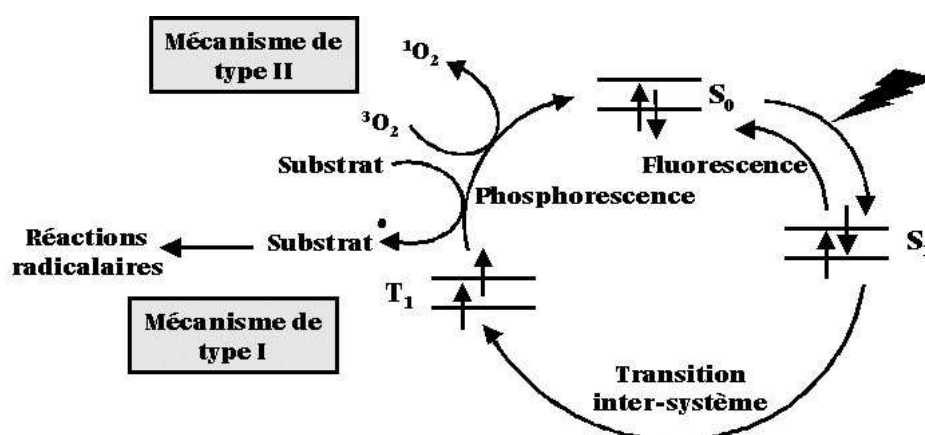


Figure I-21. Mécanisme photochimique de la photothérapie dynamique.⁴⁸

Tout d'abord, l'état triplet peut prendre part à un processus de transfert d'électrons avec un substrat biologique pour former des radicaux et des ions radicalaires. Par réaction avec l'oxygène, ces derniers peuvent alors générer des produits oxygénés tels que les ions *superoxydes*. Ces différentes étapes constituent le mécanisme de type I.^{43a} L'état triplet excité peut également subir un processus photochimique correspondant au mécanisme de type II et conduisant à la formation d'une espèce particulièrement réactive de l'oxygène, l'oxygène singulet, de courte durée de vie.^{43b} Celle-ci est comprise entre 1 et 3 μ s dans l'eau et diminue fortement dans les systèmes cellulaires où elle est d'environ 100 ns dans les milieux lipidiques et de 250 ns dans le cytoplasme.⁴⁴ Par ailleurs, la distance de pénétration dans les cellules de l'oxygène singulet ne semble pas dépasser 45 nm alors que la taille de celles-ci est d'approximativement 10 à 100 μ m.^{43b,45} Par conséquent, l'endroit où est générée cette forme particulièrement réactive de l'oxygène détermine la nature des structures subcellulaires qui vont pouvoir être atteintes et dégradées. L'oxygène singulet est un puissant oxydant qui peut attaquer directement certains acides aminés conduisant ainsi à l'altération structurale de

nombreuses protéines membranaires mais, également, à la peroxydation des lipides insaturés. Des réactions de type radicalaire peuvent ensuite se produire lors de la phase de propagation pouvant se poursuivre à l'obscurité et entraîner de nouvelles dégradations des constituants cellulaires conduisant à leur mort par nécrose ou apoptose.⁴⁶ Il semble que le mécanisme de type II prédomine même si il y a des présomptions pour que les ions *superoxydes* soient impliqués dans certains cas, notamment lorsque le photosensibilisateur utilisé est une chlorine ou tout autre dérivé de porphyrines dont une ou plusieurs doubles liaisons ont été oxydées.⁴⁷

IV.2.3 - Evolution de la PDT

IV.2.3.1 - Elaboration de nouveaux photosensibilisateurs

Les résultats cliniques obtenus avec le Photofrin[®] font de la photothérapie dynamique une technique prometteuse pour localiser et traiter certaines pathologies cancéreuses lorsqu'elles sont à un stade précoce, en particulier les cancers de la vessie, du poumon, de la peau ou encore de l'appareil aérodigestif.⁴⁹ Dans le cas des tumeurs inopérables, elle permet souvent un allongement de la durée de vie des patients et surtout une amélioration notable de leur confort de vie.⁴⁰ Toutefois, la PDT telle qu'elle est pratiquée aujourd'hui présente plusieurs inconvénients. Ainsi, elle ne peut être appliquée dans le cas des tumeurs déjà métastasées, si ce n'est pour soulager les malades, car il s'agit en fait d'une chirurgie d'exérèse par la lumière. En outre, parmi les effets secondaires liés à l'usage du Photofrin[®], le principal inconvénient est la photosensibilité cutanée des patients traités qui doivent attendre 4 à 6 semaines avant de pouvoir de nouveau s'exposer progressivement à la lumière. Le Photofrin[®] se présente, par ailleurs, sous la forme d'un mélange complexe de porphyrines sous différentes formes monomériques et oligomériques. Enfin, il absorbe faiblement dans le domaine du rouge qui est la longueur d'onde pour laquelle se produit la plus forte pénétration de la lumière dans les tissus.

Toutes ces raisons ont incité les chercheurs à élaborer de nouveaux photosensibilisateurs. Leur développement doit intégrer un certain nombre de critères :

- le photosensibilisateur doit être un composé pur ou un mélange parfaitement défini,
- il doit pouvoir générer la production d'oxygène singulet avec un fort rendement quantique,
- sa durée de vie plasmatisque doit être satisfaisante,
- il doit présenter une bonne pénétrabilité cellulaire,
- il doit absorber significativement dans la zone des grandes longueurs d'onde (700-800 nm),
- il doit faire preuve d'une bonne sélectivité vis-à-vis des cellules tumorales,
- il doit posséder une faible toxicité à l'obscurité et entraîner une photosensibilité cutanée limitée,
- enfin, il doit être stable et facile à administrer aux patients (formulation).

Afin de répondre aux mieux à ces critères, on a vu apparaître, ces dernières années, une seconde génération de photosensibilisateurs présentant notamment une forte absorption dans les grandes longueurs d'onde et conduisant donc à une meilleure pénétration dans les cellules.^{48,49} Parmi ces nouveaux composés, les chlorines et bactériochlorines ont particulièrement attiré l'attention. Les variations des spectres d'absorption obtenus pour ces deux types de dérivés par rapport à la porphyrine correspondante sont illustrées sur la figure I-22.

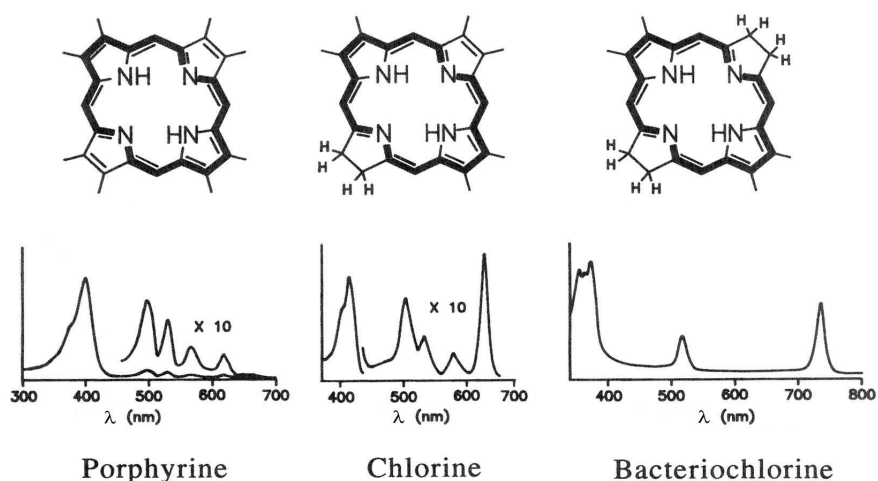


Figure I-22. Comparaison des spectres d'absorption de chlorine et bactériochlorine avec celui de la porphyrine correspondante.

Les chlorines et les bactériochlorines peuvent, cependant, se réoxyder en porphyrines. On peut résoudre ce problème en procédant à une extension du macrocycle conduisant à des

dérivés porphyriniques tels que les purpurines et benzoporphyrines (fig. I-23). Les phthalocyanines sont également des candidates potentielles pour une application en PDT et présentent une longueur d'onde d'absorption maximale se situant entre 675 et 700 nm.

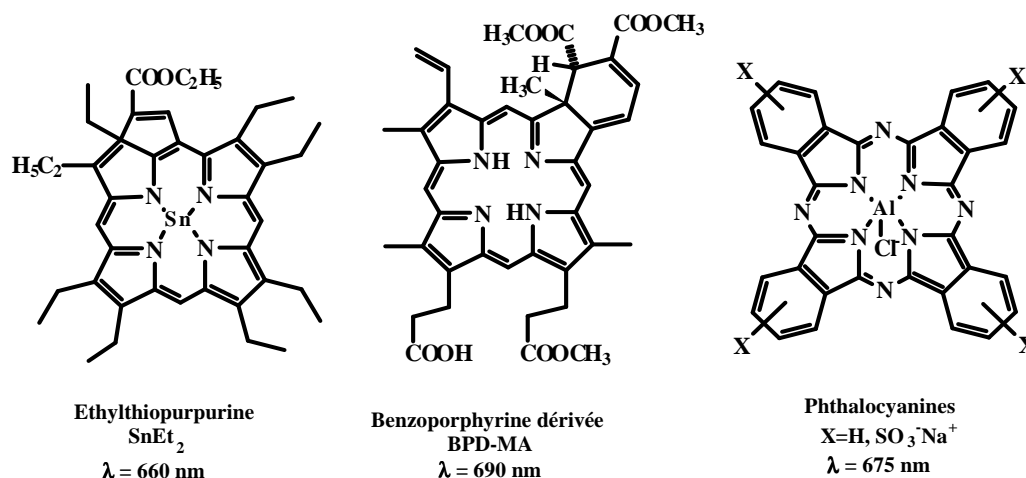


Figure I-23. Exemples de photosensibilisateurs de seconde génération.

IV.2.3.2 - La chimiopotentialisation

Il s'agit d'améliorer ici l'efficacité de l'effet photocytotoxique vis-à-vis des tumeurs par combinaison de la photothérapie dynamique et d'une pharmacothérapie adéquate. Cela consiste, par exemple, à augmenter le degré d'oxygénation des tumeurs puisque les espèces actives, que ce soit par le mécanisme de type I ou par celui de type II, dérivent de l'oxygène. Cette stratégie s'avère d'autant plus intéressante qu'il a été remarqué que les tumeurs d'un certain volume deviennent rapidement hypoxiques. Une telle approche a été adoptée par Cowled et Forbes⁵⁰ qui ont montré qu'on pouvait améliorer de façon significative l'efficacité de la PDT par prétraitement à l'aide d'agents vasodilatateurs. Une autre possibilité consiste à augmenter la concentration du photosensibilisateur au niveau des cellules tumorales en procédant par surexpression des récepteurs spécifiques des lipoprotéines de basse densité (LDL).⁴⁰

IV.2.3.3 - Traitement de maladies autres que le cancer

Outre son application dans le traitement des cancers, la photothérapie dynamique est une technique prometteuse pour soigner une grande variété de maladies cardiovasculaires, dermatologiques ou encore ophtalmiques.³⁹ Par exemple, comme nous l'avons souligné précédemment, la Visudyne[®] a désormais reçu l'agrément pour être utilisée dans le cadre du traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Cette maladie est, en effet, la cause la plus fréquente de cécité dans les pays industrialisés, en raison du vieillissement de la population. Dans sa forme la plus grave, elle résulte de la prolifération de vaisseaux sanguins

IV.2.4 - Reconnaissance et sélectivité

IV.2.4.1 - Reconnaissance

Dans le corps humain, les cellules communiquent les unes avec les autres de manière à organiser de façon harmonieuse leur fonctionnement propre. Dans ce but, elles sont équipées de récepteurs qui sont spécifiques des différents messagers chimiques générés notamment par les neurones. Les récepteurs sont des molécules protéiques enchâssées dans la membrane plasmique de sorte qu'une partie de leur structure émerge à l'extérieur de la cellule. En surface, cette protéine présente une forme tourmentée avec des creux, des vallées et des crêtes dans laquelle se trouve une zone dont la configuration est parfaitement adaptée pour recevoir le messager chimique. Cette zone correspond au site de fixation et est analogue au site actif d'une enzyme. En réalité, le site de fixation n'est pas en permanence dans la configuration idéale pour recevoir le messager chimique qui lui correspond. En effet, il se remodèle à son approche de manière à optimiser les interactions liantes avec ce dernier. Ce phénomène est connu sous le nom de « théorie de l'ajustement induit ». Ces interactions liantes sont des liaisons de faible énergie, essentiellement des liaisons hydrogène et de type Van der Waals mais aussi, dans certains cas, des liaisons ioniques ou avec des métaux. La membrane plasmique est constituée d'une bicouche phospholipidique comportant une partie polaire hydrophile et un cœur hydrophobe et a pour fonction de protéger la cellule vis-à-vis de l'extérieur (fig. I-25).

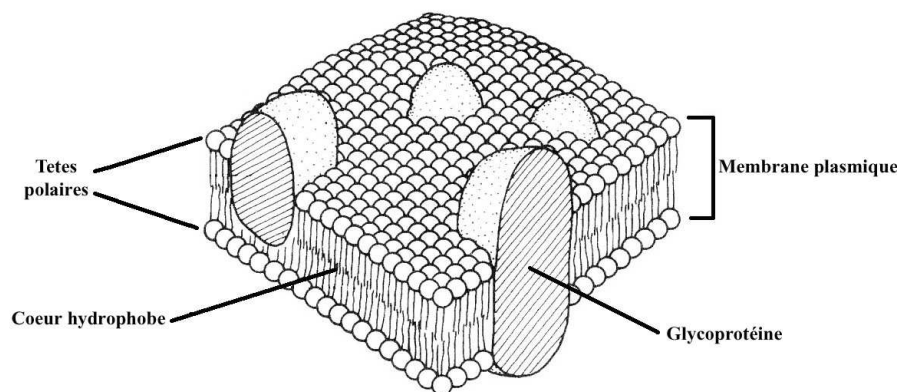


Figure I-25. Schéma de la membrane plasmique d'une cellule.

De plus, comme nous l'avons souligné précédemment, elle contient également diverses protéines parmi lesquelles des glycoprotéines dont les fragments glucidiques sont importants lors de la reconnaissance des cellules. En effet, la partie glucidique est à l'extérieur de la membrane plasmique et flotte au-dessus d'elle un peu à la manière d'un drapeau. Ces glucides

situés à l'extérieur de la membrane peuvent reconnaître une cellule équipée d'un récepteur lui correspondant ou jouer eux-même le rôle de récepteur. Les récepteurs capables de reconnaître spécifiquement les glucides sont des protéines parmi lesquelles des enzymes, des anticorps ou encore une classe particulière de protéines appelées lectines. Ces dernières, notamment, ont fait l'objet de nombreuses études, en raison de leur implication dans de nombreux processus biologiques.⁵² En particulier, les travaux de Monsigny et coll.^{52b} sur le rôle des sucres dans la reconnaissance cellulaire ont montré que les cellules tumorales étaient enrichies en lectines membranaires. Bien que l'affinité des lectines pour les monosaccharides soit relativement faible avec des constantes d'association de l'ordre du millimolaire, elle est aussi, très souvent, fortement sélective. Ainsi, certaines sont capables de reconnaître le galactose mais pas le glucose qui ne diffère pourtant que par la position du groupement hydroxyle en C-4. Elles sont même sensibles à la configuration anomérique du sucre reconnaissant, par exemple, l'anomère α mais pas son analogue β . Pour conclure, les molécules pouvant être reconnues spécifiquement par des récepteurs ne se limitent pas aux seuls glucides. Certaines intégrines, par exemple, reconnaissent sélectivement le motif RGD (arginine-glycine-acide aspartique) qui est une structure tripeptidique présente dans des protéines de la matrice extracellulaire.⁵³

IV.2.4.2 - Sélectivité

Parmi les conditions que doivent remplir les photosensibilisateurs potentiels, nous avons évoqué précédemment la sélectivité vis-à-vis des cellules tumorales. Cette sélectivité peut être obtenue de différentes façons. Tout d'abord, le choix de la source lumineuse est un facteur déterminant. En effet, celle-ci doit permettre d'irradier de façon très précise les cellules tumorales en épargnant au maximum les tissus sains environnants. Il s'agit généralement d'une source laser dont le rayon peut être aisément focalisé à l'intérieur d'une fibre optique sans perte significative d'énergie. Cela s'avère particulièrement utile pour le traitement de tumeurs par voie endoscopique comme les cancers de la vessie, des bronches ou encore de l'œsophage. Un autre facteur sur lequel on peut jouer est le ciblage sélectif des cellules tumorales par le photosensibilisateur lui-même. Plusieurs stratégies sont alors possibles. On peut, par exemple, greffer sur la porphyrine des groupements qui pourront être reconnus spécifiquement par des récepteurs situés sur les cellules tumorales. Ces groupements peuvent être, par exemple, des glucides ou encore des acides aminés. Cette approche a été adoptée par notre laboratoire dans le cadre, notamment, du programme de synthèse de porphyrines glycosylées.^{25a,b} Récemment, on a vu également apparaître une troisième génération de photosensibilisateurs constituée de porphyrines sur lesquelles ont été fixés des anticorps monoclonaux.⁵⁴ Ces derniers sont capables de reconnaître sélectivement les

antigènes correspondants situés sur les cellules tumorales ciblées. Une fois ces deux éléments liés, le photosensibilisateur est libéré et, après irradiation, conduit à la destruction sélective des cellules cancéreuses. Une autre méthode consiste à vectoriser sélectivement le photosensibilisateur en le préchargeant sur les lipoprotéines de basse densité (LDL) qui sont l'un des transporteurs naturels majeurs des porphyrines dans la circulation sanguine.^{40,54} L'intérêt de cette démarche est de favoriser le transport des porphyrines par les LDL dont les récepteurs sont surexprimés au niveau des cellules tumorales plutôt que par les lipoprotéines de haute densité (HDL) qui, elles, n'ont aucun pouvoir localisateur par rapport aux tumeurs. Une dernière méthode générale consiste à encapsuler le principe actif dans des systèmes capables de le transporter sélectivement vers les cellules tumorales.^{54,55} Cette dernière approche a été en grande partie motivée par le fait que nombre de photosensibilisateurs de seconde génération sont hydrophobes. Leur injection par voie intraveineuse est donc un facteur limitant du fait de leur faible solubilité dans l'eau. Parmi les systèmes couramment utilisés, on peut citer, notamment, les liposomes qui ont fait l'objet de nombreuses études quant à leur aptitude à encapsuler des dérivés porphyriniques.^{54,56} Les liposomes ont été décrits, pour la première fois, par Bangham et coll.⁵⁷ dans les années 60. Il s'agit de vésicules comportant une ou plusieurs membranes concentriques de composition lipidique analogue à la membrane plasmique et à l'intérieur desquelles se trouve un compartiment aqueux. Les liposomes peuvent donc incorporer en leur sein aussi bien des molécules hydrophiles que des molécules hydrophobes. A cause de leur taille, ils font preuve d'une plus grande sélectivité pour les cellules tumorales, plus perméables que les tissus sains.⁵⁸ Ils présentent l'avantage, en outre, du fait de leur biocompatibilité, de transporter le principe actif jusqu'à sa cible sans que celui-ci ne subisse de dégradations.^{54,55} Enfin, les liposomes permettent à la molécule incorporée de traverser la membrane plasmique des cellules ciblées et d'agir directement dans le cytoplasme de celles-ci.⁵⁴

V - OBJECTIF DU TRAVAIL

Parmi les photosensibilisateurs potentiels, les porphyrines glycosylées ont particulièrement attiré l'attention car elles conjuguent en une seule molécule la chiralité intrinsèque et l'hydrophilie du sucre avec les propriétés associées au macrocycle hydrophobe. En effet, tout médicament doit faire preuve d'un équilibre donné entre ses propriétés hydrophiles et lipophiles. Dans le cas où cet équilibre n'est pas respecté, plusieurs problèmes peuvent se poser. Ainsi, une molécule trop polaire sera rapidement excrétée par l'organisme sans avoir eu le temps d'atteindre sa cible et d'agir. De même, si elle est trop lipophile, elle ne se solubiliserait que partiellement dans l'eau et sera, de toute façon, rapidement capturée par les

régions adipeuses de l'organisme. Sur la base de ces considérations, nous avons synthétisé une nouvelle classe de porphyrines glycosylées pour lesquelles l'unité glucidique est séparée du macrocycle porphyrinique soit par un bras espaceur insaturé, soit par une chaîne munie de groupements hydroxyle. Nous avons procédé, dans un premier temps, par métathèse des alcènes à l'aide du catalyseur de Grubbs de deuxième génération ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été réalisé sur des porphyrines. Le macrocycle hydrophobe assure l'équilibre des propriétés hydrophiles et hydrophobes nécessaires à la viabilité de la molécule. La fixation des unités glucidiques est susceptible, tout d'abord, d'augmenter la solubilisation des composés dans l'eau facilitant ainsi leur transport vers les cellules cancéreuses. Les sucres fixés doivent permettre, en outre, de cibler sélectivement les cellules tumorales enrichies en récepteurs spécifiques. En raison de la diversité des lectines membranaires et de leur spécificité vis-à-vis d'un grand nombre de mono- et polysaccharides, nous avons fait varier la nature du glucide fixé afin de multiplier les cibles potentielles. Ainsi, le glucose et le galactose sont soit greffés sur la chaîne par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène, soit directement fixés sur celle-ci. Cette légère modification a pour but de vérifier si la présence de l'atome d'oxygène est nécessaire à la reconnaissance du photosensibilisateur par les récepteurs. Dans la négative, cela pourrait se révéler particulièrement intéressant car les porphyrines C-glycosylées ainsi obtenues pourraient faire preuve de plus de résistance que leurs analogues O-glycosylés vis-à-vis de l'hydrolyse enzymatique.⁵⁹ Nous avons également fait varier la nature de la configuration anomérique afin d'étudier l'influence éventuelle de cette dernière sur la reconnaissance des porphyrines galactosylées correspondantes.

En plus de ses propriétés photosensibilisatrices, le macrocycle aromatique peut engager des liaisons de type Van der Waals avec une partie plane et hydrophobe du site de fixation renforçant de ce fait les interactions liant le photosensibilisateur à ce dernier. La présence du bras espaceur pourrait optimiser ces interactions et permettre également, du fait de l'encombrement global généré sur le composé, d'augmenter sa sélectivité. En outre, la présence de la double liaison et le fait que les groupements phényle ne soient pas coplanaires avec le macrocycle confèrent à l'ensemble une certaine rigidité. L'intérêt de cette rigidification du photosensibilisateur est qu'en limitant les rotations dans la molécule, on fait en sorte qu'il adopte une conformation donnée. Cela pourrait donc permettre d'augmenter la sélectivité du photosensibilisateur vis-à-vis du récepteur au cas où, de part ses diverses conformations, il aurait eu plusieurs récepteurs possibles. Dans le cas où cette conformation se révélerait idéale pour que le photosensibilisateur soit rapidement reconnu et fixé, on pourrait éviter les effets secondaires et augmenter l'activité du principe actif. Dernier paramètre que nous avons fait varier, la position *ortho* ou *para* du bras glucidique sur le

groupement aryle peut avoir une influence non négligeable sur l'activité du photosensibilisateur. Celle-ci est de deux sortes. D'une part, cela peut induire une modification des propriétés électroniques du photosensibilisateur et jouer, de ce fait, sur les interactions de ce dernier avec le site de fixation. D'autre part, compte tenu de l'encombrement stérique plus important dans le cas des dérivés *ortho*, cela peut avoir un effet significatif sur la sélectivité du composé vis-à-vis du récepteur.

Par ailleurs, une des difficultés majeures dans l'élaboration de médicaments consiste à obtenir des composés qui puissent être facilement éliminés par l'organisme après avoir atteint leur cible et agi. Le caractère hydrophobe de certaines molécules peut ralentir ce processus et il peut être alors intéressant d'intégrer sur le principe actif des groupements pouvant être modifiés par l'organisme afin d'en faciliter son expulsion. Les groupements méthyle font partie de ces fonctions pouvant être transformées afin de rendre plus polaire le principe actif. C'est pourquoi nous avons choisi de fixer, sur les positions *meso* non substituées par le motif glucidique, des groupements tolyle dont les méthyles pourront être transformés. Les différents paramètres dont nous avons tenu compte pour essayer d'optimiser l'efficacité des photosensibilisateurs en vue d'une application en PDT sont résumés sur la figure I-26.

La présence de la double liaison permet également, par sa fonctionnalisation, de pouvoir accéder facilement à de nouveaux produits de structures diverses et variées. Nous avons choisi d'appliquer la réaction de dihydroxylation de Sharpless sur quatre de nos produits. En effet, la présence de groupements hydroxyle supplémentaires est susceptible d'augmenter le caractère amphiphile des composés ainsi obtenus et de faciliter encore plus leur solubilisation dans l'eau. Enfin, certains des produits ont également été encapsulés dans des liposomes afin de faciliter leur solubilisation dans l'eau.

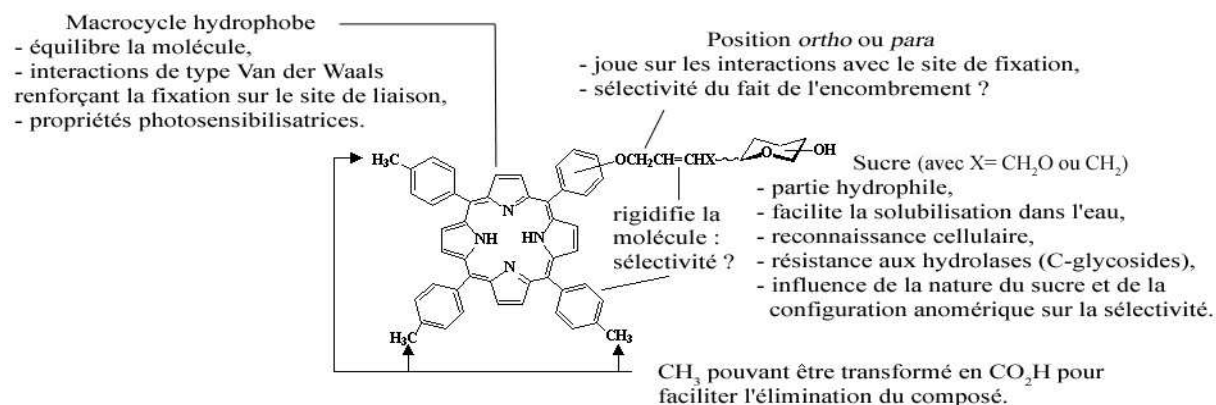


Figure I-26. Effets potentiels jouant sur l'efficacité en PDT des porphyrines glycosylées éthyléniques.

Afin d'élaborer les porphyrines glycosylées éthyléniques, nous avons adopté une stratégie en deux étapes consistant à faire réagir la porphyrine allylique avec un dimère glucidique préalablement obtenu par homodimérisation du monomère correspondant (fig. I-27).

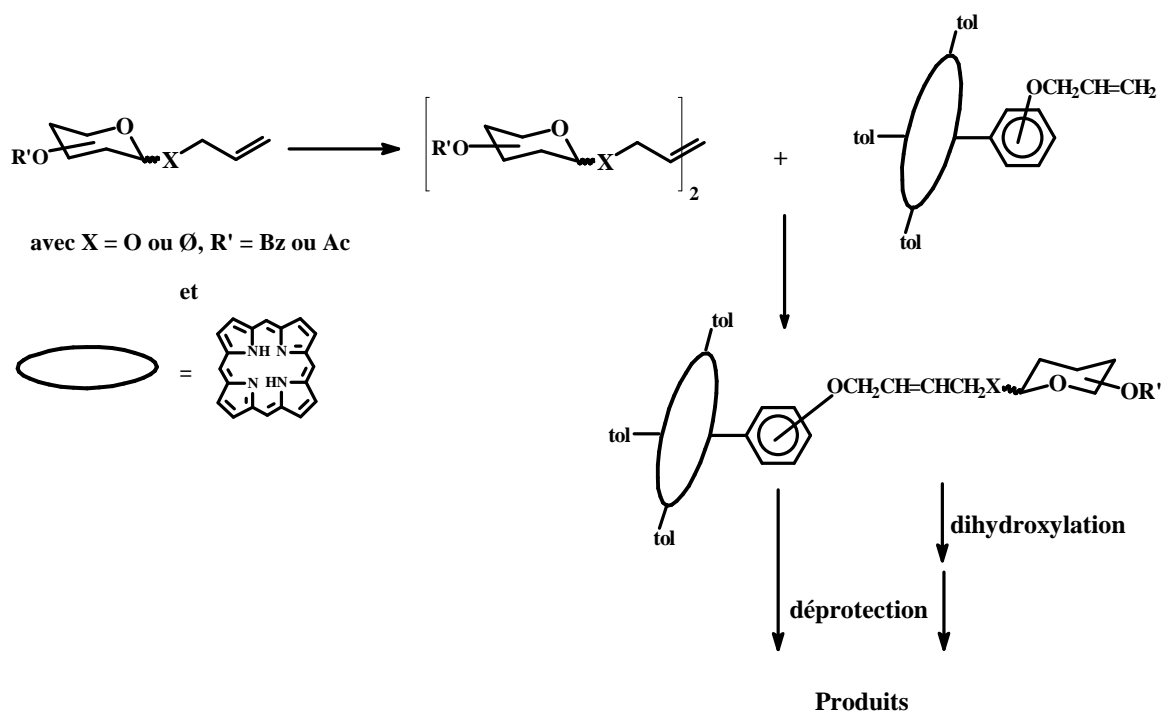


Figure I-27. Schéma de la stratégie générale de synthèse adoptée.

DEUXIÈME PARTIE

SYNTHÈSE DE PRÉCURSEURS GLUCIDIQUES

I - INTRODUCTION

Comme nous l'avons indiqué au chapitre précédent, nous avons greffé les unités glucidiques par réaction des homodimères appropriés avec les porphyrines allyliques, cette stratégie s'étant révélée plus efficace pour l'élaboration des porphyrines glycosylées éthyléniques. L'objet de ce chapitre porte sur la synthèse de précurseurs glucidiques obtenus par dimérisation des monomères allyliques correspondants (tableau II-1). Deux séries de précurseurs glucidiques ont ainsi été synthétisées. La première série est constituée par des O-glycosides et la deuxième série, par des C-glycosides. Les synthons glucidiques pour lesquels nous avons opté sont le D-galactose et le D-glucose en raison de leur implication dans les phénomènes de reconnaissance cellulaire.

Tableau II-1. Structures des précurseurs glucidiques sous leurs formes monomère et dimère.

Monomère	n°	Homodimère	n°
	7		12
	8		13
	9		14
	10**		15
	11		16
	11		17

* commercial - RN : 10343-15-4

** produit désacétylé commercial - RN : 48149-72-0

I - STRATÉGIE DE SYNTHÈSE

La stratégie adoptée pour la synthèse des précurseurs glucidiques est représentée sur la figure II-1. Les synthons-clefs sont les allyl glycosides **7** à **11**.

Les composés benzoylés **7** et **8** sont obtenus en trois étapes à partir des sucres pentabenzoylés correspondants. La première de ces étapes consiste en la débenzoylation sélective de la position anomérique sur laquelle est ensuite fixé le groupement trichloroacétimide proposé par Schmidt et coll.¹ Le greffage de la chaîne allylique est alors réalisé par activation micro-ondes en présence de chlorure de zinc et d'un excès d'alcool allylique.

Le composé galactosylé **9** est obtenu par acétylation de l'allyl galactoside commercial. Cette réaction est également effectuée par activation micro-ondes en présence d'anhydride acétique et d'acétate de sodium selon la procédure développée par Loupy et coll.²

Les dérivés C-glycosylés **10** et **11** sont synthétisés en une seule étape par C-allylation des dérivés *peracétylés* correspondants en présence d'allyltriméthylsilane et de BF₃ OEt₂.

Enfin, des réactions d'homodimérisation par métathèse des alcènes ont été effectuées sur ces différents précurseurs. Elles conduisent aux dimères glucidiques **12** à **17** qui seront utilisés par la suite pour greffer les D-galactose et D-glucose *via* la métathèse des alcènes sur les mono *para*-et *ortho*-allyloxyphényltritoylporphyrines.

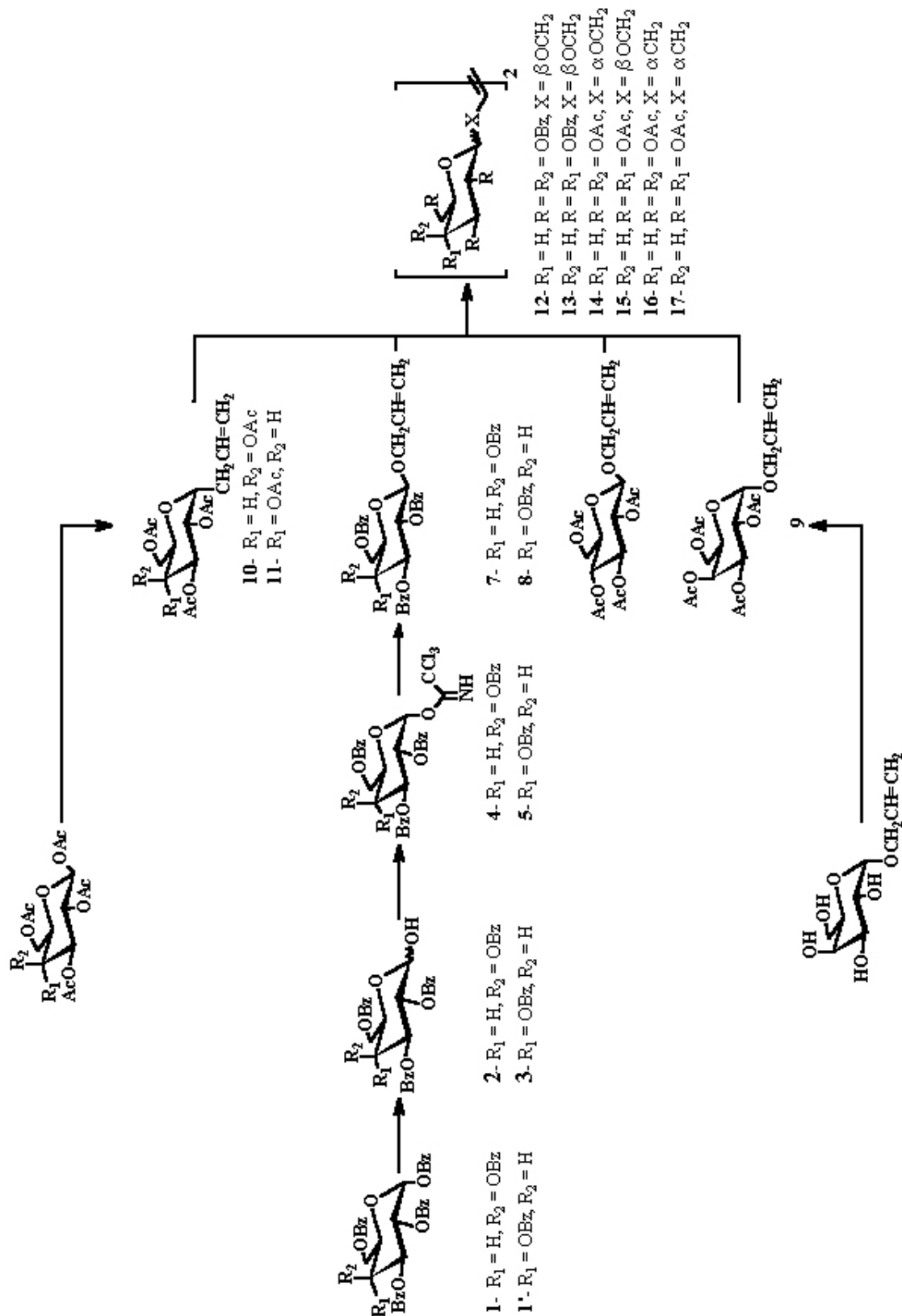


Figure II-1. Stratégie de synthèse des précurseurs glucidiques.

II - SYNTHÈSE DES PRECURSEURS O-GLYCOSIDIQUES

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés aux différentes méthodes de O-glycosylation permettant de fixer en position anomérique un motif aglycone et plus particulièrement une chaîne allylique. Le schéma général des réactions de O-glycosylation est représenté ci-dessous (fig. II-2) :

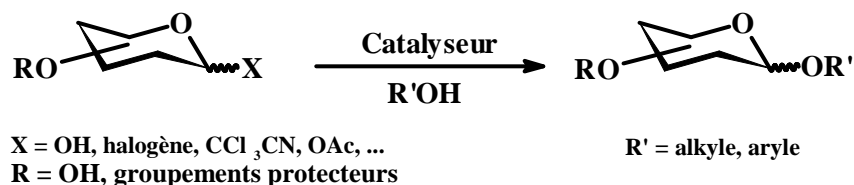


Figure II-2. Schéma général des réactions de O-glycosylation.

Après plusieurs essais infructueux, nous avons adopté une voie de synthèse en trois étapes à partir du sucre *perbenzoylé* correspondant et *via* le dérivé trichloroacétimide. En effet, cette stratégie est la seule qui nous ait permis d'isoler l'anomère β , obtenu auparavant sous la forme d'un mélange inséparable, notamment avec l'anomère α .

II.1 - GÉNÉRALITÉS

Parmi les diverses méthodes existantes, la plus ancienne est la méthode de Fischer.³ Cette méthode a été mise au point à la fin du 19^{ème} siècle et reste, aujourd'hui encore, une des plus utilisées pour les sucres simples. Elle consiste à mettre le glucide non protégé en présence d'un excès d'alcool en milieu acide. Les réactions sont souvent réalisées dans des conditions de solvolysse et conduisent généralement au produit thermodynamique directement ou *via* l'anomérisation du produit de contrôle cinétique.

Contemporaine de la méthode de Fischer, la méthode de Koenigs-Knorr⁴ et ses variantes plus récentes^{1,5} reposent sur l'activation de la position anomérique *via* la formation d'un glycoside halogéné en position 1 et sur la réaction de ce dernier lorsqu'il est mis en présence de sels métalliques. Cette méthode présente, cependant, certains inconvénients parmi lesquels la toxicité des promoteurs et la sensibilité des glycosides générés *in situ* vis-à-vis de l'hydrolyse.⁵ En outre, les conditions dures dans lesquelles elles sont effectuées limitent le nombre de substrats pouvant être utilisés. Toutes ces raisons ont incité les chercheurs à développer de nouvelles stratégies. L'utilisation de groupements thioalkyle⁶ jouant le rôle d'activateur a reçu, ces dernières années, une attention particulière compte tenu de leur stabilité vis-à-vis de nombreuses conditions de réaction de protection et de déprotection. Ces réactions de glycosylation sont effectuées en présence d'agents thiophiles tels que le N-iodo-

ou le N-bromosuccinimide. La fixation de groupements sulfoxyde en position anomérique s'avère, quant à elle, particulièrement utile pour les réactions de glycosylation avec des accepteurs glycosidiques peu réactifs.⁷ Plus récemment ont été introduits les sulfonylcarbammates de glycosyle.⁸ Ces composés semblent réagir *via* la formation d'un ion oxonium lors de l'addition d'un agent électrophile (fig. II-3).

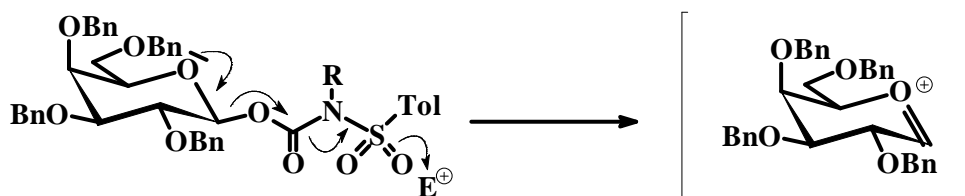


Figure II-3. Activation des sulfonylcarbammates de glycosyle.

Introduits par Helferich⁹, les donneurs glycosidiques acétylés sont particulièrement intéressants en raison de la facilité de leur préparation. Les réactions de glycosylation sont généralement effectuées en présence d'acide *paratoluènesulfonique*^{9b}, d'un acide de Lewis^{9c} ou encore de montmorillonite K10.^{9d} Cette dernière présente le double avantage d'être plus respectueuse de l'environnement et de ne nécessiter aucun traitement. En effet, une simple filtration permet de récupérer le produit brut. Les réactions de O-glycosylation procèdent selon les mécanismes décrits sur la figure II-4 selon qu'il y a participation du groupement en C-2 ou non. Le substituant anomérique est directement activé par le promoteur (Pr). Il s'en suit une dissociation qui s'accompagne de la formation concomitante d'un ion oxocarbenium ou d'un ion dioxolénium lorsqu'il y a participation du groupement voisin. L'attaque postérieure du groupement hydroxyle de l'accepteur sur le carbone anomérique conduit alors au produit désiré sous la forme d'un mélange des deux anomères ou majoritairement sous sa forme β lorsqu'il y a participation du groupement voisin.

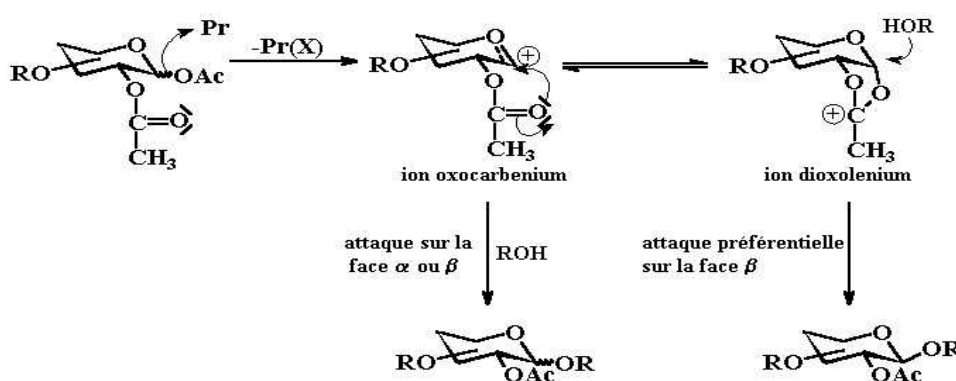


Figure II-4. Mécanisme des réactions de O-glycosylation.

Bien que relativement récente, la méthode utilisant un groupement trichloroacétimide comme groupement partant, proposée par Schmidt^{1,10}, s'est rapidement imposée comme une solution de remplacement aux méthodes existantes. Ceci peut s'expliquer en partie par le fait que des quantités catalytiques de promoteurs suffisent pour opérer la réaction de glycosylation. Parmi les autres donneurs glycosidiques utilisés, nous pouvons citer, par exemple, les n-pentényl glycosides développés par Fraser-Reid¹¹ ou encore les phosphates¹² et phosphites¹³ de glycosyle. Enfin, les 2-propényl carbonates de glycosyle, introduits par Sinaý¹⁴, font preuve d'efficacité dans le cas de la formation stéréocontrôlée de liaisons 1,2-*trans*-glycosidiques en l'absence de groupements participants sur la position C-2 du donneur.

II.2 - MÉTHODE UTILISANT DES GLUCIDES ACÉTYLÉS

Dans le but de synthétiser les monomères O-allyliques, nous avons effectué, dans un premier temps, des réactions de O-allylation en présence de SnCl₄ ou de BF₃ OEt₂ sur les D-galactose et D-glucose *peracétylés* commerciaux. Du fait de la participation du groupement acétyle en position 2, ces réactions conduisent généralement à la formation majoritaire de l'anomère β.

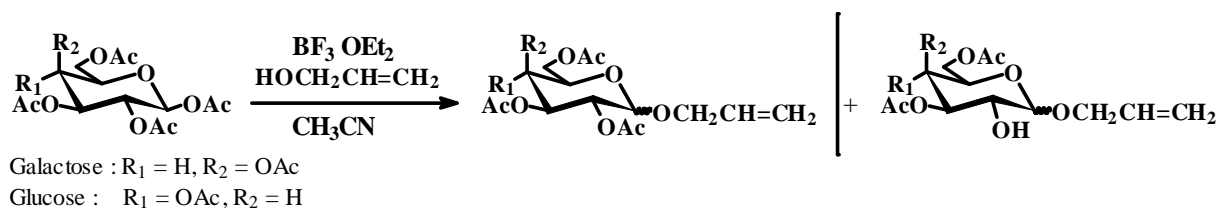


Figure II-5. O-allylation à partir de substrats *peracétylés*.

L'utilisation de SnCl₄ n'a pas conduit à la formation des produits attendus. Le système BF₃ OEt₂/CH₃CN s'est révélé plus efficace et a mené, après traitement et purification, à un mélange de produits avec des rendements variant de 30 à 50% selon les conditions opératoires utilisées. En effet, l'analyse RMN a confirmé la formation majoritaire des allyl β-D-glycopyranosides attendus mais a également mis en évidence la présence d'impuretés qu'il nous a été impossible d'éliminer. D'après la littérature¹⁵, outre la formation de l'anomère α, il peut se produire le transfert du groupement acyle en position 2 vers l'alcool nucléophile. Selon les conditions de glycosylation, ce produit peut être formé en quantité non négligeable voire même être le produit majoritaire de la réaction. Il semblerait donc que cette méthode ne nous permette pas d'obtenir les allyl β-D-glycopyranoses avec une pureté suffisante pour pouvoir réaliser les réactions d'homodimérisation par métathèse et le greffage ultérieur des unités glucidiques sur les porphyrines allyliques. Une méthode en deux étapes, *via* l'intermédiaire propargylique, a été décrite récemment par Mereyala et coll.¹⁶ Elle ne nous a

pas permis, cependant, d'isoler les produits attendus. Nous nous sommes alors orientés vers la stratégie multi-étapes décrite précédemment et que nous allons maintenant développer.

II.3 - SYNTHÈSE DES ALLYL β -O-GLYCOSIDES À PARTIR DES SUBSTRATS PENTABENZOYLÉS CORRESPONDANTS

La synthèse des monomères O-allyliques **7** et **8** est effectuée en trois étapes (fig. II-6). Elle débute par la déprotection sélective de la position anomérique suivie de l'introduction du groupement trichloroacétimide, la dernière étape consistant en la O-allylation en C-1. Nous avons utilisé les dérivés benzoylés plus stables que leurs analogues acétylés notamment vis-à-vis du transfert du groupement acyle en C-2. De plus, ils présentent l'avantage d'être détectables par spectroscopie UV.

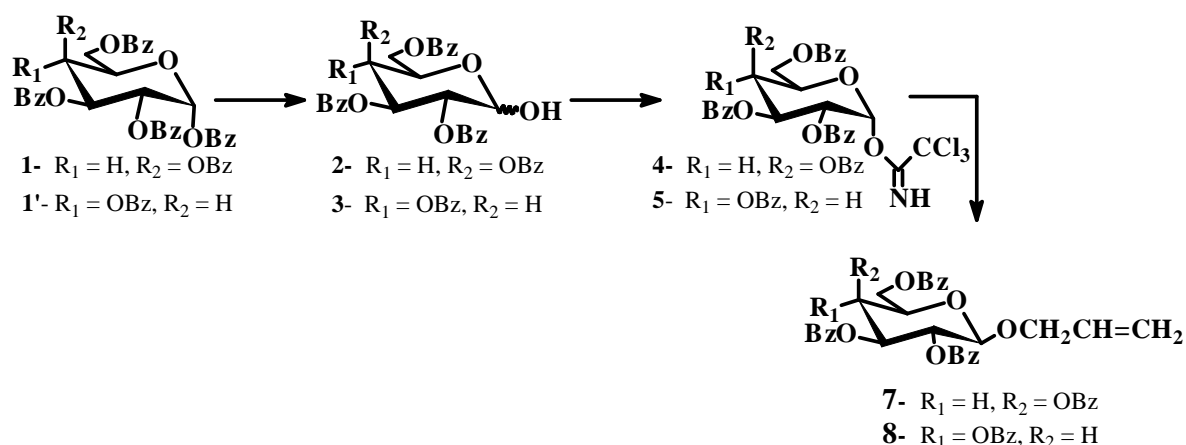


Figure II-6. Synthèse multi-étapes des composés **7** et **8**.

II.3.1 - Débenzoylation sélective en position anomérique

Le D-galactose *perbenzoylé*, non disponible commercialement, est obtenu en suivant la procédure proposée par Holy¹⁷ qui consiste à faire réagir le D-galactose avec un léger excès de cyanure de benzyle en présence de triéthylamine dans l'acétonitrile. Nous avons ainsi isolé le D-galactopyranose pentabenzoylé majoritairement sous sa forme α avec un rendement de 50%. Nous avons ensuite procédé à la débenzoylation sélective de la position anomérique des D-galactose et D-glucose *perbenzoylés*. Différents systèmes permettent de déprotéger sélectivement la position anomérique des glucides. Parmi ceux-ci, le méthanolate^{18a} ou l'éthanolate^{18b} de tributylstannyle ou encore l'acétate d'hydrazine¹⁹ sont couramment employés. Une dernière méthode *via* le dérivé bromé a également été rapportée dans le cas du D-galactose *perbenzoylé*.²⁰ Nous avons retenu le système acétate d'hydrazine/DMF car il conduit généralement au produit hydroxylé en C-1 avec des rendements quasi quantitatifs (fig. II-7).

β), soit le produit de contrôle thermodynamique **I'** (anomère α), *via* la rapide anomérisation de l'intermédiaire **II**. Ainsi, l'utilisation de carbonate de potassium conduit à la formation du produit de contrôle cinétique **II'** et l'hydrure de sodium mène au produit de contrôle thermodynamique **I'**.

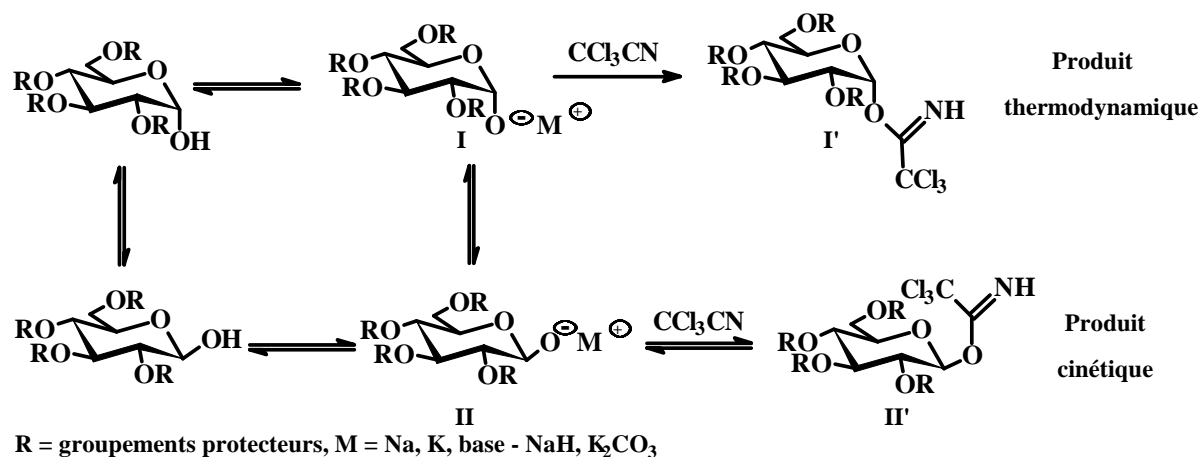


Figure II-8. Formation du produit thermodynamique ou cinétique suivant la base utilisée.

D'autres bases sont fréquemment employées afin de fixer le groupement trichloroacétimide. Parmi celles-ci, nous pouvons citer le DBU²² conduisant généralement à un mélange α/β ou encore le carbonate de césium.¹⁵

II.3.2.2 - Synthèse des trichloroacétimides de glycosyle

Le trichloroacétimide de galactosyle **4** et son analogue glucosylé **5** ont été obtenus respectivement avec des rendements de 73% et 95% par réaction des hémiacétals **2** et **3** avec le trichloroacétonitrile en présence d'une quantité catalytique de DBU. La réaction est effectuée à 0°C pendant 2 heures sous atmosphère d'argon et ne nécessite aucun traitement préalable avant de procéder à la purification conduisant majoritairement à l'anomère α .

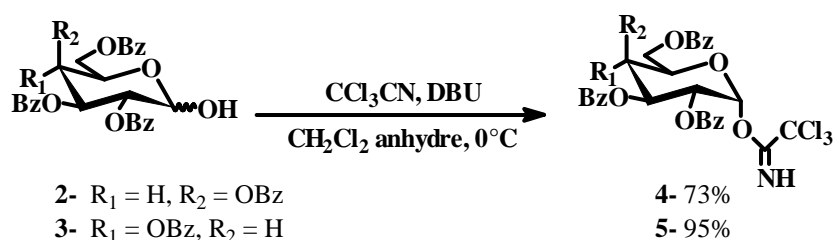


Figure II-9. Synthèse des trichloroacétimides de glycosyle **4** et **5**.

II.3.3 - Réaction de O-allylation

La O-allylation des trichloroacétimidates de glycosyle **4** et **5** obtenus précédemment est ensuite effectuée en présence de 2,5 équivalents de chlorure de zinc et d'un excès d'alcool allylique dans des conditions de solvolysse (tableau II-2).

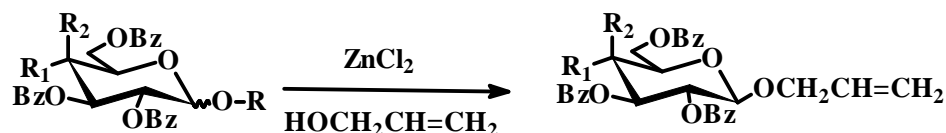


Tableau II-2. Réactions de O-allylation.

Entrée	Substrat	R ₁	R ₂	Activation	Puissance (W)	Temps (min)	Produit	Rdt
1	4	H	OBz	Chauffage	-	6	7	40%
2	4	H	OBz	Micro-ondes	Variable ^a	3x2	7	59%
3	5	OBz	H	Micro-ondes	30 ^b	10x2	8	34%
4	5	OBz	H	Micro-ondes	30 ^b	6x2	8	60%
5	5	OBz	H	Micro-ondes	30 ^b	3x2	8	60%
6	5	OBz	H	Micro-ondes	60 ^b	3x2	8	50%

Dans le cas du trichloroacétimidate de galactosyle **4**, nous avons réalisé la réaction soit par chauffage classique à 80°C, soit par activation micro-ondes*, les meilleurs résultats étant obtenus dans ce dernier cas de figure (Entrées 1 et 2). Pour l'activation micro-ondes, une consigne de température a été donnée et la puissance fournie par l'appareil s'est adaptée de manière à ne pas dépasser les 80°C fixés. Le meilleur rendement obtenu lorsque l'on procède par activation micro-ondes semble dû au fait que la dégradation du substrat, observée par chromatographie sur couche mince, est moins prononcée dans ce cas. Pour le D-glucose, nous avons tenté d'optimiser les conditions des réactions effectuées par micro-ondes (Entrées 3 à 6) mais n'avons pu isoler le composé **8** avec un rendement supérieur à 60%. Que ce soit pour le D-galactose ou le D-glucose, les meilleurs rendements (# 60%) sont donc obtenus lorsque l'on procède à trois activations de 2 minutes en présence de 2,5 équivalents de chlorure de zinc.

^a Milestone Ethos 1600®

^b Synthewave 402® (Prolabo)

* Voir description et principe de l'activation par les micro-ondes en annexe.

Nous avons également fait un essai à partir du composé **6**, obtenu par acétylation (classique ou *via* les micro-ondes) du sucre hydroxylé **3** (fig. II-10). Cependant, nous n'avons pas observé la formation du dérivé allylique **8** par cette méthode.

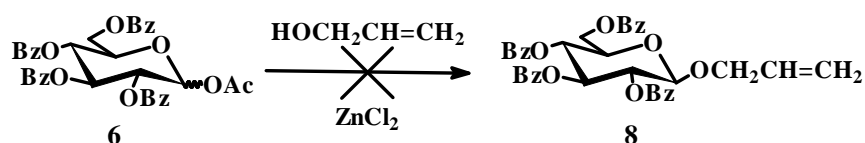


Figure II-10. Essai de O-allylation à partir du D-glucose acétylé **6**.

Dans les deux cas, seuls ont été isolés les anomères β ce qui suggère le mécanisme décrit sur la figure II-11 impliquant la participation du groupement benzoyle en C-2 et l'attaque ultérieure du nucléophile par la face supérieure.

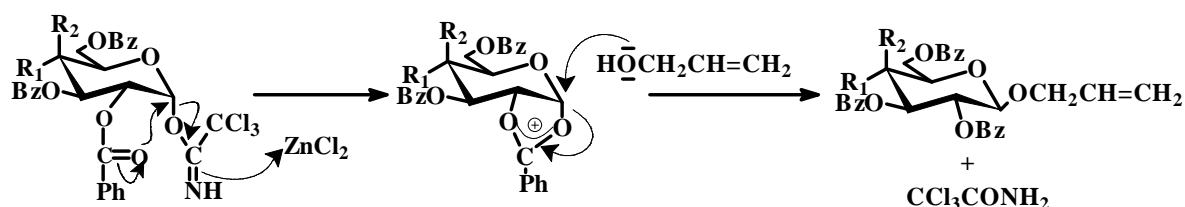


Figure II-11. Mécanisme de glycosylation.

Afin d'étudier l'influence de la configuration de la position anomérique sur l'activité en PDT des porphyrines correspondantes, nous avons décidé de fixer, sur les mono allyloxyphényltritolyldiporphyrines *para* et *ortho*, le D-galactose de configuration α . Nous avons donc procédé à l'acétylation de l'allyl- α -D-galactoside commercial par activation micro-ondes en présence d'anhydride acétique et d'acétate de sodium (fig. II-12) selon la procédure développée par Loupy et coll.² Le composé **9** a ainsi été isolé avec un rendement de 82%.

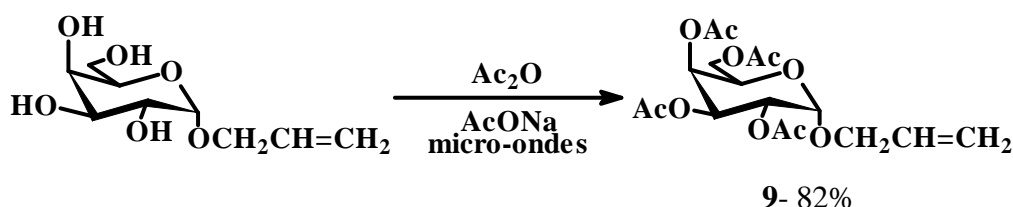


Figure II-12. Acétylation *via* les micro-ondes du D-galactose commercial.

Les composés **7**, **8** et **9** ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge et RMN du proton. On observe une faible bande $\nu_{C=C}$ à environ 1650 cm^{-1} pour les dérivés galactosylés et à 1622 cm^{-1} pour le composé glucosylé. Les figures et déplacements obtenus en RMN du

proton sont caractéristiques de glycosides comportant une chaîne allylique en position anomérique. On observe ainsi, pour le proton interne de la double liaison, des figures complexes dont les constantes de couplage de l'ordre de 11,0 Hz et de 17,0 Hz correspondent respectivement au couplage avec les protons Z et E.

III - SYNTHÈSE DES PRÉCURSEURS C-GLYCOSIDIQUES

Diverses méthodes permettant d'accéder aux C-glycosides ont été rapportées dans la littérature.²³ Le schéma général des réactions de C-glycosylation est représenté ci-dessous (fig. II-13) :

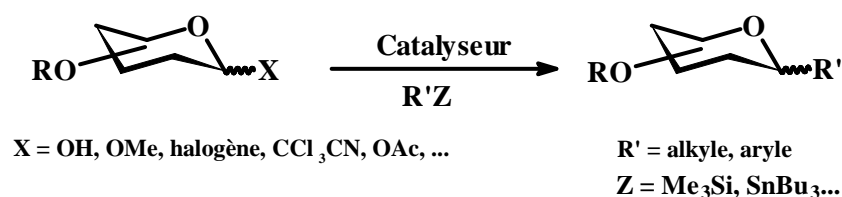


Figure II-13. Schéma général des réactions de C-glycosylation.

Les monomères C-allyliques **10** et **11** ont été synthétisés d'après la méthode proposée par Giannis et coll.²⁴

III.1 - GÉNÉRALITÉS

Les C-glycosides sont des glycosides particuliers pour lesquels l'unité glucidique est liée, par la position 1, à une partie aglycone, *via* une liaison carbone-carbone. Ils ont suscité un intérêt accru ces dernières années, compte tenu des propriétés biologiques intéressantes de certains d'entre eux.^{24,25} Les C-glycosylarènes^{25a}, par exemple, sont largement répandus dans la nature et démontrent des propriétés antibiotiques.^{25b} Les C-glycosides se sont également révélés particulièrement efficaces en tant qu'inhibiteurs d'enzymes.²⁴ De plus, ce type de liaisons, comparées aux liaisons O-glycosidiques correspondantes, se caractérise par une stabilité supérieure vis-à-vis de l'hydrolyse^{25c}, ce qui peut avoir son importance dans le cadre d'une application biologique des composés synthétisés.

La C-alkylation de substrats glucidiques comportant un hydroxyle ou un groupement méthoxy en position anomérique est généralement effectuée par réaction du sucre avec l'alkylsilane correspondant en présence d'un acide de Lewis.²⁶ Il en est de même pour les glycosides dont le groupement partant est le trichloroacétimide^{25a,27a} ou un groupement acyle.^{24,26a,27b} Des réactions de C-arylation réalisées en présence de différents acides de Lewis ou de montmorillonite K10 ont également été rapportées.^{25a,b,28}

Diverses procédures utilisant comme substrats des sucres halogénés conduisent en une ou deux étapes aux C-glycosides désirés.^{25c,26b,29} Parmi celles-ci, la méthode de Keck^{29a} et ses variantes^{25c,29b} plus récentes consistent à faire réagir le sucre halogéné avec un alkyl- ou un arylstannane en présence d'un initiateur de radicaux tel que le AIBN (fig. II-14). Ces réactions sont donc radicalaires et procèdent soit par activation thermique, soit par activation photochimique. L'usage de stannanes présente, cependant, plusieurs inconvénients parmi lesquels la faible stabilité des réactifs et la génération de résidus à base d'étain rendant difficile la purification des produits. Les sucres halogénés peuvent être également activés par des réactifs organométalliques tels que les organomagnésiens ou encore les organocuprates, ces derniers donnant le plus souvent les meilleurs résultats.³⁰

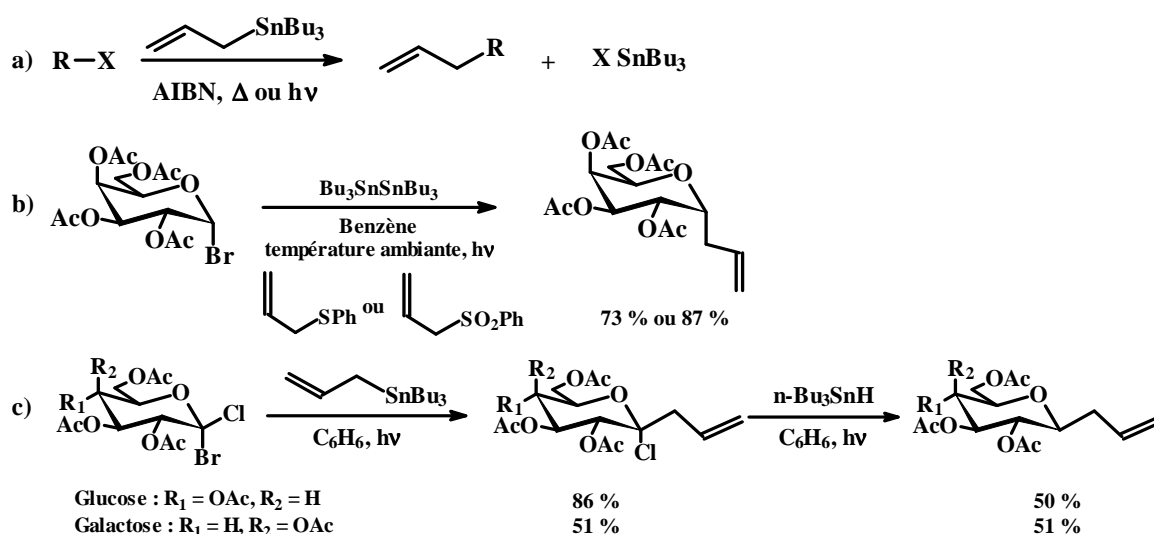


Figure II-14. a) Méthode de Keck^{29a} (cas général de C-allylation) ; b), c) Variantes de la méthode de Keck.^{29b,25c}

Bien que, ces dernières années, des méthodes permettant d'obtenir sélectivement l'anomère β aient été développées, la plupart des réactions de C-glycosylation conduisent à la formation majoritaire de l'anomère α .^{25c,26a,29b} Cette sélectivité résulte d'effets stéréoelectroniques favorisant l'attaque axiale du nucléophile sur l'ion oxonium intermédiaire.³¹ En effet, la réactivité en position anomérique des glycosides dépend fortement de l'effet anomère. Ce dernier permet de stabiliser l'état de transition correspondant à la formation (ou à la rupture) de la liaison en position anomérique lors de l'attaque du nucléophile selon une trajectoire axiale. En tenant compte de ces considérations, Shuto et coll.³¹ ont postulé que la stéréosélectivité des C-glycosylations pourrait être contrôlée effectivement par l'effet anomérique. Leur hypothèse de travail est résumée sur la figure II-15. Dans les deux cas, l'attaque axiale du nucléophile est favorisée d'une part, par les interactions entre les orbitales de l'oxygène cyclique et de la liaison carbone-carbone en cours

de formation et d'autre part, par les répulsions stériques diaxiales 1,3 et 1,5. En fonction de la conformation de départ, on obtient donc soit l' α -C-glycoside, soit le β -C-glycoside.

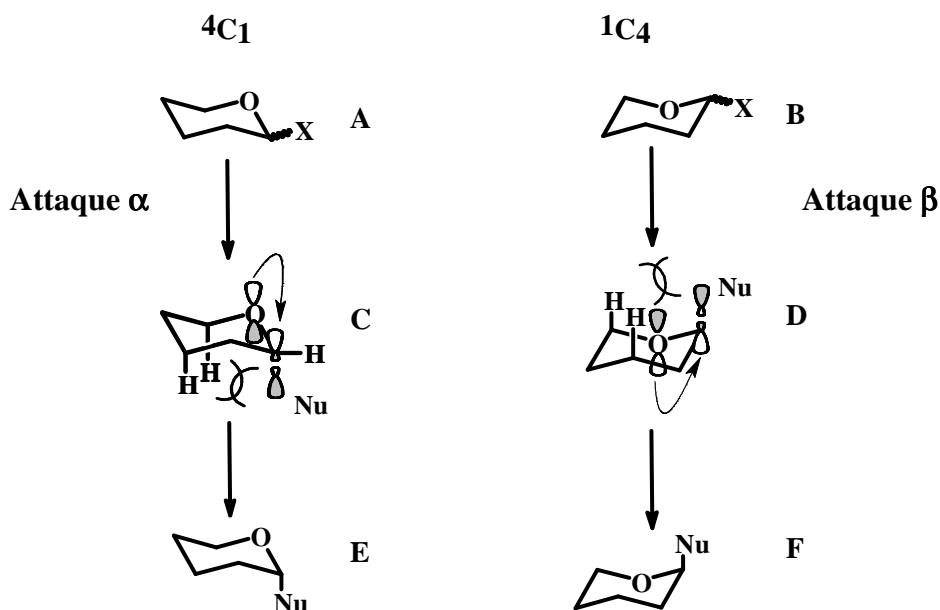


Figure II-15. Interactions favorisant la formation majoritaire des α - ou β -C-glycosides.

Ces auteurs ont vérifié leur hypothèse en faisant réagir des précurseurs glycosidiques fluorés de conformation libre (référence) ou bloquée (4C_1 ou 1C_4) avec l'allyltriméthylsilane en présence de $BF_3 \cdot OEt_2$ (tableau II-3). En effet, les résultats obtenus montrent que la sélectivité est nettement orientée vers l'obtention de l'anomère α ou de l'anomère β en fonction de la conformation du sucre de départ.

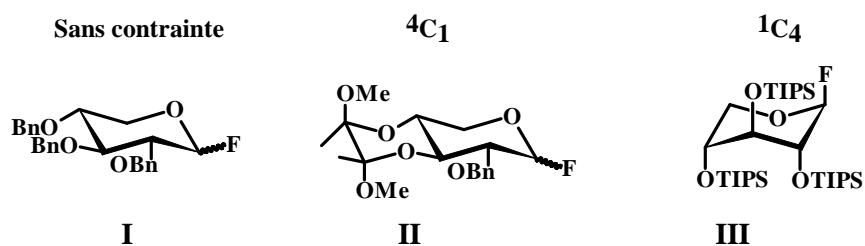


Tableau II-3. Réactions de C-allylation en présence d'allyltriméthylsilane et de $BF_3 \cdot OEt_2$.

Substrat	Rendement	α/β
I	70%	2,2/1
II	85%	> 50/1
III	73%	0/1

III.2 - SYNTHÈSE DE L'ALLYL α -C-GLUCOPYRANOSIDE À PARTIR DU TRICHLOROACÉTIMIDATE DE GLUCOSYLE

Nous avons, dans un premier temps, essayé d'adapter le protocole décrit précédemment (§ III-3-3) pour opérer les réactions de O-allylation par micro-ondes en présence de chlorure de zinc et d'un excès d'alcool allylique. Celui-ci, en effet, n'est pas directement transposable car le trichloroacétimide de glucosyle **5** n'est pas soluble dans l'allyltriméthylsilane. Nous n'avons donc pas procédé dans des conditions de solvolysse comme précédemment mais dans le dichlorométhane. Nous avons opté pour ce solvant car il a été montré qu'il n'absorbait pas les radiations micro-ondes.³² Des essais à blanc nous ont permis de déterminer la puissance optimum d'utilisation de l'appareil compatible avec les caractéristiques physico-chimiques des différents réactifs. Après avoir introduit dans le réacteur le trichloroacétimide de glucosyle **5**, 2,5 équivalents de $ZnCl_2$ et 2 équivalents d'allyltriméthylsilane, nous avons opéré cinq activations de deux minutes à une puissance de 150 W. Toutefois, le composé isolé, après traitement et purification, s'est révélé être le produit **11'** résultant de la réaction du substrat avec des traces d'éthanol contenues dans le solvant et ayant pour fonction de le stabiliser (fig. II-16).

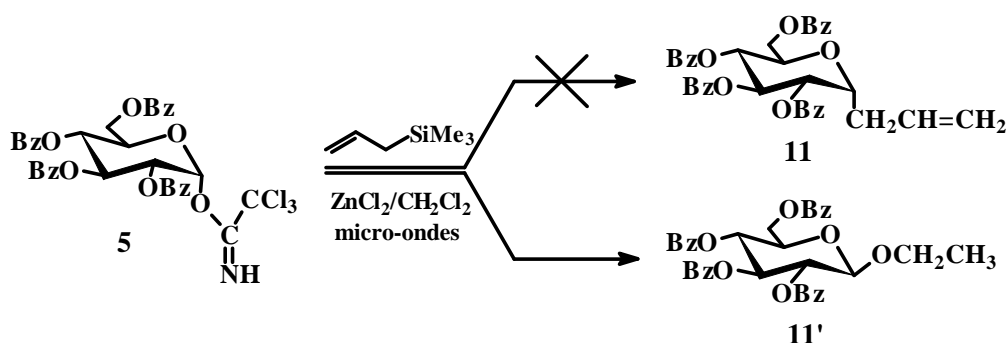


Figure II-16. Essai de C-allylation par voie micro-ondes.

Un nouvel essai dans du dichlorométhane stabilisé par de l'amylène dans le but d'éviter la réaction parasite avec l'éthanol a alors été réalisé mais sans donner de résultats satisfaisants. Nous avons donc abandonné cette voie de synthèse.

III.3 - SYNTHÈSE DES ALLYL α -C-GLYCOPYRANOSIDES À PARTIR DES SUBSTRATS PERACÉTYLÉS

Afin de synthétiser les monomères C-allyliques **10** et **11**, nous avons alors employé la méthode proposée par Giannis et coll.²⁴ qui consiste à faire réagir le sucre *peracétylé* avec l'allyltriméthylsilane en présence d'un acide de Lewis, en l'occurrence $BF_3 \cdot OEt_2$. Les meilleurs résultats ont été obtenus dans l'acétonitrile anhydre en présence de 3 équivalents d'allyltriméthylsilane et de 5 équivalents de $BF_3 \cdot OEt_2$ pendant 48 heures. Elle conduit aux

composés attendus, majoritairement sous leur forme α , avec un rendement de 68% pour le composé galactosylé et de 60% pour son analogue glucosylé.

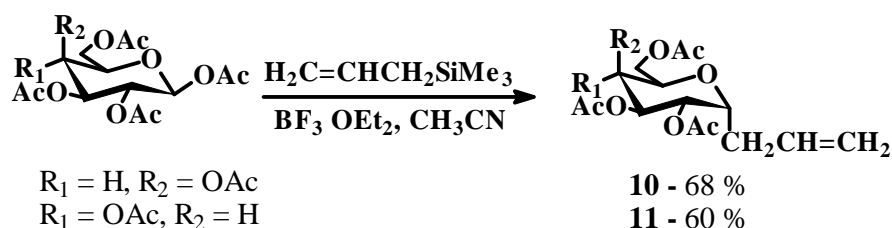


Figure II-17. C-allylation des D-galactose et D-glucose *peracétylés*.

Les composés **10** et **11** ont également été caractérisés par spectroscopie infrarouge et RMN du proton. Les résultats sont conformes aux données de la littérature.²⁴ On observe ainsi une bande de faible intensité $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ à 1641 cm^{-1} pour les deux composés. Les spectres de RMN du proton sont similaires à ceux obtenus pour les dérivés O-allyliques. La figure correspondant au proton anomérique est, cependant, plus complexe du fait du couplage de ce dernier avec les protons de la chaîne allylique.

IV - SYNTHÈSE DES HOMODIMÈRES

La dernière étape dans la synthèse des précurseurs glucidiques consiste à élaborer les homodimères à partir des sucres monomères allyliques correspondants. Dans ce but, nous avons procédé *via* la métathèse des alcènes.

IV.1 - RÉACTION DE MÉTATHÈSE

IV.1.1 - Bref historique

La formation de liaisons carbone-carbone par des méthodes fiables et efficaces est particulièrement importante en chimie organique. Une de ces méthodes, la métathèse des alcènes, a suscité beaucoup d'intérêt ces dernières années.³³

Cette réaction a été introduite au milieu des années 50 par Anderson et Merckling³⁴ qui ont rapporté la polymérisation du norbornène avec des dérivés du titane (II) formés *in situ*. Calderon et coll.³⁵ ont alors proposé, en 1967, le terme de métathèse des oléfines pour désigner ce type de réactions. Ce procédé particulier, illustré sur la figure II-18 de façon simplifiée, permet d'élaborer, par réaction en présence de catalyseurs dérivant des métaux de transition, de nouvelles molécules pour lesquelles les groupements alkylidène des alcènes de départ se trouvent échangés.

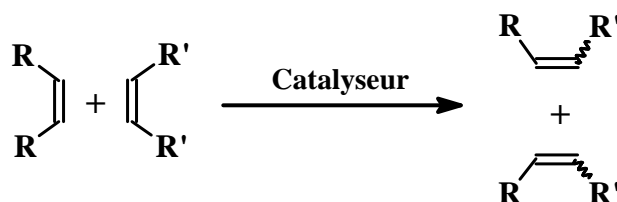
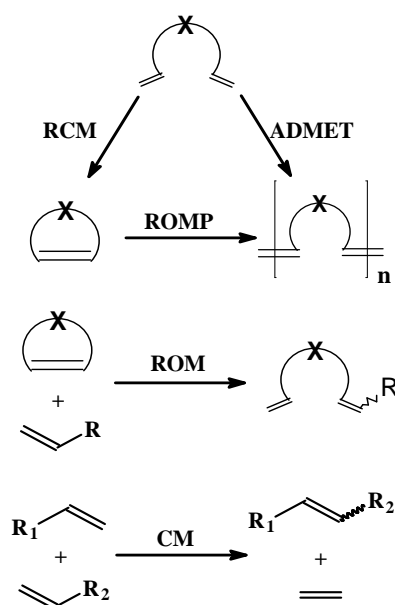


Figure II-18. Représentation simplifiée de la métathèse des alcènes.

Depuis sa découverte jusqu'aux années 80, la métathèse des alcènes est restée très peu utilisée en synthèse organique, en grande partie du fait de la nature des systèmes catalytiques utilisés à l'époque. Il s'agissait surtout de mélanges de sels métalliques et d'agents alkylants ou de sels de métaux de transition déposés sur support solide.³⁶ Parmi les combinaisons rencontrées de façon classique, on peut citer notamment $\text{WCl}_6/\text{Bu}_4\text{Sn}$, $\text{W}(\text{CO})_6/\text{EtAlCl}_2$, $\text{W}(\text{CO})_6/h\nu$, $\text{WOCl}_4/\text{EtAlCl}_2$, $\text{MoO}_3/\text{SiO}_2$ ou encore $\text{ReO}_7/\text{Al}_2\text{O}_3$. Ces catalyseurs présentent, cependant, de nombreux inconvénients qui expliquent pourquoi la réaction de métathèse ne s'est pas généralisée plus tôt.³⁷ Tout d'abord, ils nécessitent des conditions dures et l'emploi d'acides de Lewis forts souvent incompatibles avec un grand nombre de groupements fonctionnels. De plus, ces réactions sont très difficiles à initier et à contrôler car seulement une petite quantité d'espèces actives est formée dans ces mélanges catalytiques.

Depuis les années 80, la mise au point de nouveaux catalyseurs plus tolérants vis-à-vis des groupements fonctionnels a relancé l'intérêt porté à cette réaction. Ses diverses applications sont illustrées, dans le cas général, sur la figure II-19. Les réactions de métathèse permettent donc d'accéder à une grande variété de molécules insaturées qu'il eût été difficile, voire impossible, de préparer autrement. Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la réaction de métathèse croisée.



RCM : Ring Closing Metathesis (Fermeture de cycle par métathèse) ; **ADMET** : Acyclic Diene Metathesis Polymerization (Polymérisation de diènes acycliques par métathèse) ; **ROMP** : Ring Opening Metathesis Polymerization (Polymérisation par ouverture de cycle par métathèse) ; **ROM** : Ring Opening Metathesis (Ouverture de cycle par métathèse) ; **CM** : Cross Metathesis (Métathèse croisée)

Figure II-19. Les différents types de métathèse.

Plusieurs mécanismes ont été avancés mais celui proposé par Chauvin et coll.³⁸ impliquant un métallocarbène intermédiaire est celui qui permet le mieux de rendre compte des phénomènes expérimentaux observés. Il reste, aujourd'hui encore, le mécanisme généralement admis et repose sur la formation d'un intermédiaire metallacyclobutane résultant de cycloadditions [2+2] et de cycloréversions successives (fig. II-20).

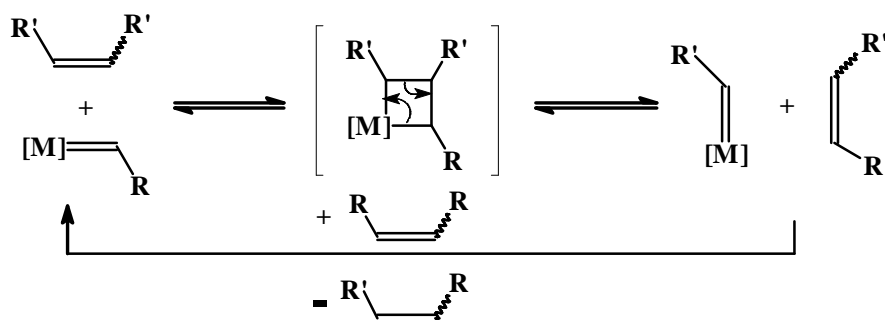


Figure II-20. Mécanisme de métathèse proposé par Chauvin et coll.³⁸

IV.1.2 - Les systèmes catalytiques de la métathèse

Le mécanisme proposé par Chauvin et coll.³⁸ a fortement influencé, par la suite, les recherches portant sur la mise au point de catalyseurs plus efficaces et mettant en jeu des métallocarbènes stables. Dans un premier temps, les études se sont portées vers des composés mieux définis dérivant du tungstène³⁹, du titane⁴⁰ ou encore du tantale⁴¹ qui permettaient des

réactions dans des conditions plus douces et une meilleure initiation de celles-ci. Les premiers catalyseurs à être plus largement utilisés ont été les alkylidènes de molybdène et de tungstène de formule générale $(NAr)(OR')_2M=CHR$ et notamment, le complexe de molybdène **A** (fig. II-21), développé par Schrock et coll.⁴² Le catalyseur **A** montre une forte réactivité mais présente plusieurs inconvénients. En effet, celui-ci est fortement sensible à l'humidité et au dioxygène et nécessite donc des conditions de préparation et d'utilisation rigoureuses avec une atmosphère parfaitement inerte et des solvants purs, secs et préalablement dégazés. De plus, ce type de catalyseurs à base de métaux de transition se situant dans la colonne VI de la classification périodique, se caractérise par une tolérance allant de faible à modérée pour de nombreux groupements fonctionnels. Leur usage est donc limité à un nombre restreint de substrats.

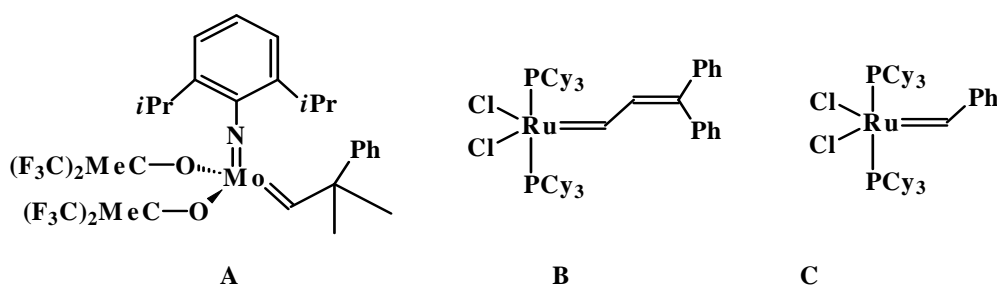


Figure II-21. Exemples de catalyseurs.

La synthèse de nouveaux systèmes catalytiques a permis, en outre, de mieux comprendre les relations existant entre structure et réactivité. Ainsi, une sélectivité plus importante, pour les oléfines, des systèmes à base de métaux de transition variant de gauche à droite et de bas en haut de la classification périodique⁴³ a pu être mise en évidence (tableau II-4).

Tableau II-4. Tolérance des catalyseurs.

Titane (Ti)	Tungstène (W)	Molybdène (Mo)	Ruthénium (Ru)
Acides	Acides	Acides	<i>Oléfines</i>
Alcools, Eau	Alcools, Eau	Alcools, Eau	Acides
Aldéhydes	Aldéhydes	Aldéhydes	Alcools, Eau
Cétones	Cétones	<i>Oléfines</i>	Aldéhydes
Esters, Amides	<i>Oléfines</i>	Cétones	Cétones
<i>Oléfines</i>	Esters, Amides	Esters, Amides	Esters, Amides

↑
Augmentation de la
réactivité

L'analyse de ce tableau montre que les métaux de transition les plus adéquats sont le molybdène et surtout, le ruthénium qui réagit préférentiellement avec les doubles liaisons et procure, de ce fait, des catalyseurs particulièrement stables vis-à-vis de nombreuses fonctions. Nous allons donc nous intéresser plus spécifiquement aux catalyseurs à base de ruthénium. Par exemple, les carbènes **B**^{44a} et **C**^{44b}, illustrés sur la figure II-21, présentent une forte activité catalytique. Bien que cette dernière soit inférieure à celle dont fait preuve le catalyseur au molybdène de Schrock (**A**), ils se révèlent, cependant, plus intéressants car ils sont moins sensibles à l'air et à l'humidité et sont compatibles avec la plupart des groupements fonctionnels. Les activités des catalyseurs homo- et hétérobimétalliques du même type que le catalyseur **D**, représenté sur la figure II-22, sont largement supérieures à celles des carbènes **B** et **C** dont ils dérivent.^{44c} Toutefois, ces complexes bimétalliques sont coûteux en partie du fait de la génération d'espèces catalytiques inactives en quantité stœchiométrique.

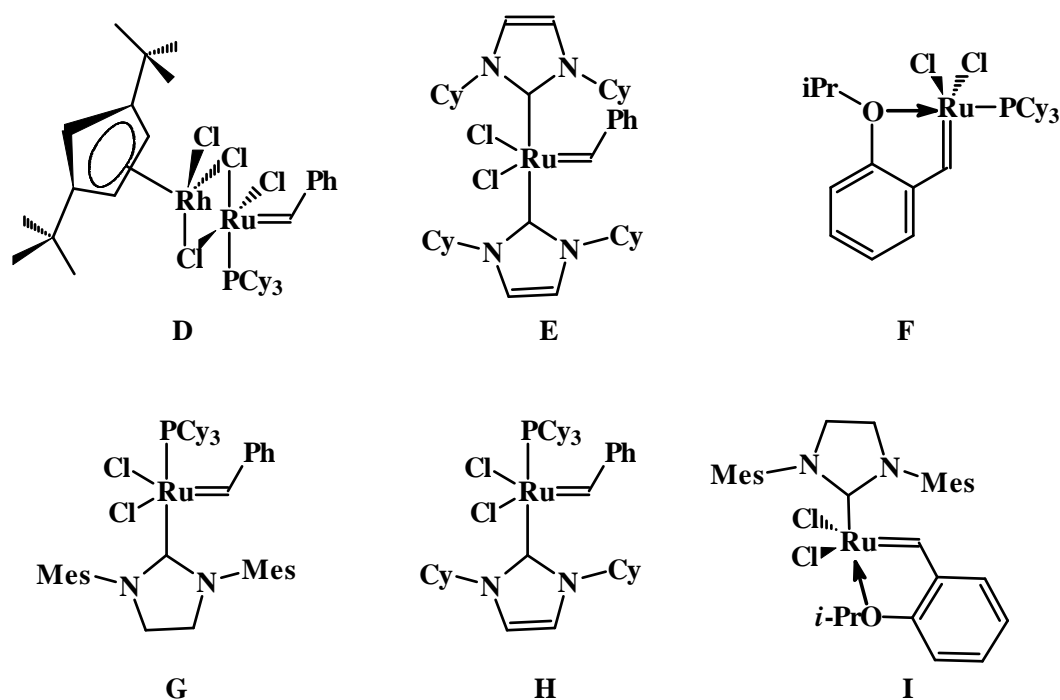


Figure II-22. Exemples de catalyseurs de métathèse au ruthénium.

Les catalyseurs **E**^{44d} et **F**^{44e} présentent une grande efficacité. Le complexe **F**, par ailleurs, se caractérise par un ligand bidentate qui est supposé fournir un site de coordination pendant la réaction. Il est, de plus, facilement recyclable par chromatographie. Plus récemment encore est apparue une nouvelle génération de catalyseurs, particulièrement actifs, parmi lesquels les catalyseurs **G**^{44f} et **H**^{44g} (fig. II-22). Ces derniers sont constitués d'un ligand alkylidène tel que le 1,3-dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidène (**G**) ou le 1,3-dicyclohexylimidazol-2-ylidène (**H**) qui occupe une position relative anti vis-à-vis d'un ligand beaucoup plus labile comme la tricyclohexyl phosphine. En 2000, Blechert et coll.^{44h} ont également décrit, pour la première

fois, des réactions de métathèse croisée à partir de l'acrylonitrile en utilisant un nouveau catalyseur (**I**), combinaison des complexes **F** et **G** (fig. II-22). Dernièrement, plusieurs tentatives d'immobilisation des catalyseurs de type Grubbs sur des supports solides ont également été rapportées.⁴⁵ Cependant, cette méthode, bien que fortement séduisante, nécessite encore quelques mises au point et la recherche de catalyseurs supportés alliant efficacité et fort taux de recyclage reste d'actualité.

IV.1.3 - Mécanisme

Comme nous l'avons souligné précédemment, le mécanisme proposé par Chauvin³⁸ est généralement admis. Toutefois, avec l'avènement de nouveaux catalyseurs mieux définis, des études mécanistiques plus approfondies ont pu être menées afin de mieux appréhender les différentes étapes de ce processus complexe. Initialement, deux mécanismes généraux pour les catalyseurs au ruthénium de formule générale $[(PR_3)(L)X_2Ru=CHR']$ ont été proposés (fig. II-23).^{37,46}

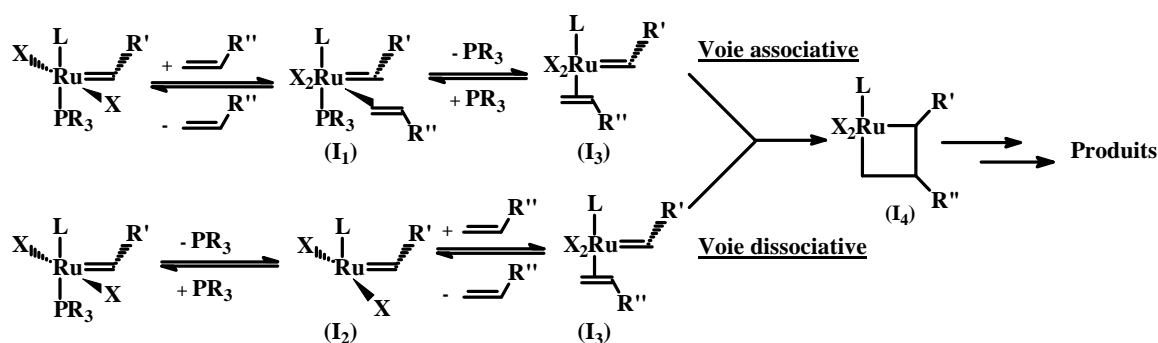


Figure II-23. Mécanismes de formation du complexe impliqué dans la métathèse.

Le mécanisme associatif suppose l'addition préalable de l'oléfine conduisant à la formation d'un complexe à 18 électrons hexacoordiné (**I1**) suivie de la dissociation d'une des phosphines conduisant à (**I3**). Le mécanisme dissociatif, quant à lui, implique le départ d'un ligand phosphine générant un intermédiaire (**I2**) tetracoordiné comportant 14 électrons. L'addition ultérieure de l'oléfine mène à (**I3**) comme précédemment. Des études antérieures privilégiaient le mécanisme associatif en s'appuyant sur la formation préférentielle d'un intermédiaire comportant 18 électrons par rapport à celui à 14 électrons. C'est cependant le mécanisme dissociatif qui a finalement été retenu car celui-ci permet de mieux rendre compte des phénomènes expérimentaux observés (fig. II-24).⁴⁷ La stéréochimie des centres métalliques des intermédiaires (**I3**) et (**I4**) demeure inconnue. Il a également été proposé que (**I4**) soit plutôt un état de transition qu'un intermédiaire réactionnel.

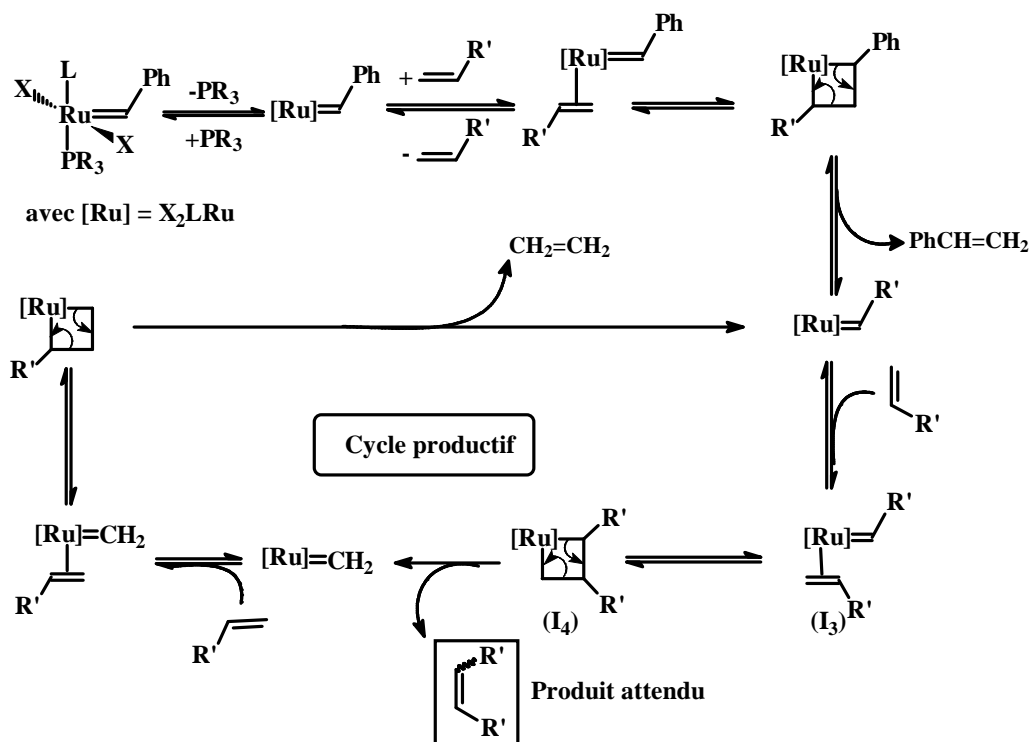


Figure II-24. Mécanisme de métathèse.

Plus récemment, un modèle théorique reposant sur des calculs de densités fonctionnelles a été rapporté.⁴⁸ Il confirme le mécanisme de dissociation et montre que la coordination *trans* de l'oléfine est privilégiée par rapport aux autres modes de coordination. Selon ce modèle, les catalyseurs les plus efficaces sont ceux comportant un ligand σ -donneur faible et un ligand σ -donneur fort afin de promouvoir respectivement les étapes de dissociation et d'insertion.

Les activités des catalyseurs **C** et **G** ont, par ailleurs, été comparées. Il en résulte que le catalyseur **G**, du fait de sa difficulté à perdre son groupe phosphine, initiera plus lentement la réaction.⁴⁷ Il pourra, cependant, effectuer un grand nombre de cycles catalytiques (turn-over) avant d'être désactivé par reformation de la liaison PCy_3 . Dans le cas du composé **C**, c'est tout le contraire qui se produit puisque l'étape d'initiation est plus rapide mais le nombre de cycles productifs est moindre.

IV.1.4 - La métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres

IV.1.4.1 - Cas général

Par rapport aux publications relatives aux autres applications (RCM, ROM...), le volume des communications portant sur la métathèse croisée est moins dense. Ceci vient sans doute du fait que des conditions générales permettant d'accéder aux produits avec de bons rendements et une forte sélectivité E/Z n'ont pas été, à ce jour, mises au point. En effet, comme le montre la figure II-25, la réaction entre deux oléfines terminales différentes, cas le

plus simple, conduit à trois produits : un produit hétérodimérique et deux produits homodimériques, chacun pouvant être obtenu sous la forme d'un mélange des deux isomères E et Z. Ce type de réactions peut donc mener à des mélanges complexes comportant potentiellement jusqu'à six produits différents. Compte tenu du nombre de combinaisons possibles, la situation se complique lorsque l'on utilise, comme substrats de départ, des oléfines substituées sur les deux carbones sp^2 .

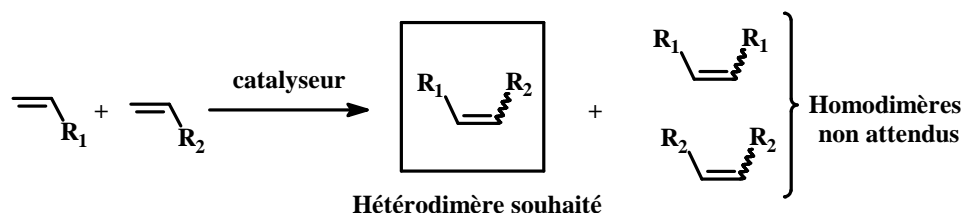


Figure II-25. Métathèse croisée - Cas général.

L'élaboration de ces nouveaux catalyseurs mieux définis ainsi qu'une meilleure appréhension des mécanismes réactionnels mis en jeu ont relancé l'intérêt porté à la métathèse croisée. Ainsi, Blechert et coll.⁴⁹ ont montré que l'allyltriphényl stannane pouvait conduire sélectivement au produit hétérodimérique par réaction avec l'allyl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranoside en présence du catalyseur au molybdène de Schrock A (fig. II-26).

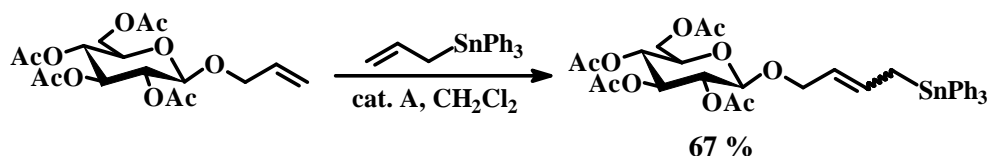


Figure II-26. Exemple de métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres en présence du catalyseur A.

Les travaux de Roy et coll.⁵⁰ sur la réaction de métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres sont importants. Nous nous contenterons ici d'en citer quelques exemples, parmi les plus représentatifs, afin d'illustrer les progrès réalisés dans ce domaine. Les premiers essais^{50a} effectués sur des C- et O-allyl glycosides donnaient des rendements modérés du fait de la génération, en quantité non négligeable, des produits issus de la self-métathèse. Ces auteurs^{50b-d} ont alors montré qu'en opérant en milieu dilué et en présence d'un léger excès de l'oléfine, on pouvait orienter la régiosélectivité de la réaction vers l'obtention du produit hétérodimérique avec de bons rendements (fig. II-27).

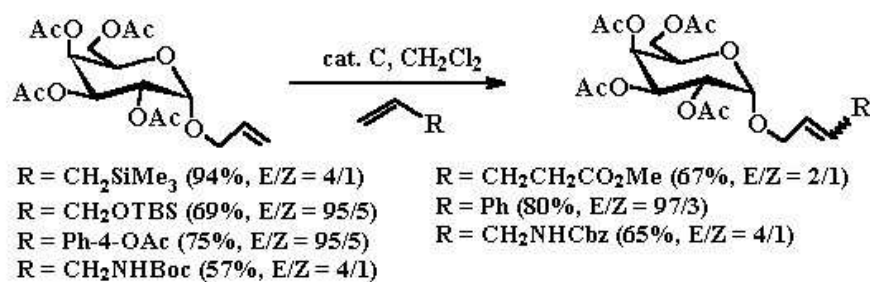


Figure II-27. Exemples de métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres en présence du catalyseur C.

Par ailleurs, dans le cadre de leurs travaux portant sur l'élaboration d'« astérisques moléculaires », Roy et coll.^{50e} ont été amenés à synthétiser différents C-glycosides munis de bras espaceurs appropriés. Ils ont procédé par métathèse en utilisant le catalyseur de Grubbs C (fig. II-21). Les différents produits dérivant du mannose et du galactose ont ainsi été isolés avec des rendements de l'ordre de 50%. Il est à noter que les rendements obtenus sont, dans ce cas, plus faibles que ceux généralement issus des réactions de métathèse avec les analogues O-alkylés des substrats utilisés. En outre, ces auteurs ont pu observer que les composés comportant des groupements benzyle comme groupements protecteurs donnaient de meilleurs résultats que ceux avec des groupements benzoyle. Ce phénomène résulterait d'une désactivation partielle du catalyseur induite par la plus grande aptitude des groupements benzoyle à se coordonner comparée à celle des groupements benzyle.

Plus récemment, le catalyseur de Grubbs de deuxième génération G a été utilisé pour effectuer des réactions de métathèse croisée sur des C- et O-allyl glycosides et ce, dans le but d'en former des dérivés halogénés pouvant être fonctionnalisés par la suite^{50f} (fig. II-28).

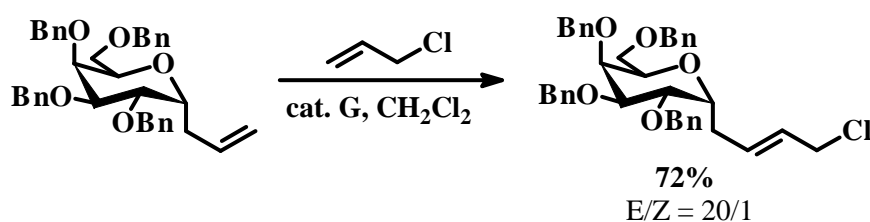


Figure II-28. Exemple de métathèse croisée appliquée à la chimie des sucres en présence du catalyseur G.

Les rendements observés sont relativement bons, sauf lorsque l'halogène utilisé est l'iode, vraisemblablement du fait de sa plus grande aptitude à se coordonner, désactivant le catalyseur. De plus, la sélectivité est comme attendue, nettement orientée vers l'obtention de l'isomère E, plus stable thermodynamiquement. Roy et coll.^{50f} ont, en outre, remarqué que quelques soient les groupements protecteurs utilisés et la configuration anomérique, les rendements et la

sélectivité sont similaires. Ceci tendrait à prouver que, dans ce cas, ces paramètres ne jouent pas un rôle significatif.

IV.1.4.2 - Cas particulier des réactions d'homodimérisation

Les réactions d'homodimérisation sont des réactions de métathèse croisée particulières pour lesquelles il y a une seule oléfine de départ dissymétrique (fig. II-29). Il en résulte une simplification de la procédure allant de pair avec la diminution du nombre de produits formés. En effet, ces derniers sont au maximum deux, correspondant aux isomères E et Z du produit de couplage.



Figure II-29. Réaction d'homodimérisation – Cas général.

Afin d'élaborer des sucres bolaamphiphiles, Descotes et coll.³⁹ ont utilisé un aryloxy complexe de tungstène et ont ainsi pu isoler les homodimères attendus avec de bons rendements (fig. II-30). Le catalyseur au tungstène employé ici est actif vis-à-vis des pentényl glycosides mais reste sans effet sur leurs analogues allyliques ce qui peut s'expliquer par la désactivation du catalyseur par l'oxygène de la fonction éther. En effet, celui-ci rentre en compétition avec la double liaison pour se coordonner au métallocarbène et rend donc le complexe inactif. Les rapports E/Z n'ont pas été déterminés par ces auteurs.

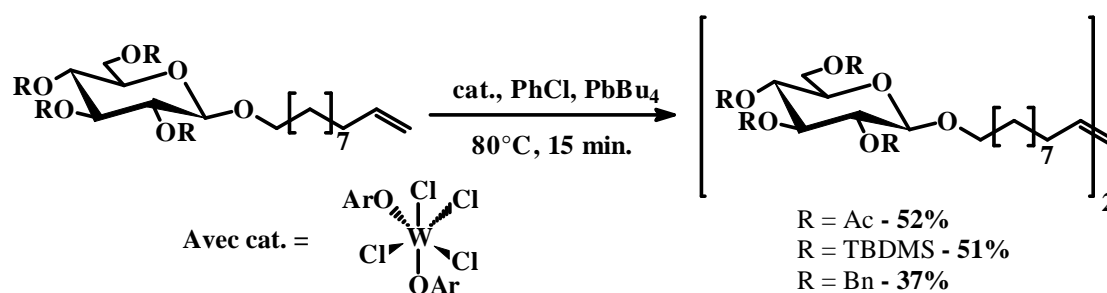


Figure II-30. Synthèse de sucres bolaamphiphiles.

Dans ce domaine, Roy et coll.^{50b,d,51} ont également apporté une large contribution. Nous nous sommes intéressés ici plus particulièrement aux homodimères dérivant des allyl D-galactopyranosides (fig. II-31). Les réactions d'homodimérisation sont effectuées en présence du catalyseur de Grubbs C et conduisent aux dimères glucidiques avec des rendements compris entre 76 et 95% et une sélectivité E/Z variant de 1/1 à 5/1. La présence d'un produit secondaire isolé en plus du produit de réaction et du substrat de départ n'ayant pas réagi a été

observée. Après caractérisation, il s'avère qu'il s'agit du produit résultant de la métathèse croisée avec le styrène libéré lors de la phase d'initiation.

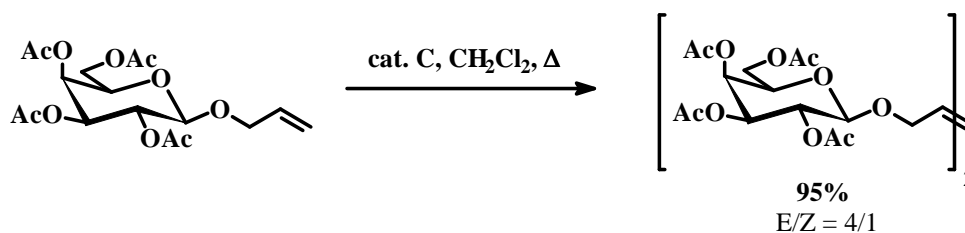


Figure II-31. Exemple de réaction d'homodimérisation par métathèse.

Par ailleurs, Grubbs et coll.^{33c} ont montré que la formation du produit hétérodimérique, lors de la métathèse croisée de deux oléfines, pouvait être favorisée par une stratégie en deux étapes. La première de ces étapes consiste à élaborer l'homodimère d'une des deux oléfines. Le dimère synthétisé est ensuite mis à réagir avec l'autre oléfine pour conduire préférentiellement au produit comportant deux substituants différents. Après avoir vérifié que cette stratégie pouvait s'appliquer dans le cas du greffage des unités glucidiques par métathèse sur les porphyrines *meso*-substituées, nous avons généralisé cette méthode pour opérer les réactions de couplage. Nous allons donc maintenant développer la première étape de cette voie de synthèse à savoir l'élaboration des homodimères glucidiques.

IV.2 - SYNTHÈSE DES HOMODIMÈRES GLUCIDIQUES

Les réactions d'homodimérisation (fig. II-32) dans le cas des composés **12** et **13** sont effectuées par métathèse des alcènes à partir des sucres monomères correspondants, en présence d'environ 10% molaire de catalyseur de Grubbs **C** à reflux dans du dichlorométhane anhydre préalablement dégazé.

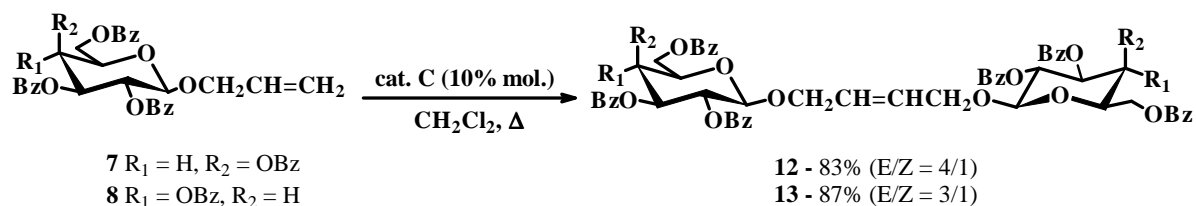
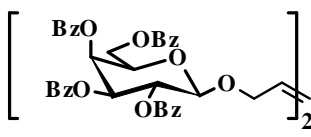
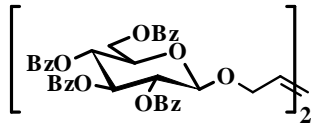
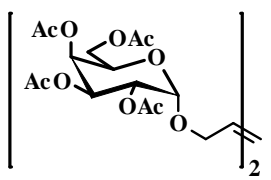
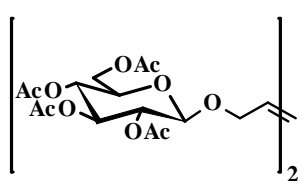
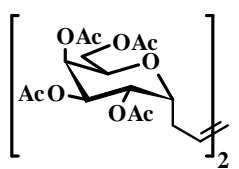
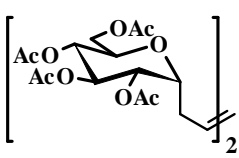


Figure II-32. Homodimérisation des monomères allyliques **7** et **8**.

Après purification par chromatographie, les produits **12** à **17** sont isolés avec des rendements de l'ordre de 80% sous la forme d'un mélange des deux isomères E et Z (tableau II-5).

Tableau II-5. Rendements et rapports E/Z des homodimères **12** à **17**.

Monomère	Produit	n°	E/Z ^(a)	Rendement
7		12	4/1	83%
8		13	3/1	87%
9		14	6/1	83%
commercial		15	3/1	80%
10		16	2/1	72%
11		17	non déterminé ^(b)	87%

Les composés **14** et **16** dont la synthèse avait été rapportée par Roy et coll.⁵¹ ont été obtenus avec des rendements similaires et une sélectivité comparable bien que légèrement supérieure, dans notre cas, pour le dimère **14**. Les autres produits isolés à l'issue de ces réactions de métathèse sont le sucre de départ n'ayant pas réagi et vraisemblablement le produit issu du couplage avec le styrène libéré lors de la phase d'initiation⁴¹. En effet, nous avons pu observer, par CCM, une tâche de faible intensité correspondant à un dérivé glucidique et se situant juste au dessus du dimère attendu.

Tous ces composés ont été caractérisés par les méthodes habituelles de spectroscopie (RMN ¹H - tableaux II-6 et II-7 ; RMN ¹³C - tableau II-8) et par spectrométrie de masse

^(a) déterminé par RMN du proton

^(b) figures en RMN trop proches

(tableau II-9). La numérotation utilisée pour désigner les différents protons et carbones est illustrée ci-dessous dans le cas du produit **12** (fig. II-33).

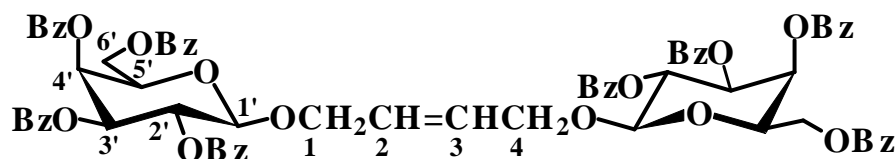


Figure II-33. Numérotation adoptée pour désigner les différentes positions.

Tableau II-6. RMN ¹H des dimères **12**, **13** et **14** [δ en ppm, J(Hz)]*.

H	12	13	14
Unités glucidiques			
H' ₁	E : 4,80 d (7,9) Z : 4,70 d (7,8)	E : 4,83 d (7,8) Z : 4,71 d (7,9)	E : 5,16 d (3,7) Z : 5,11 d (3,7)
H' ₂	5,79 dd (8,3 – 10,2)	E : 5,51 dd (8,1 – 9,5) Z : 5,49 dd (8,4 – 9,5)	E : 5,14 dd (3,6 – 8,3) Z : 5,13 dd (3,0 – 8,4)
H' ₃	5,60 dd (3,3 – 10,4)	E : 5,90 t (9,6) Z : 5,87 t (9,6)	E : 5,37 dd (3,3 – 9,4) Z : 5,38 dd (3,3 – 9,2)
H' ₄	5,98 d _{él} (3,0)	5,68 t (9,6)	E ou Z : 5,47 d (3,4) E ou Z : 5,46 d (3,4)
H' ₅	4,31 m	4,13 m	4,24 t _{él} (6,2)
H' _{6a}	4,65 dd (6,5 – 10,8)	E : 4,62 dd (3,0 – 12,1) Z : 4,64 dd (3,2 – 12,5)	4,10 d _{él} (6,6)
H' _{6b}	4,39 dd (6,6 – 11,2)	E : 4,50 dd (5,1 – 12,2) Z : 4,47 dd (5,1 – 12,5)	4,10 d _{él} (6,6)
Chaîne			
H _{1,4}	4,27 dd (3,3 – 10,6) 4,10 d _{él} (11,1)	E : 4,25 d _{él} (11,6) Z : 4,32 dd (3,4 – 12,7) E : 4,05 dd _{él} (2,8 – 13,5) Z : 4,19 dd (4,6-13,5)	4,21 m 4,03 ddd (1,4 – 2,9-13,3)
H _{2,3}	E : 5,71 s _{él} Z : 5,66 t (4,0)	E : 5,64 t (2,8) Z : 5,59 t (4,0)	E : 5,81 t (2,8) Z : 5,75 t (4,1)
Grpts protecteurs			
Ar-CO	7,21 - 8,09 m	7,26 - 8,02 m	-
CH ₃ -CO	-	-	1,99 - 2,15 s

Le rapport E/Z, comme nous l'avons souligné précédemment, a été déterminé soit à partir des triplets des protons portés par les carbones sp² éthyléniques, soit à partir d'autres

* Lorsque la mention E ou Z n'est pas inscrite, le signal correspond à l'isomère E, majoritaire.

signaux pour lesquels les figures des deux isomères étaient distinctes. Par exemple, pour le composé **13**, il a été déterminé en comparant les intégrations du proton anomérique sous sa forme E et sous sa forme Z et confirmé par le rapport des intégrations des protons en α de la double liaison.

Tableau II-7. RMN ^1H des dimères **15**, **16** et **17** [δ en ppm, J(Hz)]*.

H	15	16	17
Unités glucidiques			
H' ₁	E : 4,54 d (7,9) Z : 4,52 d (7,8)	4,22 dt (4,8 – 9,8)	4,20 m
H' ₂	E : 5,01 dd (8,0 – 9,5) Z : 4,99 dd (7,9 – 9,6)	5,23 dd (5,0 – 8,8)	5,07 dd (5,2 – 9,2)
H' ₃	E : 5,21 t (9,5) Z : 5,22 t (9,5)	5,20 dd (3,0 – 8,8)	E : 5,31 t (8,6) Z : 5,30 t (8,8)
H' ₄	5,10 t (9,6)	E : 5,41 d (2,8) Z : 5,40 d (2,8)	E : 5,0 t (8,9) Z : 4,96 t (8,8)
H' ₅	3,70 ddd (2,4 – 4,6 – 9,9)	4,07 m	3,85 m
H' _{6a}	4,27 dd (4,6 – 12,3)	4,28 dd (4,4 – 10,6)	4,26 dd (4,9 – 12,2)
H' _{6b}	4,14 dd (2,3 – 12,3)	4,07 m	4,10 dd (2,6 – 12,2)
Chaîne			
H _{1,4}	4,35 d _{él} (10,8) 4,08 dd _{él} (2,3 – 12,3)	2,42 m 2,23 m	2,62 m 2,52 m
H _{2,3}	E : 5,74 t (2,6) Z : 5,69 t (4,0)	E : 5,51 t (4,4) Z : 5,48 t (3,8)	E : 5,50 t (3,6) Z : 5,52 t (5,2)
OAc			
CH ₃ -CO	2,01 - 2,09 s	2,04 - 2,12 s	2,04 - 2,10 s

Afin de confirmer la présence des deux isomères et lever quelques incertitudes quant à l'attribution de certaines figures en RMN du proton, nous avons réalisé les spectres de RMN du carbone 13. En outre, les spectres J-MODE nous ont permis d'identifier les différents types de carbone et les spectres 2D de corrélation hétéronucléaire directe ^1H - ^{13}C (HMQC) ont confirmé les attributions de certains protons ou carbones primaires, secondaires et tertiaires.

* Lorsque la mention E ou Z n'est pas inscrite, le signal correspond à l'isomère E, majoritaire.

Tableau II-8. RMN ^{13}C des dimères **12**, **13**, **14**, **15**, **16** et **17** [δ en ppm]*.

C	12	13	14	15	16	17
<u>Unités glucidiques</u>						
C'_1	E : 100,4 Z : 100,3	E : 100,0 Z : 99,9	95,5	E : 99,8 Z : 99,5	71,4	72,1
C'_2	69,8	E : 71,9 Z : 71,8	68,1	71,3	68,3	70,1
C'_3	71,7	72,9	67,5	72,8	67,9	70,2
C'_4	68,1	69,7	68,1	68,4	E : 67,4 Z : 67,3	68,6
C'_5	71,3	72,2	66,4	71,9	E : 68,7 Z : 68,5	68,9
C'_6	62,0	E : 63,1 Z : 63,0	61,7	61,9	E : 61,2 Z : 61,0	62,0
<u>Chaîne</u>						
$\text{C}_{1,4}$	E : 69,0 Z : 64,8	E : 69,0 Z : 64,7	E : 67,6 Z : 63,6	E : 68,9 Z : 64,5	E : 29,9 Z : 24,9	E : 29,4 Z : 24,6
$\Delta\delta(\text{E/Z})$	4,2	4,3	4,0	4,4	5,0	4,6
$\text{C}_{2,3}$	E : 128,8 Z : 129,0	E : 128,8 Z : 128,9	E : 128,6 Z : 128,9	E : 128,3 Z : 128,8	E : 128,1 Z : 126,8	E : 127,9 Z : 126,6
<u>OBz ou OAc</u>						
C=O	165,2-166,0	165,0-166,1	170,0-170,4	169,3-170,7	169,8-170,5	169,5-170,7
Ph	128,3-133,6	128,3-133,4	-	-	-	-
CH_3	-	-	20,6-20,8	20,6-20,7	20,7-20,8	20,7

On observe, pour les carbones en α de la double liaison, un blindage pour l'isomère Z par rapport à l'isomère E. Ce phénomène est dû à des interactions stériques, principalement de type Van der Waals (fig. II-34). En effet, la perturbation stérique des liaisons C-H provoque un blindage en raison de la dilatation des orbitales. Cet effet est généralement admis et permet donc d'identifier les deux isomères E et Z avec certitude sur la base de la relation empirique

* Lorsque la mention E ou Z n'est pas inscrite, le signal correspond à l'isomère E, majoritaire.

$\delta_{\alpha}(Z) < \delta_{\alpha}(E)$. Les différences de déplacement entre les isomères E et Z ont été calculées et varient entre 4,0 et 5,0 ppm (tableau II-8). Cette différence est légèrement supérieure dans le cas des homodimères C-glycosylés par rapport à leurs analogues O-glycosylés, ce qui est sans doute lié à la modification de la longueur de liaison.

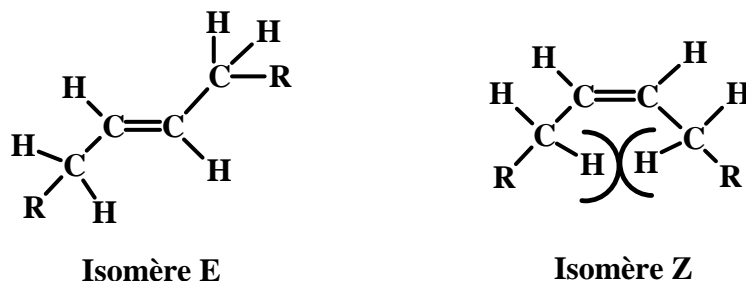


Figure II-34. Interactions stériques expliquant les différences de déplacement en RMN ^{13}C .

Nous avons, de plus, vérifié la masse molaire des différents homodimères par spectrométrie de masse en mode Electrospray positif. Le tableau II-9 indique les masses théoriques et les masses expérimentales obtenues pour l'ion $[\text{M-Na}]^+$ majoritaire. Cependant, d'autres ions sont présents en plus petite quantité tels que $[\text{M-K}]^+$ ou encore $[\text{M-NH}_4]^+$ de même qu'il a été observé, dans le cas de certains dérivés acétylés, des pertes de 60 uma pouvant correspondre à des pertes d'acide acétique par fragmentation.

Tableau II-9. Spectrométrie de masse en mode Electrospray positif.

Composés	Masse moléculaire calculée	$[\text{M-Na}]^+$
12	1267,36	1267,06
13	1267,36	1267,18
14	771,23	771,17
15	771,23	771,20
16	739,24	739,43
17	739,24	739,33

V - CONCLUSION

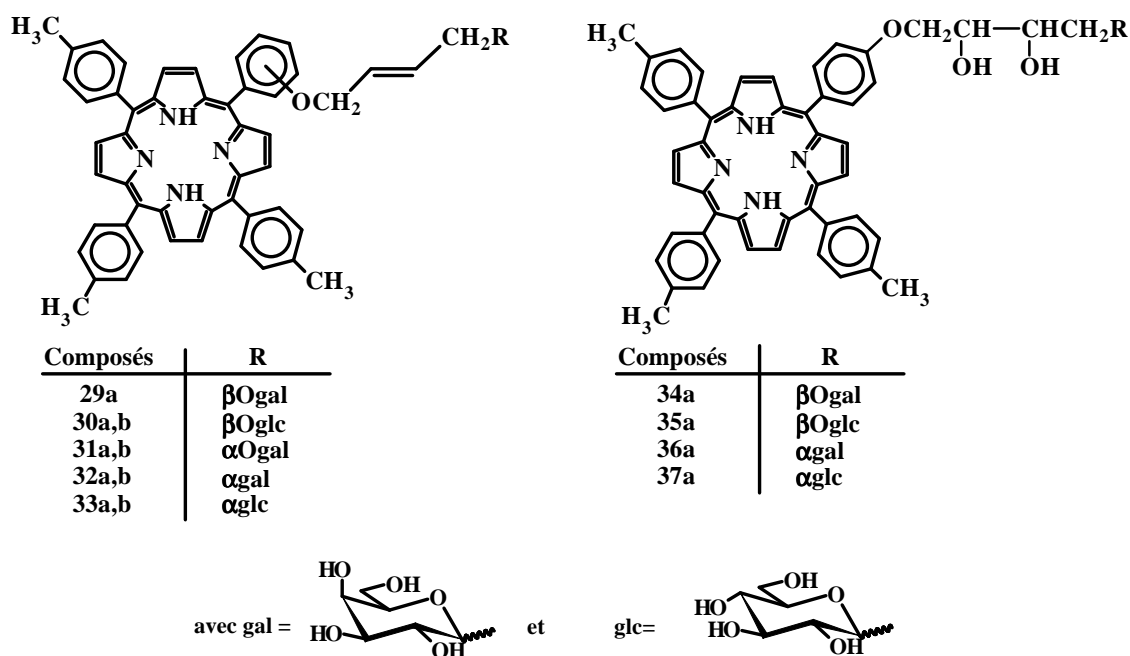
Nous avons rapporté la synthèse de précurseurs glucidiques sous leurs formes monomère et dimère. Une méthode en trois étapes, en vue d'obtenir sélectivement les allyl β -D-galacto- et glucopyranosides tétrabenzoylés, a ainsi été mise au point et fait notamment intervenir l'activation micro-ondes pour l'étape de O-allylation. La synthèse des homodimères a été effectuée, dans un deuxième temps, par métathèse des alcènes à partir des monomères allyliques correspondants. Les homodimères ont ainsi été obtenus sous la forme d'un mélange des deux isomères E et Z avec de bons rendements. Il est à noter que l'isomère E est majoritaire dans chaque cas. Les différents dimères synthétisés ont été utilisés pour fixer les unités glucidiques par métathèse sur les mono *para* et *ortho*-allyloxyphényltritolylporphyrines.

TROISIÈME PARTIE

SYNTHESE DE PORPHYRINES GLYCOSYLEES ETHYLÉNIQUES ET DE LEURS DÉRIVÉS HYDROXYLÉS

I - INTRODUCTION

Dans cette dernière partie, nous nous proposons de décrire la synthèse des porphyrines O- et C-glycosylées éthyléniques **29** à **33** et dihydroxylées **34** à **37** (fig. III-1). Ces composés se différencient par la nature et la position du motif osidique.



Les indices a et b réfèrent respectivement aux positions *para* et *ortho* dans tout le chapitre.

Figure III-1. Structures des *meso*-glycosylporphyrines synthétisées.

I - STRATÉGIE

La stratégie de synthèse adoptée est représentée sur la figure III-2. Les synthons-clefs sont les mono allyloxyphényltritolyldiporphyrines *para* **19a** et *ortho* **19b** obtenues par condensation des aldéhydes appropriés sur le pyrrole. La fixation des unités glucidiques est réalisée par métathèse des alcènes. Les réactions de dihydroxylation ont été effectuées sur les porphyrines *meso*-substituées en *para* **20a**, **21a**, **23a** et **24a** à l'aide du réactif de Sharpless (AD-mix β). Tous les composés isolés sont ensuite déprotégés en milieu basique. Les produits **30a**, **32a** et **33a,b** ont, en outre, été incorporés dans des liposomes afin d'essayer de faciliter leur pénétration à l'intérieur des cellules.

II - SYNTHÈSE DES PORPHYRINES ALLYLIQUES

Nous avons, tout d'abord, synthétisé la mono *para*-allyloxyphényltritolylporphyrine **19a** à partir de la mono hydroxyphényltritolylporphyrine **18a** (fig. III-3). Elle est synthétisée selon la méthode des « aldéhydes mixtes »¹ présentée dans la première partie.

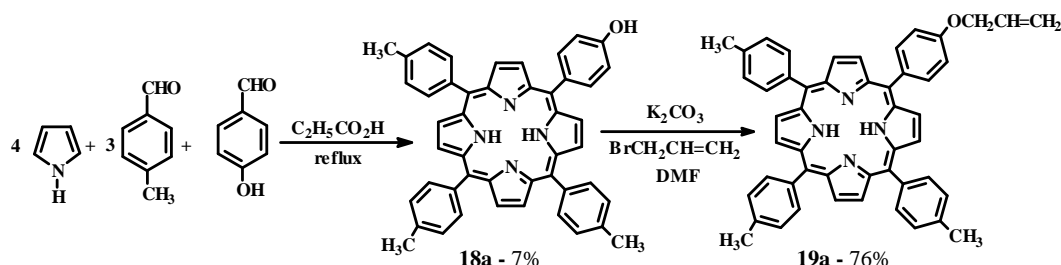


Figure III-3. Synthèse de la mono *para*-allyloxyphényltritolylporphyrine.

Dans notre cas, cette méthode consiste à condenser des quantités stœchiométriques de pyrrole, de 4-hydroxybenzaldéhyde et de *paratolu*aldéhyde dans l'acide propionique à reflux. Après purification, la mono hydroxyphényltritolylporphyrine **18a** a été isolée avec un rendement de 7%. Ce rendement modeste est lié à la formation concomitante des produits issus de la copolymérisation du pyrrole ainsi qu'à la formation de tétratolylporphyrine et de porphyrines polyhydroxylées. Le greffage de la chaîne allylique est ensuite réalisé par réaction de Williamson en présence de carbonate de potassium sec et de bromure d'allyle dans le diméthylformamide anhydre. Après traitement et purification, on isole le composé **19a** avec un rendement de 76%. Nous avons essayé, par la suite, d'optimiser l'obtention des précurseurs porphyriniques **19a,b** et avons appliqué la méthode de Little¹ décrite précédemment en utilisant à la place du 4-hydroxybenzaldéhyde, le 4- ou le 2-allyloxybenzaldéhyde (fig. III-4).

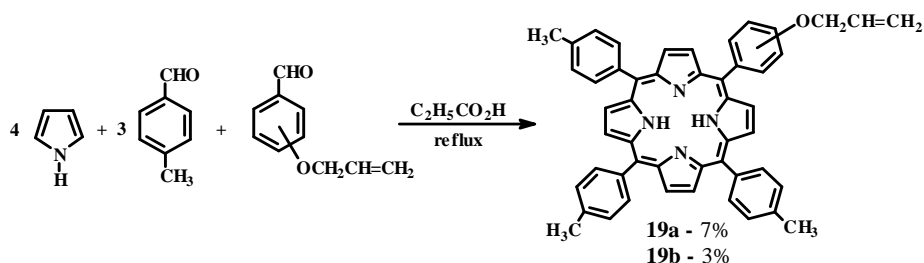


Figure III-4. Synthèse des mono allyloxyphényltritolylporphyrines par la méthode de Little.¹

La porphyrine monosubstituée en *para* **19a** cristallise après 24 heures à 5°C en même temps que la tétratolylporphyrine et de petites quantités de porphyrines aryle polysubstituées. Son analogue *ortho* **19b** ne cristallise quasiment pas et reste, pour l'essentiel, dans le filtrat. Un

pré-traitement dans de l'eau bidistillée a donc été nécessaire afin d'éliminer une partie des produits issus de la copolymérisation du pyrrole et faciliter la purification ultérieure. Nous avons ensuite procédé à la purification des produits par chromatographie. Que ce soit pour le dérivé *para* ou pour son analogue *ortho*, on a dû procéder, après purification, à une étape de démétallation par une extraction au chloroforme en présence d'acide chlorhydrique concentré. En effet, on remarque, par CCM, la présence d'une impureté située juste en dessous des produits **19a,b**. Après analyse, il s'est avéré qu'il s'agissait en fait des mêmes porphyrines métallées par du zinc. Little et coll.¹ ont observé le même problème lors de la synthèse de leurs composés. Après purification et démétallation, les mono allyloxyphényltritolyloporphyrines **19a** et **19b** ont été isolées respectivement avec des rendements de 7% et 3%. Bien que la purification de la porphyrine allylique **19a** soit plus complexe que celle du composé monohydroxylé **18a**, cette deuxième voie de synthèse se révèle plus intéressante. En effet, elle permet d'accéder plus rapidement à la *para*-allyloxyphényltritolyloporphyrine **19a** avec un rendement supérieur au rendement global des deux étapes de la première voie de synthèse (5%).

III - SYNTHÈSE DES PORPHYRINES O- ET C-GLYCOSYLÉES ETHYLÉNIQUES

Nous allons maintenant détailler la synthèse par métathèse des porphyrines O- et C-glycosylées éthyléniques. La fixation des unités glucidiques a été réalisée en présence du catalyseur **G** (fig. II-23). L'analyse comparative des résultats de la littérature² montre que ce catalyseur présente une grande tolérance vis-à-vis des groupements fonctionnels associée à une grande sélectivité E/Z liée à la présence des groupements méso sur le complexe.

Au cours d'essais préliminaires, nous avons fait réagir la mono *para*-allyloxyphényltritolyloporphyrine **19a** sur un large excès de C-allyl- α -D-glucopyranose **11** en présence de 77% molaire de catalyseur de Grubbs ajouté en deux fois (fig. III-5). Après purification par chromatographie, nous avons isolé le composé **24a** avec un rendement de 47%. Sa structure a été confirmée par RMN du proton et du carbone 13 ainsi que par spectrométrie de masse MALDI.

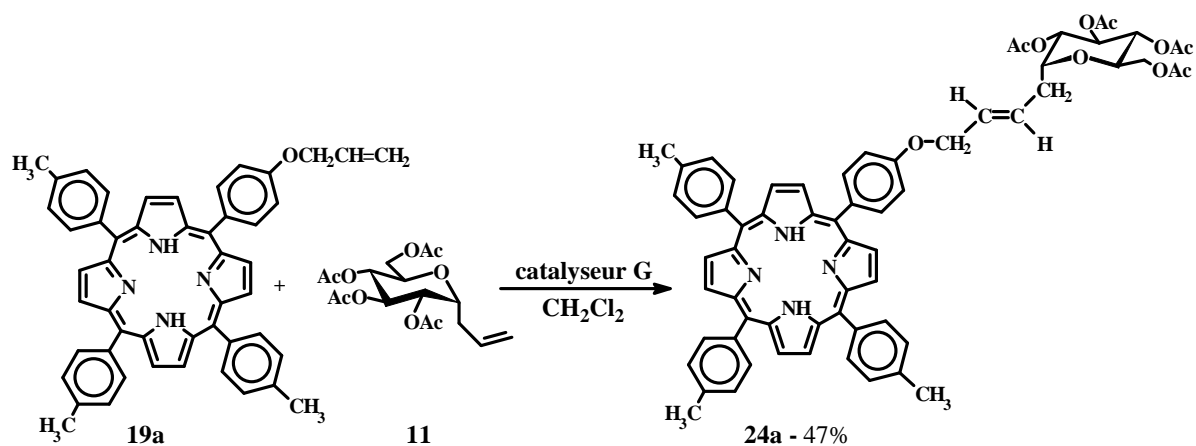


Figure III-5. Synthèse du composé **24a** à partir du sucre monomère C-allylique **11**.

Ayant ainsi vérifié la faisabilité de cette approche, nous avons ensuite cherché à optimiser les rendements des produits isolés. Dans ce but, la procédure en deux étapes développée par Grubbs et coll.³ nous a paru particulièrement intéressante (fig. III-6). Elle consiste à faire réagir, dans un premier temps, une des deux oléfines terminales sur elle-même afin d'obtenir son homodimère. Ce dernier réagit, par la suite, avec la seconde oléfine terminale pour conduire majoritairement au produit hétérodimérique.

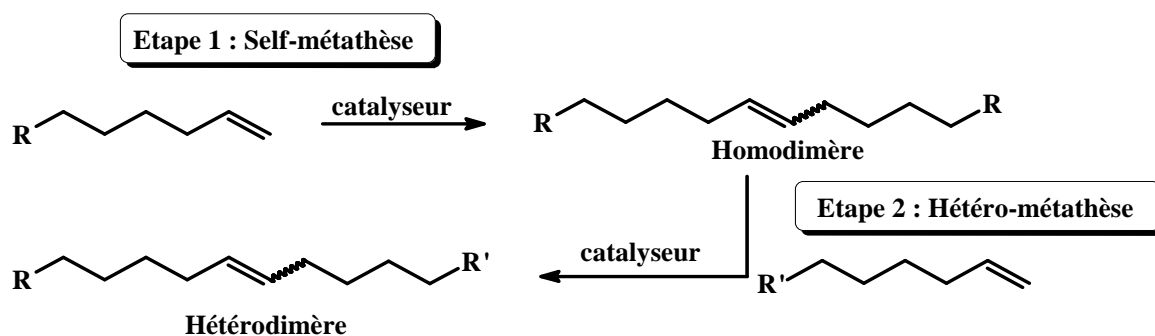


Figure III-6. Stratégie de métathèse en deux étapes développée par Grubbs et coll.³

D'après ces auteurs, en effet, l'utilisation d'un excès d'oléfine disubstituée favoriserait statistiquement la formation d'un intermédiaire alkylidène (fig. III-7) dont la décomposition lente permettrait d'obtenir de façon préférentielle le produit hétérodimérique.

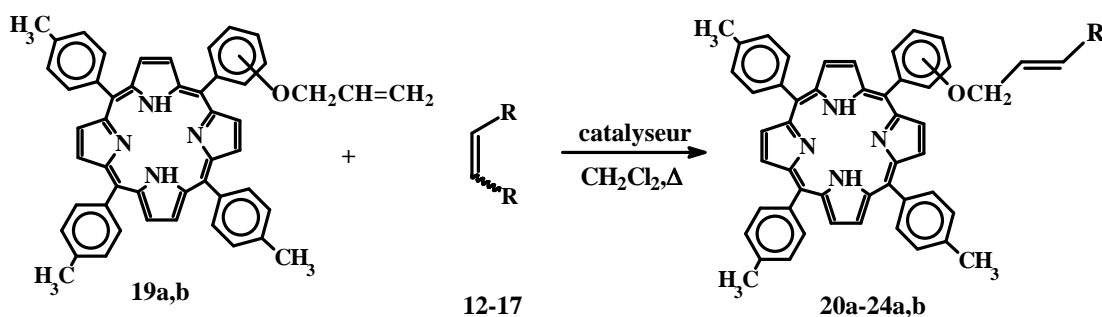


Tableau III-1. Synthèse des porphyrines glycosylées éthyléniques 20 à 24.

Entrée	Substrat	R	Dimère	Conf.	Eq.	% molaire	Produit	Rdt
1	19a	CH ₂ OgalBz	12	β	2,8	51	20a	55%
2	19a	CH ₂ OglcBz	13	β	4,0	29	21a	55%
3	19b	CH ₂ OglcAc	15	β	2,6	37	21b	18%
4	19a	CH ₂ OgalAc	14	α	2,6	34	22a	25%
5	19b	CH ₂ OgalAc	14	α	2,5	44	22b	19%
6	19a	CH ₂ galAc	16	α	5,8	32 +30	23a	64%
7	19b	CH ₂ galAc	16	α	8,4	68	23b	58%
8	19a	CH ₂ glcAc	17	α	5,7	26	24a	81%
9	19b	CH ₂ glcAc	17	α	10,4	66	24b	38%

conf. = configuration anomérique, Eq. = nombre d'équivalents en dimère, Rdt = rendement.

L'analyse des résultats montre que les rendements varient de 18% à 81% avec une très bonne sélectivité E/Z comme attendu avec ce type de catalyseur. Cette forte sélectivité résulterait de l'encombrement stérique induit par la proximité du macrocycle porphyrinique favorisant la formation du produit *trans* par rapport à l'isomère *cis*. On constate, en outre, que les rendements obtenus en série *ortho* sont, dans l'ensemble, inférieurs à ceux de la série *para* (Entrées 2 à 9). Le faible rendement en porphyrine O-galactosylée en *para* **22a** résulte de difficultés rencontrées lors de sa purification (Entrée 4). Cette plus faible réactivité des composés *ortho* a déjà été observée dans notre laboratoire⁴ et est vraisemblablement liée au fait que le substituant sur la position 2 du phényle est plus proche du macrocycle. De plus, nous avons observé, en série *ortho*, la formation d'un produit secondaire que nous n'avons pu, malgré de nombreuses purifications, isoler avec une pureté suffisante pour permettre une caractérisation par RMN. Le spectre de masse MALDI indique, cependant, que ce composé possède une masse identique au produit attendu. Ce composé n'étant pas observé en série *para*, l'hypothèse selon laquelle il s'agirait de l'isomère Z des porphyrines glycosylées en *ortho* a été écartée. Différents auteurs ont montré que le complexe au ruthénium **G** pouvait catalyser la migration de la double liaison pour mener à l'isomère de position correspondant

de façon majoritaire.⁵ Nous avons retenu cette hypothèse et avons supposé, par ailleurs, que dans notre cas, cette migration se faisait préférentiellement en direction du glucide, en raison des contraintes stériques côté porphyrinique (fig. III-9).

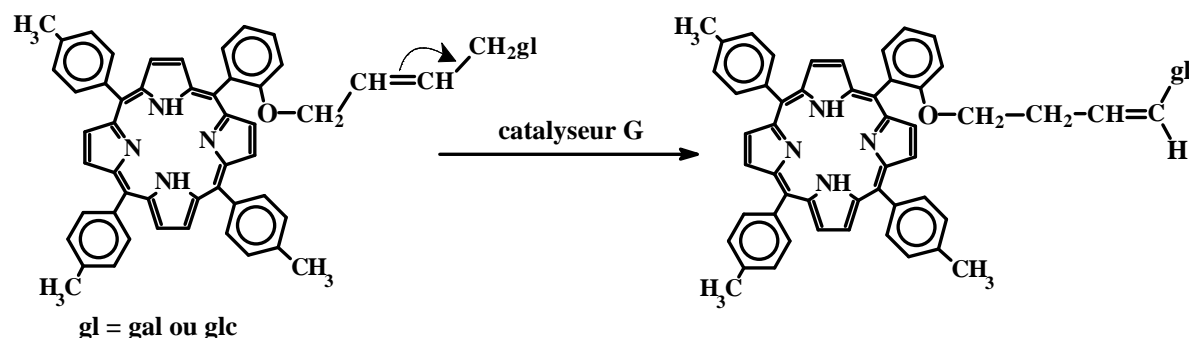


Figure III-9. Migration de la double liaison en série *ortho*.

IV - DIHYDROXYLATION DES PORPHYRINES GLYCOSYLÉES ÉTHYLÉNIQUES

Dans le but d'optimiser le caractère amphiphile de ces porphyrines, les produits **20a**, **21a**, **23a** et **24a** ont été dihydroxylés au niveau de la double liaison éthylénique. Nous nous proposons tout d'abord de décrire brièvement les réactions de dihydroxylation asymétrique.

IV.1 - LA DIHYDROXYLATION ASYMÉTRIQUE : QUELQUES DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

Divers procédés d'obtention de diols à partir d'alcènes existent dans la littérature⁶. Nous pouvons citer, par exemple, l'utilisation d'une solution aqueuse diluée de permanganate de potassium^{6a}, l'action d'un *peracide* sur une oléfine suivie de l'hydrolyse de l'époxyde intermédiaire^{6b} ou encore la réaction de Prévost^{6c} en présence d'iode et d'acétate (ou benzoate) d'argent. Un autre réactif pouvant induire cette transformation est le tétroxyde d'osmium dont l'ester d'osmium intermédiaire peut être isolé.^{6d} Ce dernier est l'espèce catalytique de l'AD-mix- β que nous avons utilisé pour effectuer les réactions de dihydroxylation sur les composés **20a**, **21a**, **23a** et **24a** obtenus précédemment.^{6e}

Les réactions de dihydroxylation sont généralement réalisées dans des conditions biphasiques en présence de $K_3Fe(CN)_6$ qui joue le rôle de co-oxydant. En effet, il a été montré que ce dernier, associé à K_2CO_3 , constituait un système efficace pour la dihydroxylation d'oléfines catalysée par OsO_4 .⁷ Les conditions biphasiques permettent, par ailleurs, d'éviter la participation des glycolates d'osmium dans un second cycle catalytique entraînant une diminution significative de l'énantiosélectivité⁸ (fig. III-10). Dans un tel système, seul OsO_4 est présent dans la phase organique dans laquelle a lieu la réaction d'osmylation. Les esters

d'osmium (VI) formés subissent alors une hydrolyse permettant de libérer le diol et le ligand dans la phase organique et l'espèce Os(VI) dans la phase aqueuse, où sa réoxydation en OsO₄ peut se produire.

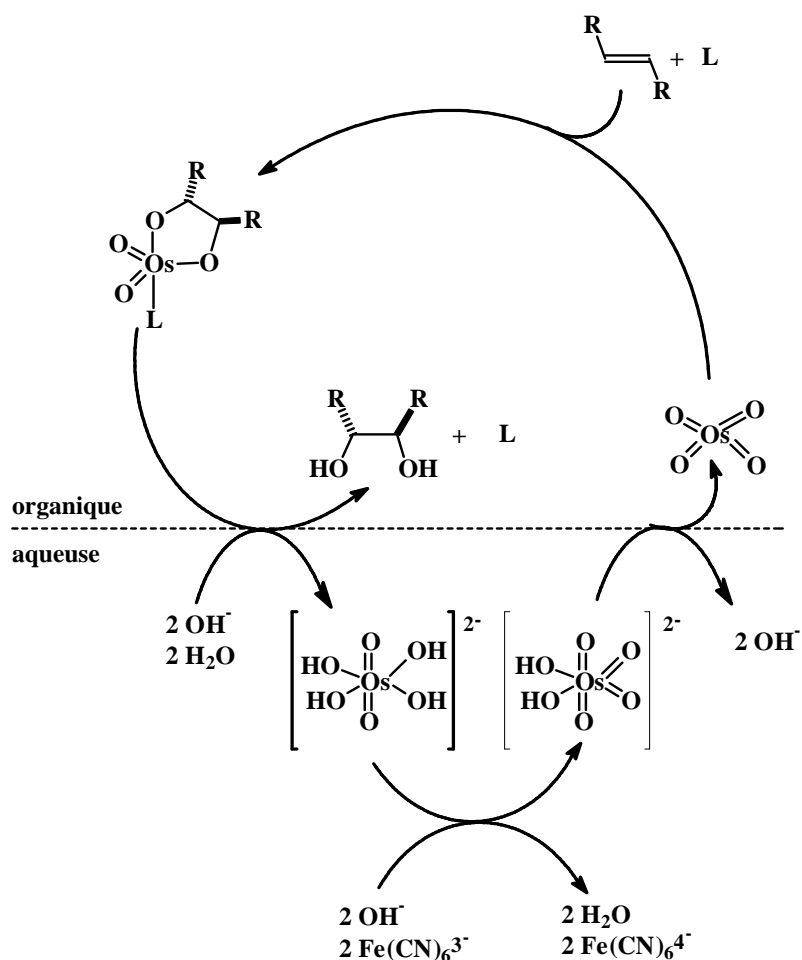
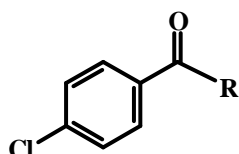


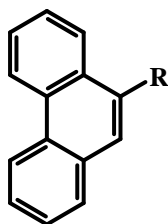
Figure III-10. Dihydroxylation dans un système biphasique.

Enfin, la mise au point d'une nouvelle génération de ligands tels que les ligands phthalazine^{9a}, diphénylpyrimidine^{9b} ou encore indoline^{9c} a permis d'améliorer significativement les rendements et l'énantiosélectivité des réactions de dihydroxylation (fig. III-11).⁹ En raison de leur efficacité, ces trois nouvelles classes de ligands ont désormais remplacé les ligands de première génération dont quelques exemples sont représentés sur cette même figure.¹⁰

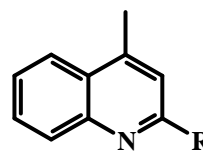
*Première génération de ligands**



Ligand chlorobenzoate



Ligand éther de phénanthryle

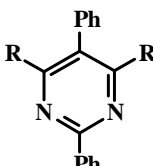


Ligand éther de 4-méthyl-2-quinoléyle

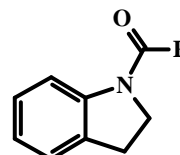
*Seconde génération de ligands**



Ligand phthalazine (PHAL)



Ligand diphenylpyrimidine (PYR)



Ligand indoline (IND)

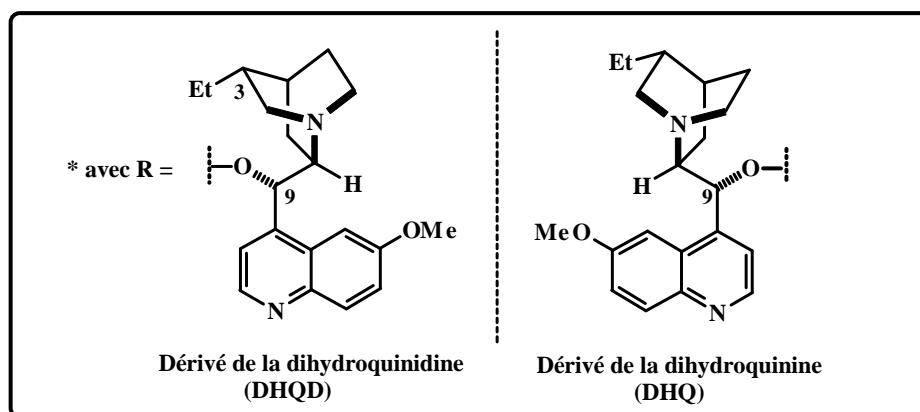
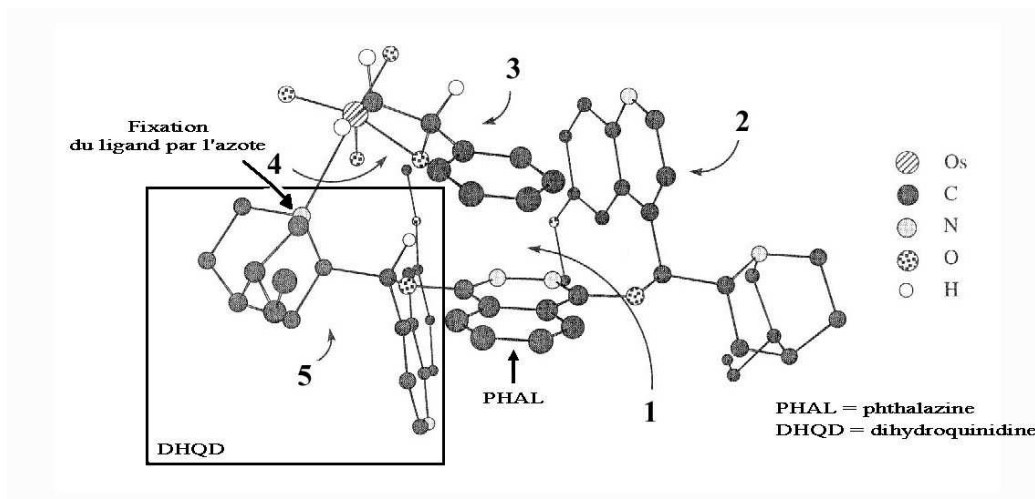


Figure III-11. Exemples de ligands de première et seconde génération.

Les relations entre la structure du ligand et l'activité du catalyseur ont fait l'objet de nombreuses études.¹¹ Il a ainsi été démontré l'existence d'une « poche de liaison » similaire à celle observée pour les enzymes. Cette dernière permet d'orienter sélectivement l'oléfine et d'expliquer, de ce fait, l'énantiosélectivité observée expérimentalement pour ce type de réaction (fig. III-12).



1-Poche de liaison (base = cycle phthalazine). La paroi perpendiculaire est assurée par la méthoxyquinoline ; 2- Méthoxyquinoline (spectatrice) ; 3- Styène ; 4- Intermédiaire osmaoxétane ; 5- Unité alcaloïde active.

Figure III-12. Poche de liaison.¹¹

Une première hypothèse postulait que les deux unités alcaloïdes sur les ligands PHAL ou PYR agissaient de concert mais on s'est rendu compte, par la suite, qu'elles avaient deux fonctions différentes.¹² La première est directement impliquée dans la réaction avec OsO_4 et l'oléfine. Il s'agit de l'unité active. L'autre participe avec l'hétérocycle (PHAL ou PYR) à la formation de la poche de liaison dans laquelle l'oléfine se positionne.

Deux mécanismes ont été proposés dans la littérature.¹³ Le premier s'appuie sur les travaux de Boeseken^{13a} (fig. III-13 - voie A). D'après ces derniers, la réaction procéderait selon un mécanisme concerté [3+2]. Pour Sharpless et coll.^{13b}, la réaction est initiée par une addition de type [2+2] de l'oléfine sur une liaison $\text{Os}=\text{O}$ entraînant la génération d'un intermédiaire osmaoxétane (fig. III-13 - voie B). Le réarrangement de ce dernier conduit alors au glycolate. Compte tenu des résultats expérimentaux obtenus, le mécanisme de la voie A a été écarté au profit de celui proposé par Sharpless et coll.^{13b} qui permet de mieux rendre compte des phénomènes observés.¹⁴

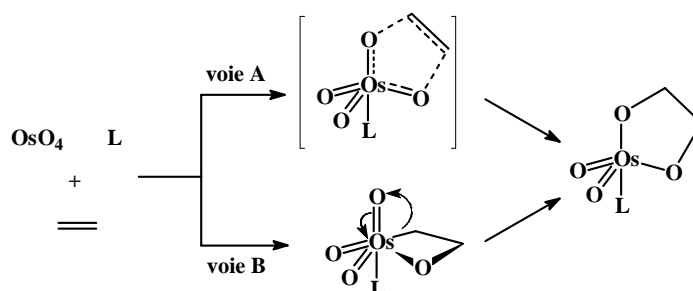
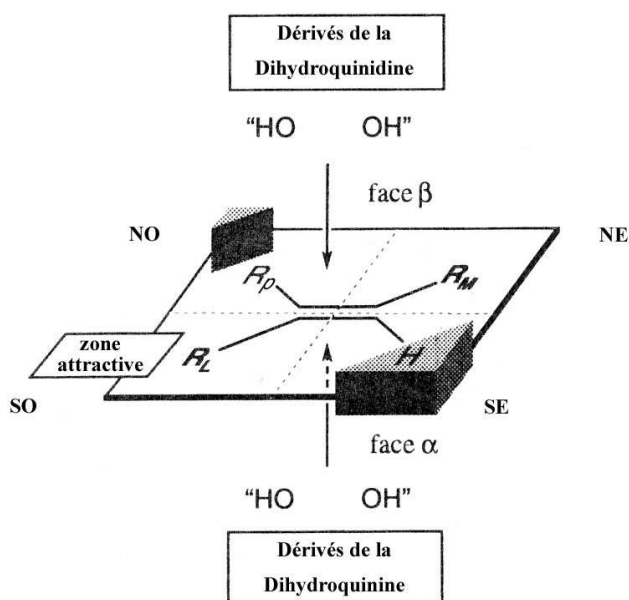


Figure III-13. Mécanismes proposés pour la dihydroxylation.

En outre, on peut prévoir la sélectivité énantiofaciale de la réaction par modélisation de celle-ci.^{11,14} Le modèle illustré sur la figure III-14 consiste à considérer le plan de la double liaison et à diviser ce dernier en quatre zones correspondant aux différents substituants.¹¹ La partie sud-est de ce plan et, dans une moindre mesure, celle située au nord-ouest présentent des barrières stériques. Le coin nord-est peut, quant à lui, convenir pour des substituants oléfiniques de taille modérée. Enfin, la partie sud-ouest est une zone particulièrement attractive et bien adaptée pour accueillir des groupements aromatiques ou des groupements aliphatiques volumineux. Une oléfine positionnée selon ce schéma sera attaquée soit par la face du dessus ou β , par exemple lorsque le ligand est DHQD, soit par la face du dessous ou α dans le cas des ligands du type DHQ.





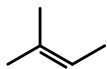
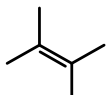


R_p = petit substituant, R_M = substituant de taille moyenne, R_L = substituant volumineux

Figure III-14. Modèle permettant de prévoir la sélectivité énantiofaciale.¹¹

Les différents ligands peuvent être regroupés en trois grandes classes et permettent la dihydroxylation de n'importe quel type d'oléfine. Le tableau III-2 indique les ligands les plus adaptés selon la structure de l'oléfine. Il est à noter que le ligand phthalazine (PHAL) convient à quasiment tous les types d'oléfine, à l'exception des alcènes Z pour lesquels seul est approprié le ligand indoline (IND).

Tableau III-2. Ligands recommandés pour chaque type d'oléfines.

Type d'oléfines						
Ligand préféré	PYR PHAL	PHAL	IND	PHAL	PHAL	PYR PHAL
Gamme ee	30-97%	70-97%	20-80%	90-99,8%	90-99%	20-97%

ee = $100(x_r - x_s)/(x_r + x_s)$ où x désigne la fraction molaire et $x_r > x_s$.

Nous allons maintenant décrire la dihydroxylation asymétrique réalisée sur les composés **20a**, **21a**, **23a** et **24a**. Ces différentes réactions ont été effectuées en présence d'AD-mix- β dont la composition a été définie par Sharpless et coll. (fig. III-15).^{6e} En effet, celui-ci est particulièrement bien adapté pour opérer des réactions de dihydroxylation sur des oléfines *trans*-1,2-disubstituées ce qui est le cas des porphyrines glycosylées éthyléniques synthétisées.

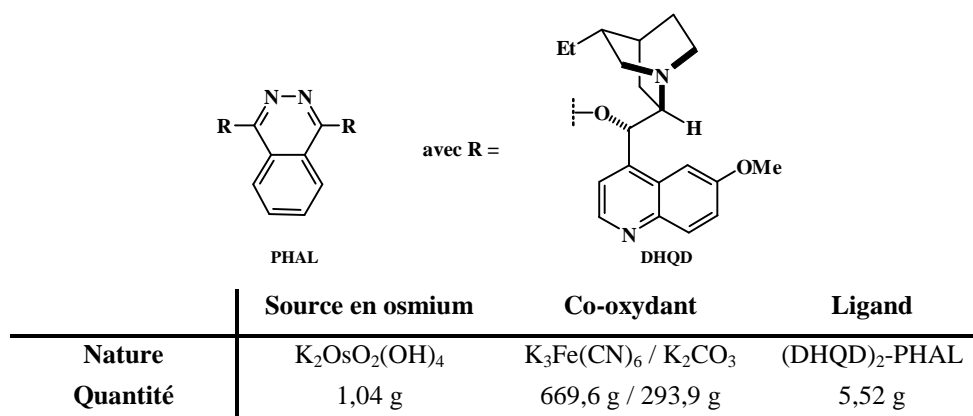


Figure III-15. Composition de l'AD-mix- β pour 1 kg de mélange.

IV.2 - SYNTHÈSE DES PORPHYRINES GLYCOSYLÉES DIHYDROXYLÉES

Les réactions de dihydroxylation conduisant aux produits **25** à **28** ont été réalisées selon la procédure décrite par Sharpless et coll.^{6e} en présence d'AD-mix- β et de méthylsulfonamide. Le rôle de ce dernier consiste à diminuer le temps de réaction en facilitant l'hydrolyse des glycolates d'osmium (VI).^{9a} Le système de solvants que nous avons utilisé est, cependant, légèrement différent par rapport au protocole standard. En effet, les porphyrines glycosylées éthyléniques ne sont pas solubles dans le système binaire *tert*iobutanol/eau – 1/1 employé classiquement. Nous avons donc opté pour le système ternaire *tert*iobutanol/*t*-butylméthyl éther/eau – 2,5/3/2,5 proposé par Zhou et coll.¹⁵ qui s'est révélé le plus adapté pour nos produits. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau III-3.

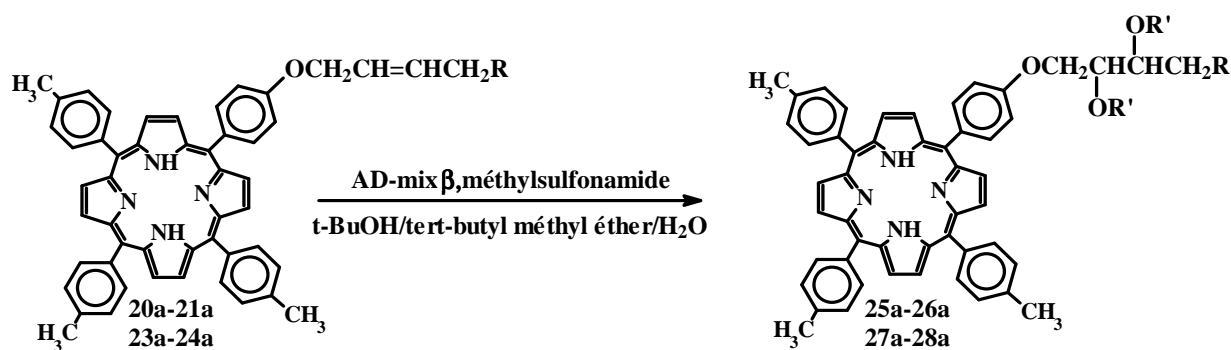


Tableau III-3. Synthèse des porphyrines dihydroxylées.

Substrat	R	Conf.	Concentration ($\times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)	Produit	R'	Rdt
20a	OgalBz	β	1,1	25a	H	68%
21a	OglcBz	β	0,6	26a	H	47%
23a	galAc	α	1,5	27a	H	42%
24a	glcAc	α	1,5	28a	Ac	49%

Les produits **25** à **28** ont ainsi été isolés, après purification par chromatographie, avec des rendements variant de 42% à 68%. Compte tenu du haut poids moléculaire de ces produits, de la faible quantité disponible et de leur relative solubilité, la concentration en porphyrine introduite (de l'ordre de $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) est, par ailleurs, très inférieure à celle du protocole standard ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$). Les conditions de dilution dans lesquelles nous avons opéré peuvent expliquer, dans une certaine mesure, les résultats obtenus. En outre, les réactions étant effectuées en milieu fortement basique, nous avons pensé qu'il pouvait se produire une déprotection partielle de nos produits. C'est pourquoi nous avons procédé à une réacétylation du brut obtenu à l'issue de la dihydroxylation du composé **24a**. Cependant, nous n'avons pas observé de différence de rendement significative ce qui tend à prouver qu'il ne se produit pas de déprotection dans les conditions opératoires utilisées.

La configuration des produits résultant de la dihydroxylation a été déterminée à l'aide du modèle¹¹ décrit précédemment (fig. III-15). Les substituants R et R' ont été placés en tenant compte des critères établis par Sharpless et coll.¹¹ (fig. III-16). Le ligand étant un dérivé de la dihydroquinidine DHQD, l'attaque se fait préférentiellement par la face β .

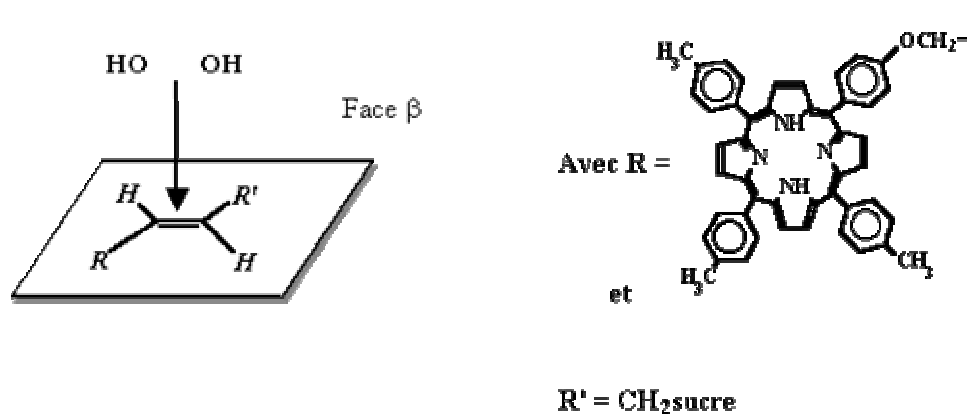


Figure III-16. Détermination de la configuration des produits obtenus.

Il semble donc que les produits obtenus majoritairement du fait de l'attaque par la face β soient les composés (R,R) représentés sur la figure III-17. Nous n'avons pas pu déterminer les excès énantiomériques en raison des faibles quantités de produits obtenus à l'issue des réactions de dihydroxylation. Toutefois, compte tenu des contraintes stériques liées à la présence du macrocycle, une attaque par la face α conduisant aux énantiomères des produits isolés paraît difficile. Cette hypothèse reste à confirmer lors de futurs travaux.

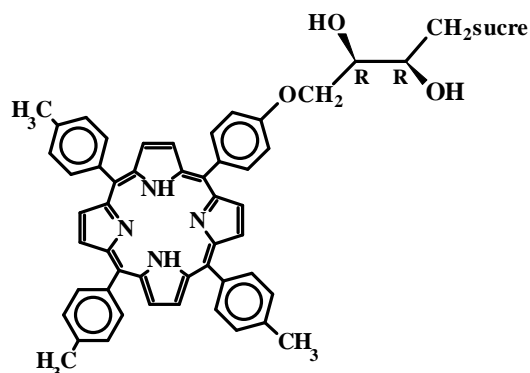


Figure III-17. Structure et configuration des produits de dihydroxylation **25a-28a**.

Les structures de ces produits ont été confirmées par spectroscopie RMN du proton et du carbone 13 ainsi que par spectrométrie de masse pour les composés **25a** et **28a**. Les porphyrines glycosylées **26a** et **27a** ayant été récupérées, quant à elles, en trop petite quantité pour une analyse RMN, nous avons opté pour une caractérisation par spectrométrie de masse haute résolution qui nous a permis de confirmer leurs structures. Nous avons également effectué la caractérisation par spectroscopie UV-visible des différents produits synthétisés et obtenu des spectres dont l'allure correspond bien à ceux obtenus classiquement pour des porphyrines.

V - DEPROTECTION DES PORPHYRINES GLYCOSYLÉES

Les réactions de déprotection sont généralement opérées en milieu basique en présence de systèmes tels que des solutions méthanoliques de méthanolate de sodium, de méthanolate de barium, de soude, d'ammoniac, de diéthylamine ou d'autres amines. Dans notre cas, les porphyrines de départ n'étant pas solubles dans le méthanol, nous avons réalisé la réaction de déprotection dans un mélange dichlorométhane/méthanol 7/3 en présence d'une solution méthanolique de méthanolate de sodium. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau III-4. Après précipitation à l'éther de pétrole et éventuellement purification sur colonne de silice phase inverse, les différents produits ont été isolés avec des rendements variant de 38% à 99%. Ces porphyrines sont insolubles dans l'eau et relativement solubles dans des solvants mixtes THF/H₂O - 80/20 ou 95/5.

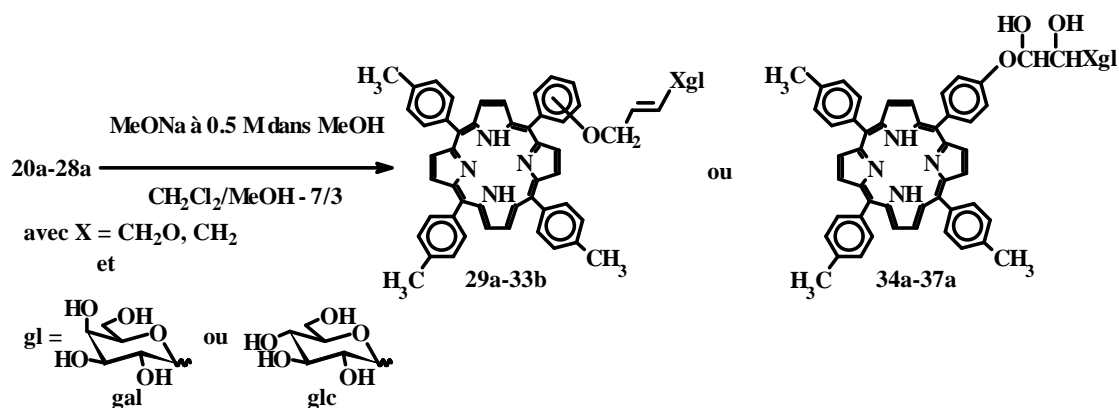


Tableau III-4. Déprotection des porphyrines glycosylées.

Substrat	X	gl	Conf.	Produit	Rdt
20a	CH ₂ O	gal	β	29a	94%
21a	CH ₂ O	glc	β	30a	95%
21b	CH ₂ O	glc	β	30b	30%
22a	CH ₂ O	gal	α	31a	94%
22b	CH ₂ O	gal	α	31b	96%
23a	CH ₂	gal	α	32a	94%
23b	CH ₂	gal	α	32b	80%
24a	CH ₂	glc	α	33a	74%
24b	CH ₂	glc	α	33b	98%
25a	CH ₂ O	gal	β	34a	94%
26a	CH ₂ O	glc	β	35a	99%
27a	CH ₂	gal	α	36a	99%
28a	CH ₂	glc	α	37a	85%

VI - CARACTÉRISATIONS SPECTRALES

Les différents produits synthétisés au cours de ce travail ont été caractérisés par spectroscopie UV-visible, spectrométrie de masse ainsi que par spectroscopie RMN du proton et du carbone 13 dans le cas des produits protégés.

VI.1 - SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE

VI.1.1 - Cas des *meso*-porphyrines glycosylées protégées

Les spectres sont enregistrés dans le dichlorométhane. Ils sont très proches de ceux observés pour les *meso*-5,10,15,20-tétraphénylporphyrines avec une forte bande d'absorption vers 420 nm, appelée bande de Soret et quatre bandes de moindre intensité, nommées bandes Q et notées respectivement I, II, III et IV vers 650, 590, 550 et 520 nm. Ces différentes valeurs sont présentées dans le tableau III-5.

Tableau III-5. Spectres UV-visible des composés protégés dissous dans CH₂Cl₂. λ_{\max} (nm) [$\times 10^{-3} \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$].

Composés	Soret	IV	III	II	I
20a	420 (514,9)	517 (15,5)	552 (10,5)	592 (5,1)	649 (5,0)
21a	420 (446,9)	517 (14,8)	553 (8,6)	592 (3,7)	648 (3,4)
21b	419 (313,7)	515 (11,1)	551 (5,3)	590 (3,3)	645 (2,6)
22a	419 (386,0)	517 (14,7)	552 (9,6)	592 (4,8)	648 (4,8)
22b	419 (640,0)	516 (18,1)	551 (8,4)	591 (5,1)	647 (4,0)
23a	419 (462,9)	517 (17,0)	553 (9,7)	592 (5,2)	648 (4,9)
23b	419 (425,3)	516 (13,8)	551 (7,5)	591 (4,4)	647 (3,5)
24a	420 (392,2)	517 (10,9)	552 (11,3)	593 (4,9)	648 (3,1)
24b	419 (302,6)	515 (11,9)	551 (6,7)	591 (3,8)	647 (2,9)
25a	420 (467,3)	517 (16,6)	552 (11,1)	592 (5,4)	649 (5,3)
26a	420 (671,4)	516 (22,1)	553 (13,3)	592 (7,1)	648 (6,6)
27a	419 (313,7)	516 (11,3)	552 (7,2)	592 (3,6)	648 (3,2)
28a	420 (381,4)	516 (11,7)	552 (7,8)	592 (4,1)	647 (3,4)

Les spectres de ces porphyrines, dont un exemple est représenté sur la figure III-18 présentent, outre la bande de Soret, les quatre bandes Q attendues pour des porphyrines de type étio. En outre, on observe un léger déplacement des bandes Q vers le rouge pour les composés *ortho* par rapport à leurs analogues *para*.

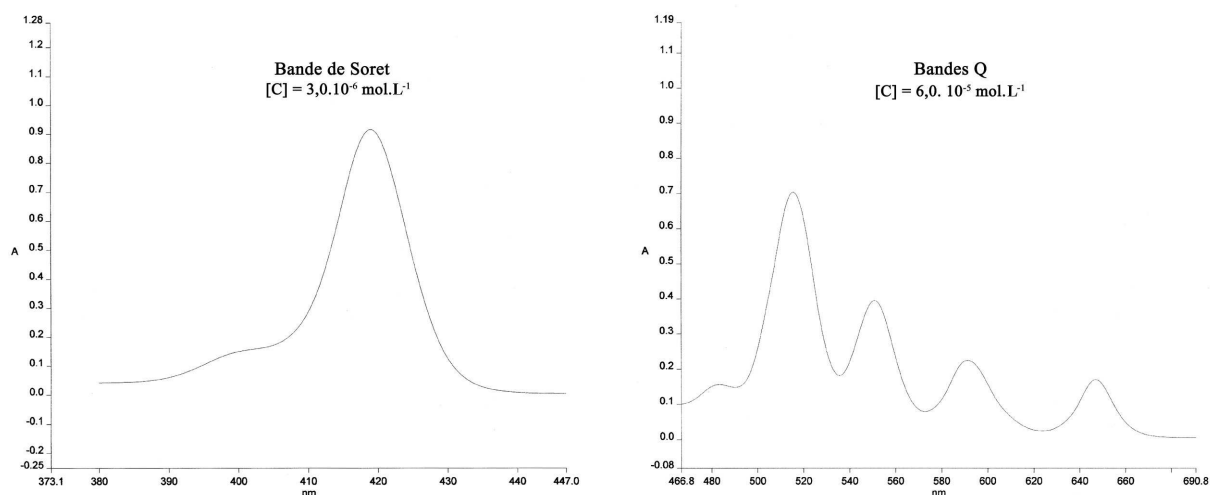


Figure III-18. Spectre UV-visible du composé C-glucosylé **23b**.

VI.1.2 - Cas des *meso*-porphyrines glycosylées déprotégées

Les porphyrines déprotégées n'étant pas solubles dans le dichlorométhane, leurs spectres ont été réalisés dans le solvant mixte THF/H₂O – 8/2 (tableau III-6). Les spectres sont similaires à ceux des produits protégés correspondants et appartiennent également au type étio.

Tableau III-6. Spectres UV-visible des composés déprotégés. $\lambda_{\max}(\text{nm})$ [$\epsilon \times 10^{-3} \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$].

Composés	Soret	IV	III	II	I
29a	419 (387,7)	515 (14,0)	551 (9,5)	594 (4,8)	650 (4,9)
30a	418 (410,1)	515 (16,6)	551 (9,8)	593 (4,4)	649 (4,2)
30b	418 (382,9)	514 (15,6)	548 (7,7)	592 (4,6)	648 (3,9)
31a	419 (170,1)	516 (10,0)	551 (8,4)	591 (5,1)	649 (4,1)
31b	418 (245,2)	514 (9,7)	549 (4,9)	592 (2,9)	648 (2,6)
32a	418 (327,1)	516 (15,3)	551 (9,1)	593 (4,0)	649 (3,9)
32b	418 (251,9)	514 (9,9)	549 (5,5)	593 (3,2)	648 (3,3)
33a	419 (349,8)	515 (14,3)	551 (8,6)	593 (4,2)	649 (4,1)
33b	418 (200,4)	514 (7,9)	549 (4,3)	593 (2,5)	648 (2,1)
34a	418 (246,7)	515 (8,9)	551 (5,8)	594 (2,8)	650 (2,8)
35a	419 (273,3)	515 (9,6)	552 (6,4)	594 (3,1)	649 (2,7)
36a	419 (265,9)	515 (9,9)	551 (6,6)	594 (3,2)	649 (2,8)
37a	419 (337,5)	515 (12,0)	552 (8,3)	594 (4,5)	649 (4,0)

VI.2 - SPECTROMÉTRIE DE MASSE

VI.2.1 - Cas des *meso*-porphyrines glycosylées protégées

La masse molaire des porphyrines glycosylées a été vérifiée par spectrométrie de masse. Les données obtenues pour les porphyrines glycosylées éthyléniques **20a** à **24b** et pour

les produits dihydroxylés **25a** et **28a** sont reportées dans le tableau III-7. Un exemple de spectre correspondant au composé C-glucosylé **24a** est représenté sur la figure III-19.

Les porphyrines sont des composés de haut poids moléculaire et de faible volatilité. Les méthodes classiques telles que l'ionisation chimique ou l'impact électronique se révèlent donc inappropriées pour de telles structures. Nous nous sommes tournés vers une technique particulière procédant par désorption laser afin de traiter nos produits : le MALDI. Cette méthode permet l'observation de l'ion quasi-moléculaire sans fragmentation et donc le quasi-contrôle de la pureté de l'échantillon. Ainsi, nous avons pu constater la présence de porphyrines métallées par du zinc, en plus de la porphyrine base libre, dans certains de nos échantillons alors que nous n'avions rien remarqué par spectroscopie UV-Visible. Les spectres ont été effectués au Laboratoire de Chimie Structurale Organique et Biologique de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris) sous la direction du Docteur Jean-Claude Blais.

Tableau III-7. m/z théorique et expérimental pour l'ion quasi-moléculaire $[M-H]^+$.

Composés	Masse moléculaire calculée	Masse moléculaire expérimentale
20a	1321,49	1321,61
21a	1321,49	1321,46
21b	1073,43	1073,35
22a	1073,43	1073,55
22b	1073,43	1073,48
23a	1057,44	1057,33
23b	1057,44	1057,17
24a	1057,44	1057,34
24b	1057,44	1057,32
25a	1355,50	1355,61
28a	1175,47	1175,47

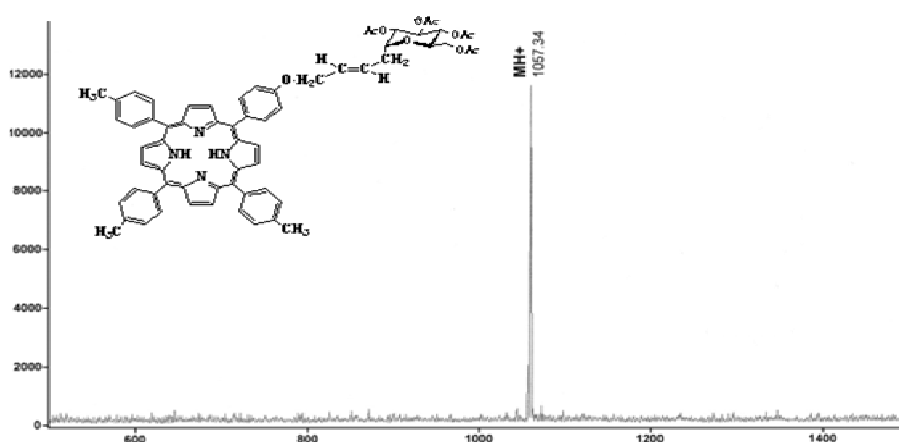


Figure III-19. Spectre de masse de la porphyrine C-glucosylée **24a**.

VI.2.2 - Cas des *meso*-porphyrines glycosylées déprotégées

Les porphyrines déprotégées ne sont pas solubles dans les solvants deutériés employés classiquement en spectroscopie RMN. Nous avons confirmé la structure des produits obtenus par spectrométrie de masse haute résolution dont la précision (<5ppm) permet d'attribuer, sans équivoque, la formule brute correspondant à l'échantillon. De la même façon, nous avons opté pour ce mode de caractérisation pour confirmer la structure des deux produits dihydroxylés **26a** et **27a**. Les résultats obtenus pour les porphyrines déprotégées **29a** à **37a** et les produits dihydroxylés **26a** et **27a** sont regroupés dans le tableau III-8. Pour chaque composé ont été observés l'ion quasi-moléculaire $[M-H]^+$ mais aussi, dans certains cas, les ions $[M-Na]^+$ et $[M-K]^+$.

Tableau III-8. m/z théorique et expérimental pour les produits déprotégés.

Composé	$[M-H]^+$		$[M-Na]^+$		$[M-K]^+$	
	m/z attendu	m/z expérimental	m/z attendu	m/z expérimental	m/z attendu	m/z expérimental
26a	1355,5017	1355,4982	1377,4837	1377,4845	-	-
27a	1091,4443	1091,4427	1113,4262	1113,4296	-	-
29a	905,3914	905,3922	927,3734	927,3715	-	-
30a	905,3914	905,3919	927,3734	927,3725	-	-
30b	905,3914	905,3897	-	-	-	-
31a	905,3914	905,3922	-	-	-	-
31b	905,3914	905,3902	927,3734	927,3729	-	-
32a	889,3965	889,3971	-	-	-	-
32b	889,3965	889,3961	911,3785	911,3777	927,3524	927,3469
33a	889,3965	889,3974	911,3785	911,3764	927,3524	927,3491
33b	889,3965	889,3963	911,3785	911,3805	-	-
34a	939,3969	939,3972	961,3788	961,3785	-	-
35a	939,3969	939,3969	961,3788	961,3765	-	-
36a	923,4020	923,4026	945,3839	945,3835	-	-
37a	923,4020	923,4028	945,3839	945,3894	-	-

VI.3 - SPECTROSCOPIE RMN

La numérotation utilisée pour désigner les différents protons et carbones est illustrée ci-dessous, dans le cas du produit **20a** (fig. III-20).

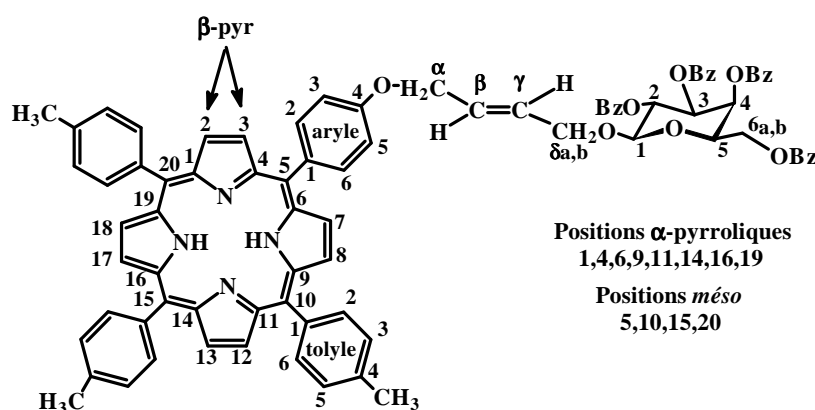


Figure III-20. Numérotation utilisée - Cas du produit O-galactosylé **20a**.

VI.3.1 - RMN du proton

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton des *meso*-porphyrines glycosylées sont enregistrés à 400,13 MHz dans CDCl_3 . Des compléments en deux dimensions (COSY, HMQC) ont permis de confirmer, le cas échéant, les attributions des signaux. Celles-ci sont détaillées dans les tableaux III-9, III-10 et III-11. En outre, les spectres de la porphyrine O-galactosylée en *para* **20a** et du produit dihydroxylé correspondant **25a** sont donnés à titre d'exemple sur la figure III-23. D'une manière générale, on retrouve sur les différents spectres, 7 familles de signaux :

- les protons β pyrroliques vers 8,80 ppm,
- les protons des groupements aryle et tolyle entre 7,20 et 8,15 ppm,
- les protons osidiques entre 3,15 et 6,05 ppm pour les porphyrines O-glycosylées et 3,40 et 5,50 ppm pour les dérivés C-glycosylés,
- les protons de la chaîne carbonée entre 1,60 et 6,20 ppm,
- les protons des méthyles appartenant aux groupements tolyle vers 2,70 ppm,
- les protons des groupements benzoyle entre 8,15 et 7,25 ppm ou acétyle vers 2,00 ppm,
- les protons NH pyrroliques vers -2,70 ppm.

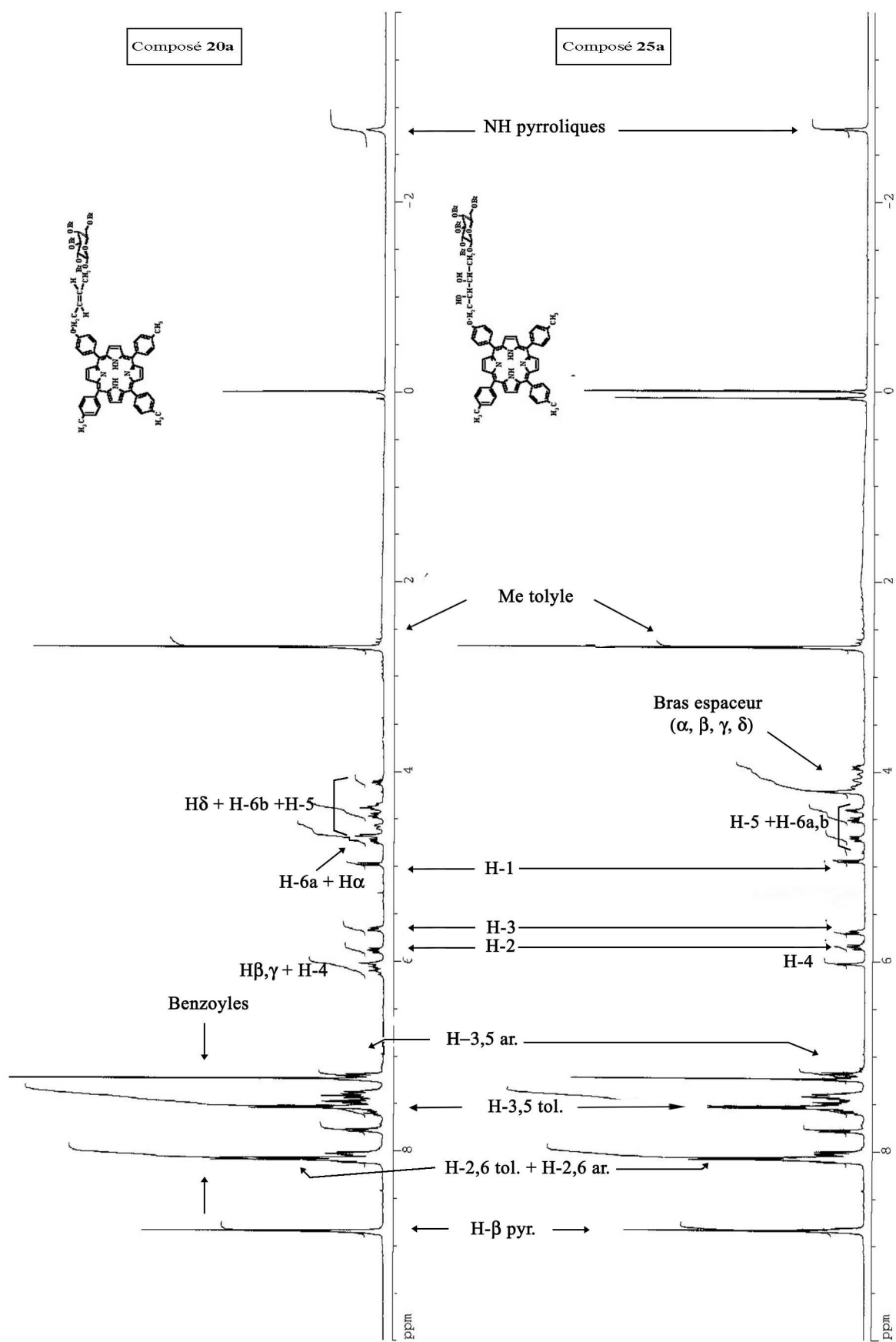


Figure III-21. Spectres RMN des porphyrines **20a** et **25a**.

Tableau III-9. RMN ¹H des porphyrines *para*-substituées **20a**, **21a** et **25a** [δ en ppm (*J* en Hertz)]*.

H	20a	21a	25a
H β pyr.	8,85 s _{el}	8,85 s _{el}	8,85 s 8,83 d (3,5)
NH	-2,76 s	-2,76 s	-2,77 s
p-Tolyle			
2,6	8,09 d (7,9)	8,09 d (7,7)	8,09 d (7,8)
3,5	7,54 d (7,8)	7,54 d (7,8)	7,55 d (7,8)
Me	2,70 s	2,70 s	2,70 s
Aryle			
2,6	8,04 d (8,4)	8,03 d (8,5)	8,08 d (8,9)
3,5	7,21 d (8,6)	7,20 d (8,5)	7,19 d (8,5)
Bras			
α	4,68 d (4,5)	4,68 d _{el} (3,6)	4,21 m
β	6,12 dt (4,9-15,6) ^a	6,09 dt (4,9-15,7) ^a	4,16 m ^a
γ	6,05 m ^a	6,02 dt (5,2-15,9) ^a	4,07 m ^a
δ_a	4,59 dd (3,7-13,1)	4,53 m	4,21 m
δ_b	4,36 m	4,32 dd _{el} (5,7-13,3)	3,96 dd (5,0-10,3)
Glycosyle			
1	4,98 d (8,0)	5,0 d (7,8)	4,95 d (7,9)
2	5,89 dd (8,0-10,3)	5,62 dd (7,8-9,7)	5,85 dd (7,9-10,3)
3	5,67 dd (3,4-10,3)	5,96 t (9,6)	5,70 dd (3,4-10,3)
4	6,03 d _{el} (3,3)	5,72 t (9,7)	6,03 d _{el} (3,0)
5	4,39 t (6,6)	4,22 ddd (3,3-5,2-9,8)	4,42 t _{el} (6,3)
6 _a	4,74 dd (6,5-11,2)	4,69 dd (3,2-11,9)	4,72 dd (6,7-11,3)
6 _b	4,47 dd (6,6-11,1)	4,56 dd (5,2-12,0)	4,52 dd (6,1-11,3)
Benzoyles	8,13 - 7,36 m	8,05 - 7,26 m	8,13 - 7,39 m

* Les attributions affectées du même exposant dans une même colonne sont réversibles.

Tableau III-10. RMN ¹H des porphyrines O-et C-galactosylées **22a,b** et **23a,b** [δ en ppm (J en Hertz)]*.

H	22a	22b	23a	23b
H β pyr.	8,85 s _{él}	8,84 s _{él} 8,83 d _{él} (4,5) 8,77 d _{él} (4,0)	8,85 s _{él}	8,84 s 8,77 d (4,6)
NH	-2,76 s	-2,74 s	-2,76 s	-2,74 s
p-Tolyle				
2,6	8,09 d (7,8)	8,08 m	8,09 d _{él} (7,6)	8,09 m
3,5	7,55 d (7,8)	7,55 d _{él} (7,7)	7,54 d (7,6)	7,54 d (7,5)
Me	2,70 s	2,70 s _{él}	2,69 s	2,70 s
Aryle				
2	8,12 d (8,6)	/	8,11 d _{él} (8,6)	/
3	7,28 d (8,5)	7,33 d (8,6)	7,26 d (8,6)	7,31 d (8,2)
4	/	7,75 dt (1,4-8,3)	/	7,73 t _{él} (8,2)
5	7,28 d (8,5)	7,37 t _{él} (7,4)	7,26 d (8,6)	7,35 t _{él} (7,2)
6	8,12 d (8,6)	8,00 dd (1,3-7,3)	8,11 d _{él} (8,6)	7,99 dd (1,3-7,2)
Bras				
α	4,84 d _{él} (4,6)	4,41 s _{él}	4,76 d (4,6)	4,34 d (4,7)
β	6,19 dt (5,0-15,8) ^a	5,31 dt (5,0-15,4) ^a	6,03 dt (4,9-15,6) ^a	5,14 dt (5,0-15,6)
γ	6,11 dt (5,1-15,7) ^a	5,29 m ^a	5,97 dt (6,0-15,6) ^a	5,14 dt (5,0-15,6)
δ_a	4,37 m	3,60 dd (4,2-13,0)	2,62 m	2,70 - 1,60 m
δ_b	4,21 dd (5,8-12,0)	3,41 dd (5,8-13,0)	2,44 dt (5,2-15,0)	2,70 - 1,60 m
Glycosyle				
1	5,25 d (3,6)	4,74 d (3,6)	4,41 dt (4,8-9,9)	3,84 dt (4,9-9,8)
2	5,21 dd (3,6-10,7)	4,90 dd (3,6-10,9)	5,34 dd (4,8-9,1)	4,97 dd (5,1-9,2)
3	5,46 dd (3,3-10,7)	5,10 dd (3,3-10,8)	5,28 dd (3,2-9,1)	4,88 dd (3,2-9,2)
4	5,52 d _{él} (3,2)	5,26 d (2,7)	5,50 t (2,9)	5,13 d (3,0)
5	4,34 t _{él} (6,5)	3,92 m	4,19 ddd (2,4-4,9-6,9)	3,69 m
6 _a	4,16 d (6,5)	3,87 dd (6,0-10,8)	4,31 dd (6,9-10,8)	3,69 m
6 _b	4,16 d (6,5)	3,81 dd (6,6-10,6)	4,13 dd (5,3-10,8)	3,69 m
Acétyles				
	2,17 s	2,04 s	2,14 s	2,00 s
	2,14 s	1,88 s	2,10 s	1,86 s
	2,09 s	1,72 s	2,06 s	1,64 s
	2,01 s	1,54 s		1,60 s

* Les attributions affectées du même exposant dans une même colonne sont réversibles.

Tableau III-11. RMN ¹H des porphyrines O-et C-glucosylées **21b**, **24a,b** et **28a** [δ en ppm (J en Hertz)]*.

H	21b	24a	24b	28a
H β pyr.	8,85 s	8,85 s	8,84 s	8,86 d (4,6)
	8,83 d _{el} (4,5)		8,84 d (4,0)	8,85 s _{el}
	8,77 d _{el} (4,5)		8,77 d (4,3)	8,83 (4,7)
			8,76 d (4,3)	
NH	-2,74 s	-2,76 s	-2,74 s	-2,78 s
p-Tolyle				
2,6	8,09 d (7,9)	8,09 d (7,6)	8,07 m	8,09 d (7,6)
3,5	7,55 d (7,6)	7,55 d (7,7)	7,55 d (7,6)	7,55 d (7,5)
Me	2,70 s	2,69 s	2,70 s	2,70 s
Aryle				
2	/	8,11 d (8,0)	/	8,13 d (8,3)
3	7,32 d (8,4)	7,26 d (8,5)	7,31 d (8,5)	7,27 d (8,6)
4	7,75 dt (1,6-8,4)	/	7,73 dt (1,4-8,4)	/
5	7,36 t (7,4)	7,26 d (8,5)	7,36 t _{el} (8,1)	7,27 d (8,6)
6	8,01 dd (1,5-7,4)	8,11 d (8,0)	7,99 dd (1,5-7,3)	8,13 d (8,3)
Bras				
α	4,39 d (4,7)	4,77 d (5,2)	4,34 d _{el} (3,7)	4,42 m
β	5,23 dt (4,9-15,7) ^a	6,06 dt (5,3-15,5) ^a	5,16 dt (4,2-15,6)	5,53 m
γ	4,99 dt (5,8-15,7) ^a	5,98 dt (6,4-15,5) ^a	5,16 dt (4,2-15,6)	5,53 m
δ_a	3,73 dd (6,0-13,3)	2,69 m	2,70 - 1,70 m	2,25 - 2,02 m
δ_b	3,42 dd (5,7-13,3)	2,50 dt _{el} (5,1-15,2)	2,70 - 1,70 m	2,25 - 2,02 m
Glycosyle				
1	3,95 d (8,0)	4,40 m	3,79 m	4,42 m
2	4,70 dd _{el} (8,0-9,6)	5,16 dd (5,6-9,3)	4,79 dd (5,7-9,3)	5,15 dd (5,6-8,9)
3	4,85 m	5,40 t (9,0)	4,99 t (9,0)	5,34 t (8,7)
4	4,85 m	5,04 t (9,0)	4,73 t (9,0)	5,00 t (8,7)
5	3,17 ddd (2,1-4,4-9,6)	3,97 ddd (2,6-5,3-8,9)	3,40 ddd (2,8-5,0-9,1)	4,00 m
6 _a	3,94 dd (4,5-12,0)	4,32 dd (5,3-12,2)	3,80 dd (4,8-12,4)	4,34 dd (5,9-12,1)
6 _b	3,75 dd (2,1-12,2)	4,15 dd (2,6-12,2)	3,61 dd (2,5-12,2)	4,16 dd (2,1-12,1)
Acétyles				
	1,92 s	2,13 s	1,87 s	2,25 s
	1,90 s	2,12 s	1,86 s	2,18 s
	1,84 s	2,07 s	1,75 s	2,17 s
	1,50 s	2,06 s	1,62 s	2,13 s
				2,06 s
				2,02 s

* Les attributions affectées du même exposant dans une même colonne sont réversibles.

VI.3.1.1 - Influence de l'orientation de la substitution

Les porphyrines substituées en *para* présentent un spectre plus simple que les composés *ortho*. Ce phénomène est dû au plan de symétrie constitué par le plan perpendiculaire au macrocycle passant par les positions *meso* 5 et 15 des dérivés *para*. Du fait de la perte de symétrie induite par la substitution en *ortho*, on observe, dans cette série, des changements significatifs dans la résonance de l'ensemble des noyaux. Ainsi, les protons β pyrroliques ne résonnent plus sous la forme d'un singulet et de deux doublets, voire d'un unique singulet comme en série *para*, mais sous la forme d'un singulet et de plusieurs doublets. De la même façon, ce changement d'orientation entraîne un élargissement des doublets correspondant aux protons des groupements tolyle. La substitution ayant lieu sur les groupements aryle, ces derniers sont évidemment directement concernés par la modification de la position et voient leurs signaux se multiplier. La figure III-22 illustre les modifications de la zone correspondant aux protons β pyrroliques et aromatiques lors du passage d'une substitution en *para* à une substitution en *ortho*.

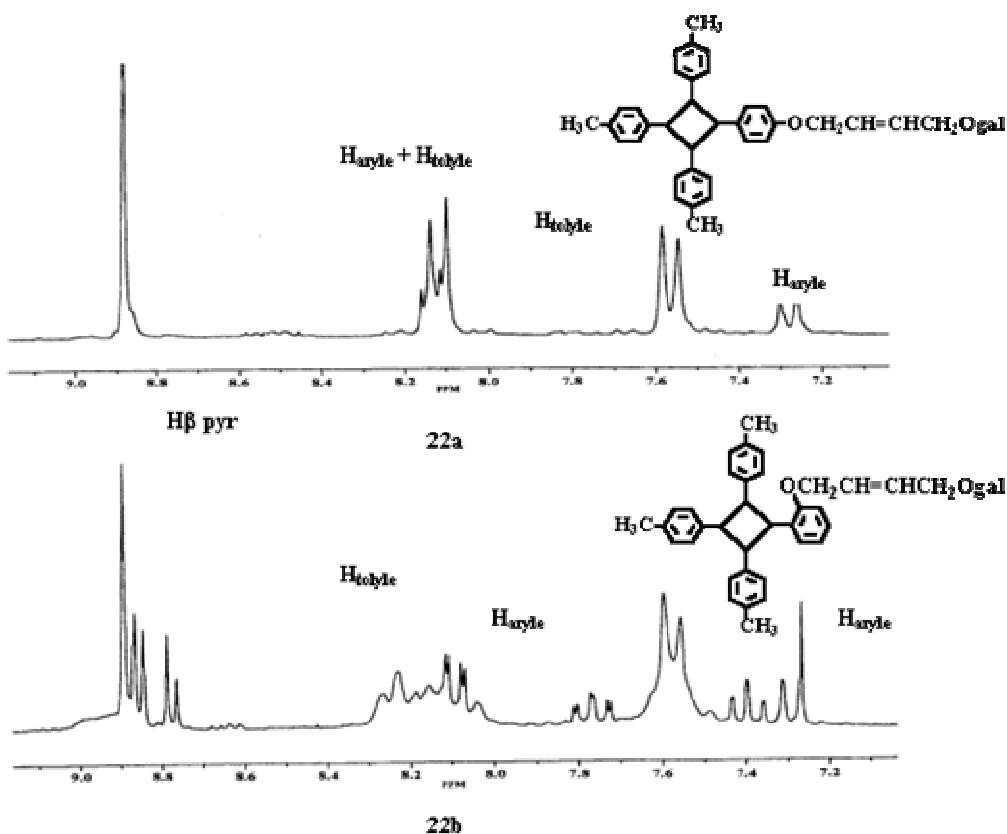


Figure III-22. Comportement des protons β pyrroliques et aromatiques des composés 22a,b.

Les protons osidiques et ceux de la chaîne alkylée sont également fortement affectés par le changement d'orientation de la substitution. Le tableau III-12 présente les variations des déplacements chimiques de ces différents protons lorsque l'on passe d'une substitution *para* à une substitution *ortho*.

Tableau III-12. Variation des déplacements chimiques ($\Delta\delta$).

H	$\Delta\delta_{22b/22a}$	$\Delta\delta_{23b/23a}$	$\Delta\delta_{24b/24a}$
Bras			
α	-0.43	-0.42	-0.43
β	-0.88	-0.89	-0.90
γ	-0.82	-0.83	-0.82
δ_a	-0.77	-	-
δ_b	-0.80	-	-
Glycosyle			
1	-0.51	-0.57	-0.61
2	-0.31	-0.37	-0.37
3	-0.36	-0.40	-0.41
4	-0.26	-0.37	-0.31
5	-0.42	-	-0.57
δ_a	-0.29	-	-0.52
δ_b	-0.35	-	-0.54

On observe, en effet, un blindage relatif de l'ensemble des signaux. Il est à noter que celui-ci est plus marqué pour les protons du bras espaceur les plus éloignés du groupement phényle. Le blindage observé pour ces différents noyaux suggère que, pour les dérivés *ortho*, la proximité du macrocycle engendre par compression stérique la déformation de celui-ci et l'inclusion du bras glycosylé dans son cône d'anisotropie.^{4a,16} Cependant, le blindage, dans ce cas, est plus faible que celui observé généralement pour des porphyrines glycosylées munies d'un bras espaceur saturé. Ce phénomène peut raisonnablement être interprété par une plus grande rigidité des chaînes insaturées qui rend plus difficile le repliement du bras glycosylé.

VI.3.1.2 - Influence de la nature du glucide

La comparaison des spectres des composés **20a** et **21a**, **23a** et **24a** ainsi que **23b** et **24b** montre que le remplacement d'une unité galactose par un motif glucose n'apporte pas de changements significatifs. En effet, les seules variations observées concernent les protons glucidiques et sont dues à la modification des couplages axiaux-équatoriaux du glycopyranose. On peut noter, cependant, en série *ortho* la multiplication des signaux correspondant aux protons β pyrroliques pour le composé glycosylé par rapport à son analogue galactosylé.

VI.3.1.3 - Influence de la nature de l'hétéroatome lié au carbone anomérique

Les différences notables qui existent entre les porphyrines C- et O-galactosylées se situent au niveau des protons du bras espaceur et des protons osidiques (Tableau III-10). Quelle que soit l'orientation de la substitution, on observe un blindage des protons de la chaîne insaturée. Celui-ci est plus marqué pour les protons en δ du fait de la différence d'électronégativité entre le carbone et l'oxygène. Les protons osidiques - à l'exception de celui en position 2 - sont également blindés pour les composés C-galactosylés par rapport à leurs analogues O-galactosylés. En série C-galactosidique, le couplage supplémentaire du proton anomérique avec les protons du bras espaceur entraîne une complexification de la figure lui correspondant. D'une manière générale, on observe une modification des figures correspondant aux protons glucidiques en position 5 et 6 lorsque l'on passe du dérivé O-galactosylé à son analogue C-galactosylé.

VI.3.1.4 - Influence de la double liaison

La circulation des électrons π de la double liaison crée un champ magnétique associé. Il en résulte que les protons se situant dans le plan de la double liaison se trouvent dans une zone paramagnétique du champ induit et sont, de ce fait, fortement déblindés par rapport à l'alcane correspondant. Par ailleurs, les zones situées au dessus et en dessous du plan de la double liaison sont des zones de blindage du fait de l'influence diamagnétique du champ induit. Nous observons, en effet, un fort déblindage des protons β et γ de la chaîne insaturée des différents produits glycosylés. Il est à noter que, dans le cas des porphyrines O-glycosylées, les protons α et δ sont tous les deux directement liés à un atome d'oxygène. Pourtant, les hydrogènes en α sont toujours plus déblindés que ceux en δ . Cela résulte vraisemblablement d'un effet électro-attracteur plus important du fait de la présence du phényle voire du macrocycle pour les protons en α par rapport à ceux en δ . La réaction de dihydroxylation effectuée sur les produits **20a** et **24a** a pour conséquence la disparition de la double liaison au profit de la génération de deux liaisons carbone-oxygène. Les modifications qui en résultent sur les spectres des produits correspondants affectent surtout les protons du bras espaceur et dans une moindre mesure, les protons β pyrroliques. Le tableau III-13 présente les variations causées par la disparition de la double liaison du fait de la dihydroxylation conduisant aux produits **25a** et **28a**.

Tableau III-13. Variation des déplacements chimiques observés après dihydroxylation.

H	$\Delta\delta_{25a/20a}$	$\Delta\delta_{28a/24a}$
Bras		
α	-0.47	-0.35
β	-1.96	-0.53
γ	-1.98	-0.45
δ_a	-0.38	-
δ_b	-0.40	-

Comme attendu, on observe un blindage de toutes les positions de la chaîne alkyle et plus particulièrement des protons β et γ . Ce blindage est cependant moins marqué pour les protons β et γ du composé **28a**. Ceci est dû au fait que les hydroxyles de la chaîne ne sont pas sous forme libre mais protégés par des acétyles. Or, dans le cas des carbonyles, on observe un phénomène similaire à celui décrit précédemment pour les alcènes, à savoir un déblindage des protons se situant dans le plan de la double liaison et un blindage de ceux positionnés au dessus. Par ailleurs, les figures des protons du bras espaceur sont fortement modifiées et leur attribution, rendue délicate du fait de leur manque de résolution. Dans ce cas précis, les compléments en deux dimensions (COSY et HMQC) nous ont permis de lever toute ambiguïté.

VI.3.2 - RMN du carbone 13

Comme pour les homodimères glucidiques, la RMN du ^{13}C associée à la séquence J-MODE et à la corrélation hétéronucléaire directe ^1H - ^{13}C (HMQC) est nécessaire pour permettre l'attribution de tous les protons en RMN ^1H . Les attributions détaillées des signaux sont rassemblées dans les tableaux III-14 et III-15. Comme en RMN du proton, on retrouve plusieurs familles de signaux :

- les carbones des fonctions carbonyle sont les plus déblindés et se situent vers 170,0 ppm,
- le signal résonnant à environ 158,4 ppm correspond à un carbone quaternaire aromatique directement lié à un atome d'oxygène. Suivant l'orientation de la substitution, il appartient au C-4 ou au C-2 aryle,
- les carbones α et β pyrroliques résonnent respectivement à 150,3 et 131,9 ppm et se présentent sous la forme de figures élargies du fait de la tautomérie des protons NH pyrroliques. Dans certains cas, ils sont à peine visibles,
- les signaux observés à 139,3 et 137,3 ppm correspondent aux carbones quaternaires en position 1 et 4 des groupements tolyle. Le carbone le plus déblindé est celui directement lié au macrocycle, c'est à dire C-1,

- le carbone quaternaire C-1 aryle résonne vers 135,0 ppm en série *para* et vers 132,0 ppm pour les dérivés *ortho*,
- on observe le signal correspondant aux carbones tertiaires C-2,6 et C-3,5 des groupements tolyle à respectivement 134,5 et 127,4 ppm,
- les carbones tertiaires correspondant au C-2,6 aryle des composés *para* résonnent à 135,6 ppm. En série *ortho*, le carbone C-6 est légèrement déblindé,
- on observe, pour les composés substitués en *ortho*, un signal vers 130,0 ppm correspondant au C-4 aryle,
- en série *para*, les carbones C-3,5 aryle résonnent vers 112,8 ppm. Ce déplacement reste identique pour le carbone tertiaire C-3 des dérivés *ortho* et est légèrement déblindé pour le carbone en C-5,
- les carbones *meso* résonnent sous la forme de trois signaux autour de 120,0 ppm,
- le carbone anomérique résonne vers 100,0 ppm pour les porphyrines O-glycosylées et vers 70,0 ppm pour les dérivés C-glycosylés,
- les autres carbones osidiques se situent entre 60,0 et 75,0 ppm,
- les carbones C- β,γ du bras espaceur sont fortement déblindés vers 128,0-129,0 ppm. Après dihydroxylation et disparition de la double liaison, ils résonnent vers 70,0 ppm comme le carbone en α ,
- le carbone secondaire C- δ résonne entre 67,9 et 69,5 ppm pour les porphyrines O-glycosylées et est blindé pour les dérivés C-glycosylés du fait de la disparition de l'atome d'oxygène,
- enfin, on observe à 21,5 ppm le signal des méthyles des groupements tolyle et entre 20,0 et 21,0 ppm, ceux des acétyles. Les carbones des groupements benzoyle des composés **20a**, **21a** et **25a** se situent, quant à eux, entre 128,0 et 134,0 ppm.

Tableau III-14. RMN ^{13}C des porphyrines O-et C-glycosylées **20a**, **21a**, **23a**, **24a**, **25a** et **28a** (δ en ppm)*.

C	20a	21a	25a	23a	24a	28a
Pyrroles						
α	150,3	150,4	150,3	150,3	150,3	150,3
β	131,9	131,9	131,9	131,9	131,9	131,9
Meso						
5	119,6	119,6	119,5	119,6	119,6	119,3
10	120,1	120,1	120,1	120,1	120,1	120,1
15	121,1	121,1	121,1	121,1	121,1	121,1
20	120,1	120,1	120,1	120,1	120,1	120,1
p-Tolyle						
1	139,3	139,3	139,3	139,3	139,3	139,3
2,6	134,5	134,5	134,5	134,5	134,5	134,5
3,5	127,4	127,3	127,4	127,4	127,4	127,4
4	137,3	137,3	137,3	137,3	137,3	137,3
Me	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5
Aryle						
1	134,9	134,9	135,1	134,9	134,9	134,9
2	135,6	135,6	135,6	135,6	135,6	135,6
3	112,8	112,8	112,7	112,8	112,8	112,9
4	158,3	158,4	158,2	158,4	158,4	158,0
5	112,8	112,8	112,7	112,8	112,8	112,9
6	135,6	135,6	135,6	135,6	135,6	135,6
Bras						
α	67,9	67,9	72,3	68,6	68,5	66,7
β,γ	128,8	128,8-128,6	70,0	129,6-128,3	129,1-128,5	72,3-66,8
δ	69,3	69,2	69,1	29,8	29,3	29,7
Glycosyle						
1'	100,6	100,2	102,1	71,5	72,0	69,1
2'	69,9	72,0	70,0	68,4	70,2	69,8
3'	71,8	73,0	71,4	68,0	70,3	70,4
4'	68,2	69,8	68,1	67,5	68,7	68,6
5'	71,5	72,4	71,8	68,5	69,1	69,5
6'	62,1	63,2	62,1	61,3	62,2	62,2
Bz ou Ac						
C=O	166,1-165,3	166,2-165,2	166,1-165,5	170,6-169,9	170,7-169,6	170,9-169,4
Ph ou CH ₃	133,6-128,3	133,4-128,8	133,7-128,3	20,9-20,7	20,8-20,7	21,1-20,7

* Les attributions affectées du même exposant dans une même colonne sont réversibles.

Tableau III-15. RMN ^{13}C des porphyrines O-et C-glycosylées **21b**, **22a,b**, **23b** et **24b** (δ en ppm)*.

C	22a	22b	21b	23b	24b
Pyrroles					
α	150,3	150,3	150,3	150,3	150,3
β	131,9	131,9	131,9	131,9	131,9
Meso					
5	119,6	115,7	115,7	115,8	115,8
10	120,1	120,3	120,3	120,3	120,3
15	121,1	119,9	119,9	119,9	119,9
20	120,1	119,9	119,9	119,9	119,8
p-Tolyle					
1	139,3	139,4	139,4	139,3	139,3
2,6	134,5	134,5	134,5	134,5	134,5
3,5	127,4	127,4	127,4	127,4	127,4
4	137,3	137,3	137,3	137,3	137,3
Me	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5
Aryle					
1	135,0	131,8	131,8	131,7	131,7
2	135,6	158,4	158,4	158,4	158,4
3	112,8	112,9	113,1	113,0	113,0
4	158,3	129,8	129,8	129,7	129,7
5	112,8	119,9	120,0	119,9	119,8
6	135,6	136,0	135,9	135,9	136,0
Bras					
α	67,9	68,5	68,5	69,2	69,1
β,γ	128,7-128,6	128,6-127,0	128,1-127,4	128,2-128,1	128,4-127,7
δ	67,8	67,1	68,5	29,7	29,7
Glycosyle					
1'	95,6	95,0	99,3	71,1	71,6
2'	68,1	67,7	71,0	67,8	69,7
3'	67,6	67,4	72,6	67,7	70,1
4'	68,1	67,9	68,1	67,2	68,4
5'	66,5	66,1	71,4	67,9	68,5
6'	61,7	61,5	61,6	60,9	61,7
Acétyle					
C=O	170,4-170,0	170,4-170,0	170,5-169,0	169,5-170,2	170,3-169,3
CH ₃	20,9-20,7	20,6-20,3	20,5-20,2	20,5-20,3	20,6-20,3

* Les attributions affectées du même exposant dans une même colonne sont réversibles.

VI.3.2.1 - Influence de l'orientation de la substitution

Le passage d'une substitution en *para* à une substitution en *ortho* n'a pas d'influence significative sur les déplacements des carbones α et β pyrroliques ni sur ceux des groupements tolyle. Les variations engendrées par le changement d'orientation pour les composés **22a,b**, **23a,b** et **24a,b** sont reportées dans le tableau III-16.

Tableau III-16. Variation des déplacements chimiques ($\Delta\delta$).

C	$\Delta\delta_{22b/22a}$	$\Delta\delta_{23b/23a}$	$\Delta\delta_{24b/24a}$
Meso			
5	-3,9	-3,8	-3,8
10	+0,2	+0,2	+0,2
15	-1,2	-1,2	-1,2
20	-0,2	-0,2	-0,3
Aryle			
1	-3,2	-3,2	-3,2
2	+22,8	+22,8	+22,8
3	+0,1	+0,2	+0,2
4	-28,5	-28,7	-28,7
5	+7,1	+7,1	+7,0
6	+0,4	+0,3	+0,4
Bras			
α	+0,6	+0,6	+0,6
β	-0,1	-1,4	-0,7
γ	-1,6	-0,2	-0,8
δ	-0,7	-0,1	+0,4
Glycosyle			
1	-0,6	-0,4	-0,4
2	-0,4	-0,6	-0,5
3	-0,2	-0,3	-0,2
4	-0,2	-0,3	-0,3
5	-0,4	-0,6	-0,6
6	-0,2	-0,4	-0,5

Comme attendu, du fait de la perte de symétrie, on observe une forte variation pour les carbones aryliques directement concernés par le changement d'orientation et dans une moindre mesure, pour le carbone *meso* en position 5. Les autres carbones sont faiblement et diversement influencés par le passage d'une substitution *para* à une substitution *ortho*.

VI.3.2.2 - Influence de la nature du glucide

En série *para* comme en série *ortho*, le changement d'unité glucidique n'apporte aucune modification significative des déplacements chimiques des carbones correspondant au bras et au macrocycle porphyrinique. Les seules variations observées concernent les déplacements chimiques des sucres eux-mêmes et sont inhérentes à leurs structures propres.

VI.3.2.3 - Influence de la nature de l'hétéroatome lié au carbone anomérique

Comme en RMN du proton, le passage des porphyrines O-glycosylées à leurs analogues C-glycosylés n'affecte que les déplacements chimiques relatifs aux carbones osidiques et au bras espaceur. Les variations observées pour ces positions sont données tableau III-17.

Tableau III-17. Variation des déplacements chimiques ($\Delta\delta$).

C	$\Delta\delta_{23a/22a}$	$\Delta\delta_{23b/22b}$
Bras		
α	+0,7	+0,7
β	+0,9	-0,4
γ	-0,3	+1,1
δ	-38,0	-37,4
Glycosyle		
1	-24,1	-23,9
2	+0,3	+0,1
3	+0,4	+0,3
4	-0,6	-0,7
5	+2,0	+1,8
6	+0,4	-0,6

Comme attendu, les plus fortes variations concernent les carbones directement liés à l'oxygène des porphyrines O-galactosylées **22a** et **22b**. On observe également, dans une moindre mesure, un déblindage d'environ 2 ppm pour le carbone osidique en position 5. Ce phénomène peut être dû à des contraintes stériques légèrement plus importantes lorsque le sucre est fixé par le groupement CH₂ plutôt que par l'atome d'oxygène.

VI.3.2.4 - Influence de la double liaison

Comme en RMN du proton, la disparition de la double liaison n'entraîne de modifications que pour les déplacements chimiques des carbones du bras espaceur et n'a d'influence ni sur les carbones du macrocycle ni sur les carbones osidiques (Tableau III-14). Ce sont, comme on pouvait s'y attendre, les carbones β et γ qui subissent la plus forte variation, passant d'environ 128,8 à 70 ppm.

VII - CONCLUSION

Nous avons rapporté la synthèse de nouvelles porphyrines O- et C-glycosylées avec de bons rendements dans l'ensemble. Les porphyrines glycosylées éthyléniques ont été obtenues par métathèse des alcènes ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été réalisé sur des porphyrines. Récemment, des réactions de métathèse par activation micro-ondes ont été décrites dans la littérature.¹⁷ Il pourrait être intéressant, notamment dans le cas des porphyrines substituées en *ortho*, d'appliquer une méthode similaire en vue d'améliorer les rendements. En opérant les réactions de dihydroxylation sur les produits **20a**, **21a**, **23a** et **24a**, nous avons pu vérifier que ce type de réaction n'affectait pas le macrocycle. Par ailleurs, il a été montré qu'en contrôlant le pH des réactions de dihydroxylation, on pouvait améliorer de façon significative le rendement.¹⁸ De nouveaux essais dans des conditions similaires et en augmentant la concentration en porphyrine introduite pourraient donc permettre d'optimiser la dihydroxylation des porphyrines glycosylées éthyléniques. Les différents produits obtenus au cours de ce travail ont ensuite été déprotégés et ont fait l'objet de tests biologiques *in vitro* sous leur forme libre ou incorporés dans des liposomes (voir en annexe).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

I - RÉACTIFS ET SOLVANTS

Tous les réactifs et solvants sont des produits commerciaux. Leur origine et leur conditionnement sont précisés dans les tableaux IV-1 et IV-2 :

Tableau IV-1. Origine des réactifs utilisés.

Réactifs	Origine	Conservation	Traitement
Acétate d'hydrazine	ACROS	+ 4°C	-
Acétate de sodium	MERCK	TA	-
Acide chlorhydrique 36%	FISHER SCIENTIFIC LABOSI	TA	-
AD-mix β	ALDRICH	TA	-
Alcool allylique	FLUKA	TA	-
Allyl- α -D-galactopyranoside	ALDRICH	TA	-
2-Allyloxybenzaldéhyde	ALDRICH	+ 4°C	-
4-Allyloxybenzaldéhyde	LANCASTER	+ 4°C	-
Allyltriméthylsilane	ACROS	+ 4°C	-
α -D-Glucose pentabenzate	ALDRICH	TA	-
Anhydride acétique	JANSSEN	TA	-
β -D-Allyl glucopyranoside	ALDRICH	+ 4°C	-
β -D-Galactose pentaacétate	ACROS	TA	-
β -D-Glucose pentaacétate	ALDRICH	TA	-
BF ₃ OEt ₂	ALDRICH	+ 4°C	-
Bromure d'allyle	ALDRICH	TA	-
Carbonate de potassium sec	ACROS	TA	activé 24h à 100°C
Catalyseurs de Grubbs	STREM CHEMICALS	+ 4°C	-
Chlorure de zinc	ACROS	TA	-
Cholestérol	SIGMA	- 20°C	-
Cyanure de benzoyle	FLUKA	TA	-
DBU	ALDRICH	TA	-
DL-Dimyristoyl- α -phosphatidyl choline	SIGMA	- 20°C	-
D-(+)-Galactose	ALDRICH	TA	-
4-Hydroxybenzaldéhyde	ACROS	TA	-
Lécithine de soja	ACROS	+ 4°C	-
Méthanolate de sodium	ACROS	+ 4°C	-
Méthylsulfonamide	ACROS	TA	-
Paratolualdéhyde	ALDRICH	+ 4°C	distillé avant utilisation
Pyridine	FLUKA	TA	-
Pyrrole	ACROS	+ 4°C	distillé avant utilisation
Trichloroacétonitrile	ALDRICH	+ 4°C	-
Triéthylamine	ALDRICH	TA	-

Tableau IV-2. Origine des solvants utilisés.

<i>Solvants</i>	<i>Origine</i>	<i>traitement</i>
Acétate d'éthyle	SDS	-
Acétone	FISHER SCIENTIFIC LABOSI	-
Acétonitrile anhydre	SDS	-
Acétonitrile pour HPLC	FISHER SCIENTIFIC LABOSI	-
Acide propanoïque	ACROS	-
Chloroforme	SDS	-
Cyclohexane	SDS	-
Dichlorométhane anhydre stabilisé par amylène	SDS	-
Dichlorométhane	SDS	distillé sur P ₂ O ₅ puis CaH ₂
N,N-Diméthylacétamide	ACROS	-
N,N-Diméthylformamide anhydre	ALDRICH	-
Ethanol absolu	ELVETEC	-
Ether de pétrole	SDS	-
Méthanol	FISHER SCIENTIFIC LABOSI	-
<i>Tertiobutanol</i>	ACROS	-
<i>t</i> -Butyl méthyl éther	ALDRICH	-
Tétrahydrofurane	ACROS	-
Toluène	SDS	-

I - ACTIVATION MICRO-ONDES

I.1 - MICRO-ONDES DE LABORATOIRE

Deux types d'appareil ont été utilisés. Le premier est un Milestone Ethos 1600[®] d'une puissance maximale de 1000W. Il est piloté par ordinateur et l'asservissement peut être réalisé en température ou en puissance. La température est mesurée à l'aide d'une sonde de type fibre optique insérée dans le milieu réactionnel. Le second appareil utilisé est un Synthewave[®] 402 (Prolabo) d'une puissance maximale de 300W. Il est piloté par ordinateur et l'asservissement peut être réalisé en température ou en puissance. La température est repérée à l'aide d'une sonde infrarouge placée sous l'échantillon.

I.2 - MICRO-ONDES DOMESTIQUE

L'acétylation de l'allyl α -D-galactose a été réalisée à l'aide d'un four micro-ondes domestique de marque Goldstar[®] d'une puissance de 750 W en mode décongélation (180W).

II - ANALYSES

II.1 - POUVOIRS ROTATOIRES

Les pouvoirs rotatoires $[\alpha]_D$ sont mesurés à l'aide d'un polarimètre digital Jasco[®] (DIP 370) pour la raie D du sodium et dans une cuve de 1 dm de longueur. Ces mesures sont effectuées à 20°C en solution dans le chloroforme.

II.2 - SPECTROSCOPIE INFRAROUGE

Les spectres IR sont réalisés sur un appareil Perkin Elmer FT-IR spectrometer-Spectrum 1000[®]. Les composés à analyser sont dissous dans du chloroforme et déposés sur une pastille de KBr. Les longueurs d'onde sont mesurées en cm^{-1} .

II.3 - SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE

Les spectres ont été réalisés sur un spectrophotomètre S 5001 $\lambda 25$ [®] (Perkin Elmer Instruments). Tous les spectres sont effectués dans des cellules de quartz de 1 cm de trajet optique à une concentration voisine de 10^{-5} - 10^{-6} mol.L⁻¹. Les longueurs d'onde correspondant aux absorbances maximales sont exprimées en nm et les coefficients d'absorption molaires ϵ en mol⁻¹.L.cm⁻¹.

II.4 - SPECTROSCOPIE RMN

Les spectres RMN ont été enregistrés sur un appareil Bruker DPX avec une fréquence de 400,13 MHz pour le proton et de 100,13 MHz pour le carbone 13 à l'Université de Limoges. Les déplacements (δ) sont exprimés en ppm en prenant le triméthylsilane comme référence interne. Les constantes de couplage sont mesurées en Hz. Les abréviations retenues sont : s (singulet), d (doublet), dd (double doublet), ddd (double double doublet), dddd (double double double doublet), t (triplet), dt (double triplet), ddt (double double triplet), m (multiplet). Les figures élargies comportent un "él" en indice.

II.5 - SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Les spectres de masse des homodimères glycosidiques ont été mesurés en mode Electrospray positif sur un appareil R 10-10 Nermag au Laboratoire de Chimie Structurale I de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI).

Les spectres de masse des porphyrines glycosylées ont été réalisés par désorption laser (MALDI-TOF) au Laboratoire de Chimie Structurale Organique et Biologique de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI) sous la direction du Docteur Jean-Claude Blais.

Les spectres de masse haute résolution ont été déterminés par ionisation en mode Electrospray positif pour les produits finaux déprotégés et les produits résultant de la dihydroxylation au Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest de l'Université de Rennes I.

III - CHROMATOGRAPHIE

III.1 - CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE ANALYTIQUE

La chromatographie sur couche mince analytique est effectuée sur de la silice déposée sur plaques d'aluminium alufolien (gel de silice 60 F₂₅₄ Merck de 0,2 mm d'épaisseur). La révélation des plaques est assurée :

- par observation directe pour les composés colorés,
- par pulvérisation d'un mélange acide sulfurique/orcinol (0,1 g d'orcinol pour 100 mL d'une solution à 20% d'acide sulfurique) suivie d'un simple chauffage pour les composés glycosylés,
- par exposition à la lumière UV à l'aide d'une lampe adéquate pour les composés absorbant dans l'UV,
- en combinant ces techniques le cas échéant.

III.2 - CHROMATOGRAPHIE PRÉPARATIVE

III.2.1 - Chromatographie sur colonne

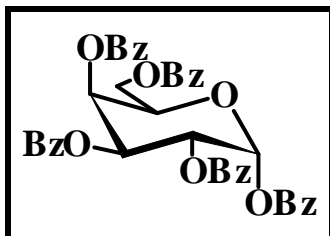
Les chromatographies ont été effectuées à partir de colonnes préalablement conditionnées par l'éluant choisi pour la purification. Nous avons utilisé des colonnes de silice (gel de silice MCL-CHROM, granulométrie : 15-40 µm Merck) de diamètre variant de 2 à 5 cm et de 16 à 30 cm de hauteur suivant la nature et la quantité des composés à purifier. Nous avons également réalisé des purifications sur colonne phase inverse (phase RP-18, granulométrie : 15-40 µm Merck).

III.2.2 - Chromatographie sur couche mince préparative

Les chromatographies sur couche mince préparatives sont réalisées sur des plaques préparées au laboratoire à l'aide de 80 g de silice (Kieselgel 60PF₂₅₄ Merck) et de 220 mL d'eau bidistillée que l'on dépose sur six plaques de verre (20*20 cm) puis qui sont séchées à l'air libre et finalement activées à 110°C pendant deux heures.

IV - SYNTHÈSES

1,2,3,4,6-penta-*O*-benzoyl- α -D-galactopyranose (**1**)^{*}



A 360 mg (2,0 mmol, 1 éq.) de D-galactose en suspension dans une solution d'acétonitrile (20mL) et 1,469 g de cyanure de benzoyle (11,2 mmol ; 5,6 éq.) sont ajoutés 1 mL de triéthylamine. L'ensemble est laissé sous agitation pendant une heure. On procède alors à la filtration du substrat n'ayant pas réagi puis le brut obtenu après évaporation sous vide est purifié sur colonne de gel de silice (toluène/AcOEt – 99,5/0,5). Le produit **1**¹ est alors isolé sous la forme d'une huile jaune orangée avec un rendement de 50% (697 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,60 (toluène/acétate d'éthyle – 9/1)

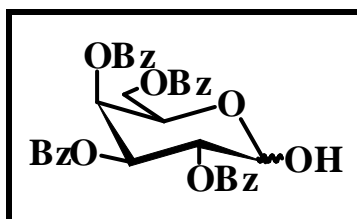
IR : ν cm^{-1} : 3063 (ν_{CH} aromat.) ; 2958 (ν_{CH} sucre) ; 1729 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1584, 1452 ($\nu_{\text{C=C}}$ aromat.) ; 1265 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,13-7,14 (m, 25H, OBz) ; 6,95 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H₁) ; 6,19 (dd, 1H, $J_{4,3} = 3,4$ Hz, $J_{4,5} = 0,9$ Hz, H₄) ; 6,12 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,2$ Hz, $J_{3,2} = 10,7$ Hz, H₃) ; 6,03 (dd, 1H, $J_{2,1} = 3,6$ Hz, $J_{2,3} = 10,7$ Hz, H₂) ; 4,83 (t_{él}, 1H, $J_{5,6} = 6,8$ Hz, H₅) ; 4,63 (dd, 1H, $J_{6a,5} = 6,4$ Hz, $J_{6a,6b} = 11,3$ Hz, H_{6a}) ; 4,42 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 7,0$ Hz, $J_{6b,6a} = 11,3$ Hz, H_{6b})

* RN : 41 545 – 55 –5

¹ Holy, A., *Nucleosides, Nucleotides*, **2**, 251-258, 1975.

2,3,4,6-tétra-O-benzoyl-D-galactopyranose (2)*



968 mg de α -D-galactose pentabenzoylate **1** (1,38 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 8 mL de DMF anhydre. 154,5 mg d'acétate d'hydrazine (1,68 mmol ; 1,2 éq.) sont ajoutés rapidement. L'ensemble est maintenu à température ambiante pendant 16 heures puis 108 mg d'acétate d'hydrazine (1,17 mmol ; 0,8 éq.) sont de nouveau introduits et le mélange laissé 24 heures de plus à température ambiante. 50 mL d'acétate d'éthyle sont alors ajoutés et la phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium (2x10 mL), neutralisée avec une solution glacée de NaHCO₃ saturée (5 mL), lavée à l'eau (3x20 mL), séchée sur MgSO₄, filtrée, évaporée sous pression réduite puis purifiée sur colonne de silice (gradient d'éluion : EP/AcOEt – 80/20 à 65/35). Le mélange des deux anomères² est ainsi récupéré sous la forme d'une mousse blanche avec un rendement de 84% (696 mg, $\alpha/\beta = 83/17$).

Caractérisation :

Rf = 0,54 (toluène/acétone – 9/3)

IR : ν cm⁻¹ : 3442 (v_{OH}) ; 3064 (v_{CH} aromatique) ; 2969 (v_{CH} sucre) ; 1727 (v_{C=O} ester) ; 1584, 1452 (v_{C=C} aromat.) ; 1270 (v_{C-O} ester)

Anomère α : RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 8,10-7,24$ (m, 20H, OBz) ; 6,07 (dd, 1H, J_{3,4} = 3,4 Hz, J_{3,2} = 11,5 Hz, H₃) ; 6,07 (dd, 1H, J_{4,5} = 1,6 Hz, J_{4,3} = 3,5 Hz, H₄) ; 5,85 (t, 1H, J_{1,2} = 3,5 Hz, H₁) ; 5,70 (dd, 1H, J_{2,1} = 3,5 Hz, J_{2,3} = 10,1 Hz, H₂) ; 4,87 (t, 1H, J_{5,6} = 6,5 Hz, H₅) ; 4,62 (dd, 1H, J_{6a,5} = 6,5 Hz, J_{6a,6b} = 11,3 Hz, H_{6a}) ; 4,39 (dd, 1H, J_{6b,5} = 6,6 Hz, J_{6b,6a} = 11,3 Hz, H_{6b}) ; 3,13 (d, 1H, J_{OH,1} = 3,5 Hz, OH)

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 166,3-165,3$ (4xCO) ; 133,5-128,3 (20xCH_{aromatique}) ; 129,6-128,7 (4xC_{aromatique}) ; 90,5 (C₁) ; 72,2 (C₂) ; 70,1 (C₃) ; 69,6 (C₄) ; 67,8 (C₅) ; 62,9 (C_{6a,6b})

Anomère β : RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 8,10-7,24$ (m, 20H, OBz) ; 6,00 (d_{él}, 1H, J_{4,3} = 3,3 Hz, H₄) ; 5,73 (dd, 1H, J_{3,4} = 3,4 Hz, J_{3,2} = 9,2 Hz, H₃) ; 5,61 (dd, 1H, J_{2,1} = 8,0 Hz, J_{2,3} = 10,4 Hz, H₂) ; 5,05 (t, 1H, J_{1,2} = 8,2 Hz, H₁) ; 4,68 (dd, 1H, J_{6a,5} = 6,4 Hz, J_{6a,6b} = 11,2 Hz, H_{6a}) ; 4,45

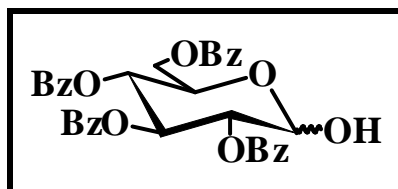
* RN : 627 466-84-6

² Lafont D., Bouchu M.-N., Girard-Egrot A., Boullanger P., *Carbohydr. Res.*, **336**, 181-194, 2001 ; Ivanova I. A., Ross A. J., Ferguson M. A. J., Nikolaev A. V., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1743-1754, 1999.

(dd, 1H, $J_{6b,5} = 6,5$ Hz, $J_{6b,6a} = 11,2$ Hz, H_{6b}) ; 4,36 (m, 1H, sort sous H_{6b} , H_5) ; 3,97 (d, 1H, $J_{OH,1} = 8,7$ Hz, OH)

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta_{ppm} = 166,3-165,3$ (4xCO) ; 133,5-128,3 (20x $CH_{aromatique}$) ; 129,6-128,7 (4x $C_{aromatique}$) ; 90,5 (C_1) ; 72,2 (C_2) ; 70,1 (C_3) ; 69,6 (C_4) ; 67,8 (C_5) ; 62,9 ($C_{6a,6b}$)

2,3,4,6-tétra-O-benzoyl-D-glucopyranose (3)*



1 g de α -D-glucose pentabenzoylate (1,43 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 7 mL de DMF. Le milieu réactionnel est porté à 50°C puis 270 mg d'acétate d'hydrazine (2,93 mmol ; 2 éq.) sont ajoutés rapidement. L'ensemble est maintenu à cette température pendant 3 heures puis refroidi pendant 45 minutes, dilué dans 50 mL d'acétate d'éthyle, lavé avec une solution saturée de chlorure de sodium (2x30 mL), neutralisé avec une solution glacée de $NaHCO_3$ saturée (5 mL), lavé à l'eau (3x30 mL), séché sur $MgSO_4$, filtré, évaporé sous pression réduite puis purifié sur colonne de silice (gradient d'éluion : EP/AcOEt – 75/25 à 73/27). Le composé désiré³ est ainsi récupéré sous la forme d'une mousse blanche avec un rendement de 80% (676 mg, $\alpha/\beta = 9/1$).

Caractérisation :

Rf = 0,56 (toluène/acétone – 9/3)

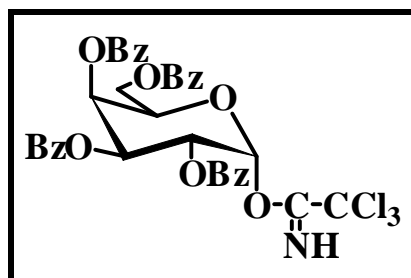
IR : ν cm^{-1} : 3453 (ν_{OH}) ; 3067 (ν_{CH} arom.) ; 2954 (ν_{CH} sucre) ; 1724 ($\nu_{C=O}$ ester) ; 1577, 1448 ($\nu_{C=C}$ arom.) ; 1274 (ν_{C-O} ester)

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta_{ppm} = 8,06-7,26$ (m, 20H, OBz) ; 6,26 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 10,0$ Hz, H_3) ; 5,77 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8$ Hz, $H_{1\alpha}$) ; 5,74 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9,8$ Hz, H_4) ; 5,32 (dd, 1H, $J_{2,1} = 3,2$ Hz, $J_{2,3} = 10,2$ Hz, H_2) ; 4,69 (m, 1H, H_5) ; 4,65 (dd, 1H, $J_{6a,5} = 2,9$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,9$ Hz, H_{6a}) ; 4,44 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 4,5$ Hz, $J_{6b,6a} = 12,4$ Hz, H_{6b})

* RN : 627 466-64-2

³ Watanabe K., Itoh K., Araki Y., Ishido Y., *Carbohydr. Res.*, **154**, 165-176, 1986 ; Mbadugha B. N. A., Menger F. M., *Org. Lett.*, **5**, 4041-4044, 2003.

2,3,4,6-tétra-O-benzoyl- α -D-galactopyranosyl trichloroacétimide (4)*



257,5 mg de composé **2** (0,43 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 3,1 mL de dichlorométhane anhydre sous atmosphère d'argon. Le ballon de 10 mL est alors plongé dans un bain de glace et sont ajoutés 1,55 mL de trichloroacétonitrile (15,46 mmol ; 35,8 éq.) et 65 μ L de DBU (0,43 mmol ; 1 éq.). L'ensemble est laissé sous agitation sous atmosphère d'argon à 0°C pendant 2 heures puis évaporé sous pression réduite avant purification sur colonne (éluant : EP/AcOEt – 85/15). Une nouvelle purification sur plaques préparatives de gel de silice s'est révélée nécessaire (éluant : toluène/AcOEt – 9/1). Le composé **4**² est isolé sous la forme d'une huile visqueuse avec un rendement de 73% (233 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,43 (toluène/AcOEt – 9/1)

$[\alpha]_D + 116$ (c 1, CHCl₃) ; Litt.⁴ $[\alpha]_D + 113$ (c 1, CHCl₃)

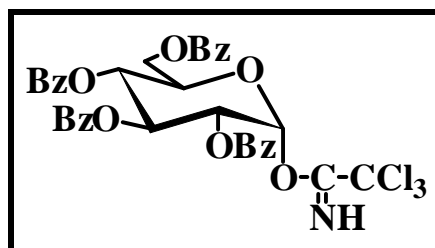
IR : ν cm⁻¹ : 3064 (ν_{CH} aromat.) ; 2958 (ν_{CH} sucre) ; 1729 ($\nu_{C=O}$ ester) ; 1677 ($\nu_{C=N}$) ; 1585, 1452 ($\nu_{C=C}$ aromat.) ; 1269 (ν_{C-O} ester)

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,64 (s, 1H, NH) ; 8,10-7,25 (m, 20H, OBz) ; 6,92 (d, 1H, J_{1,2} = 3,6 Hz, H₁) ; 6,16 (dd, 1H, J_{4,5} = 0,7 Hz, J_{4,3} = 3,1 Hz, H₄) ; 6,08 (dd, 1H, J_{3,4} = 3,3 Hz, J_{3,2} = 10,6 Hz, H₃) ; 5,96 (dd, 1H, J_{2,1} = 3,6 Hz, J_{2,3} = 10,6 Hz, H₂) ; 4,87 (t_{él}, 1H, J_{5,6} = 6,5 Hz, H₅) ; 4,62 (dd, 1H, J_{6a,5} = 6,9 Hz, J_{6a,6b} = 11,4 Hz, H_{6a}) ; 4,44 (dd, 1H, J_{6b,5} = 6,0 Hz, J_{6b,6a} = 11,4 Hz, H_{6b})

* RN : 138 479-78-4

⁴ Rio S., Beau J.-M., Jacquinet J.-C., *Carbohydr. Res.*, 219, 70-91, 1991.

2,3,4,6-tétra-O-benzoyl- α -D-glucopyranosyl trichloroacétimide (5)*



Le composé **5** a été obtenu en suivant une procédure similaire à celle utilisée pour le composé **4**. 550 mg du composé **3** (0,92 mmol ; 1 éq.), dissous dans 10 mL de dichlorométhane anhydre, ont ainsi été mis en présence de 1 mL de trichloroacétonitrile (9,97 mmol ; 10,8 éq.) et d'une quantité catalytique de DBU (0,071 mL ; 0,46 mmol, 0,5 éq.). Après purification sur colonne de silice (éluant : EP/AcOEt – 85/15), on obtient le composé **5**⁵ sous la forme d'une huile visqueuse avec un rendement de 95% (649 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,53 (toluène/acétone – 9/1)

[α]_D + 67 (c 1,6, CHCl₃)

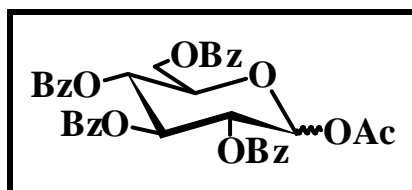
IR : ν cm⁻¹ : 3065 (ν_{CH} aromat.) ; 2958 (ν_{CH} sucre) ; 1728 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1678 ($\nu_{\text{C=N}}$) ; 1580, 1451 ($\nu_{\text{C=C}}$ aromat.) ; 1266 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,63 (s, 1H, NH) ; 8,04-7,86 (m, 20H, OBz) ; 6,84 (d, 1H, J_{1,2} = 3,7 Hz, H₁) ; 6,27 (t, 1H, J_{3,2} = J_{3,4} = 10,0 Hz, H₃) ; 5,82 (t, 1H, J_{4,3} = J_{4,5} = 9,9 Hz, H₄) ; 5,62 (dd, 1H, J_{2,1} = 3,7 Hz, J_{2,3} = 10,1 Hz, H₂) ; 4,65 (dd, 1H, J_{6a,5} = 2,7 Hz, J_{6a,6b} = 12,7 Hz, H_{6a}) ; 4,63 (ddd, 1H, J_{5,6a} = 2,8 Hz, J_{5,6b} = 4,9 Hz, J_{5,4} = 10,5 Hz, H₅) ; 4,49 (dd, 1H, J_{6b,5} = 5,4 Hz, J_{6b,6a} = 12,6 Hz, H_{6b})

* RN : 149 707-75-5

⁵ Ziegler T., Jurisch C., *Tetrahedron : Asymmetry*, **11**, 3403-3418, 2000.

2,3,4,6-tétra-O-benzoyl-1-acétyl-D-glucopyranose (6)*



Voie A : Méthode classique

A 48 mg de composé **3** (0,08 mmol ; 1 éq.) sont ajoutés 0,02 mL d'anhydride acétique (0,24 mmol ; 3 éq.) et 0,02 mL de pyridine anhydre (0,24 mmol ; 3 éq.). L'ensemble est laissé sous agitation toute la nuit à température ambiante. Le brut réactionnel est alors dilué dans 3mL de chloroforme, lavé plusieurs fois à l'eau, neutralisé par une solution saturée de NaHCO₃ saturée, séché sur MgSO₄, filtré et enfin, évaporé en ajoutant du toluène pour azéotroper la pyridine. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice (éluant : CHCl₃/EtOH – 98/2), on obtient le mélange des deux anomères⁶ sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 79% (41 mg, $\alpha/\beta = 7/3$).

Voie B : Méthode par activation micro-ondes

127 mg de composé **3** (0,21 mmol ; 1 éq.) sont mis en présence de 0,12 mL d'anhydride acétique (1,28 mmol ; 6 éq.) et de 21 mg d'acétate de sodium (0,25 mmol ; 1,2 éq.). L'ensemble est activé par micro-ondes^b à une puissance de 120W pendant 5 minutes (5 cycles de 1 minute). On introduit alors de l'eau glacée dans le réacteur et on laisse sous agitation pendant une heure. On procède ensuite à une extraction par 30 mL de chloroforme et on neutralise par une solution saturée de NaHCO₃ (7 mL). Puis la phase organique est lavée à l'eau (30 mL) et de nouveau neutralisée (2 mL) avant séchage sur MgSO₄, filtration et évaporation. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice, on obtient le mélange des deux anomères avec un rendement de 75% (95 mg, $\alpha/\beta = 7/3$).

* RN : 121 523-91-9

⁶ Jansson K., Ahlforo S., Fredj T., Kihlberg J., Magnusson G., Dahmen J., Noori G., Stenvall K., *J. Org. Chem.*, **53**, 5629-5647, 1988.

^b Synthewave[®] 402 (Prolabo).

Caractérisation :

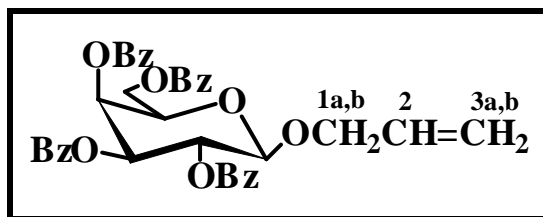
Rf = 0,51 (cyclohexane/acétate d'éthyle – 4/6)

IR : ν cm^{-1} : 3065 (ν_{CH} aromat.) ; 2966 (ν_{CH} sucre) ; 1762 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester/OAc) ; 1728 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester/OBz) ; 1584, 1451 ($\nu_{\text{C=C}}$ aromat.) ; 1266 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

Anomère α : RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 8,05-7,30 (m, 20H, OBz) ; 6,64 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H_1) ; 6,18 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 10,0$ Hz, H_3) ; 5,79 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9,9$ Hz, H_4) ; 5,54 (dd, 1H, $J_{2,1} = 3,7$ Hz, $J_{2,3} = 10,3$ Hz, H_2) ; 4,62 (dd, 1H, $J_{6a,5} = 2,6$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,1$ Hz, H_{6a}) ; 4,52 (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 2,9$ Hz, $J_{5,6b} = 4,1$ Hz, $J_{5,4} = 10,2$ Hz, H_5) ; 4,46 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 4,5$ Hz, $J_{6b,6a} = 12,1$ Hz, H_{6b}) ; 2,23 (s, 3H, OAc)

Anomère β : RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 8,05-7,30 (m, 20H, OBz) ; 6,09 (d, 1H, $J_{1,2} = 8,2$ Hz, H_1) ; 5,95 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 9,6$ Hz, H_3) ; 5,74 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9,6$ Hz, H_4) ; 5,66 (dd, 1H, $J_{2,1} = 8,2$ Hz, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, H_2) ; 4,63 (dd, 1H, $J_{6a,5} = 2,4$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,4$ Hz, H_{6a}) ; 4,46 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 4,5$ Hz, $J_{6b,6a} = 12,1$ Hz, H_{6b}) ; 4,30 (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 3,0$ Hz, $J_{5,6b} = 4,7$ Hz, $J_{5,4} = 9,8$ Hz, H_5) ; 2,07 (s, 3H, OAc)

allyl 2,3,4,6-tétra-O-benzoyl- β -D-galactopyranoside (7)



Dans un bicol, 437 mg de composé **4** (0,59 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans du dichlorométhane stabilisé par de l'amylène. Après évaporation du solvant à température ambiante et séchage au dessiccateur pendant une heure, on ajoute 4 mL d'alcool allylique (large excès) et 204 mg de ZnCl₂ (1,50 mmol ; 2,5 éq.). On procède alors à 3 activations de 2 minutes aux micro-ondes^a à une puissance maximale de 500W, celle-ci oscillant de manière à ne pas dépasser la consigne de température fixée à 80°C. Le brut réactionnel est ensuite dilué dans 50 mL de dichlorométhane, lavé avec 20 mL d'eau, séché sur MgSO₄, filtré et finalement évaporé. Après purification sur colonne de silice, une première fraction du composé **7** est obtenue (éluant : cyclohexane/AcOEt – 85/15). Une deuxième fraction, constituée du composé **7** et d'impuretés est, de nouveau, purifiée sur plaques préparatives de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt – 8/2). Le composé **7** est alors isolé sous forme d'une huile légèrement visqueuse avec un rendement total de 59% (221,5 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,67 (cyclohexane/AcOEt – 6/4)

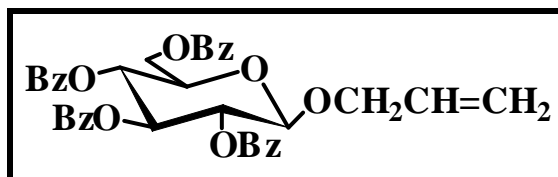
$[\alpha]_D + 101$ (c 1, CHCl₃)

IR : ν cm⁻¹ : 3071 (ν_{CH} aromat.) ; 2973 (ν_{CH} sucre) ; 1728 ($\nu_{C=O}$ ester) ; 1648 ($\nu_{C=C}$ aliphatic) ; 1580, 1451 ($\nu_{C=C}$ aromat.) ; 1266 (ν_{C-O} ester)

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,11-7,22 (m, 20H, OBz) ; 5,99 (d, 1H, J_{4,3} = 3,0 Hz, H₄) ; 5,83 (dd, 1H, J_{2,1} = 7,9 Hz, J_{2,3} = 10,4 Hz, H₂) ; 5,82 (m, 1H, H_{2'}) ; 5,61 (dd, 1H, J_{3,4} = 3,4 Hz, J_{3,2} = 10,4 Hz, H₃) ; 5,25 (dd, 1H, J_{3'a,3'b} = 1,3 Hz, J_{3'a,2'} = 17,2 Hz, H_{3'a}) ; 5,14 (dd, 1H, J_{3'b,3'a} = 1,0 Hz, J_{3'b,2'} = 10,5 Hz, H_{3'b}) ; 4,88 (d, 1H, J_{1,2} = 8,0 Hz, H₁) ; 4,69 (dd, 1H, J_{6a,5} = 6,6 Hz, J_{6a,6b} = 11,2 Hz, H_{6a}) ; 4,43 (dd, 1H, J_{6b,5} = 6,6 Hz, J_{6b,6a} = 11,2 Hz, H_{6b}) ; 4,42 (m, 1H, H_{1'a}) ; 4,32 (t, 1H, J_{5,6} = 6,5 Hz, H₅) ; 4,21 (dd, 1H, J_{1'b,2'} = 6,3 Hz, J_{1'b,1'a} = 13,2 Hz, H_{1'b})

^a Milestone Ethos 1600®.

allyl 2,3,4,6-tétra-O-benzoyl-β-D-glucopyranoside (8)



49 mg de composé **5** (0,07 mmol ; 1 éq.) dissous dans du dichlorométhane stabilisé par de l'amylène sont introduits dans le réacteur du micro-ondes^b. On laisse le solvant s'évaporer à température ambiante et après séchage au dessiccateur pendant une heure, on ajoute 1 mL d'alcool allylique (large excès) et 22 mg de ZnCl₂ (0,16 mmol ; 2,5 éq.). On procède alors à 3 activations de 2 minutes à une puissance de 30W. Le brut réactionnel est ensuite dilué dans 20 mL de dichlorométhane, lavé avec 10 mL d'eau, séché sur MgSO₄, filtré et finalement évaporé. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt – 8/2 – double migration), on isole le composé **8** sous forme d'une huile légèrement visqueuse avec un rendement de 61% (26 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,41 (cyclohexane/AcOEt – 6/4)

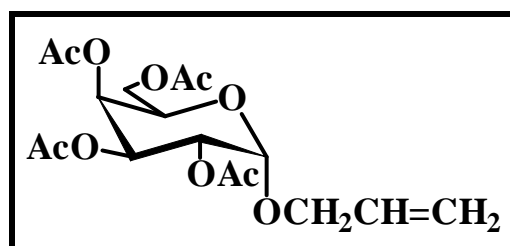
$[\alpha]_D^{+24}$ (c 1, CHCl₃)

IR : ν cm⁻¹ : 3065 (ν_{CH} aromat.) ; 2958 (ν_{CH} sucre) ; 1724 ($\nu_{C=O}$ ester) ; 1622 ($\nu_{C=C}$ aliphat.) ; 1584, 1451 ($\nu_{C=C}$ aromat.) ; 1266 (ν_{C-O} ester)

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,03-7,26 (m, 20H, OBz) ; 5,90 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 9,6$ Hz, H₃) ; 5,80 (dddd, 1H, $J_{2',1'a} = 4,7$ Hz, $J_{2',1'b} = 6,2$ Hz, $J_{2',3'b} = 10,7$ Hz, $J_{2',3'a} = 17,1$ Hz, H_{2'}) ; 5,67 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9,6$ Hz, H₄) ; 5,56 (dd, 1H, $J_{2,1} = 7,9$ Hz, $J_{2,3} = 9,7$ Hz, H₂) ; 5,22 (ddt, 1H, $J_{3'a,1'} = 1,4$ Hz, $J_{3'a,3'b} = 3,0$ Hz, $J_{3'a,2'} = 17,2$ Hz, H_{3'a}) ; 5,12 (dd_{el}, 1H, $J_{3'b,1'} = 1,4$ Hz, $J_{3'b,2'} = 10,4$ Hz, H_{3'b}) ; 4,90 (d, 1H, $J_{1,2} = 7,8$ Hz, H₁) ; 4,64 (dd, 1H, $J_{6a,5} = 3,2$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,0$ Hz, H_{6a}) ; 4,51 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 5,4$ Hz, $J_{6b,6a} = 12,1$ Hz, H_{6b}) ; 4,36 (ddt, 1H, $J_{1'a,3'} = 1,4$ Hz, $J_{1'a,2'} = 4,8$ Hz, $J_{1'a,1'b} = 13,2$ Hz, H_{1'a}) ; 4,16 (m, 1H, H₅) ; 4,16 (m, 1H, H_{1'b})

^b Synthewave[®] 402 (Prolabo).

allyl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranoside (9)*



604 mg d'allyl α -D-galactose commercial (2,74 mmol ; 1 eq.) sont mis en présence de 3,8 mL d'anhydride acétique (40,27 mmol ; 14,7 eq.) et de 249 mg d'acétate de sodium (3,04 mmol ; 1,1 eq.). L'ensemble est activé dans un four micro-ondes domestique^c en mode décongélation (180W) pendant 4 cycles de 1 minute. Le mélange réactionnel est alors introduit dans un récipient contenant de la glace pilée et on laisse sous agitation pendant une heure avec 30 mL de dichlorométhane. On procède ensuite à une extraction par 20 mL de dichlorométhane supplémentaire et on neutralise par une solution saturée de NaHCO_3 (3x10 mL), puis, la phase organique est lavée à l'eau (25 mL) avant séchage sur MgSO_4 , filtration et évaporation. Après purification sur colonne de silice avec un gradient d'éluion cyclohexane/ AcOEt – 80/20 à 75/25, le composé **9** est isolé sous la forme d'une huile légèrement visqueuse avec un rendement de 82% (876 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,47 (cyclohexane/ AcOEt – 4/6)

$[\alpha]_{\text{D}} + 132,5$ (c 1, CHCl_3)

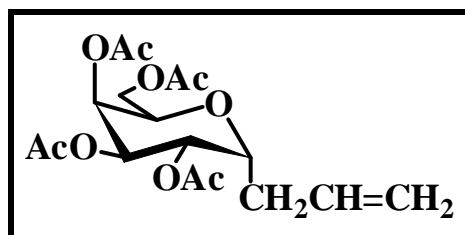
IR : $\nu \text{ cm}^{-1}$: 2973 (ν_{CH} sucre) ; 1751 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1647 ($\nu_{\text{C=C}}$ aliphatic) ; 1229 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 5,88 (ddt, 1H, $J_{2',1'} = 5,5 \text{ Hz}$, $J_{2',3'b} = 11,1 \text{ Hz}$, $J_{2',3'a} = 16,7 \text{ Hz}$, $\text{H}_{2'}$) ; 5,46 (dd, 1H, $J_{4,5} = 0,8 \text{ Hz}$, $J_{4,3} = 3,2 \text{ Hz}$, H_4) ; 5,38 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,3 \text{ Hz}$, $J_{3,2} = 10,4 \text{ Hz}$, H_3) ; 5,31 (dd $_{\text{él}}$, 1H, $J_{3'a,3'b} = 1,4 \text{ Hz}$, $J_{3'a,2'} = 17,2 \text{ Hz}$, $\text{H}_{3'a}$) ; 5,23 (dd $_{\text{él}}$, 1H, $J_{3'b,3'a} = 1,1 \text{ Hz}$, $J_{3'b,2'} = 10,4 \text{ Hz}$, $\text{H}_{3'b}$) ; 5,15 (m, 1H, H_2) ; 5,15 (m, 1H, H_1) ; 4,25 (t $_{\text{él}}$, 1H, $J_{5,6} = 6,5 \text{ Hz}$, H_5) ; 4,19 (ddt, 1H, $J_{1'a,3'} = 1,2 \text{ Hz}$, $J_{1'a,2'} = 5,1 \text{ Hz}$, $J_{1'a,1'b} = 13,0 \text{ Hz}$, $\text{H}_{1'a}$) ; 4,10 (d $_{\text{él}}$, 2H, $J_{6a,b,5} = 6,7 \text{ Hz}$, $\text{H}_{6a,b}$) ; 4,02 (dd $_{\text{él}}$, 1H, $J_{1'b,2'} = 6,1 \text{ Hz}$, $J_{1'b,1'a} = 13,0 \text{ Hz}$, $\text{H}_{1'b}$) ; 2,14-1,99 (s, 12H, OAc)

* RN : 78 730-32-2

^c Four domestique Goldstar[®].

3-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyl)-propène (10)*



1 g de β -D-galactopyranose pentaacétylé (2,56 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 13 mL d'acétonitrile anhydre sous atmosphère d'argon. On ajoute alors 1,3 mL d'allyltriméthylsilane (8,08 mmol ; 3,1 éq.) et 1,6 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (12,63 mmol ; 4,9 éq.). L'ensemble est laissé à température ambiante sous atmosphère d'argon pendant 48 heures puis dilué par 30 mL de dichlorométhane. On procède par la suite à un lavage à l'eau (20 mL). La phase organique est neutralisée par 10 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 , lavée de nouveau avec 20 mL d'eau, séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Après purification sur colonne de silice (éluant : EP/AcOEt – 8/2), le composé **10** est récupéré sous la forme d'une huile avec un rendement de 68% (649 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,58 (toluène/acétone – 7/3)

$[\alpha]_{\text{D}} + 81$ (c 0,9, CHCl_3) ; Litt.⁷ : $[\alpha]_{\text{D}} + 84$ (c 0,9, CHCl_3)

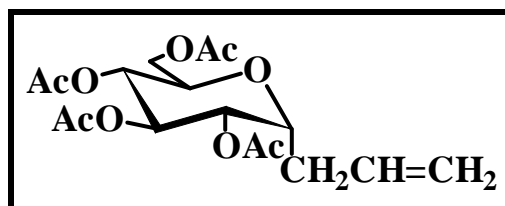
IR : $\nu \text{ cm}^{-1}$: 2950 (ν_{CH} sucre) ; 1743 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1641 ($\nu_{\text{C=C}}$ aliphatic) ; 1224 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 5,76 (ddt, 1H, $J_{2,3} = 6,8 \text{ Hz}$, $J_{2,1b} = 10,2 \text{ Hz}$, $J_{2,1a} = 17,0 \text{ Hz}$, H_2) ; 5,42 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 2,8 \text{ Hz}$, $J_{4',5'} = 5,0 \text{ Hz}$, $\text{H}_{4'}$) ; 5,27 (dd, 1H, $J_{2',1'} = 5,0 \text{ Hz}$, $J_{2',3'} = 9,2 \text{ Hz}$, $\text{H}_{2'}$) ; 5,22 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,2 \text{ Hz}$, $J_{3',2'} = 9,2 \text{ Hz}$, $\text{H}_{3'}$) ; 5,13 (dd, 1H, $J_{1a,1b} = 1,7 \text{ Hz}$, $J_{1a,2} = 17,1 \text{ Hz}$, H_{1a}) ; 5,11 (dél, 1H, $J_{1b,2} = 9,5 \text{ Hz}$, H_{1b}) ; 4,30 (dt, 1H, $J_{1',2'} = 5,0 \text{ Hz}$, $J_{1',3} = 10,1 \text{ Hz}$, $\text{H}_{1'}$) ; 4,21 (dd, 1H, $J_{6'a,5} = 8,9 \text{ Hz}$, $J_{6'a,6'b} = 12,7 \text{ Hz}$, $\text{H}_{6'a}$) ; 4,09 (dd, 1H, $J_{6'b,5} = 5,0 \text{ Hz}$, $J_{6'b,6'a} = 12,7 \text{ Hz}$, $\text{H}_{6'b}$) ; 4,09 (m, 1H, $\text{H}_{5'}$) ; 2,47 (m, 1H, H_{3a}) ; 2,30 (m, 1H, H_{3b}) ; 2,12-2,03 (s, 12H, OAc)

* RN : 201 279-58-5 (Mélange des deux anomères)

⁷ Ponten F., Magnusson G., *J. Org. Chem.*, **61**, 7463-7466, 1996.

3-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyl)-propène (11)*



Le composé **11** a été obtenu en suivant une procédure similaire à celle utilisée pour le composé **10**. 5 g de β -D-glucopyranose pentaacétylé (12,81 mmol ; 1 éq.), dissous dans 64 mL d'acétonitrile anhydre sous atmosphère d'argon ont été mis en présence de 6,2 mL d'allyltriméthylsilane (38,52 mmol ; 3 éq.) et de 8,2 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (64,71 mmol ; 5 éq.). Après 48 heures de réaction à + 4°C, on procède au traitement. Le composé **11**⁸ est alors purifié sur colonne de silice en utilisant comme éluant toluène/AcOEt – 9/1 et est obtenu avec un rendement de 60% (2,9 g).

Caractérisation :

Rf = 0,58 (toluène/acétone – 7/3)

$[\alpha]_D + 39$ (c 1, CHCl_3)

IR : $\nu \text{ cm}^{-1}$: 2950 (ν_{CH} sucre) ; 1743 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1641 ($\nu_{\text{C=C}}$ aliphatic) ; 1224 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 5,75 (dddd, 1H, $J_{2,3a} = 6,5 \text{ Hz}$, $J_{2,3b} = 7,1 \text{ Hz}$, $J_{2,1b} = 10,3 \text{ Hz}$, $J_{2,1a} = 17,0 \text{ Hz}$, H_2) ; 5,34 (t, 1H, $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 9,1 \text{ Hz}$, $\text{H}_{3'}$) ; 5,19 (dd, 1H, $J_{1a,1b} = 1,5 \text{ Hz}$, $J_{1a,2} = 17,3 \text{ Hz}$, H_{1a}) ; 5,16 (dd, 1H, $J_{1b,1a} = 1,4 \text{ Hz}$, $J_{1b,2} = 10,0 \text{ Hz}$, H_{1b}) ; 5,09 (dd, 1H, $J_{2',1'} = 5,7 \text{ Hz}$, $J_{2',3'} = 9,4 \text{ Hz}$, $\text{H}_{2'}$) ; 4,98 (t, 1H, $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 9,1 \text{ Hz}$, $\text{H}_{4'}$) ; 4,28 (m, 1H, $\text{H}_{1'}$) ; 4,21 (dd, 1H, $J_{6'a,5'} = 5,4 \text{ Hz}$, $J_{6'a,6'b} = 12,1 \text{ Hz}$, $\text{H}_{6'a}$) ; 4,08 (dd, 1H, $J_{6'b,5'} = 2,6 \text{ Hz}$, $J_{6'b,6'a} = 12,1 \text{ Hz}$, $\text{H}_{6'b}$) ; 3,86 (ddd, 1H, $J_{5',6'b} = 2,8 \text{ Hz}$, $J_{5',6'a} = 5,3 \text{ Hz}$, $J_{5',4'} = 9,2 \text{ Hz}$, $\text{H}_{5'}$) ; 2,56 (m, 1H, H_{3a}) ; 2,34 (m, 1H, H_{3b}) ; 2,08-2,03 (s, 12H, OAc)

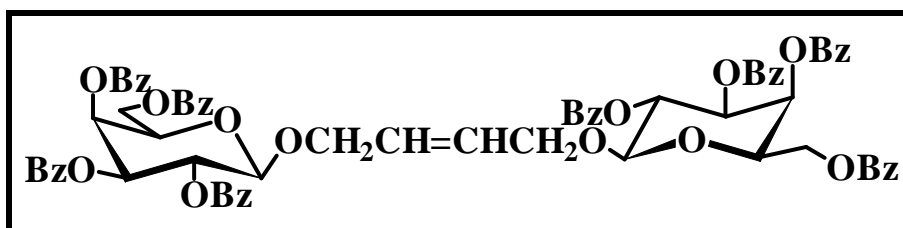
* RN : 103 773-87-1 (Mélange des deux anomères)

⁸ Cabaret D., Wakselman M., *J. Carbohydr. Chem.*, **10**, 55-63, 1991 ; Ermolenko M. S., *Tetrahedron Lett.*, **42**, 6679-6682, 2001.

Procédure générale d'homodimérisation des dérivés C- et O-allyliques

Toutes les réactions sont effectuées sous atmosphère d'argon. Le monomère glucidique est dissous dans du dichlorométhane anhydre préalablement dégazé par barbotage d'argon. Après addition, par canne de transfert, du catalyseur de Grubbs de première génération dissous dans du dichlorométhane dégazé, l'ensemble est porté à reflux pendant au moins 6 heures puis évaporé à concentration réduite avant purification.

(E,Z)-1,4-di-(2',3',4',6'-tétra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyloxy)-but-2-ène (12)



Le composé **12** a été obtenu en suivant la procédure générale décrite ci-dessus en partant de 218 mg de dérivé O-allylique **7** (0,34 mmol) dissous dans 2 mL de dichlorométhane et en ajoutant 15 mg de catalyseur de Grubbs (10,5% molaire) dissous dans 1 mL de dichlorométhane. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt – 6/4), le composé **12** est isolé avec un rendement de 83% (176 mg – E/Z = 4/1).

Caractérisation :

Rf = 0,30 (cyclohexane/AcOEt - 6/4)

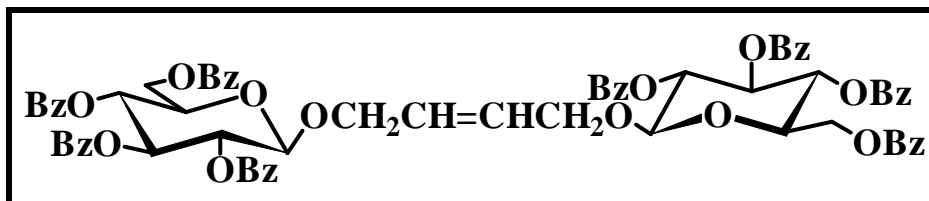
IR : ν cm⁻¹ : 3063 (ν_{CH} aromat.) ; 2966 (ν_{CH} sucre) ; 1729 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1584, 1452 ($\nu_{\text{C=C}}$ aromat.) ; 1267 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (Tableau II-6)

RMN ¹³C (Tableau II-8)

Masse (Tableau II-9)

(E,Z)-1,4-di-(2',3',4',6'-tétra-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyloxy)-but-2-ène
(13)



Le composé **13** a été obtenu en suivant la procédure générale décrite plus avant en partant de 260 mg de dérivé O-allylique **8** (0,41 mmol) dissous dans 2 mL de dichlorométhane et en ajoutant 20 mg de catalyseur de Grubbs (12% molaire) dissous dans 2 mL de dichlorométhane. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt – 6/4), il est isolé avec un rendement de 87% (222,5 mg - E/Z = 3/1).

Caractérisation :

R_f = 0,31 (cyclohexane/AcOEt - 6/4)

IR : ν cm⁻¹ : 3057 (ν_{CH} aromat.) ; 2958 (ν_{CH} sucre) ; 1728 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1584, 1448 ($\nu_{\text{C=C}}$ aromat.) ;

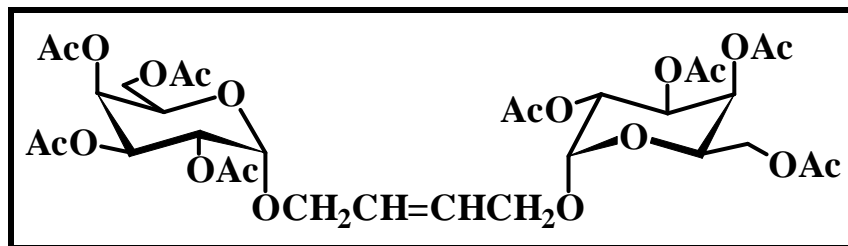
1262 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (Tableau II-6)

RMN ¹³C (Tableau II-8)

Masse (Tableau II-9)

**(E,Z)-1,4-di-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyloxy)-but-2-ène
(14)**



Le composé **14** a été obtenu en suivant la procédure générale décrite plus avant en partant de 600 mg de dérivé O-allylique **9** (1,545 mmol) dissous dans 7 mL de dichlorométhane et en ajoutant 65 mg de catalyseur de Grubbs (11% molaire) dissous dans 3 mL de dichlorométhane. Après purification sur colonne de silice (gradient d'élution : EP/AcOEt – 7/3 à 5/5), le composé **14** est isolé avec un rendement de 83% (480 mg - E/Z = 6/1).

Caractérisation :

R_f = 0,21 (cyclohexane/AcOEt –4/6)

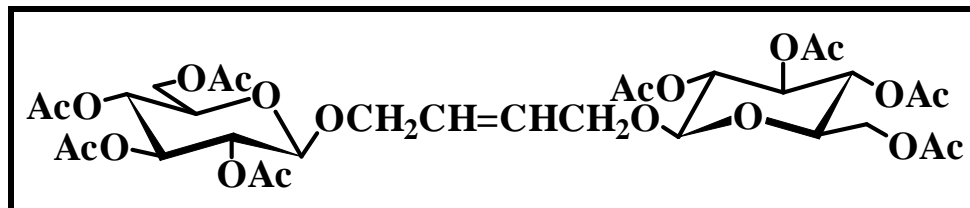
IR : ν cm⁻¹ : 2973 (ν_{CH} sucre) ; 1749 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1228 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (Tableau II-6)

RMN ¹³C (Tableau II-8)

Masse (Tableau II-9)

(E,Z)-1,4-di-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyloxy)-but-2-ène
(15)



Le composé **15** a été obtenu en suivant la procédure générale décrite plus avant en partant de 892 mg de l'allyl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranoside commercial (2,30 mmol) préalablement purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt – 6/4) dissous dans 10 mL de dichlorométhane et en ajoutant 103 mg de catalyseur de Grubbs (11% molaire) dissous dans 5 mL de dichlorométhane. Après purification sur colonne de gel de silice (gradient d'éluant : cyclohexane/AcOEt – 7/3 à 5/5), le composé **15** est isolé avec un rendement de 80% (688 mg - E/Z = 3/1).

Caractérisation :

R_f = 0,36 (cyclohexane/AcOEt – 3/7)

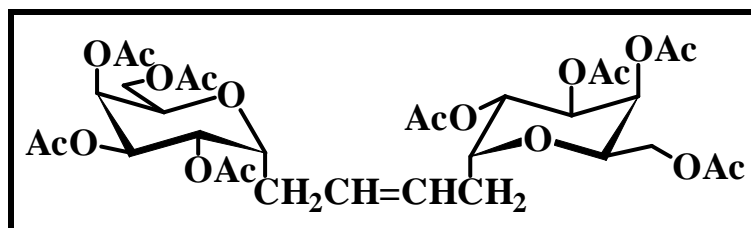
IR : ν cm⁻¹ : 2943 (ν_{CH} sucre) ; 1756 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1227 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (Tableau II-7)

RMN ¹³C (Tableau II-8)

Masse (Tableau II-9)

(E,Z)-1,4-di-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyl)-but-2-ène (16)



Le composé **16** a été obtenu en suivant la procédure générale décrite plus avant en partant de 629 mg de dérivé C-allylique **10** (1,69 mmol) dissous dans 7 mL de dichlorométhane et en ajoutant 80 mg de catalyseur de Grubbs (11% molaire) dissous dans 4 mL de dichlorométhane. Après purification sur colonne de silice (éluant : EP/AcOEt – 6/4), le composé **16** est isolé avec un rendement de 72% (178 mg - E/Z = 2/1).

Caractérisation :

R_f = 0,28 (toluène/AcOEt – 4/3)

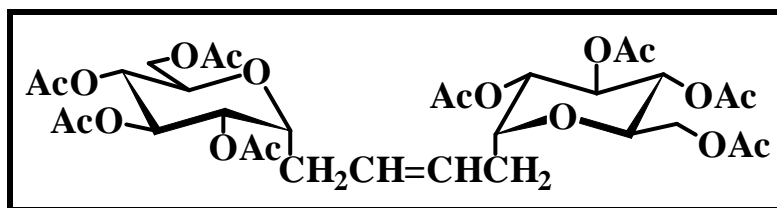
IR : ν cm⁻¹ : 2958 (ν_{CH} sucre) ; 1746 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1224 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (Tableau II-7)

RMN ¹³C (Tableau II-8)

Masse (Tableau II-9)

(E,Z)-1,4-di-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyl)-but-2-ène (17)



Le composé **17** a été obtenu en suivant la procédure générale décrite plus avant en partant de 267 mg de dérivé C-allylique **11** (0,72 mmol) dissous dans 3 mL de dichlorométhane et en ajoutant 33 mg de catalyseur de Grubbs (11% molaire) dissous dans 2 mL de dichlorométhane. Après purification sur colonne de silice (éluant : EP/AcOEt – 6/4), le composé **17** est isolé avec un rendement de 87% (223 mg E/Z = indéterminé).

Caractérisation :

R_f = 0,42 (toluène/AcOEt – 3/7)

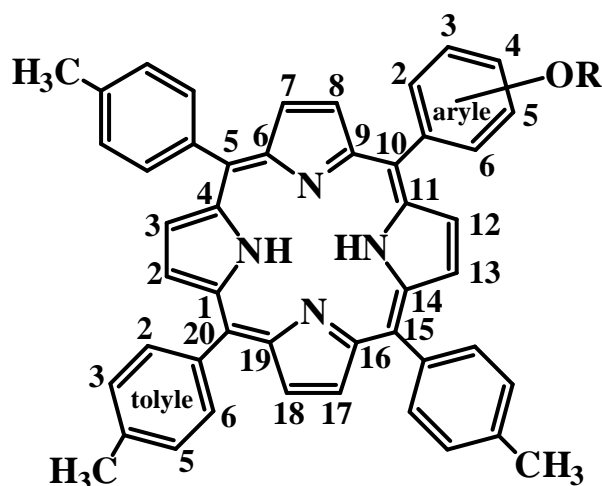
IR : ν cm⁻¹ : 2950 (ν_{CH} sucre) ; 1746 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1224 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

RMN ¹H (Tableau II-7)

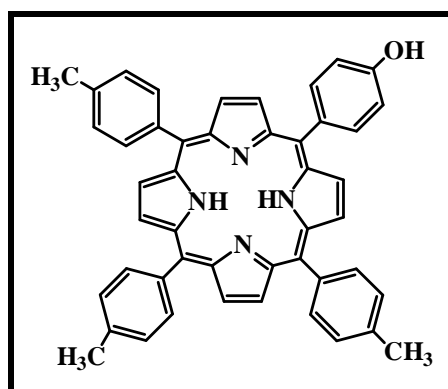
RMN ¹³C (Tableau II-8)

Masse (Tableau II-9)

Numérotation adoptée pour les porphyrines



5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tritolylporphyrine (18a)



Dans un bicol surmonté d'un réfrigérant et d'une garde à chlorure de calcium, 6 mL de *paratolualdéhyde* (51 mmol ; 3 équ.) et 2,08 g de 4-hydroxybenzaldéhyde (17 mmol ; 1 équ.) sont dissous dans 200 mL d'acide propanoïque. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 15 minutes puis 4,7 mL de pyrrole fraîchement distillé (68 mmol ; 4 équ.) sont ajoutés goutte à goutte à l'aide d'une seringue. L'ensemble est maintenu à reflux pendant une heure à l'abri de la lumière. Le chauffage est alors arrêté. On laisse le mélange revenir à température ambiante puis on le place à 4°C pendant 24 heures. Les porphyrines cristallisées sont filtrées sur büchner et rincées abondamment à l'éthanol absolu afin d'éliminer l'acide propanoïque. On obtient ainsi 1,321 g de cristaux violets constitués essentiellement du composé monohydroxylé **18a** et de la tétratolylporphyrine (H₂TTP). Le mélange brut est adsorbé sur Florisil[®] et séparé sur colonne de silice en utilisant comme gradient d'éluants : chloroforme/EP. On isole ainsi la porphyrine désirée avec un rendement de 7% (243 mg).

Caractérisation :

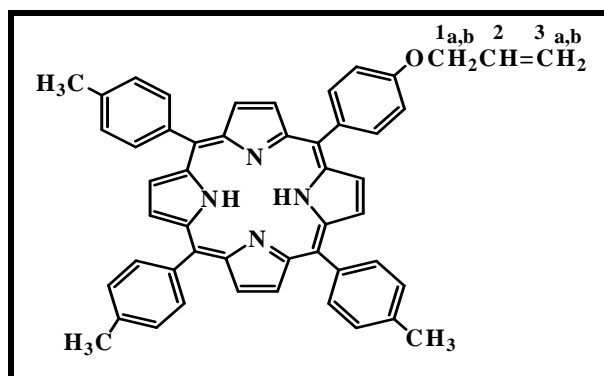
R_f = 0,33 (CH₂Cl₂)

UV-Visible (CH₂Cl₂) : λ nm (ε×10⁻³) : 418 (363) ; 516 (13,5) ; 552 (7,4) ; 592 (4,0) ; 648 (4,3)

RMN ¹H (60 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,80 (s, 8H, Hβ_{pyr.}) ; 8,10 (d, 6H, J = 7,2 Hz, H_{2,6tol.}) ; 8,10 (d, 2H, J = 7,2 Hz, H_{2,6ar.}) ; 7,50 (d, 6H, J = 7,2 Hz, H_{3,5tol.}) ; 7,10 (d, 2H, J = 7,2 Hz, H_{3,5ar.}) ; 2,70 (s, 9H, CH_{3tol.}) ; -2,70 (sét, 2H, NH)

SM (SIMS) m/z 673,6 (M + H⁺)

5-(4-allyloxyphényl)-10,15,20-tritolylporphyrine (**19a**)



Voie A :

65 mg de composé **18a** (0,10 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 8,4 mL de DMF anhydre et introduits dans un bicol de 25 mL surmonté d'un réfrigérant muni d'une garde à chlorure de calcium. On ajoute alors 267 mg de carbonate de potassium sec (1,93 mmol ; 20 éq.) et 85 µl de bromure d'allyle (0,98 mmol ; 10,1 éq.). L'ensemble est porté à 70°C pendant 3 heures 30 puis à température ambiante pendant 12 heures. Après évaporation du DMF sous pression réduite, on procède à une extraction par 60 mL de chloroforme. La phase organique est lavée à l'eau (4x50 mL), séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice (CHCl₃/EtOH – 99/1), on obtient le composé désiré avec un rendement de 76% (53 mg).

Voie B :

Ce composé est synthétisé selon la même méthode que le composé **18a**, le 4-hydroxybenzaldéhyde étant remplacé par le 4-allyloxybenzaldéhyde. 4mL de *paratolualdéhyde* (33,92 mmol ; 3,1 éq.), 1,8 mL de 4-allyloxybenzaldéhyde (10,94 mmol ; 1 éq.) et 3,2 mL de pyrrole (46,12 mmol ; 4,2 éq.) dissous dans 150 mL d'acide propanoïque sont utilisés dans ce cas et la réaction, arrêtée après 2 heures à 130°C. Le brut obtenu est adsorbé sur Florisil[®] afin de procéder à une purification sur colonne de silice en utilisant comme système d'éluion CHCl₃/EP – 5/5. Une seconde purification sur plaques préparatives de gel de silice est parfois nécessaire (toluène/EP – 8/2). Le produit étant métallé par du zinc, on opère une étape de démétallation par une extraction CHCl₃/HCl concentré. La phase organique est neutralisée, lavée plusieurs fois à l'eau, séchée, filtrée et le composé **19a** est alors isolé avec un rendement de 6 à 7% (549 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,44 (toluène/EP – 7/3)

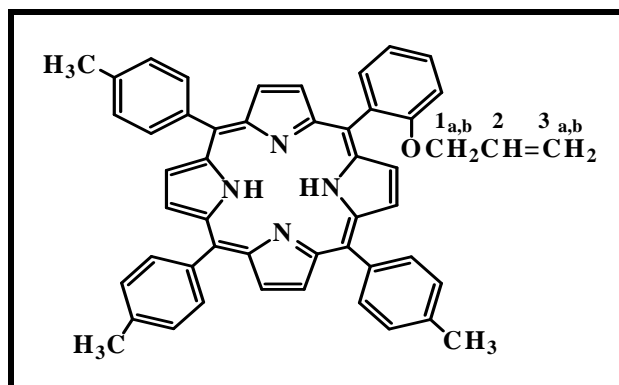
UV-Visible (CH₂Cl₂) : λ nm ($\epsilon \times 10^{-3}$) : 420 (433,0) ; 517 (15,3) ; 553 (8,8) ; 592 (4,7) ; 648 (4,7)

RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,85 (s, 8H, H β _{pyr.}) ; 8,09 (d, 6H, J = 7,8 Hz, H_{2,6tol.}) ; 8,09 (d, 2H, J = 8,5 Hz, H_{2,6ar.}) ; 7,54 (d, 6H, J = 7,8 Hz, H_{3,5tol.}) ; 7,28 (d, 2H, J = 8,5 Hz, H_{3,5ar.}) ; 6,26 (ddt, 1H, J₁ = 5,3 Hz, J₂ = 10,4 Hz, J₃ = 17,2 Hz, H₂) ; 5,61 (ddt, 1H, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 17,3 Hz, H_{3a}) ; 5,44 (ddt, 1H, J₁ = 1,0 Hz, J₂ = 10,4 Hz, H_{3b}) ; 4,82 (dd, 2H, J₁ = 1,2 Hz, J₂ = 5,2 Hz, H_{1a,b}) ; 2,70 (s, 9H, CH_{3tol.}) ; -2,76 (sél, 2H, NH)

RMN ¹³C : δ (ppm) = 158,3 (C_{4ar.}) ; 150,3-150,5 (C α _{pyr.}) ; 139,3-139,9 (C_{1tol.}) ; 137,1-137,3 (C_{4tol.}) ; 135,4-135,6 (C_{2,6ar.}) ; 134,8 (C_{1ar.}) ; 134,4-134,5 (C_{2,6tol.}) ; 133,4 (C₂) ; 131,9 (C β _{pyr.}) ; 127,3-127,4 (C_{3,5tol.}) ; 121,1 (C_{15 meso}) ; 120,1 (C_{10,20 meso}) ; 119,7 (C_{5meso}) ; 118,0 (C₃) ; 112,8-112,9 (C_{3,5ar.}) ; 69,1 (C₁) ; 21,5 (Me tolyle)

SM (MALDI) m/z 713,37 (M + H⁺)

5-(2-allyloxyphényl)-10,15,20-tritolylporphyrine (19b)



Ce composé est synthétisé selon la même méthode que le composé **18a**, le 4-hydroxybenzaldéhyde étant remplacé par le 2-allyloxybenzaldéhyde. 4mL de *paratolualdéhyde* (33,92 mmol ; 3,1 éq.), 1,7 mL de 2-allyloxybenzaldéhyde (11,31 mmol ; 1 éq.) et 3,1 mL de pyrrole (46,12 mmol ; 4,2 éq.) dissous dans 150 mL d'acide propanoïque sont utilisés dans ce cas et la réaction, arrêtée après 2 heures à 130°C. La fraction du produit ayant recristallisé est récupérée suivant la procédure usuelle. Cependant, dans le cas du composé **19b**, une grande quantité de produit reste dans le filtrat. Afin de séparer celui-ci des goudrons issus de la copolymérisation du pyrrole et faciliter ainsi la purification ultérieure sur colonne, on ajoute de l'eau bidistillée et l'ensemble est placé à +4°C pendant une journée. Le précipité obtenu après filtration est alors adsorbé sur Florisil[®] afin de procéder à une purification sur colonne de silice en utilisant comme système d'élution CHCl₃/EP – 6/4. Une seconde purification sur plaques préparatives de gel de silice est ensuite effectuée (CHCl₃/EP – 6/4). Le produit étant métallé, on opère une étape de démétallation par une extraction CHCl₃/HCl concentré. La phase organique est neutralisée et le composé **19b** est alors isolé avec un rendement de 3% (235 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,33 (CHCl₃/EP – 6/4)

UV-Visible (CH₂Cl₂) : λ nm ($\epsilon \times 10^{-3}$) : 419 (550,9) ; 515 (17,4) ; 550 (10,8) ; 591 (5,8) ; 646 (4,0)

RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,84 (s, H β _{pyr.}) ; 8,83 (d, J = 4,7 Hz, H β _{pyr.}) ; 8,79 (d, J = 4,7 Hz, H β _{pyr.}) ; 8,11 (d_{él}, J = 7,6 Hz, H_{2,6tol.}) ; 8,08 (d_{él}, J = 7,3 Hz, H_{2,6tol.}) ; 8,01 (dd, 1H, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 7,3 Hz, H_{6ar.}) ; 7,73 (dt, 1H, J₁ = 1,6 Hz, J₂ = 8,4 Hz, H_{4ar.}) ; 7,54 (d, 6H, J = 7,7 Hz, H_{3,5tol.}) ; 7,35 (dt, 1H, J₁ = 0,5 Hz, J₂ = 7,6 Hz, H_{5ar.}) ; 7,31 (d_{él}, J = 8,4 Hz, H_{3ar.}) ; 5,41 (ddt, 1H, J₁ = 5,1 Hz, J₂ = 10,5 Hz, J₃ = 17,0 Hz, H₂) ; 4,63 (dd_{él}, 1H, J₁ = 1,5 Hz, J₂ =

9,1 Hz, H_{3a}) ; 4,61 (ddt, 1H, J₁ = 1,6 Hz, J₂ = 17,2 Hz, H_{3b}) ; 4,39 (dd, 2H, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 4,8 Hz, H_{1a,b}) ; 2,69 (s, 9H, CH_{3tol.}) ; -2,73 (s_{él.}, 2H, NH)

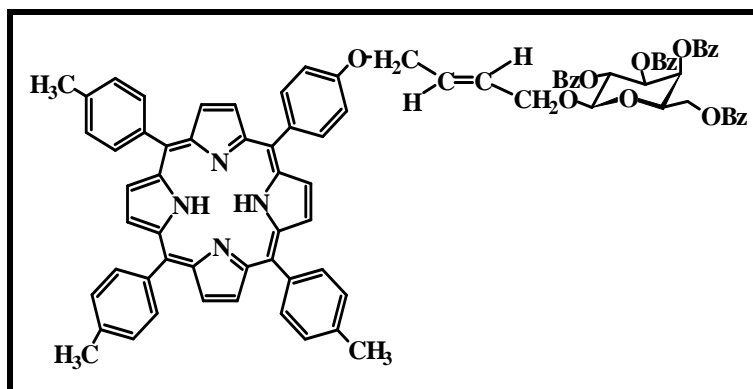
RMN ¹³C : δ (ppm) = 158,3 (C_{2ar.}) ; 150,0-150,5 (C_{αpyr.}) ; 139,3-139,4 (C_{1tol.}) ; 137,0-137,2 (C_{4tol.}) ; 135,8 (C_{6ar.}) ; 134,4-134,5 (C_{2,6tol.}) ; 133,0 (C₂) ; 131,4-131,8 (C_{βpyr.}) ; 132,1 (C_{1ar.}) ; 129,6 (C_{4ar.}) ; 127,2-127,4 (C_{3,5tol.}) ; 120,2 (C_{10meso}) ; 119,8 (C_{15,20 meso}) ; 115,8 (C_{5 meso}) ; 116,5 (C₃) ; 119,7 (C_{5ar.}) ; 112,7 (C_{3ar.}) ; 69,1 (C₁) ; 21,5 (Me tolyle)

SM (MALDI) m/z 713,19 (M + H⁺)

Procédure générale de synthèse des glycosyl arylporphyrines éthyléniques

Les porphyrines O-allyliques **19a,b** et le précurseur glucidique sont dissous dans du dichlorométhane préalablement dégazé par barbotage d'argon puis introduits dans un bicol surmonté d'un réfrigérant. L'ensemble est placé sous agitation magnétique sous atmosphère d'argon et porté à 40°C. On ajoute alors le catalyseur de Grubbs dissous dans du dichlorométhane à l'aide d'une canne de transfert et on laisse le mélange à cette température jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'évolution. On procède par la suite à une purification sur plaques préparatives de gel de silice en utilisant l'éluant approprié à chaque porphyrine synthétisée. Une procédure de démétallation par une extraction CHCl₃/HCl concentré est parfois nécessaire (présence d'une bande rose sous le produit sur CCM). La phase organique est ensuite neutralisée, lavée plusieurs fois à l'eau, séchée, filtrée et évaporée.

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyloxy)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (**20a**)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite ci-dessus. 28 mg de porphyrine allylique **19a** (0,04 mmol ; 1éq.) et 138 mg de dimère glucidique **12** (0,11 mmol ; 2,8 éq.) dissous dans 3 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 17 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (51% molaire) dissous dans 2 mL. On procède à une première purification sur plaques préparatives de gel de silice en utilisant comme éluant, cyclohexane/AcOEt – 92/28. La fraction récupérée n'étant pas totalement pure, une nouvelle purification est opérée dans du cyclohexane/AcOEt – 8/2 (deux fois). On obtient ainsi le composé attendu avec un rendement de 55% (29 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,53 (toluène/AcOEt – 9/1)

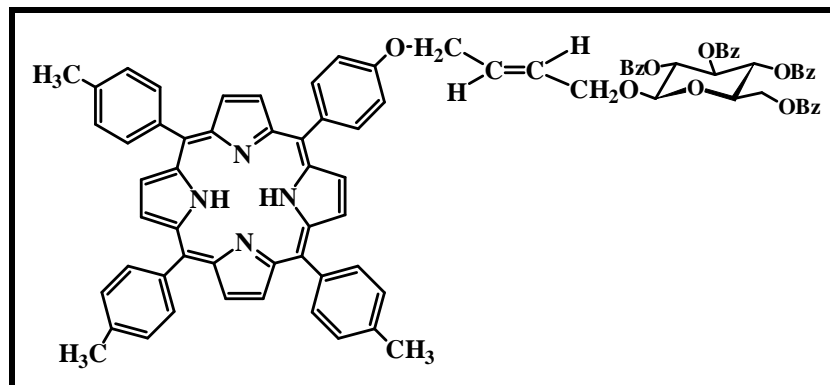
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-9)

RMN ¹³C (Tableau III-14)

SM (Tableau III-7)

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyloxy)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (21a)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 29 mg de porphyrine allylique **19a** (0,04 mmol ; 1éq.) et 203 mg de dimère glucidique **13** (0,16 mmol ; 4 éq.) dissous dans 4 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 10 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (29% molaire) dissous dans 2 mL. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice dans du cyclohexane/AcOEt – 8/2 (deux fois), on obtient le composé attendu avec un rendement de 55% (29,5 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,63 (toluène/acétone – 9/1)

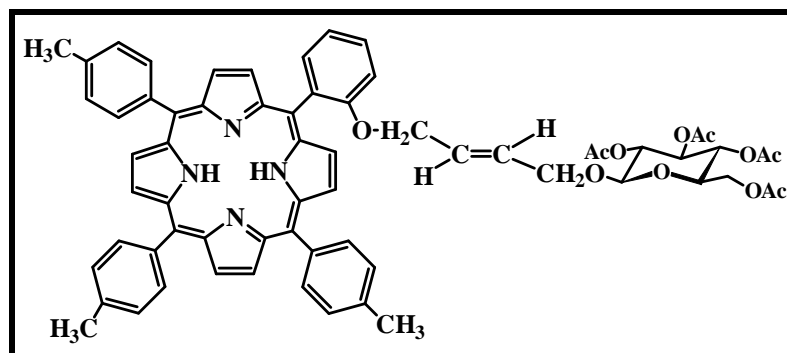
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-9)

RMN ¹³C (Tableau III-14)

SM (Tableau III-7)

5-[2-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyloxy)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (21b)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 37 mg de porphyrine allylique **19b** (0,05 mmol ; 1éq.) et 100 mg de dimère glucidique **15** (0,13 mmol ; 2,6 éq.) dissous dans 4 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 17 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (37% molaire) dissous dans 2 mL. Une première purification sur plaques préparatives de gel de silice (éluant : toluène/AcOEt – 4/3) permet de séparer en deux fractions les différents produits porphyriniques, la fraction qui nous intéresse étant celle qui migre le moins puis on procède à une nouvelle purification sur plaques préparatives de gel de silice avec cyclohexane/AcOEt – 6/4 afin de séparer les différents produits contenus dans cette fraction ainsi que les dérivés glucidiques (le composé **21b** correspond à la bande majoritaire qui migre le moins). Enfin, une dernière purification effectuée dans le même éluant s'est révélée nécessaire du fait de la présence persistante d'impuretés à l'état de traces. On obtient alors le composé attendu avec un rendement de 18% (10 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,25 (cyclohexane/AcOEt - 6/4)

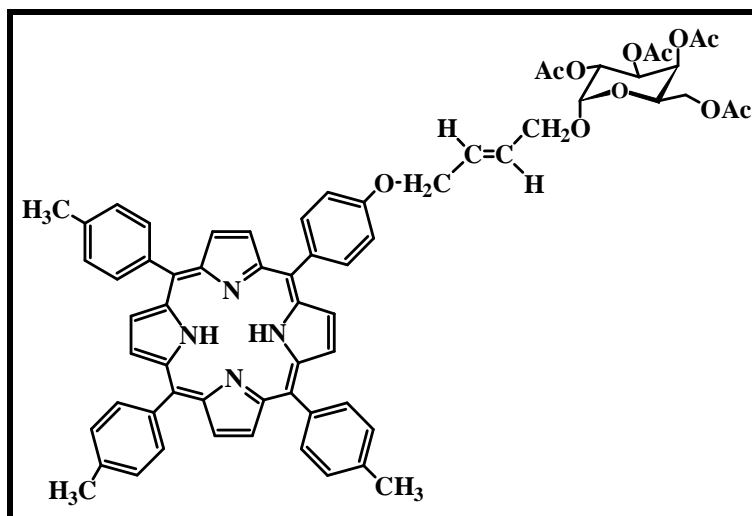
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-11)

RMN ¹³C (Tableau III-15)

SM (Tableau III-7)

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyloxy)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (22a)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 35 mg de porphyrine allylique **19a** (0,05 mmol ; 1éq.) et 95,5 mg de dimère glucidique **14** (0,13 mmol ; 2,6 éq.) dissous dans 4 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 14 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (34% molaire) dissous dans 2 mL. On procède à une première purification sur colonne afin de séparer les dérivés glucidiques du produit de réaction (éluant : cyclohexane/AcOEt – 7/3). Deux purifications supplémentaires sur plaques préparatives de gel de silice dans du cyclohexane/AcOEt – 1/1 ont été nécessaires pour obtenir le composé **22a** avec un rendement de 25% (13 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,41 (cyclohexane/AcOEt – 1/1)

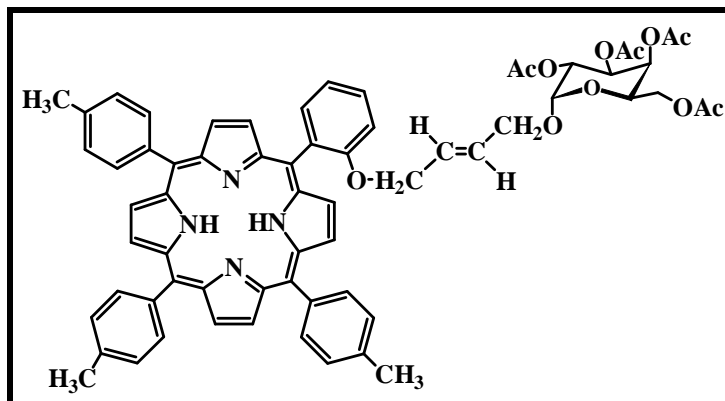
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-10)

RMN ¹³C (Tableau III-15)

SM (Tableau III-7)

5-[2-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyloxy)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (22b)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 41 mg de porphyrine allylique **19b** (0,06 mmol ; 1éq.) et 108 mg de dimère glucidique **14** (0,14 mmol ; 2,5 éq.) dissous dans 4 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 21,5 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (44% molaire) dissous dans 2 mL. On procède à une première purification sur colonne afin de séparer les dérivés glucidiques du produit de réaction (gradient d'éluion : cyclohexane/AcOEt – 8/2 à 7/3). Deux purifications supplémentaires sur plaques préparatives de gel de silice dans du cyclohexane/AcOEt – 1/1 puis 3/2 ont été nécessaires pour obtenir le composé **22b** avec un rendement de 19% (12 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,44 (cyclohexane/AcOEt – 1/1)

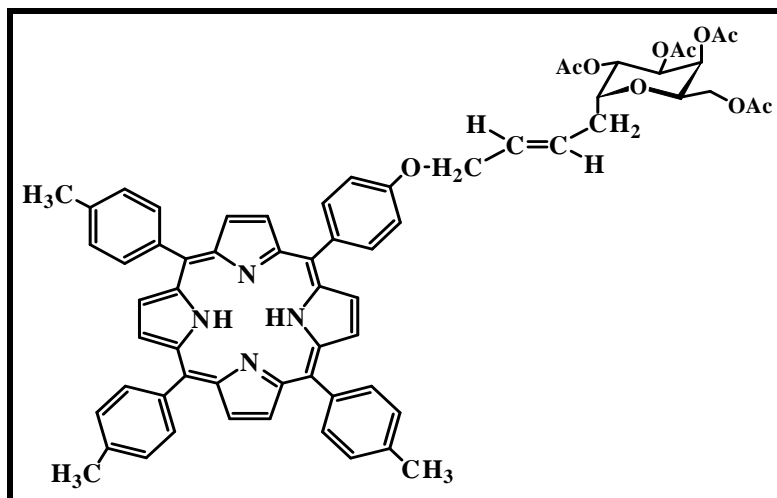
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-10)

RMN ¹³C (Tableau III-15)

SM (Tableau III-7)

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyl)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (23a)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 26 mg de porphyrine allylique **19a** (0,04 mmol ; 1éq.) et 149 mg de dimère glucidique **16** (0,21 mmol ; 5,8 éq.) dissous dans 4 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 10 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (32% molaire) dissous dans 2mL. Un nouvel ajout de catalyseur est opéré après 5 heures de réaction (9 mg ; 30% molaire). Une première purification sur plaques préparatives de gel de silice est opérée en utilisant comme éluant du chloroforme dans lequel on ajoute quelques gouttes d'éthanol puis l'on procède à une deuxième purification afin de séparer le produit du précurseur glucidique n'ayant pas réagi (toluène/AcOEt – 6/4). On obtient ainsi le composé **23a** avec un rendement de 64% (24 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,40 (toluène/MeOH – 95/5)

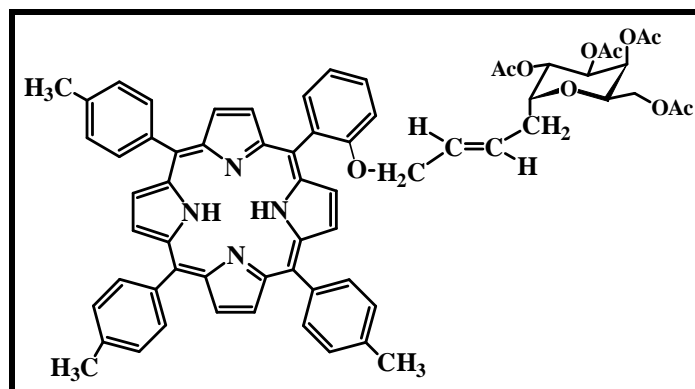
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-10)

RMN ¹³C (Tableau III-14)

SM (Tableau III-7)

5-[2-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyl)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (23b)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 17 mg de porphyrine allylique **19b** (0,02 mmol ; 1éq.) et 144 mg de dimère glucidique **16** (0,20 mmol ; 8,4 éq.) dissous dans 3,5 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 14 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (68% molaire) dissous dans 2mL. Une première purification sur plaques préparatives de gel de silice est opérée en utilisant comme éluant du toluène/AcOEt – 4/3 puis l'on procède à deux purifications supplémentaires rendues nécessaires par la présence d'impuretés à l'état de traces dans toluène/MeOH – 95/5. On obtient, ainsi, le composé **23b** avec un rendement de 58% (15 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,51 (toluène/MeOH – 95/5)

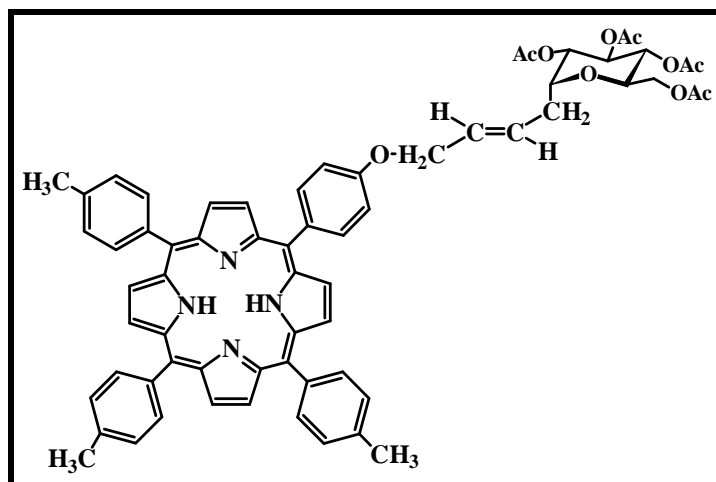
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-10)

RMN ¹³C (Tableau III-15)

SM (Tableau III-7)

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tetra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyl)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (24a)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 29 mg de porphyrine allylique **19a** (0,04 mmol ; 1éq.) et 168 mg de dimère glucidique **17** (0,23 mmol ; 5,7 éq.) dissous dans 4 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 9 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (26% molaire) dissous dans 2mL. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice en utilisant comme éluant du toluène/AcOEt – 4/3, le composé **24a** est isolé avec un rendement de 81% (35 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,40 (toluène/MeOH – 95/5)

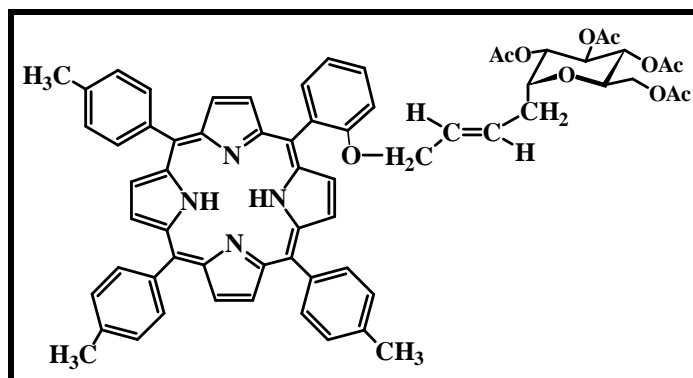
UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-11)

RMN ¹³C (Tableau III-14)

SM (Tableau III-7)

5-[2-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyl)-(E)-but-2-énoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (**24b**)



Ce composé a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 17 mg de porphyrine allylique **19b** (0,02 mmol ; 1éq.) et 186 mg de dimère glucidique **17** (0,24 mmol ; 10,8 éq.) dissous dans 3,5 mL de dichlorométhane dégazé ont été mis en présence de 13,5 mg de catalyseur de Grubbs de 2^{ème} génération (66% molaire) dissous dans 2mL. Une première purification sur plaques préparatives de gel de silice est opérée en utilisant comme éluant du toluène/AcOEt – 4/3 puis l'on procède à deux purifications supplémentaires rendues nécessaires par la présence d'impuretés à l'état de traces, dans toluène/MeOH – 95/5. Le composé **24b** est alors isolé avec un rendement de 38% (10 mg).

Caractérisation :

Rf = 0,54 (toluène/MeOH – 95/5)

UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-11)

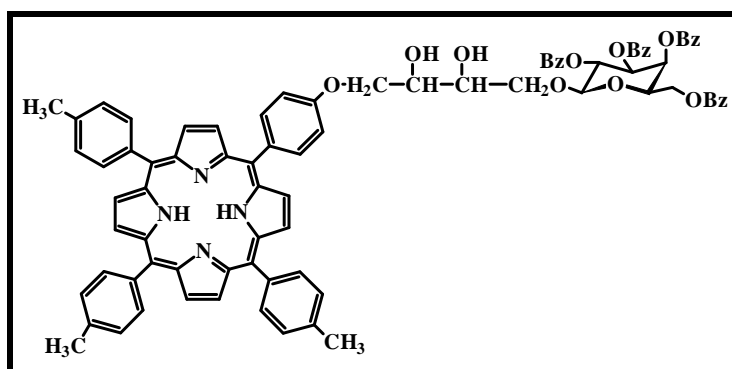
RMN ¹³C (Tableau III-15)

SM (Tableau III-7)

Procédure générale de dihydroxylation

L'AD-mix β commercial et le méthanesulfonamide sont ajoutés à un mélange constitué de *tert*iobutanol et d'eau dans des proportions 1/1. L'ensemble est laissé sous agitation de 30 minutes à une heure jusqu'à ce que deux phases distinctes apparaissent. Le ballon est alors plongé dans un bain de glace puis après précipitation des sels, on ajoute la porphyrine glycosylée dissoute dans de l'oxyde de *t*-butyle et de méthyle. Le mélange est laissé dans un bain de glace, dans un premier temps puis à température ambiante jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'évolution. On ajoute alors du sulfite de sodium et après 1 à 2 heures d'agitation, on procède à une extraction avec du dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée. Le brut obtenu est soit réacétylé avant purification, soit directement purifié sur plaques préparatives de gel de silice dans un éluant approprié.

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyloxy)-(R,R)-2,3-dihydroxybutanoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (25a)



Le composé **25a** a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite ci-dessus. 868,5 mg d'AD-mix β et 4,2 mg de méthylsulfonamide sont introduits dans un ballon contenant 6,2 mL d'un mélange *tert*iobutanol/ H_2O – 1/1. Après précipitation, 15 mg de composé **20a** dissous dans 3,8 mL d'oxyde de *t*-butyle et de méthyle ($1,1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) sont ajoutés et l'ensemble, laissé sous agitation à froid puis à température ambiante pendant 18 heures. La réaction est alors arrêtée par ajout de 965 mg de sulfite de sodium. Après traitement et purification sur plaques préparatives de gel de silice (toluène/ $AcOEt$ – 6/4), le composé **25a** est récupéré avec un rendement de 68% (10 mg).

Caractérisation :

$R_f = 0,53$ (toluène/ $AcOEt$ – 4/3)

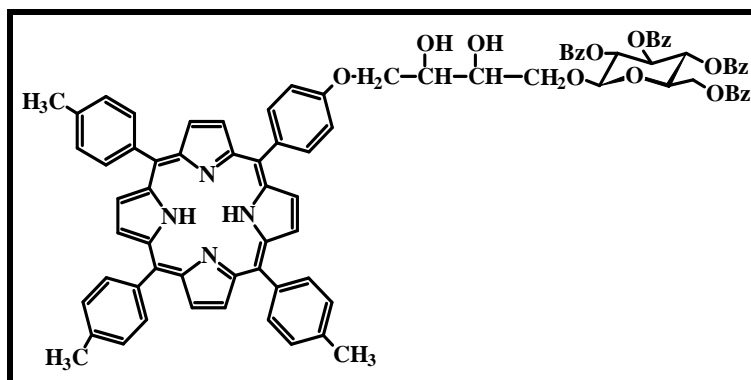
UV-visible (Tableau III-5)

RMN 1H (Tableau III-9)

RMN ^{13}C (Tableau III-14)

SM (Tableau III-7)

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyloxy)-(R,R)-2,3-dihydroxybutanoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (26a)



Le composé **26a** a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 868 mg d'AD-mix β et 3,5 mg de méthylsulfonamide sont introduits dans un ballon contenant 6,2 mL d'un mélange *tert*iobutanol/H₂O – 1/1. Après précipitation, 7,5 mg de composé **21a** dissous dans 3,8 mL d'oxyde de *t*-butyle et de méthyle ($5,7 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹) sont ajoutés et l'ensemble, laissé sous agitation à froid puis à température ambiante pendant 18 heures. La réaction est alors arrêtée par ajout de 960 mg de sulfite de sodium. Après traitement et purification sur plaques préparatives de gel de silice (toluène/AcOEt – 4/3), le composé **26a** est récupéré avec un rendement de 47% (3,6 mg).

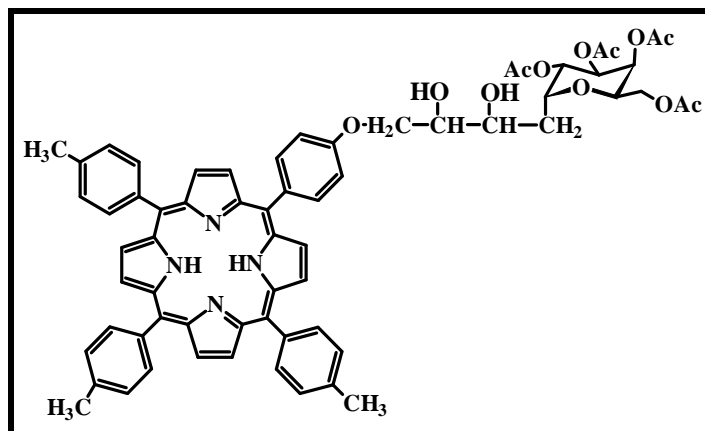
Caractérisation :

R_f = 0,50 (toluène/AcOEt – 4/3)

UV-visible (Tableau III-5)

SM (Tableau III-8)

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-galactopyranosyl)-(R,R)-2,3-dihydroxybutanoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (27a)



Le composé **27a** a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 436 mg d'AD-mix β et 5 mg de méthylsulfonamide sont introduits dans un ballon contenant 3 mL d'un mélange *tert*butanol/H₂O – 1/1. Après précipitation, 8,0 mg de composé **23a** dissous dans 2 mL d'oxyde de *t*-butyle et de méthyle ($1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹) sont ajoutés et l'ensemble, laissé sous agitation à froid puis à température ambiante pendant 18 heures. La réaction est alors arrêtée par ajout de 385 mg de sulfite de sodium. Après traitement et évaporation, on procède à une purification sur plaques préparatives de gel de silice (toluène/AcOEt – 4/3). Le composé **27a** est récupéré avec un rendement de 42% (3,5 mg).

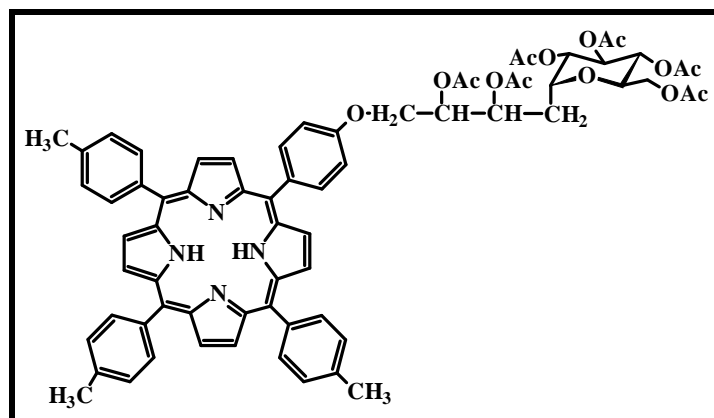
Caractérisation :

R_f = 0,29 (toluène/AcOEt – 4/3)

UV-visible (Tableau III-5)

SM (Tableau III-8)

5-[4-{4-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyl)-(R,R)-2,3-diacétoxybutanoxy}phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (28a)



Le composé **28a** a été synthétisé en suivant la procédure générale décrite plus avant. 868,5 mg d'AD-mix β et 4,5 mg de méthylsulfonamide sont introduits dans un ballon contenant 6,2 mL d'un mélange *tert*iobutanol/H₂O – 1/1. Après précipitation, 18,5 mg de composé **24a** dissous dans 4,8 mL d'oxyde de *t*-butyle et de méthyle ($1,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹) sont ajoutés et l'ensemble, laissé sous agitation à froid puis à température ambiante pendant 18 heures. La réaction est alors arrêtée par ajout de 960 mg de sulfite de sodium. Après traitement et évaporation, on procède à une réacétylation du brut obtenu en présence de 0,02 mL de pyridine (0,315 mmol ; 18 équ.) et de 0,03 mL d'anhydride acétique (0,315 mmol ; 18 équ.) pendant la nuit à température ambiante. Le mélange est alors versé dans un bain de glace, extrait au chloroforme, neutralisé avec 5 mL d'une solution saturée de NaHCO₃, lavé à l'eau, séché sur MgSO₄, filtré et évaporé. Après purification sur plaques préparatives de gel de silice (toluène/AcOEt – 60/40), le composé **28a** est récupéré avec un rendement de 49% (10,1 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,43 (toluène/AcOEt – 4/3)

UV-visible (Tableau III-5)

RMN ¹H (Tableau III-11)

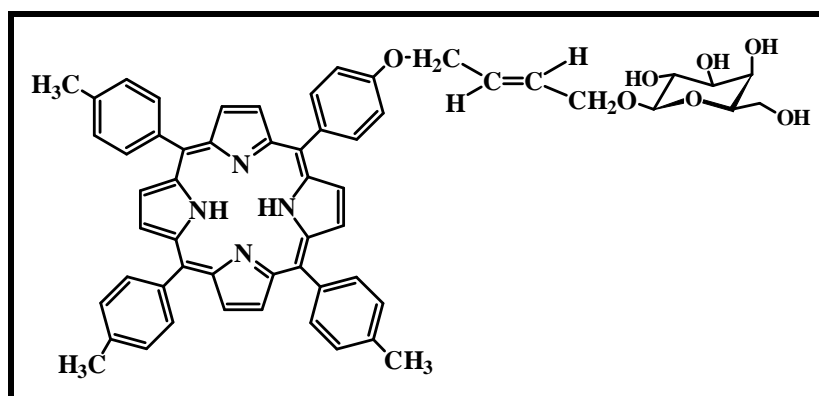
RMN ¹³C (Tableau III-14)

SM (Tableau III-7)

Procédure générale de déprotection des arylporphyrines

La porphyrine glycosylée est dissoute dans un mélange dichlorométhane/méthanol – 7/3 auquel on ajoute une solution à 0,5 mol.L⁻¹ de méthanolate de sodium dans le méthanol à raison de 1 éq. par groupement protecteur pour les composés *peracétylés* et de 1,2 éq. par groupement protecteur dans le cas des dérivés *perbenzoylés*. L'ensemble est laissé sous agitation à température ambiante pendant au moins une heure. La porphyrine déprotégée est précipitée dans de l'éther de pétrole et le mélange est alors filtré. Le produit est récupéré par dissolution dans un mélange THF/H₂O – 95/5 ou 8/2. Une purification ultérieure sur colonne phase inverse s'est révélée nécessaire dans certains cas afin d'isoler le composé déprotégé.

5-[4-(4-β-D-galactopyranosyloxy-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (29a)



Après réaction de 9 mg de composé **20a** (0,007 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, on récupère le composé **29a** avec un rendement de 94% (6 mg).

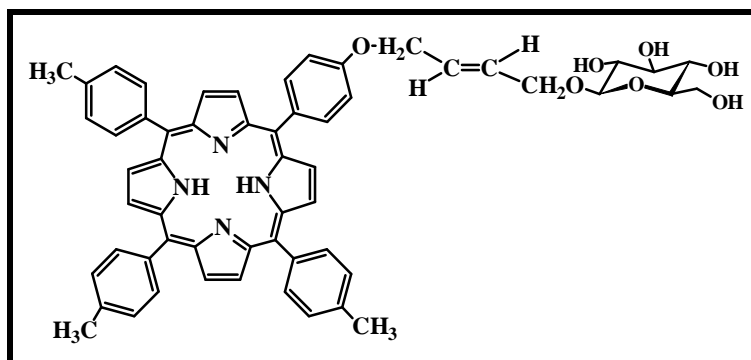
Caractérisation :

R_f = 0,54 (CH₂Cl₂/MeOH – 4/1)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4-β-D-glucopyranosyloxy-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (30a)



Après réaction de 14 mg de composé **21a** (0,01 mmol ; 1 éq.) dissous dans 1,5 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, on récupère le composé **30a** avec un rendement de 95% (9,1 mg).

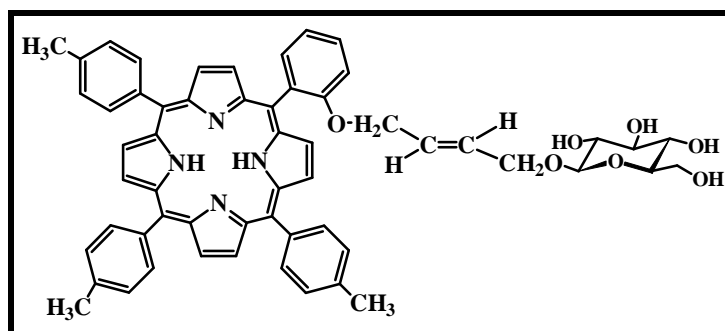
Caractérisation :

R_f = 0,40 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-Visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[2-(4-β-D-glucopyranosyloxy-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (30b)



Après réaction de 11 mg de composé **21b** (0,01 mmol ; 1 éq.) dissous dans 1,3 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, on procède à une purification sur colonne phase inverse (Eluant : CH₃CN/CH₂Cl₂ – 6/4). Le composé **30b** est isolé avec un rendement de 30% (2,5 mg).

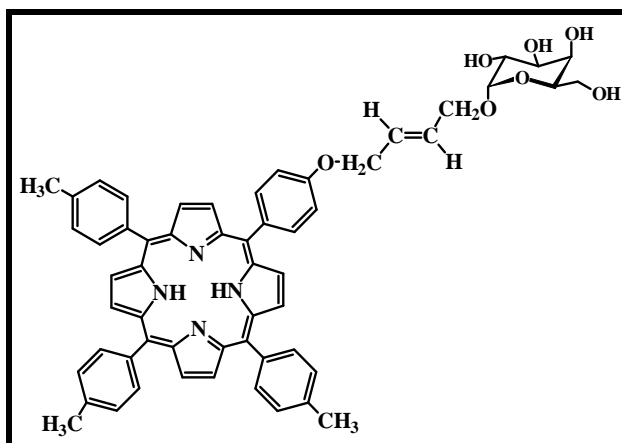
Caractérisation :

R_f = 0,61 (CH₂Cl₂/MeOH – 4/1)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4- α -D-galactopyranosyloxy-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (31a)



Après réaction de 16,4 mg de composé **22a** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, le composé **31a** est isolé avec un rendement de 94% (13 mg).

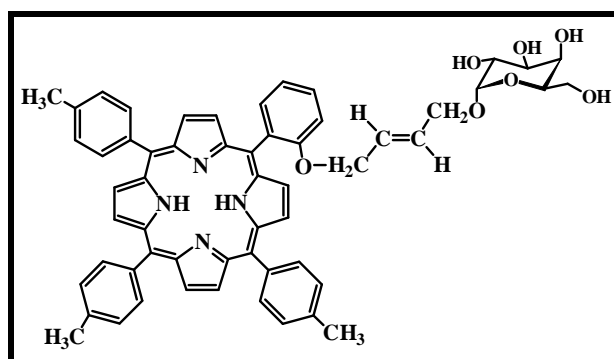
Caractérisation :

R_f = 0,45 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[2-(4- α -D-galactopyranosyloxy-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (31b)



Après réaction de 11,5 mg de composé **22b** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, le composé **31b** est isolé avec un rendement de 96% (9 mg).

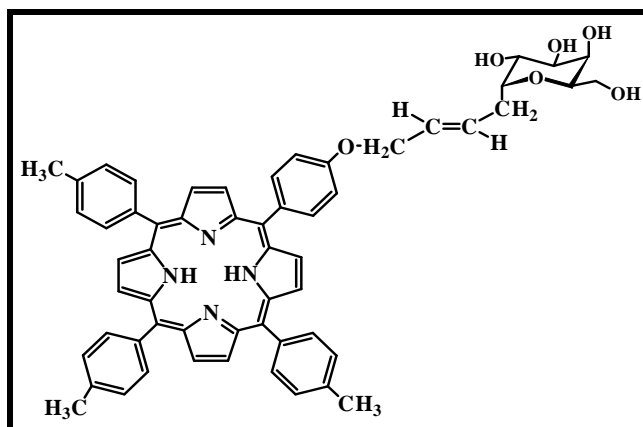
Caractérisation :

R_f = 0,67 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4- α -D-galactopyranosyl-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (32a)



Après réaction de 11 mg de composé **23a** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1,3 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant et purification sur colonne de silice en phase inverse du brut dissous dans le minimum de THF/H₂O – 8/2 (Eluant : THF/H₂O – 1/1 à 3/2), on récupère le composé **32a** avec un rendement de 94 % (8,5 mg).

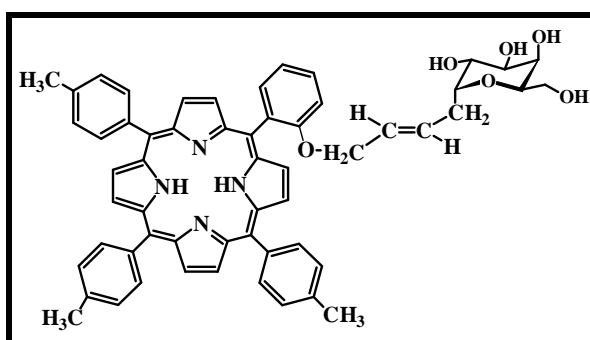
Caractérisation :

R_f = 0,50 (CH₂Cl₂/MeOH – 4/1)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[2-(4-C- α -D-galactopyranosyl-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (32b)



Après réaction de 17 mg de composé **23b** (0,02 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, le composé **32b** est isolé avec un rendement de 80% (11 mg).

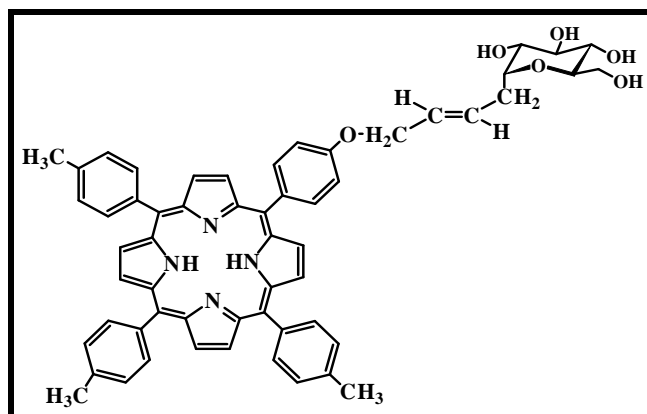
Caractérisation :

R_f = 0,52 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4- α -D-glucopyranosyl-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (33a)



Après réaction de 13 mg de composé **24a** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1,5 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant et purification sur colonne de silice en phase inverse du brut dissous dans le minimum de THF/H₂O – 8/2 (Eluant : THF/H₂O – 1/1 à 3/2), on récupère le composé **33a** avec un rendement de 74 % (7,9 mg).

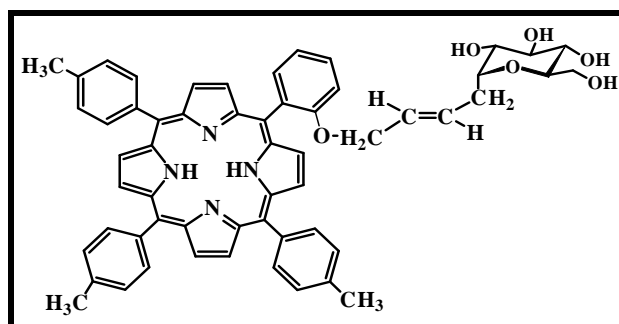
Caractérisation :

R_f = 0,42 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[2-(4-C- α -D-glucopyranosyl-(E)-but-2-énoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (33b)



Après réaction de 12 mg de composé **24b** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, on récupère ainsi le composé **33b** avec un rendement de 98% (10 mg).

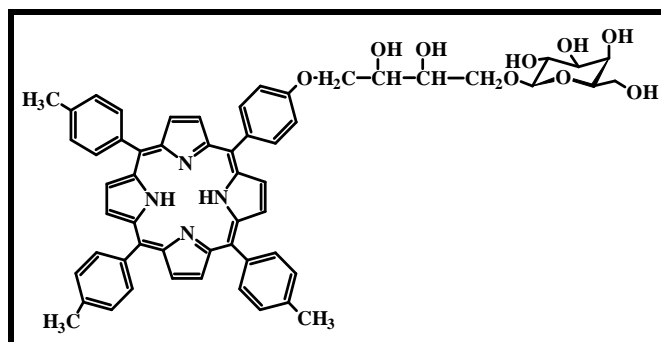
Caractérisation :

R_f = 0,51 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4-β-D-galactopyranosyloxy-(R,R)-2,3-dihydroxybutanoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (34a)



Après réaction de 10 mg de composé **25a** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, on récupère le composé **34a** avec un rendement de 94% (6,5 mg).

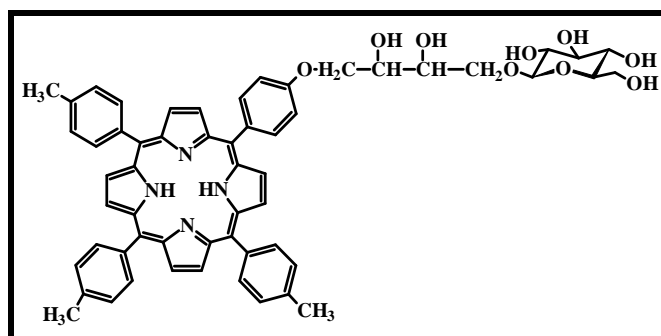
Caractérisation :

Rf = 0,32 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4-β-D-glucopyranosyloxy-(R,R)-2,3-dihydroxybutanoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (35a)



Après réaction de 2 mg de composé **26a** (0,001 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, on obtient le composé **35a** avec un rendement de 99% (1,4 mg).

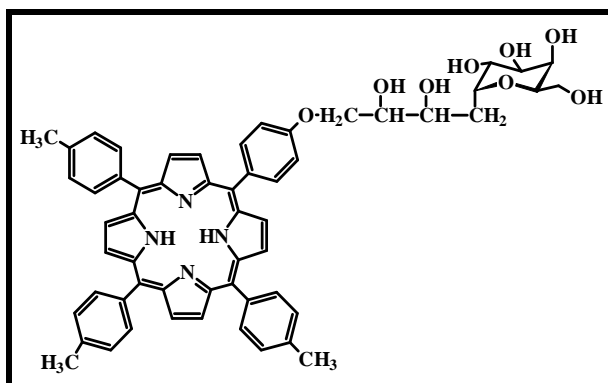
Caractérisation :

Rf = 0,44 (CH₂Cl₂/MeOH – 4/1)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4- α -D-galactopyranosyl-(R,R)-2,3-dihydroxybutanoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (36a)



Après réaction de 2 mg de composé **27a** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale, le composé **36a** est isolé avec un rendement de 99% (1,7 mg).

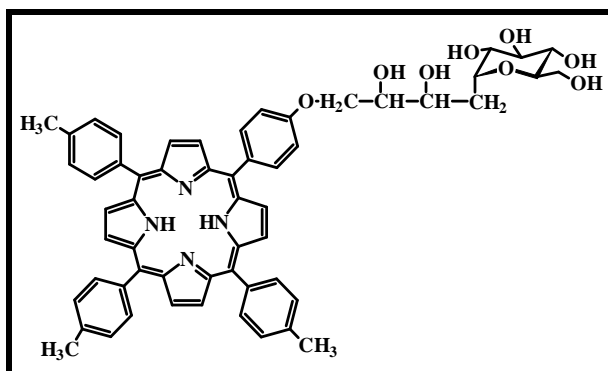
Caractérisation :

R_f = 0,19 (CH₂Cl₂/MeOH – 85/15)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

5-[4-(4- α -D-glucopyranosyl-(R,R)-2,3-dihydroxybutanoxy)phényl]10,15,20-tritolylporphyrine (37a)



Après réaction de 6 mg de composé **28a** (0,01 mmol ; 1éq.) dissous dans 1 mL du mélange de solvants selon la procédure générale décrite plus avant, le composé **37a** est isolé avec un rendement de 85% (4 mg).

Caractérisation :

R_f = 0,60 (CH₂Cl₂/MeOH – 4/1)

UV-visible (Tableau III-6)

SM (Tableau III-8)

Procédure générale d'encapsulation des porphyrines dans des liposomes

Première méthode :

4 mg de porphyrine déprotégée sont dissous dans un minimum de THF et introduites dans un bécher contenant 250 mg de lécithine de soja. L'ensemble est laissé à l'air libre dans la cuve à ultrasons jusqu'à évaporation complète du solvant entraînant la formation d'un film puis 20 mL d'eau bidistillée sont ajoutés et l'ensemble, de nouveau, laissé dans la cuve à ultrasons jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de particules en suspension. L'incorporation des porphyrines glycosylées est vérifiée par microscopie électronique.

Deuxième méthode :

50 mg de DL-dimyristoyl- α -phosphatidylcholine et 5 mg de cholestérol dissous dans du chloroforme sont introduits dans un ballon. On ajoute alors 0,5 mg de porphyrine déprotégée et on met l'ensemble à évaporer pendant 30 minutes. 4mL d'eau bidistillée sont alors introduites et le ballon, placé dans la cuve à ultrasons pendant au moins 30 minutes. La solution obtenue est ensuite filtrée sur une membrane millipore de 0,45 μm (5 fois) Les échantillons sont alors placés à -18°C et l'on procède à trois congélations-décongélations. On procède enfin à une nouvelle filtration sur membrane millipore de 0,45 μm .

CONCLUSION GÉNÉRALE

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé pour la première fois des porphyrines glycosylées éthyléniques en procédant par métathèse. Deux séries de porphyrines glycosylées ont ainsi été élaborées. La première est constituée de porphyrines O-glycosylées et la deuxième série est composée de porphyrines C-glycosylées. Ces dernières se révèlent particulièrement intéressantes en raison de leur aptitude à résister à l'hydrolyse enzymatique. Nous avons appliqué une stratégie en deux étapes qui consiste, dans un premier temps, à élaborer le précurseur glucidique sous sa forme dimérique puis à faire réagir, par métathèse, cet homodimère avec les porphyrines allyliques. Nous avons ensuite appliqué la réaction de dihydroxylation asymétrique de Sharpless sur quatre des porphyrines issues de ce travail dans le but d'augmenter les propriétés amphiphiles des composés obtenus. Nous avons pu ainsi vérifier que les conditions opératoires dans lesquelles sont effectuées ces réactions n'entraînent pas de modification du macrocycle porphyrinique. Ces nouvelles structures ont été caractérisées, sous leur forme acétylée ou benzoylée, par spectrométrie de masse, spectroscopie UV-Visible ainsi que par spectroscopie RMN du proton et du carbone 13. Les différents produits obtenus au cours de ce travail ont fait l'objet de tests biologiques sur deux lignées cellulaires leucémiques K562 (voir en annexe), l'une étant sensible, l'autre résistante à la doxorubicine. Bien qu'étant légèrement moins cytotoxiques que le Photofrin[®] en l'absence de lumière, ils présentent, par ailleurs, une faible phototoxicité vis-à-vis des cellules testées. Nous prévoyons de les tester sur d'autres souches de cellules cancéreuses avant de tirer des conclusions quant à leur relative inactivité en PDT. Nous envisageons, tout d'abord, dans la continuité de ce travail, de réaliser la synthèse des porphyrines glycosylées éthyléniques en procédant par activation micro-ondes pour effectuer la fixation des unités glucidiques par métathèse. Cette procédure devrait permettre d'améliorer les rendements, notamment, dans le cas des porphyrines substituées en *ortho*. Nous pensons également appliquer une stratégie similaire en vue de l'élaboration de porphyrines glycosylées d'origine naturelle. En effet, ce type de composés, qui a déjà fait l'objet d'études dans notre laboratoire, donne des résultats encourageants pour une application en PDT. Enfin nous projetons d'oxyder les porphyrines glycosylées obtenues afin de les transformer en chlorines et autres dérivés qui présentent l'avantage d'absorber beaucoup plus vers le rouge.

BIBLIOGRAPHIE

PREMIÈRE PARTIE

- 1- Fischer H., Orth H., *Die Chemie des Pyrrols*, vols I-III, éditeur : J. Springer, Berlin, 1934-1940.
- 2- Dixon H. B. F., Cornish-Bowden A., Liebecq C., Loening K. L., Moss G. P., Reedijk J., Velick S. F., Venetiamer P., Vliegthart J. F. G. et coll., *Pure Appl. Chem.*, **59**, 779-832, 1987.
- 3- a) Senge M. O., *The Porphyrin Handbook*, vol. I, éditeurs : Kadish K. M., Smith K. M., Guilard R., Academic Press, San Diego, 239-347, 2000.
b) Meyer E. F. Jr., Cullen, D. L., *The Porphyrins*, vol. III, éditeur : Dolphin D., Academic Press, New York, 513-529, 1978.
c) Cullen D. L., Meyer E. F. Jr., K. M. Smith, *Inorg. Chem.*, **16**, 1179-1186, 1977 ; Guilard R., Lecomte C., Kadish K. M., *Struct. Bond.*, 205-268, 1987.
- 4- Perutz M., *Pour la Science*, 16, 71, 1979.
- 5- Joliot P., Joliot A., *La Recherche*, **9**, 331-338, 1978 ; Weil J. H., Ebel J. P., *Biochimie Générale*, éditeur : Masson, Technique et Documentation, Paris, 1987.
- 6- Rothmund P., *J. Am. Chem. Soc.*, **58**, 625-627, 1936 ; Rothmund P., *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 2912-2915, 1939.
- 7- Adler A. D., Longo F. R., Finarelli J. D., Goldmacher J., Assour J., Korsakoff L., *J. Org. Chem.*, **32**, 476, 1967.
- 8- Little R. G., Anton J. A., Loach P. A., Ibers J. A., *J. Heterocycl. Chem.*, **12**, 343-349, 1975 ; Little R. G., *J. Heterocycl. Chem.*, **18**, 129-133, 1981.
- 9- Lindsey J. S., Hsu H. C., Schreiman I. C., *Tetrahedron Lett.*, **27**, 4969-4970, 1986 ; Lindsey J. S., Schreiman I. C., Hsu H. C., Kearney P. C., Marguerettaz A. M., *J. Org. Chem.*, **52**, 827-836, 1987.
- 10- Dolphin D., *J. Heterocycl. Chem.*, **7**, 275-283, 1970.
- 11- Rocha Gonsalves A. M. A., Pereira M. M., *J. Heterocycl. Chem.*, **22**, 931-933, 1985.
- 12- Lindsey J. S., Wagner R. W., *J. Org. Chem.*, **54**, 828-836, 1989.
- 13- a) Lindsey J. S., Prathapan S., Johnson T. E., Wagner R. W., *Tetrahedron*, **50**, 8941-8968, 1994.
b) Lindsey J. S., *The Porphyrin Handbook*, vol. I, éditeurs : Kadish K. M., Smith K. M., Guilard R., Academic Press, San Diego, 45-118, 2000.
- 14- Cady S. S., Pinnavaia T. J., *Inorg. Chem.*, **17**, 1501-1507, 1978 ; Onaka M., Shinoda T., Izumi Y., Nolen E., *Chem. Lett.*, 117-120, 1993.

- 15- Gradillas A., del Campo C., Sinisterra J. V., Llama E. F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1*, 2611-2613, 1995.
- 16- Woodward R. B., *Angew. Chem.*, 72, 651-662, 1960.
- 17- Markovac A., MacDonald S. F., *Can. J. Chem.*, **43**, 3364-3371, 1965.
- 18- Lecas-Nawrocka A., Boitrel B., Rose E., *Tetrahedron Lett.*, **33**, 481-484, 1992 ; Wang Q. M., Bruce D. W., *Synlett*, 1267-1268, 1995 ; Lee D. A., Smith K. M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1*, 1215-1227, 1997.
- 19- Littler B. J., Ciringh Y., Lindsey J. S., *J. Org. Chem.*, **64**, 2864-2872, 1999.
- 20- Rao P. D., Littler B. J., Geier G. R. III, Lindsey J. S., *J. Org. Chem.*, **65**, 1084-1092, 2000.
- 21- Rao P. D., Dhanalekshmi S., Littler B. J., Lindsey J. S., *J. Org. Chem.*, **65**, 7323-7344, 2000.
- 22- Heo P.-Y., Lee C.-H., *Bull. Korean Chem. Soc.*, **17**, 515-520, 1996.
- 23- Hwang K. C., Mauzerall D., Wagner R. W., Lindsey J. S., *Photochem. Photobiol.*, **59**, 145-151, 1994.
- 24- Lee C.-H., Li F., Iwamoto K., Dadok J., Bothner-By A. A., Lindsey J. S., *Tetrahedron*, **51**, 11645-11672, 1995.
- 25- a) Gaud O., Granet R., Kaouadji M., Krausz P., Blais J.-C., Bolbach G., *Can. J. Chem.*, **74**, 481-499, 1996.
b) Sylvain I., Zerrouki R., Granet R., Huang Y. M., Lagorce J.-F., Guilloton M., Blais J.-C., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 57-69, 2002.
c) Shanmugathan S., Edwards C., Boyle R. W., *Tetrahedron*, **56**, 1025-1046, 2000 ; Feng X., Senge M. O., *Tetrahedron*, **56**, 587-590, 2000 ; Elgie K. J., Scobie M., Boyle R. W., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 2753-2757, 2000.
- 26- a) Abraham R. J., *Mol. Phys.*, 145-152, 1961.
b) Abraham R. J., Hawkes G. E., Hudson M. F., Smith K. M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.2*, 204-211, 1975.
- 27- *The Porphyrin Handbook*, vol. VI, éditeurs : Kadish K. M., Smith K. M., Guillard R., Academic Press, San Diego, 2000.
- 28- Chou J. H., Kosal M. E., Nalwa H. S., Rakow N. A., Suslick K. S., *The Porphyrin Handbook*, vol. VI, éditeurs : Kadish K. M., Smith K. M., Guillard R., Academic Press, San Diego, 43-131, 2000 ; Armstrong N. R., *J. Porph. Phthalocyanines*, **4**, 414-417, 2000.
- 29- a) Collman J. P., Broring M., Fu L., Rapta M., Schwenninger R., *J. Org. Chem.*, **63**, 8084-8085, 1998.

- b) Breslow R., Gabriele B., Yang J., *Tetrahedron Lett.*, **39**, 2887-2890, 1998 ; Zhang R., Yu W.-Y., Lai T.-S., Che C.-M., *Chem. Commun.*, 409-410, 1999 ; Evans S., Lindsay Smith J. R., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.2*, 1541-1552, 2000 ; Nelson A. P., DiMagno S. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 8569-8570, 2000 ; Sobral A. J. F. N., Gonsalves A. M. D'A. Rocha, *J. Porph. Phthalocyanines*, **5**, 428-430, 2001.
- 30- Speck M., Kurreck H., Senge M. O., *Eur. J. Org. Chem.*, 2303-2314, 2000.
- 31- Lehn J. M., Kirch M., Sauvage J. P., Ziessel R., *La Recherche*, **11**, 203-205, 1980 ; Kalyanasundaram K., Graetzel M., *Solar Energy R&D in the European Community, Series D: Photochemical, Photoelectrochemical and Photobiological Processes*, 1, 108-115, 1982.
- 32- a) Meunier B., *Chem. Rev.*, **92**, 1411-1456, 1992.
b) Labat G., Seris J. L., Meunier B., *Angew. Chem.*, **102**, 1471-1473, 1990 (voir aussi *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **29**, 1488-1490, 1990).
- 33- Dougherty T. J., Henderson B. W., Schwartz S., Winkelman J. W., Lipson R. L., *Photodynamic Therapy: Basic Principles and Clinical Applications*, éditeurs : Henderson B. W., Dougherty T. J., Marcel Dekker, New York, 1-15, 1992.
- 34- Lipson R. L., Baldes E. J., Olsen A. M., *J. Natl. Cancer Inst.*, **26**, 1-12, 1961 ; Lipson R. L., Baldes E. J., Olsen A. M., *Dis. Chest*, **46**, 676-679, 1964.
- 35- Lipson R. L., Baldes E. J., Gray M. J., *Cancer*, **20**, 2255-2257, 1967.
- 36- a) Diamond I., Granelli S. G., McDonagh A. F., Nielsen S., Wilson C. B., Jaenicke R., *The Lancet*, **2** (7788), 1175-1177, 1972.
b) Dougherty T. J., Grindey G. B., Fiel R., Weishaupt K. R., Boyle D. G., *J. Natl. Cancer Inst.*, **55**, 115-121, 1975.
c) Kelly J. F., Snell M. E., *J. Urol.*, **115**, 150-151, 1976.
- 37- Dougherty T. J., Kaufman J. E., Goldfarb A., Weishaupt K. R., Boyle D., Mittleman A., *Cancer Res.*, **38**, 2628-2635, 1978.
- 38- Dougherty T. J., *Photochem. Photobiol.*, **46**, 569-573, 1987.
- 39- Mody T. D., *J. Porph. Phthalocyanines*, **4**, 362-367, 2000 ; Teiten M.-H., Bezdetnaya L., Morliere P., Santus R., Guillemin F., *Br. J. Cancer*, **88**, 146-152, 2003 ; Lane N., *Pour la Science*, **304**, 26-32, 2003.
- 40- Mazière J. C., Morlière P., Biade S., Santus R., *C. R. Soc. Biol.*, **186** (1-2), 88-106, 1992.
- 41- Jori G., Beltramini M., Reddi E., Salvato B., Pagnan A., Ziron L., Tomio L., Tsanov T., *Cancer Lett.*, **24**, 291-297, 1984 ; Reyftmann J. P., Morlière P., Goldstein S., Santus R., Dubertret L., Lagrange D., *Photochem. Photobiol.*, **40**, 721-729, 1984.

- 42- a) Gal D., MacDonald P. C., Porter J. C., Simpson E. R., *Int. J. Cancer*, **28**, 315-319, 1981 ; Mazière J. C., Mazière C., Mora L., Polonovski J., *Biochimie*, **63**, 221-226, 1981.
b) Kessel D., *Cancer Lett.*, **33**, 183-188, 1986.
- 43- a) Kapinus E. I., Aleksankina M. M., Staryi V. P., Boghillo V. I., Dilung I. I., *J. Chem. Soc., Faraday Trans.2*, **81**, 631-642, 1985.
b) Moan J., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **6**, 343-344, 1990.
- 44- Ricchelli F., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **29**, 109-118, 1995.
- 45- Foote C. S., *Proc. SPIE Institute*, IS 6, 115, 1990.
- 46- Luna M. C., Gomer C. J., *Cancer Res.*, **51**, 4243-4249, 1991 ; Sharkey S. M., Wilson B. C., Moorehead R., Singh G., *Cancer Res.*, **53**, 4994-4999, 1993 ; Zaidi S. I., Oleinick N. L., Zaim M. T., Mukhtar H., *Photochem. Photobiol.*, **58**, 771-776, 1993 ; Lilge L., Portnoy M., Wilson B. C., *Br. J. Cancer*, **83**, 1110-1117, 2000.
- 47- Dolphin D., *Can. J. Chem.*, **72**, 1005-1013, 1994.
- 48- Sternberg E. D., Dolphin D., Brückner C., *Tetrahedron*, **54**, 4151-4202, 1998.
- 49- Schuitmaker J. J., Baas P., Van Leengoed H. L. L. M., Van der Meulen F. W., Star W. M., Van Zandwijk N., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **34**, 3-12, 1996 ; Dougherty T. J., Gomer C. J., Henderson B. W., Jori G., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Peng Q., *J. Natl. Cancer Inst.*, **90**, 889-905, 1998 ; Kessel D., Dougherty T. J., *Rev. Contemp. Pharmacoth.*, **10**, 19-24, 1999.
- 50- Cowled P. A., Forbes I. J., *Br. J. Cancer*, **59**, 904-909, 1989.
- 51- Sol V., Branland P., Granet R., Kaldapa C., Verneuil B., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 3007-3010, 1998 ; Rovaldi C. R., Pievsky A., Sole N. A., Friden P. M., Rothstein D. M., Spacciapoli P., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **44**, 3364-3367, 2000.
- 52- a) Lis H., Sharon N., *Chem. Rev.*, **98**, 637-674, 1998.
b) Kieda C., Monsigny M., *Invasion & Metastasis*, **6**, 347-366, 1986 ; Monsigny M., Roche A. C., Midoux P., Kieda C., Mayer R., *Lectins Glycoconjugates Oncol.*, 25-47, 1988.
- 53- Fisher A., *Médecine/Sciences*, 7, 540-542, 1991.
- 54- Niamien Konan Y., Gurny R., Allemann E., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **66**, 89-106, 2002.
- 55- Schaschke N., Assfalg-Machleidt I., Machleidt W., Lassleben T., Sommerhoff C. P., Moroder L., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 677-680, 2000 ; Drummond D. C., Hong

- K., Park J. W., Benz C. C., Kirpotin D. B., *Vitamins and Hormones*, **60**, 285-332, 2001.
- 56- Naoto O., Saito N., Namba Y., Tsukada H., Dolphin D., Okada S., *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 670-673, 1997 ; Damoiseau X., Schuitmaker H. J., Lagerberg J. W. M., Hoebeke M., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **60**, 50-60, 2001.
- 57- Bangham A. D., *Advan. Lipid Res.*, **1**, 65-104, 1963 ; Bangham A. D., Standish M. M., Watkins J. C., *J. Mol. Biol.*, **13**, 238-252, 1965.
- 58- Juliano R. L., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2**, 31-54, 1988 ; Duncan R., *J. Drug Target.*, **5**, 1-4, 1997.
- 59- Praly J. P., Chen G.-R., Gola J., Hetzer G., Raphoz R., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8185-8188, 1997 ; Praly J.-P., Chen G.-R., Gola J., Hetzer G., *Eur. J. Org. Chem.*, **16**, 2831-2838, 2000.

DEUXIÈME PARTIE

- 1- Schmidt R. R., *Angew. Chem.*, **98**, 213-236, 1986.
- 2- Limousin C., Cleophax J., Petit A., Loupy A., Lukacs G., *J. Carbohydr. Chem.*, **16** (3), 327-342, 1997.
- 3- Fischer E., *Ber.*, **28**, 1151, 1895 ; Lee R. T., Lee Y. C., *Carbohydr. Res.*, **37**, 193-201, 1974 ; El-Shenawy H. A., Schuerch C., *Carbohydr. Res.*, **131**, 227-238, 1984 ; Tronchet J. M. J., Zsély M., Geoffroy M., *Carbohydr. Res.*, **275**, 245-258, 1995.
- 4- Koenigs W., Knorr E., *Ber.*, **34**, 957, 1901.
- 5- Holme K. R., Hall L. D., *Carbohydr. Res.*, **225**, 291-306, 1992 ; Rodebaugh R., Fraser-Reid B., *Tetrahedron*, **52**, 7663-7678, 1996 ; Gurudutt K. N., Rao L. J. M., Rao S., Srinivas S., *Carbohydr. Res.*, **285**, 159-165, 1996 ; Hadd M. J., Gervay J., *Carbohydr. Res.*, **320**, 61-69, 1999.
- 6- Ohlsson J., Magnusson G., *Carbohydr. Res.*, **329**, 49-55, 2000 ; Jona H., Takeuchi K., Saitoh T., Mukaiyama T., *Chem. Lett.*, 1178-1179, 2000.
- 7- Weingart R., Schmidt R. R., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 8753-8758, 2000 ; Hanessian S., Lou B., *Chem. Rev.*, **100**, 4443-4464, 2000.
- 8- Hinklin R. J., Kiessling L. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 3379-3380, 2001.
- 9- a) Helferich B., Schmitz-Hillebrecht E., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 66B, 378-383, 1933 ; Sokolov V. M., Zakharov V. I., Studentsov E. P., *Russ. J. Gen. Chem.*, **72**, 806-811, 2002.
- b) Helferich B., Kashelikar D. V., *Chem. Ber.*, **90**, 2094-2096, 1957.

- c) RajanBabu T. V., Fukunaga T., Reddy G. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 1759-1769, 1989 ; Takano T., Nakatsubo F., Murakami K., *Carbohydr. Res.*, **203**, 341-342, 1990 ; Zheng G., Graham A., Shibata M., Missert J. R., Oseroff A. R., Dougherty T. J., Pandey R. K., *J. Org. Chem.*, **66**, 8709-8716, 2001.
- d) Florent J. C., Monneret C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1171-1172, 1987.
- 10- Schmidt R. R., Michel J., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **19**, 731-732, 1980 ; Schmidt R. R., Castro-Palomino J. C., Retz O., *Pure Appl. Chem.*, **71**, 729-744, 1999.
- 11- Fraser-Reid B., Wu Z., Udodong U. E., Ottosson H., *J. Org. Chem.*, **55**, 6068-6070, 1990.
- 12- Schmid U., Waldmann H., *Tetrahedron Lett.*, **37**, 3837-3840, 1996.
- 13- Sim M. M., Kondo H., Wong C. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 2260-2267, 1993 ; Nagai H., Matsumura S., Toshima K., *Tetrahedron Lett.*, **43**, 847-850, 2002.
- 14- Marra A., Esnault J., Veyrieres A., Sinay P., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 6354-6360, 1992.
- 15- Urban F. J., Moore B. S., Breitenbach R., *Tetrahedron Lett.*, **31**, 4421-4424, 1990 ; Nukada T., Berces A., Zgierski M. Z., Whitfield D. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 13291-13295, 1998.
- 16- Mereyala H. B., Gurralla S. R., *Carbohydr. Res.*, **307**, 351-354, 1998.
- 17- Holy, A., *Nucleosides, Nucleotides*, **2**, 251-258, 1975.
- 18- a) Gurjar M. K., Saha U. K., *Tetrahedron*, **48**, 4039-4044, 1992.
b) Gurjar M. K., Mainkar A. S., *Tetrahedron*, **48**, 6729-6738, 1992.
- 19- Excoffier G., Gagnaire D., Utile J.-P., *Carbohydr. Res.*, **39**, 368-373, 1975 ; Lafont D., Bouchu M.-N., Girard-Egrot A., Boullanger P., *Carbohydr. Res.*, **336**, 181-194, 2001.
- 20- Ivanova I. A., Ross A. J., Ferguson M. A. J., Nikolaev A. V., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1*, 1743-1754, 1999.
- 21- Schmidt R. R., Michel, J., *Tetrahedron Lett.*, **25**, 821-824, 1984.
- 22- Das S. K., Saha U. K., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **4**, 1219-1220, 1994.
- 23- Postema M. H. D., *Tetrahedron*, **48**, 8545-8599, 1992.
- 24- Giannis A., Sandhoff K., *Tetrahedron Lett.*, **26**, 1479-1482, 1985 ; Ermolenko M. S., *Tetrahedron Lett.*, **42**, 6679-6682, 2001.
- 25- a) Schmidt R. R., Hoffmann M., *Tetrahedron Lett.*, **23**, 409-412, 1982 ; Schmidt R. R., Effenberger G., *Carbohydr. Res.*, **171**, 59-79, 1987.
b) Toshima K., Ushiki Y., Matsuo G., Matsumura S., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 7375-7378, 1997.

- c) Praly J. P., Chen G.-R., Gola J., Hetzer G., Raphoz R., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8185-8188, 1997 ; Praly J.-P., Chen G.-R., Gola J., Hetzer G., *Eur. J. Org. Chem.*, 2831-2838, 2000.
- 26- a) Lewis M. D., Cha J. K., Kishi Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 4976-4978, 1982.
b) Hosomi A., Sakata Y., Sakurai H., *Tetrahedron Lett.*, **25**, 2383-2386, 1984 ;
Hosomi A., Sakata Y., Sakurai H., *Carbohydr. Res.*, **171**, 223-232, 1987.
- 27- a) Schmidt R. R., Hoffmann M., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **22**, 406, 1983.
b) Kozikowski A. P., Sorgi K. L., *Tetrahedron Lett.*, **23**, 2281-2284, 1982 ; Garcia Martin M. G., Horton D., *Carbohydr. Res.*, **191**, 223-229, 1989 ; Minehan T. G., Kishi Y., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 6815-6818, 1997.
- 28- Toshima K., Matsuo G., Ishizuka T., Ushiki Y., Nakata M., Matsumura S., *J. Org. Chem.*, **63**, 2307-2313, 1998.
- 29- a) Keck G. E., Enholm E. J., Yates J. B., Wiley M. R., *Tetrahedron*, **41**, 4079-4094, 1985 ; Keck G. E., Byers J. H., *J. Org. Chem.*, **50**, 5442-5444, 1985.
b) Ponten F., Magnusson G., *J. Org. Chem.*, **61**, 7463-7466, 1996.
- 30- Bihovsky R., Selick C., Giusti I., *J. Org. Chem.*, **53**, 4026-4031, 1988.
- 31- Tamura S., Abe H., Matsuda A., Shuto S., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **42**, 1021-1023, 2003.
- 32- Mayo K. G., Nearhoof E. H., Kiddle J. J., *Org. Lett.*, **4**, 1567-1570, 2002.
- 33- a) Schuster M., Blechert S., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **36**, 2037-2056, 1997.
b) Grubbs R. H., Chang S., *Tetrahedron*, **54**, 4413-4450, 1998.
c) Blackwell H. E., O'Leary D. J., Chatterjee A. K., Washenfelder R. A., Bussmann D. A., Grubbs R. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 58-71, 2000.
d) Jorgensen M., Hadwiger P., Madsen R., Stutz A. E., Wrodnigg T. M., *Curr. Org. Chem.*, **4**, 565-588, 2000.
- 34- Anderson A. W., Merckling N. G., *Polymeric bicyclo[2.2.1]hept-2-ene*, US Patent 2721189, 1955.
- 35- Calderon N., Chen H. Y., Scott K. W., *Tetrahedron Lett.*, **8**, 3327-3329, 1967.
- 36- Greco A., Pirinoli F., Dall'Asta G., *J. Organomet. Chem.*, **60**, 115-124, 1973 ; Kress J. R. M., Russell M. J. M., Wesolek M. G., Osborn J. A., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 431-432, 1980 ; Wada Y., Nakaoka C., Morikawa A., *Chem. Lett.*, 25-26, 1988.
- 37- Trnka T. M., Grubbs R. H., *Acc. Chem. Res.*, **34**, 18-29, 2001.
- 38- Herisson J. L., Chauvin Y., *Makromol. Chem.*, **141**, 161-176, 1971.

- 39- Katz T. J., Lee S. J., Acton N., *Tetrahedron Lett.*, **17**, 4247-4250, 1976 ; Katz T. J., Sivavec T. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 737-738, 1985 ; Couturier J. L., Tanaka K., Leconte M., Basset J. M., Ollivier J., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **105**, 99-102, 1993 (voir aussi *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **32**, 94-95, 1993) ; Descotes G., Ramza J., Basset J. M., Pagano S., *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7379-7382, 1994 ; Ramza J., Descotes G., Basset J. -M., Mutch A., *J. Carbohydr. Chem.*, **15**, 125-136, 1996.
- 40- Grubbs R. H., Tumas W., *Science*, **243** (4893), 907-915, 1989.
- 41- Wallace K. C., Liu A. H., Dewan J. C., Schrock R. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 4964-4977, 1988.
- 42- Schrock R. R., Murdzek J. S., Bazan G. C., Robbins J., DiMare M., O'Regan M., *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 3875-3886, 1990.
- 43- Grubbs, R. H., *Pure Appl. Chem.*, **A31**, 1829-1833, 1994.
- 44- a) Nguyen S. T., Johnson L. K., Grubbs R. H., Ziller J. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 3974-3975, 1992.
b) Schwab P., Grubbs R. H., Ziller J. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 100-110, 1996.
c) Dias E. L., Grubbs R. H., *Organometallics*, **17**, 2758-2767, 1998.
d) Weskamp T., Schattenmann W. C., Spiegler M., Herrmann W. A., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **37**, 2490-2493, 1998.
e) Kingsbury J. S., Harrity J. P. A., Bonitatebus P. J., Jr., Hoveyda A. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 791-799, 1999.
f) Scholl M., Ding S., Lee C. W., Grubbs R. H., *Org. Lett.*, **1**, 953-956, 1999 ; Scholl M., Trnka T. M., Morgan J. P., Grubbs R. H., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 2247-2250, 1999.
g) Weskamp T., Kohl F. J., Hieringer W., Gleich D., Herrmann W. A., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **38**, 2416-2419, 1999 ; Weskamp T., Kohl F. J., Herrmann W. A., *J. Organomet. Chem.*, **582**, 362-365, 1999.
h) Gessler S., Randl S., Blechert S., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 9973-9976, 2000 ; Randl S., Gessler S., Wakamatsu H., Blechert S., *Synlett*, 430-432, 2001.
- 45- Nguyen S. T., Grubbs R. H., *J. Organomet. Chem.*, **497**, 195-200, 1995 ; Ahmed M., Barrett A. G. M., Braddock D. C., Cramp S. M., Procopiou P. A., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 8657-8662, 1999 ; Yao Q., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **39**, 3896-3898, 2000 ; Schurer S. C., Gessler S., Buschmann N., Blechert S., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **39**, 3898-3901, 2000.
- 46- Dias E. L., Nguyen S. T., Grubbs R. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 3887-3897, 1997.
- 47- Sanford M. S., Ulman M., Grubbs R. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 749-750, 2001 ; Sanford M. S., Love J. A., Grubbs R. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 6543-6554, 2001.

- 48- Vyboishchikov S. F., Buhl M., Thiel W., *Chem. Eur. J.*, **8**, 3962-3975, 2002.
- 49- Feng J., Schuster M., Blechert S., *Synlett*, 129-130, 1997.
- 50- a) Hu Y.-J., Roy R., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 3305-3308, 1999.
b) Roy R., Das S. K., Dominique R., Trono M. C., Hernandez-Mateo F., Santoyo-Gonzalez F., *Pure Appl. Chem.*, **71**, 565-571, 1999.
c) Roy R., Dominique R., Das S. K., *J. Org. Chem.*, **64**, 5408-5412, 1999.
d) Roy R., Das S. K., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 519-529, 2000.
e) Dominique R., Liu B., Das S. K., Roy R., *Synthesis*, 862-868, 2000.
f) Liu B., Das S. K., Roy R., *Org. Lett.*, **4**, 2723-2726, 2002.
- 51- Dominique R., Das S. K., Roy R., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 2437-2438, 1998.

TROISIÈME PARTIE

- 1- Little R. G., Anton J. A., Loach P. A., Ibers J. A., *J. Heterocycl. Chem.*, **12**, 343-349, 1975.
- 2- Sanford M. S., Love J. A., Grubbs R. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 6543-6554, 2001 ; Liu B., Das S. K., Roy R., *Org. Lett.*, **4**, 2723-2726, 2002.
- 3- Blackwell H. E., O'Leary D. J., Chatterjee A. K., Washenfelder R. A., Bussmann D. A., Grubbs R. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 58-71, 2000.
- 4- a) Gaud O., Granet R., Kaouadji M., Krausz P., Blais J.-C., Bolbach G., *Can. J. Chem.*, **74**, 481-499, 1996.
b) Sylvain I., Zerrouki R., Granet R., Huang Y. M., Lagorce J.-F., Guilloton M., Blais J.-C., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 57-69, 2002.
- 5- Cadot C., Dalko P. I., Cossy J., *Tetrahedron Lett.*, **43**, 1839-1841, 2002 ; Schmidt B., *Eur. J. Org. Chem.*, 816-819, 2003.
- 6- a) Boeseken J., de Graaff C., *Recl. Trav. Chim. [Pays-Bas]*, **41**, 199-207, 1922.
b) Swern D., *Org. React.*, VII, 378-433, 1953.
c) Winstein S., Buckles R. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 2787-2790, 1942 ; Woodward R. B., Brucher F. V. Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 209-211, 1958.
d) Schroeder M., *Chem. Rev.*, **80**, 187-213, 1980.
e) Kolb H. C., VanNieuwenhze M. S., Sharpless K. B., *Chem. Rev.*, **94**, 2483-2547, 1994.
- 7- Minato M., Yamamoto K., Tsuji J., *J. Org. Chem.*, **55**, 766-768, 1990.
- 8- Wai J. S. M., Marko I., Svendsen J. S., Finn M. G., Jacobsen E. N., Sharpless K. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 1123-1125, 1989 ; Kwong H.-L., Sorato C., Ogino Y., Chen H., Sharpless K. B., *Tetrahedron Lett.*, **31**, 2999-3002, 1990.

- 9- a) Sharpless K. B., Amberg W., Bennani Y. L., Crispino G. A., Hartung J., Jeong K. S., Kwong H. L., Morikawa K., Wang Z. M., Xu D., Zhang X. L., *J. Org. Chem.*, **57**, 2768-2771, 1992.
b) Crispino G. A., Jeong K. S., Kolb H. C., Wang Z. M., Xu D., Sharpless K. B., *J. Org. Chem.*, **58**, 3785-3786, 1993.
c) Wang L., Sharpless K. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 7568-7570, 1992.
- 10- Sharpless K. B., Amberg W., Beller M., Chen H., Hartung J., Kawanami Y., Lubben D., Manoury E., Ogino Y., Shibata T., Ukita T., *J. Org. Chem.*, **56**, 4585-4588, 1991.
- 11- Kolb H. C., Andersson P. G., Sharpless K. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1278-1291, 1994.
- 12- Kolb H. C., Andersson P. G., Bennani Y. L., Crispino G. A., Jeong K. S., Kwong H. L., Sharpless K. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 12226-12227, 1993.
- 13- Sharpless K. B., Teranishi A. Y., Backvall J. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3120-3128, 1977.
- 14- Norrby P.-O., Kolb H. C., Sharpless K. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 8470-8478, 1994.
- 15- Zhou X.-D., Cai F., Zhou W.-S., *Tetrahedron Lett.*, **42**, 2537-2539, 2001.
- 16- Janson T. R., Katz, J. J., *The Porphyrins*, vol. IV, éditeur : Dolphin D., Academic Press, New York, 1-59, 1979.
- 17- Buijsman R. C., van Vuuren E., Sterrenburg J. G., *Org. Lett.*, **3**, 3785-3787, 2001; Yang C., Murray W. V., Wilson L. J., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 1783-1786, 2003.
- 18- Mehlretter G. M., Döbler C., Sundermeier U., Beller M., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 8083-8087, 2000.

ANNEXES

GÉNÉRALITÉS SUR LES MICRO-ONDES

Dans le spectre des radiations électromagnétiques, les micro-ondes se situent entre les ondes radio (Rf) et les radiations infrarouge. Depuis quelques années, leur utilisation en chimie organique s'est développée et les publications se sont multipliées¹. La plupart d'entre elles rapportent une amélioration notable du temps de réaction lorsque l'on procède, en l'absence de solvants, par voie micro-ondes plutôt que par chauffage classique. L'effet de solvant est, de fait, un paramètre non négligeable. Ainsi, si un solvant trop polaire est utilisé, il va absorber les micro-ondes et gêner l'activation des réactifs. Cette accélération des réactions effectuées par voie micro-ondes résulte, en fait, des différentes interactions se produisant entre les réactifs et les radiations. Ces effets sont de deux ordres. D'une part, on observe un effet thermique que l'on peut aisément quantifier en mesurant la température. D'autre part, un effet plus spécifique, que l'on pourrait qualifier d'« effet micro-ondes », s'ajoute au précédent et permet de rendre compte des phénomènes expérimentaux observés.

L'effet thermique résulte des interactions dipôle-dipôle entre des molécules polaires et le champ électromagnétique (fig. A1-1). En effet, sous l'action d'un champ magnétique créé par un courant alternatif à très haute fréquence, les molécules polaires vont changer d'orientation. Les frottements intermoléculaires qui se produisent à chaque fois que les dipôles changent de sens vont alors générer un échauffement du milieu. Un des avantages de cet effet thermique induit par micro-ondes est qu'il permet un chauffage à cœur des matériaux plus rapide et plus homogène que celui produit par un chauffage classique.

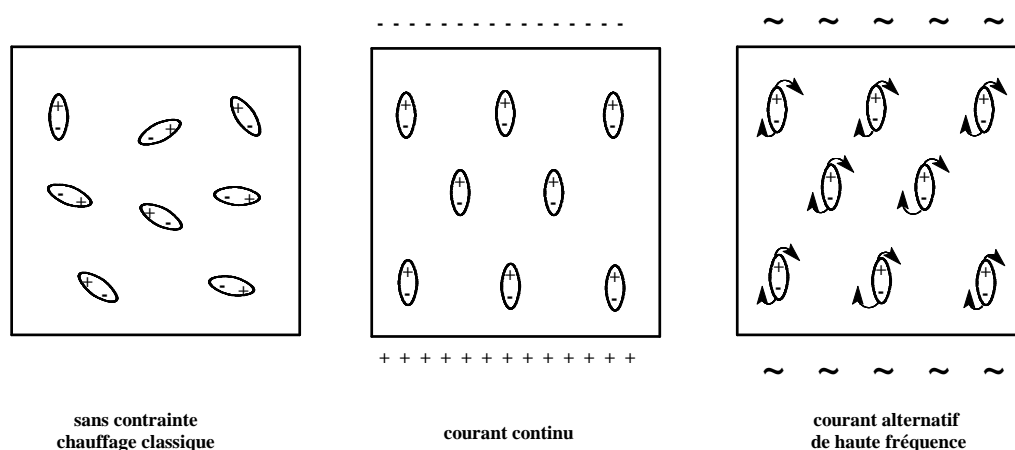


Figure A1-1. Comportement des dipôles dans un champ électrique.

¹ Perreux L., Loupy A., *Tetrahedron*, **57**, 9199-9223, 2001.

L'effet « micro-ondes » n'est pas entièrement élucidé et ses origines sont, sans doute, multiples. Il semble, cependant, être lié à la loi d'Arrhenius $k = A \exp(-\Delta G^\ddagger / RT)$ et aux modifications de chacun de ses termes. Ainsi, une réaction pour laquelle la différence de polarité est faible entre l'état initial et l'état de transition et qui nécessite donc une faible énergie d'activation (ΔG^\ddagger) bénéficiera d'un effet micro-ondes moindre qu'une réaction présentant une forte différence et donc, ayant besoin d'une plus forte énergie d'activation (fig. A1-2). Il en résulte que les systèmes réagissant plus lentement seront plus sensibles à l'activation par voie micro-ondes que les autres.

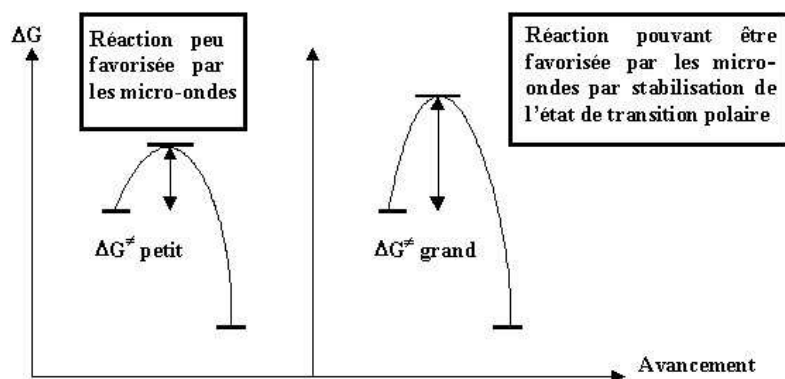


Figure A1-2. Influence des micro-ondes.

TESTS BIOLOGIQUES

I. - CULTURE CELLULAIRE

I.1. - MODÈLES CELLULAIRES

La lignée cellulaire K562 provient d'un clone de leucémie myéloïde humaine multipotente, initialement décrite par Lozzio et coll.¹ Des sous-clones résistants à la doxorubicine ont été obtenus en cultivant la lignée parentale K562 en présence de concentrations progressivement croissantes de ce médicament. Les caractéristiques pharmacologiques et moléculaires des lignées K562 établies sont stables pendant de nombreux repiquages réalisés en absence de doxorubicine.² Nous disposons ainsi de la lignée parentale K562/S sensible à la doxorubicine ainsi que du variant K562/0,2R résistant spécifiquement à 0,2 µg de doxorubicine par milieu de culture. Ces lignées nous ont été fournies par le Pr. M.H. RATINAUD de l'Université de Limoges (UMR CNRS 6101).

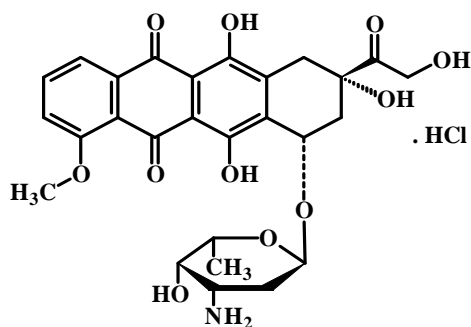


Figure A2-1. Chlorhydrate de doxorubicine.

I.2. CONDITIONS DE CULTURE

Les lignées cellulaires K562 sensibles et résistantes sont cultivées en suspension dans des flasques de 25 cm² ou 75 cm² (Nunc) contenant respectivement 10 et 30 mL de milieu synthétique RPMI 1640 (Sigma). Le milieu RPMI 1640 est complété avec 10% (v/v) de sérum de veau fœtal (Polylabo) préalablement décomplémenté 30 minutes à 56°C et avec 2 mmol.L⁻¹ de L-Glutamine (Sigma) (milieu RPMI 1640 complet). Les cultures cellulaires sont mises en incubation à 37°C sous atmosphère saturée en eau et en présence de 5% de CO₂. Lorsque la culture cellulaire atteint la phase stationnaire de croissance (environ 72 heures de culture, 5x10⁵ – 10⁶ c/mL), les cellules sont prélevées et lavées une fois dans du RPMI 1640 par centrifugation (200 g, 5 minutes à 20°C). Le comptage et la viabilité cellulaire sont alors

¹ Lozzio C.B., Lozzio B.B., *Blood*, **45**, 321-334, 1975.

² Denis-Gray M., Petit J. M., Mazat J. P., Ratinaud M. H., *Biochem. Pharmacol.*, **56**, 451-457, 1998.

contrôlés par un test d'exclusion au Bleu Trypan (Sigma). Le colorant à 0.1% (p/v) dans de l'eau distillée est ajouté à la suspension cellulaire. Le nombre de cellules mortes (colorées en bleu) par mL de milieu est alors déterminé par comptage au microscope optique en contraste de phase (NIKON TMS) sur une cellule de Malassez. Un volume de la suspension cellulaire lavée est transféré dans du milieu de culture, préchauffé à 37°C, afin d'ensemencer chaque lignée à une concentration de $2,5 \times 10^5$ cellules par mL de milieu de culture. Lors des différentes analyses, le variant K562 résistant est cultivé en absence de doxorubicine pendant au moins un mois afin d'éviter de prendre en compte les effets directs de ce médicament sur les cellules. Un test de dépistage des mycoplasmes à l'aide d'un fluorochrome spécifique des bases A-T contenues dans l'ADN de ces micro-organismes (Hœchst 33342) est également effectué systématiquement une fois par mois pour toutes les lignées. En effet, les mycoplasmes contaminent fréquemment les cultures de cellules humaines et animales et induisent des modifications au niveau cellulaire qui sont parfois difficiles à caractériser et peuvent fausser les résultats des tests. Lorsque la présence de ces bactéries est diagnostiquée, les cellules sont traitées par 5 µg/mL de culture de l'antibiotique (50 µg/mL) contenu dans le kit "MRA" (ICN) pendant un seul passage.

I.3. CONGÉLATION-DÉCONGÉLATION DES CELLULES

En raison de nombreux repiquages, la constitution systématique et régulière d'une réserve des lignées cellulaires est le seul moyen de se protéger contre les accidents divers (contamination, étuve à CO₂ déficiente...). Cela permet ainsi l'obtention de cellules exemptes de modifications, notamment au niveau génétique. Les cellules à 48 heures de culture sont prélevées, centrifugées (200 g pendant 5 minutes à 4°C). Elles sont ensuite remises en suspension dans du RPMI 1640 dans lequel on a ajouté 20% de sérum de veau fœtal et 10% de DMSO qui joue le rôle de cryoprotecteur. Pour les cellules résistantes, la préparation est effectuée sans doxorubicine. La suspension est répartie dans des cryotubes de 1,8 mL contenant alors 10^7 ϕ . Les tubes sont placés dans une boîte remplie de propanol et maintenus à -80°C pendant 24 heures avant d'être stockés dans un container d'azote liquide à -196°C. Dans ces conditions, les cellules peuvent être conservées pendant plusieurs années. Si la congélation doit être progressive, l'étape de décongélation doit, en revanche, être rapide pour obtenir une viabilité cellulaire optimale. Ainsi, le cryotube est placé, immédiatement après sa sortie de l'azote liquide, dans un bain-marie à 37°C jusqu'à décongélation complète de la suspension cellulaire. Les cellules sont centrifugées (200 g, 5 min à 25°C) afin d'éliminer le DMSO puis remises en culture selon les conditions préalablement décrites. Pour les lignées

résistantes, la doxorubicine est ajoutée à la suspension cellulaire à partir du second repiquage. Les cellules ne sont utilisées pour les expériences qu'après deux semaines de culture.

I.4. CONDITIONS D'EXPOSITION À UN TRAITEMENT PDT

Afin de réaliser le traitement photodynamique, les cellules K562 sont mises en milieu RPMI 1640 frais, dans des plaques de culture à 24 puits à une densité de 500 000 ϕ /mL. Le photosensibilisateur est alors ajouté à une concentration de 2×10^{-6} mol.L⁻¹ qui est la concentration finale pour les tests de cytotoxicité et de photocytotoxicité. Pour les tests de photocytotoxicité, l'irradiation est réalisée par deux tubes fluorescents (2x30 W) sous légère agitation pour éviter la sédimentation des cellules dans le fond des puits. La fluence est mesurée à l'aide d'une cellule photoélectrique munie d'une sphère d'intégration. Elle est de 100 Watts/m².

II. INCORPORATION DES PRODUITS DANS LES LIPOSOMES

II.1. GÉNÉRALITÉS

Comme nous l'avons vu précédemment, les liposomes sont des vésicules comportant une ou plusieurs membranes concentriques de composition lipidique analogue à la membrane plasmique et à l'intérieur desquelles se trouvent un ou plusieurs compartiments aqueux. Les liposomes peuvent donc incorporer en leur sein aussi bien des molécules hydrophiles que des molécules hydrophobes. Ils se révèlent particulièrement intéressants car ils font preuve d'une plus grande sélectivité pour les cellules tumorales qui sont plus perméables que pour les tissus sains.³ Ils présentent l'avantage, en outre, grâce à leur biocompatibilité, de transporter le principe actif jusqu'à sa cible sans que celui-ci ne subisse de dégradations.⁴ Enfin, les liposomes permettent à la molécule incorporée de traverser la membrane plasmique des cellules ciblées et d'agir directement dans le cytoplasme de celles-ci.^{4a} Suivant le cas, l'introduction du principe actif à l'intérieur des cellules peut procéder selon différentes façons représentées sur la figure A2-2.⁵

Le premier mécanisme envisageable (1) consiste à libérer le principe actif, après fixation du liposome sur les récepteurs spécifiques de la cellule, à l'extérieur de celle-ci. Le

³ Juliano R. L., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2** (1), 31-54, 1988 ; Duncan R., *J. Drug Target.*, **5** (1), 1-4, 1997.

⁴ a) Niamien Konan Y., Gurny R., Allemann E., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **66** (2), 89-106, 2002 ; b) Schaschke N., Assfalg-Machleidt I., Machleidt W., Lassleben T., Sommerhoff C. P., Moroder L., *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett.*, **10** (7), 677-680, 2000 ; Drummond D. C., Hong K., Park J. W., Benz C. C., Kirpotin D. B., *Vitamins and Hormones*, **60**, 285-332, 2001.

médicament pénètre alors par transfert actif ou passif à l'intérieur de la cellule. Il ne se produit donc que lorsque l'agent incorporé est capable, de façon intrinsèque, de traverser la membrane plasmique des cellules. Il en va de même pour le mécanisme 2 pour lequel les molécules lipophiles contenues dans la membrane des liposomes sont transférées sélectivement depuis celle-ci vers la membrane plasmique de la cellule.

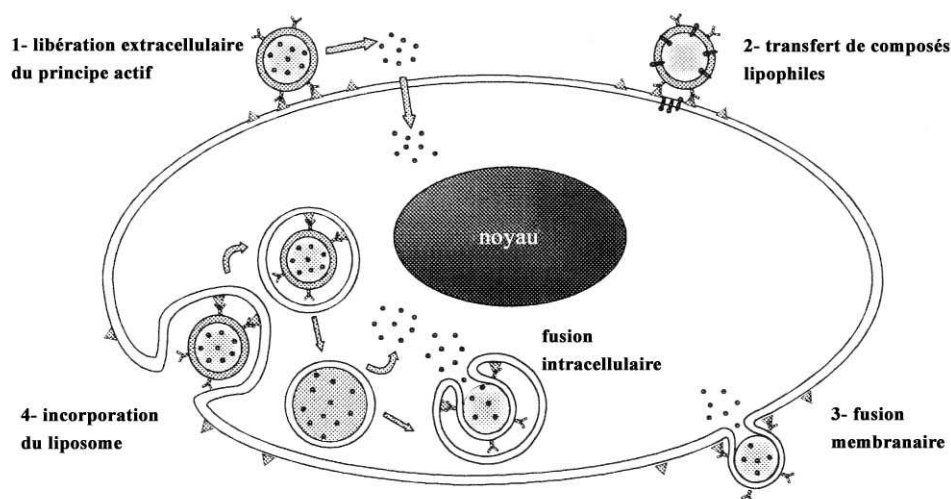


Figure A2-2. Représentation schématique des différentes voies d'incorporation des liposomes par les cellules.

Une autre voie indépendante, cette fois-ci, de la capacité du principe actif à pénétrer seul dans la cellule et donc pouvant s'appliquer dans un plus grand nombre de cas correspond au mécanisme 3.⁶ Il consiste à élaborer des liposomes dont la membrane peut fusionner avec la membrane plasmique de la cellule. Ce processus est, cependant, peu susceptible de se produire spontanément. De plus, il peut modifier l'intégrité de la membrane plasmique et générer alors des perturbations au sein du système cellulaire. Une dernière stratégie repose sur le processus d'endocytose (4).^{5,7} Ce dernier est utilisé par la cellule pour l'incorporation de substances spécifiques parmi lesquelles le fer, des lipides, des protéines ou encore des peptides.⁸ L'internalisation est initiée, là encore, par la fixation du liposome sur les récepteurs spécifiques. La membrane se referme alors sur le liposome qui pénètre ainsi à l'intérieur de la cellule. Le principe actif est ensuite libéré soit par diffusion passive, soit par un processus de

⁵ Mastrobattista E., Storm G., van Bloois L., Reszka R., Bloemen P. G., Crommelin D. J., Henticks P. A., *Biochim. Biophys. Acta*, 1419, 353-363, 1999.

⁶ Ponimaskin E., Bareesel K. K., Markgraf K., Reszka R., Lehmann K., Gelderblom H. R., Gawaz M., Schmidt M. F., *Virology*, 269, 391-403, 2000 ; Kaneda Y., *Adv. Drug. Del. Rev.*, 43, 197-205, 2000.

⁷ Kirpotin D., Park J. W., Hong K., Zalipsky S., Li W. L., Carter P., Benz C. C., Papahadjopoulos D., *Biochemistry*, 36, 66-75, 1997.

⁸ Okamoto, C. T., *Adv. Drug. Del. Rev.*, 29, 215-228, 1998.

fusion intracellulaire identique au mécanisme **3** décrit précédemment. Compte tenu de la nature de nos produits, la libération des porphyrines glycosylées encapsulées dans des liposomes est susceptible de se produire *via* les processus **3** ou **4**.

II.2. MÉTHODES D'INCORPORATION DES PORPHYRINES GLYCOSYLÉES

Comme nombre de photosensibilisateurs de seconde génération, les différentes porphyrines glycosylées synthétisées au cours de ce travail se sont révélées insolubles dans l'eau. Contrairement à notre attente, les produits dihydroxylés qui, pourtant, comportent deux groupements hydroxyle supplémentaires n'ont pas montré d'amélioration notable par rapport aux porphyrines éthyléniques correspondantes. Nous avons alors décidé d'incorporer les différents produits dans des liposomes en vue d'optimiser leur application en PDT. Nous avons procédé de deux façons différentes afin d'encapsuler les porphyrines glycosylées **30a**, **32a** et **33a,b**.

II.2.1. Première méthode

Dans un premier temps, nous avons utilisé de la lécithine de soja afin d'incorporer dans les liposomes formés les porphyrines glycosylées **30a**, **32a** et **33a**. Le produit et la lécithine de soja dissous dans un minimum de THF sont laissés à l'air libre jusqu'à évaporation du solvant. On ajoute alors l'eau bidistillée et on laisse l'ensemble dans une cuve à ultrasons jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de particules en suspension. La concentration en porphyrines glycosylées dans la solution obtenue est comprise entre 1,4 et $2,1 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹.

II.2.2. Deuxième méthode

La lécithine de soja utilisée précédemment contient, notamment, de la phosphatidylsérine qui interfère avec certains réactifs mis en jeu lors des tests biologiques (test à l'annexine V). Nous avons donc décidé d'employer le DL-dimyristoyl- α -phosphatidylcholine à la place de la lécithine de soja en nous appuyant sur différentes procédures décrites dans la littérature.⁹ Nous avons également rajouté du cholestérol dans le milieu dont le rôle est de moduler la fluidité de la membrane liposomiale. Le DL-dimyristoyl- α -phosphatidylcholine et le cholestérol sont dissous dans du chloroforme puis la porphyrine glycosylée **33b** est ajoutée dans le ballon. On procède alors à l'évaporation à sec du solvant.

⁹ a) Oku N., Saito N., Namba Y., Tsukada H., Dolphin D., Okada S., *Biol. Pharm. Bull.*, **20** (6), 670-673, 1997.
b) Hoebeke M., Damoiseau X., Schuitmaker H. J., Van de Vorst A., *Biochim. Biophys. Acta*, **1420**, 73-85, 1999 ; Damoiseau X., Schuitmaker H. J., Lagerberg J. W. M., Hoebeke M., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **60**, 50-60, 2001.

Après ajout d'eau bidistillée, le mélange obtenu est placé dans une cuve à ultrasons. On procède ensuite à la filtration de la solution, à plusieurs reprises, sur une membrane millipore de 0,45 μm afin d'éliminer les liposomes de taille importante. Après trois cycles de congélation-décongélation comme décrit dans la littérature^{9a}, nous avons de nouveau filtré la solution et obtenu ainsi la suspension liposomiale à tester. La concentration en porphyrines glycosylées **33b** dans la solution mère est de l'ordre de $1,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

III. ÉVALUATION BIOLOGIQUE DES PORPHYRINES

La phototoxicité des différents produits issus de cette étude a donc été testée sur les lignées cellulaires K562/S et K562/0,2R respectivement sensibles et résistantes à la doxorubicine. Chaque test est effectué trois fois afin de confirmer les résultats obtenus.

III.1. TESTS DE CYTOTOXICITÉ

Nous avons, tout d'abord, vérifié que les produits synthétisés n'étaient pas toxiques pour les cellules en l'absence de lumière. Le comptage et la viabilité cellulaire en présence de porphyrines sont effectués comme vu précédemment § I-2 par un test d'exclusion au Bleu Trypan. Les résultats obtenus en présence de porphyrines glycosylées sont comparés avec ceux de cellules témoins et du Photofrin[®] qui est, comme nous l'avons souligné dans la première partie, l'un des produits utilisés cliniquement pour le traitement des cancers par PDT. Ces résultats sont illustrés sur la figure A2-3 dans le cas du composé **30a**. L'évolution du nombre de cellules/mL est similaire pour les cellules témoins et les cellules mises en présence du produit **30a**. Pour les cellules mises en présence du Photofrin[®] (Pf), on constate que le nombre de cellules/mL est toujours inférieur à celui obtenu pour les cellules témoins ou les cellules en présence du produit **30a**. Ainsi, après 72 heures, le nombre de cellules/mL est d'environ $2,2 \times 10^5 \text{ } \phi/\text{mL}$ pour ces dernières alors qu'il est de $1,6 \times 10^5 \text{ } \phi/\text{mL}$ pour les cellules mises en présence du Photofrin[®]. Notons que la décroissance observée après 72 heures n'est pas liée à la cytotoxicité des produits mais à l'évolution du milieu de culture et est donc peu significative. Ces résultats montrent donc que le composé **30a** ne présente pas de cytotoxicité vis-à-vis des cellules tumorales contrairement au Photofrin[®] qui, lui, est légèrement cytotoxique. Les autres produits issus de cette étude ont donné des résultats similaires.

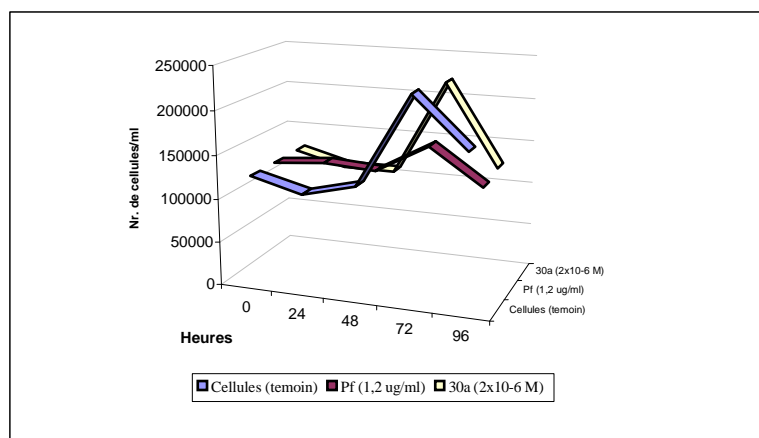


Figure A2-3. Evaluation de la cytotoxicité du composé **30a**.

III.2. ACTIVITÉ EN PDT DES PORPHYRINES GLYCOSYLÉES

L'intégrité membranaire est testée à l'iodure de propidium (IP) par cytométrie en flux. Lorsque la membrane plasmique perd son intégrité physique, le fluorochrome entre dans la cellule et se fixe sur l'ADN du noyau. La cellule devient alors fluorescente. Or, la perte d'intégrité physique peut être directement corrélée à la mort cellulaire. On peut donc suivre, de cette façon, sur une population cellulaire donnée soumise à l'irradiation, l'évolution du pourcentage de mortalité.

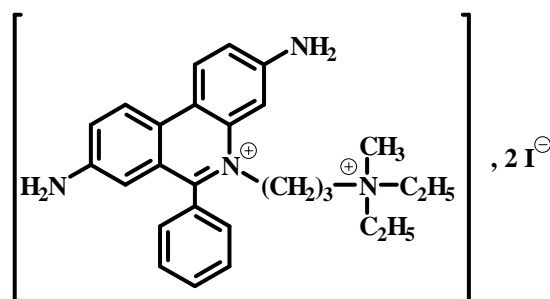


Figure A2-4. Iodure de propidium.

III.2.1. Mode opératoire

L'irradiation est réalisée à l'aide de deux tubes fluorescents d'une puissance de 30 W chacun sous légère agitation (fluence de 100W/m^2). Les cellules sont irradiées pendant 0; 30; 60; 90; 120 minutes soit tout de suite après le mélange culture cellulaire – porphyrines (tests sans pré-incubation), soit après 18 heures de pré-incubation de la suspension cellulaire avec la porphyrine (tests avec pré-incubation). Certaines porphyrines, en effet, sont plus lentes pour atteindre leur cible au niveau des cellules. On procède ensuite à l'analyse par cytométrie en flux à J0 (juste après irradiation) et à J1 (24 heures après chaque temps d'irradiation). Pour l'analyse cytométrique, les cellules sont incubées avec de l'iodure de propidium à une

concentration finale de 2 µg /mL 15 minutes avant l'analyse. Les cellules fluorescentes correspondent alors aux cellules non viables et celles qui ne fluorescent pas sont les cellules viables. Chaque histogramme représente la moyenne de 3 expériences indépendantes et les valeurs expérimentales suivantes sont corrigées de la valeur des témoins.

III.2.2. Résultats des tests

Nous avons représenté sur les figures A2-5 et A2-6 les histogrammes correspondant aux résultats avec ou sans pré-incubation obtenus sur les cellules K562/S et K562/0,2R pour la porphyrine dihydroxylée **35a** et les porphyrines éthyléniques **33a,b** sous leur forme libre et encapsulées dans des liposomes. Que ce soit avec ou sans pré-incubation, ces différentes porphyrines présentent une faible phototoxicité vis-à-vis des lignées cellulaires K562/S et K562/0,2R. De la même façon, les produits **33a,b** encapsulés dans des liposomes présentent une activité comparable à celles des mêmes produits sous forme libre. Globalement, la porphyrine dihydroxylée **35a** montre un effet photocytotoxique légèrement supérieur à celui des porphyrines éthyléniques bien que celui-ci soit inférieur à la référence c'est à dire au Photofrin[®]. Les autres produits synthétisés au cours de ce travail donnent des résultats comparables. En conclusion, les différentes porphyrines glycosylées issues de cette étude sont relativement sans action vis-à-vis de la lignée cellulaire K562 et devront être testées ultérieurement sur d'autres souches de cellules cancéreuses afin de confirmer ou non ces résultats.

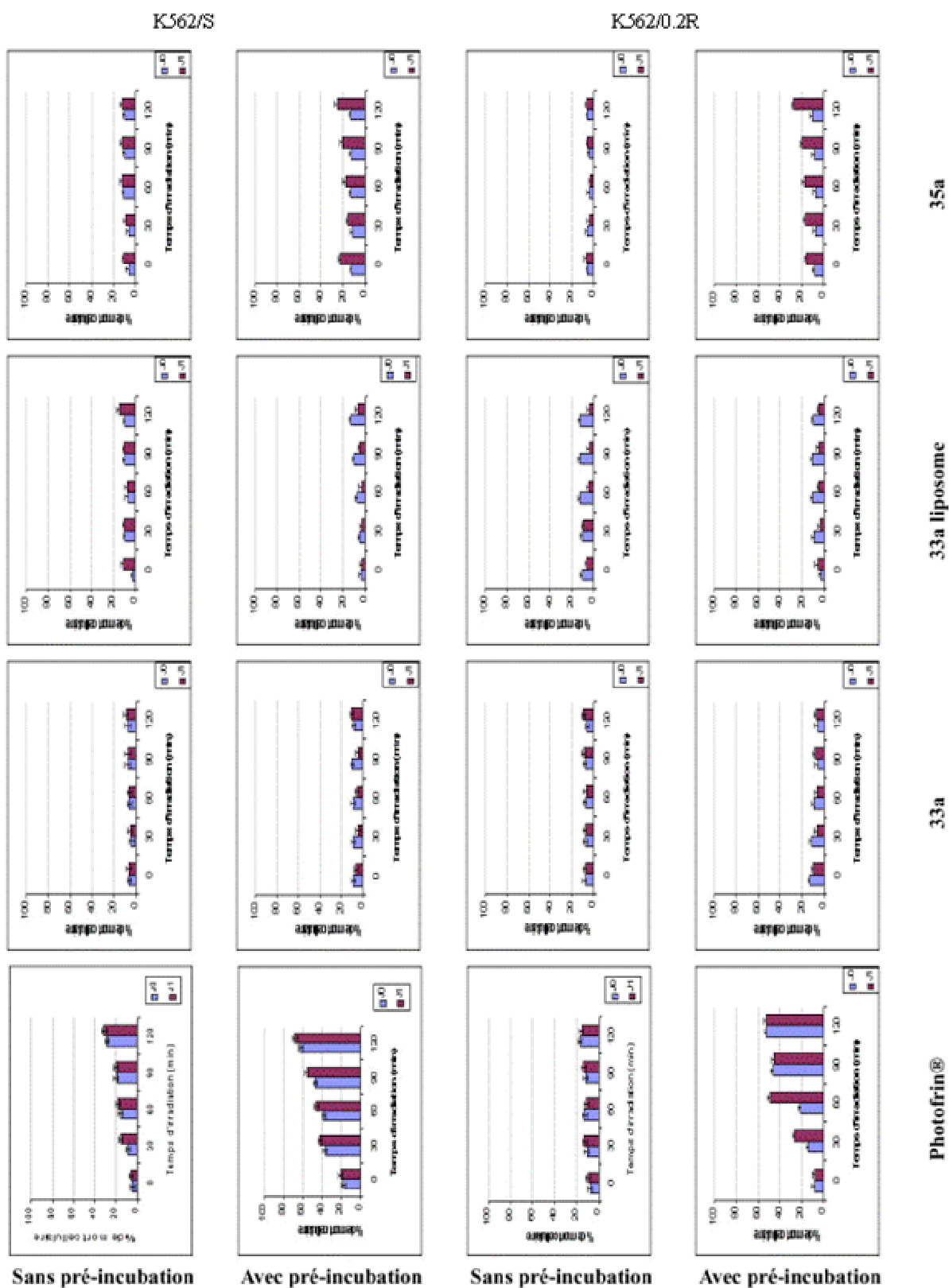


Figure A2-5. Activité en PDT des composés 33a et 35a par rapport au Photofrin®.

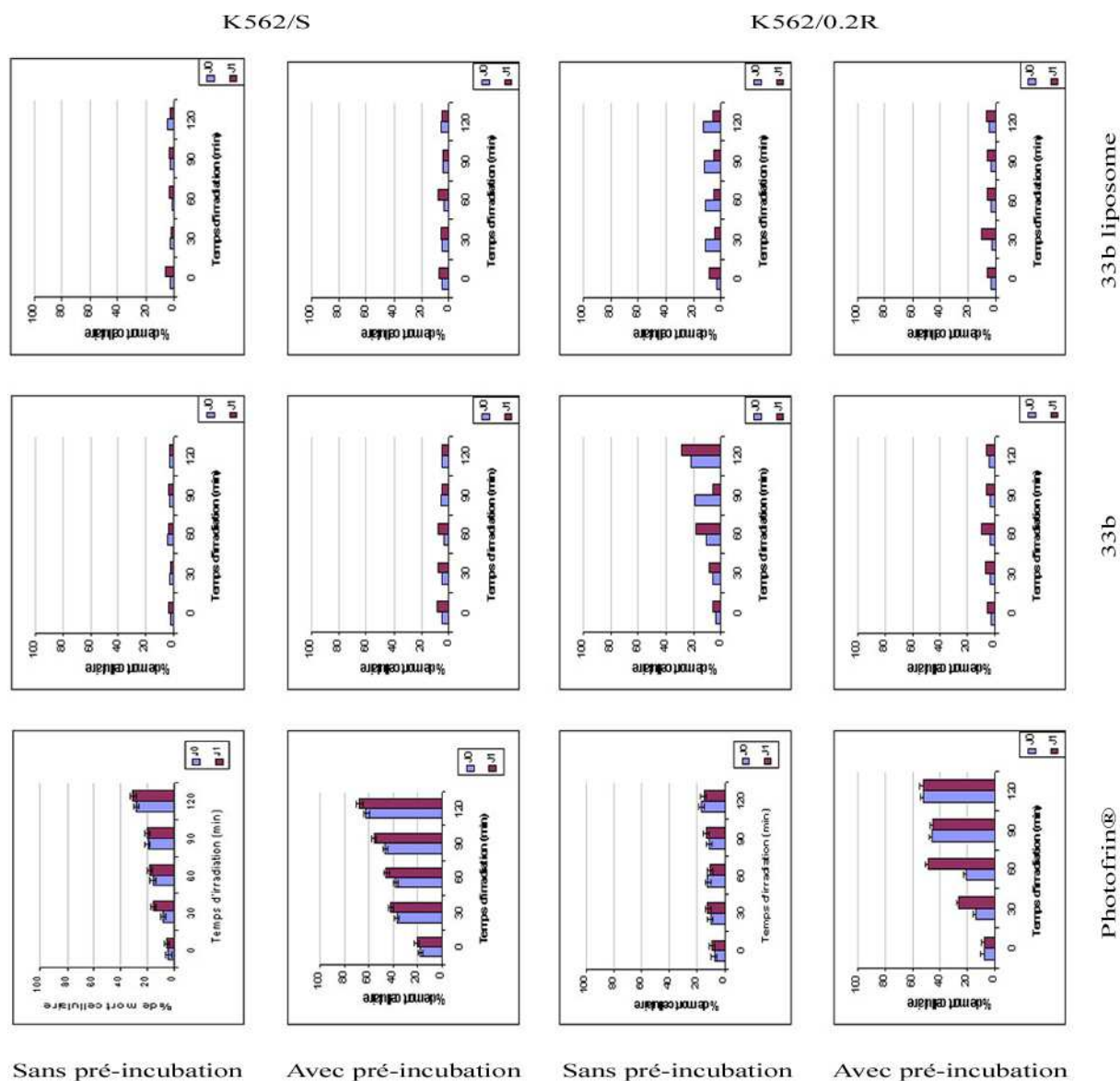


Figure A2-6. Activité en PDT du composé **33b** par rapport au Photofrin®.

III.3. MICROSCOPIE CONFOCALE

Nous avons observé, par ailleurs, la distribution des produits encapsulés dans des liposomes par rapport aux cellules testées en procédant par microscopie confocale.

III.3.1. Généralités

La conception du microscope confocal est différente d'un microscope de fluorescence conventionnelle. L'irradiation se fait par balayage d'un faisceau laser sur l'objet. Chaque zone irradiée va émettre son rayonnement de fluorescence qui va être dirigé à travers l'objectif. Le signal passe au travers d'un trou d'épingle ou *pinhole* qui est la clef de voûte du système. Le *pinhole* est un diaphragme de très faible diamètre qui ne laisse passer que le faisceau lumineux provenant directement du plan focal image. Une fois passé au travers du *pinhole*, le signal est amplifié par un jeu de photomultiplicateurs (PMT). Chaque point irradié par le

faisceau laser est capté par le PMT et est identifié en fonction de sa position et de son intensité. Ces points vont constituer chacun des pixels d'une image reconstruite. L'avantage majeur de cette méthode est la résolution des images. La netteté de celles-ci n'est pas perturbée par les plans adjacents au plan focal. Il est possible de relever des structures plus petites et plus fines et de procéder à des coupes optiques sériées pouvant amener à une reconstruction des structures en imagerie 3D. Cette technique permet également d'affiner la localisation entre deux fluorophores.¹⁰ De nombreuses études en PDT se basent sur cette technique de colocalisation par double marquage et ont identifié les sites de localisation de différents photosensibilisateurs confirmant souvent les résultats donnés par la microscopie de fluorescence conventionnelle.¹¹ Néanmoins, cette technique présente certains inconvénients. Le premier vient du fait que l'irradiation des zones observées se fait par un balayage laser. Ceci implique un temps de latence plus ou moins long avant l'intégration des informations pour reconstruire une image. Cette latence ne saurait alors refléter un état instantané de la topographie cellulaire. Un autre inconvénient est que les sources d'excitation laser ainsi que les détecteurs sont en nombre réduit et de coût élevé. Ceci limite l'utilisation des fluorophores à ceux qui sont compatibles avec les sources lumineuses disponibles. Dans le cadre de la PDT, cette caractéristique peut se révéler problématique lorsque les photosensibilisateurs présentent des bandes d'absorption particulières et parfois peu compatibles avec le matériel disponible. D'autre part, certaines molécules sont peu photostables et sont sujettes à une destruction rapide avec l'utilisation de la lumière laser comme source lumineuse.

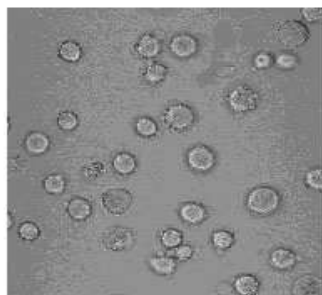
III.3.2. Résultats

Nous avons observé par microscopie confocale la localisation des produits **30a**, **32a** et **33a,b** encapsulés dans des liposomes. Un exemple des résultats obtenus pour le composé **32a** comparé à ceux obtenus pour les cellules mises en présence des seuls liposomes est illustré sur la figure A2-7. On peut remarquer une adhésion de liposomes à la surface des cellules. Toutefois, du fait de leur taille, les liposomes obtenus à partir de la lécithine de soja ne permettent pas aux porphyrines encapsulées de pénétrer dans les cellules. Il en résulte que l'irradiation par la lumière de tels systèmes n'entraînent pas la destruction des cellules tumorales escomptée. Par ailleurs, les liposomes obtenus à partir du DL-dimyristoyl- α -phosphatidylcholine, bien que de taille inférieure, n'induisent pas une meilleure phototoxicité.

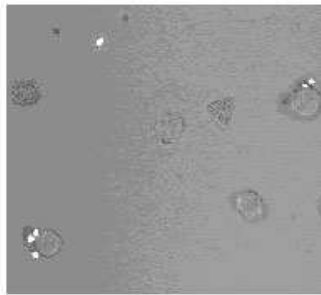
¹⁰ Trivedi N. S., Wang H. W., Nieminen A. L., Oleinick N. L., Izatt J.A., *Photochem. Photobiol.*, **71** (5),634-639, 2000.

¹¹ Woodburn F. W., Fan Q., Miles D. R., Kessel D., Luo Y., Young S. W., *Photochem. Photobiol.*, **65** (3), 410-415, 1997 ; Chen J. Y., Mak N. K., Yow C. M., Fung M. C., Chiu L. C., Leung W. N., Cheung N. H., *Photochem. Photobiol.*, **72** (4), 541-547, 2000.

Ce résultat est dû vraisemblablement au mode opératoire adopté. En effet, nous avons rencontré des difficultés lors de la filtration de la solution liposomiale si bien que la concentration finale en porphyrine glycosylée à l'issue des différentes filtrations est sans doute très inférieure à celle que nous avons introduite au départ. Ceci pourrait expliquer, dans ce cas, la relative inactivité observée de l'agent photosensibilisateur incorporé.



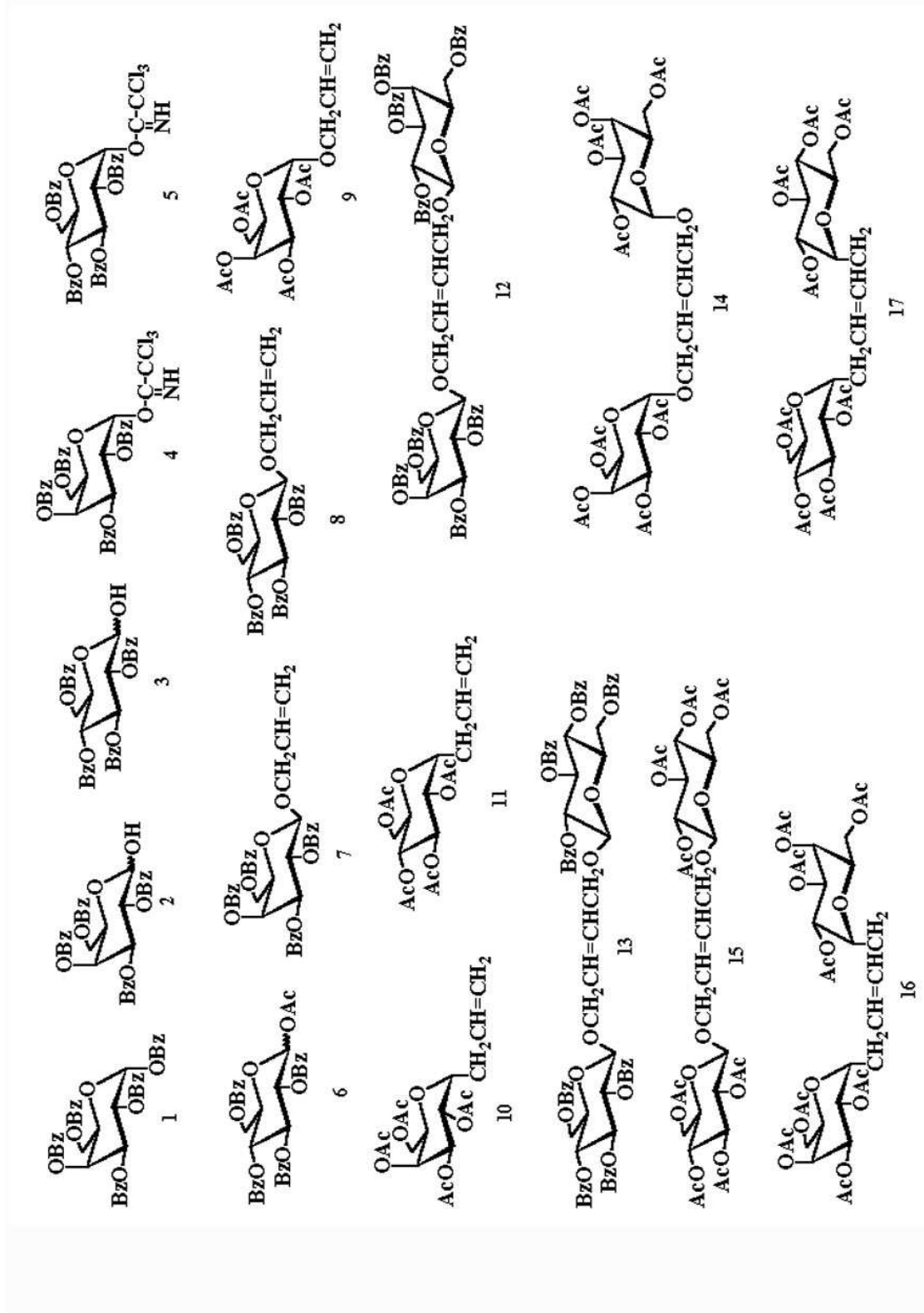
Liposomes seuls

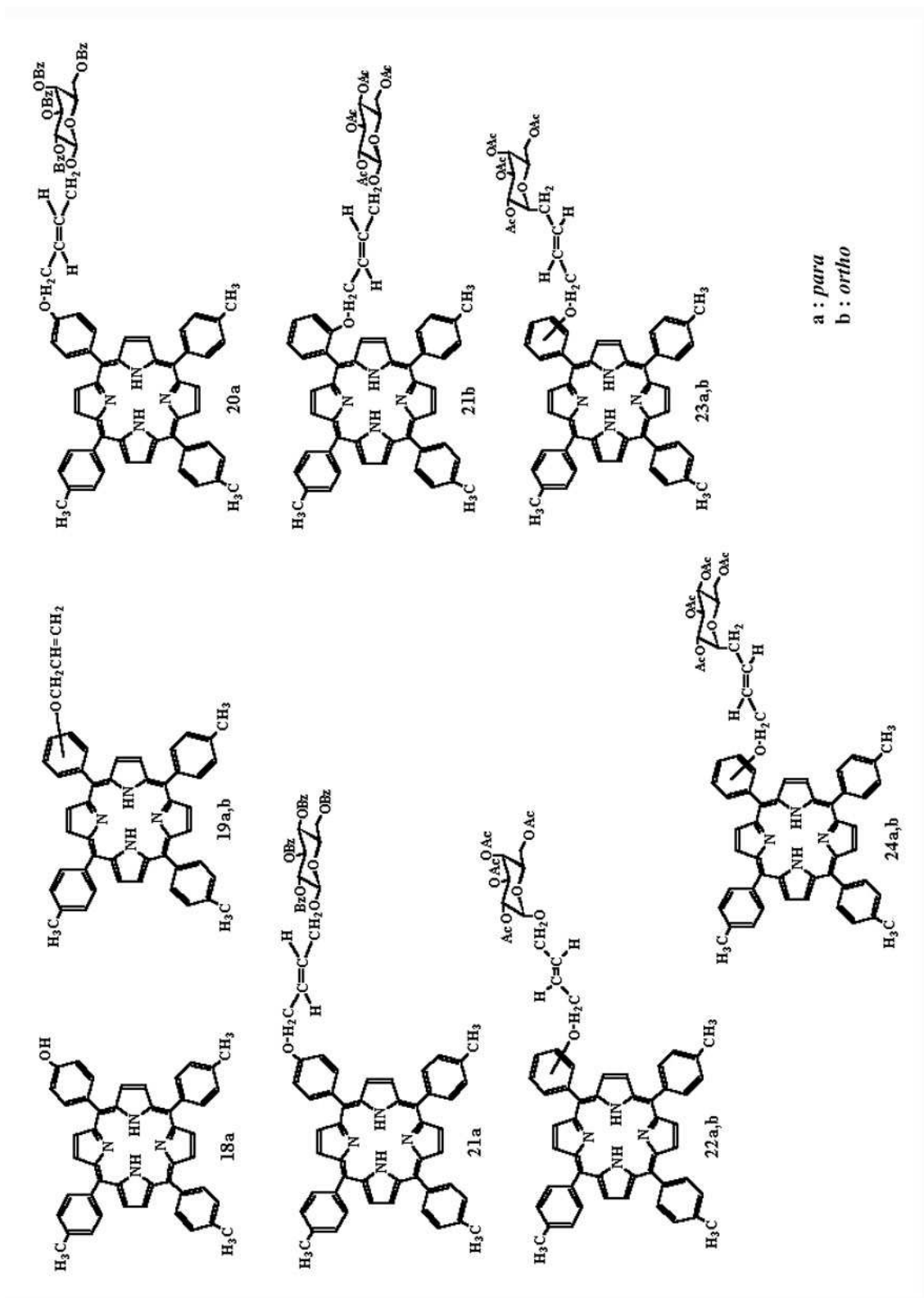


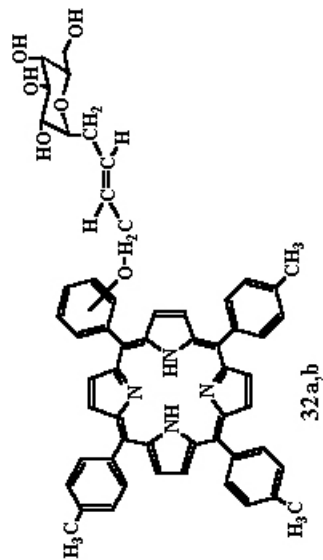
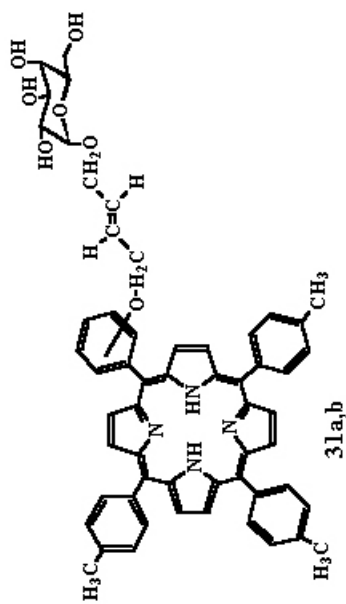
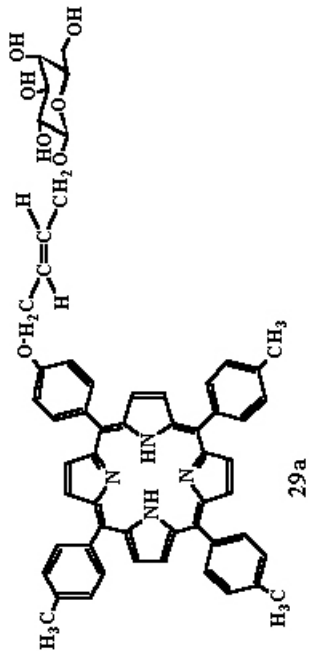
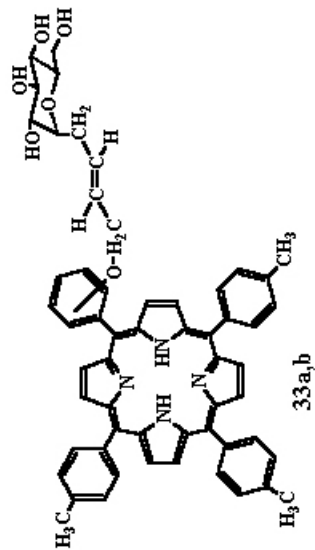
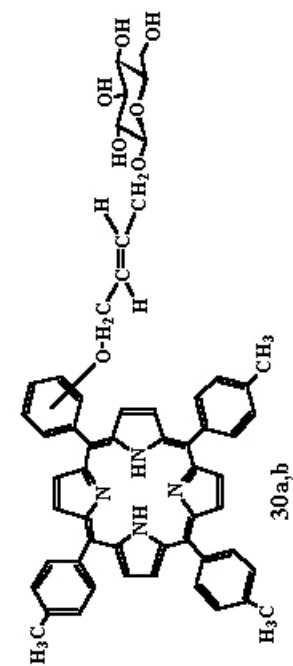
Liposomes + **32a**

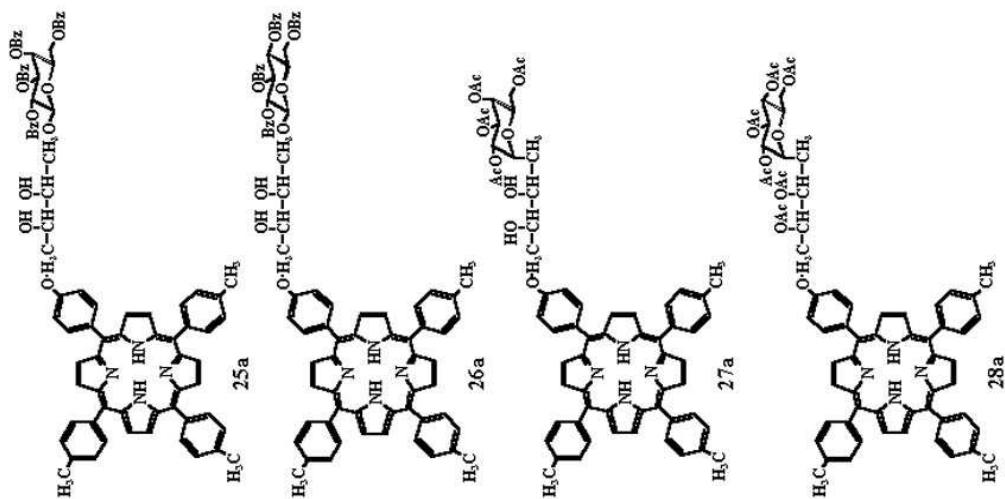
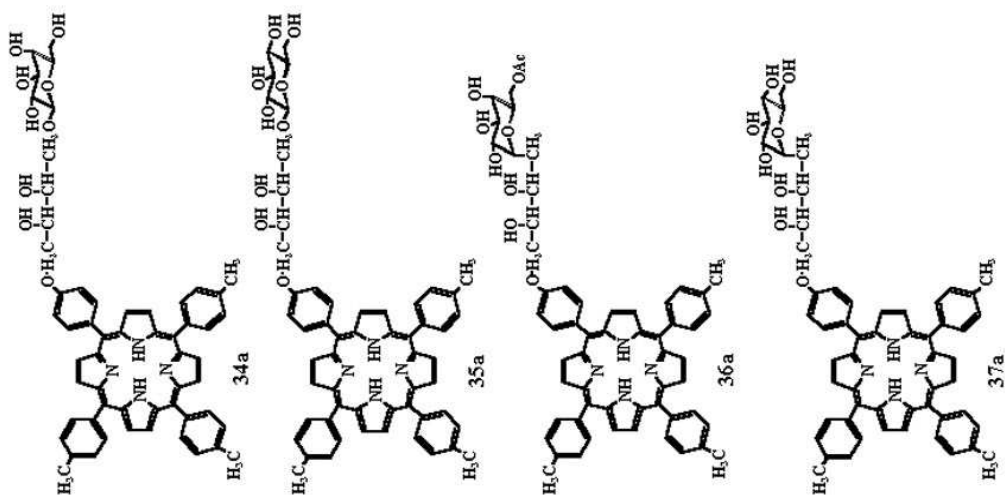
Figure A2-7. Observation par microscopie confocale du produit 32a encapsulé dans des liposomes

STRUCTURE DES COMPOSÉS









NOUVEAU CHAPITRE DE LA THÈSE

I - CADRE GÉNÉRAL ET ENJEUX

Le travail, présenté dans mon mémoire de thèse, porte sur l'« Utilisation de la métathèse des alcènes pour la synthèse de porphyrines glycosylées éthyléniques et leur dérivées - Application à la photothérapie dynamique des cancers ». Comme l'indique le titre, il s'agit d'élaborer des molécules dans un but thérapeutique, ce but étant ici, le traitement d'un certain type de cancers par photothérapie dynamique. La mise au point d'un médicament efficace, dans ce cadre, aurait, alors, un impact indéniable sur le monde économique et sociétal, la lutte contre le cancer étant une priorité pour nombre de gouvernements.

La photothérapie dynamique consiste à irradier, par de la lumière rouge, des molécules ayant des propriétés particulières que l'on appelle photosensibilisateurs, préalablement injectées au patient par voie directe ou par voie endoscopique. Ces molécules, inoffensives en temps normal, vont entraîner, après exposition à la lumière et en présence d'oxygène, la destruction des cellules tumorales sans toucher aux tissus sains adjacents. Dans le cas présent, les porphyrines glycosylées synthétisées jouent le rôle de photosensibilisateurs. En outre, la présence de sucres sur ces porphyrines permet, par un phénomène de reconnaissance entre ces derniers et des récepteurs spécifiques situés sur les cellules tumorales, de cibler sélectivement les tissus cancéreux.

A l'heure actuelle, quelques molécules sont en phase d'essais cliniques mais présentent, néanmoins, quelques inconvénients. Notamment, les patients traités souffrent d'une photosensibilité cutanée qui les obligent à rester cloîtrés, à l'abri de la lumière, jusqu'à élimination totale des molécules de photosensibilisateurs résiduelles. La recherche de nouveaux sensibilisateurs, aussi efficaces, sinon plus, que ceux existants, les effets secondaires en moins, reste donc d'actualité.

Notre travail se situe dans la continuité d'un programme de synthèse de porphyrines glycosylées, initié depuis quelques années déjà, par le Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles de l'Université de Limoges. Dans ce cadre, afin d'obtenir les composés désirés, nous avons développé des stratégies de synthèse impliquant des procédés qui, à notre connaissance, n'ont jamais été appliqués sur des porphyrines. Les différentes molécules synthétisées ont subi des tests biologiques *in vitro* dans le but de vérifier leur potentialité anti-cancéreuse. De plus, afin d'en faciliter l'administration au patient, nous avons incorporé différents produits, issus de cette étude, dans des liposomes. Le rôle de ces derniers consiste à transporter le principe actif jusqu'à sa cible, soit dans notre cas, jusqu'aux cellules tumorales. Nous n'avons pas encore recueilli tous les résultats relatifs aux tests biologiques mais, d'ores

et déjà, ils nous permettent de définir les nouvelles orientations à donner au programme de recherche portant sur la synthèse de porphyrines glycosylées. Ces travaux ont fait l'objet de plusieurs communications orale et par affiche et ont été récompensés par le Groupe Français des Glucides. Tout au long de ma thèse, j'ai été guidée et conseillée par mon encadrant direct mais aussi par d'autres membres permanents du laboratoire qui, sur des points précis, m'ont fait partager leur expérience et leur savoir. J'ai, également, bénéficié, dans les derniers temps, de l'aide précieuse d'une technicienne qui a réalisé la synthèse de précurseurs dont j'avais besoin, en suivant les protocoles mis au point par mes soins.

Lors de mon stage de maîtrise effectué pour partie au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, j'ai eu l'occasion, entre autre, de travailler sur la synthèse de porphyrines et ai pu, déjà, en apprécier la portée. C'est donc tout naturellement que j'ai répondu favorablement à la proposition qui m'a été faite, en DEA, par le directeur du laboratoire, d'un sujet portant sur la synthèse de porphyrines glycosylées. Ce dernier stage ayant conforté mon intérêt pour la synthèse de porphyrines, j'ai poursuivi, logiquement, ce travail dans le cadre d'une thèse.

II - DÉROULEMENT, GESTION ET COÛT

Mon sujet de thèse initial portait sur l'élaboration de tolyporphines qui sont des molécules dérivées de porphyrines. D'origine naturelle, cette classe de composés est particulièrement attractive pour une application en photothérapie dynamique des cancers. D'autre part, lors de cette première année de thèse, ne bénéficiant d'aucun financement, j'ai dû exercer, parallèlement, la fonction de maîtresse d'internat ce qui m'éloignait du laboratoire le jeudi et le vendredi et me laissait trois jours pleins pour travailler sur mon projet.

Au bout de cette année, mes travaux n'avaient guère progressé, en partie par manque de temps mais surtout du fait de la complexité du sujet. De plus, un laboratoire concurrent a publié, à cette époque, un article portant sur la même thématique que la mienne. Compte tenu de l'avance de ces derniers sur notre laboratoire, nous avons, alors, décidé d'abandonner ce projet et nous avons orienté mes recherches vers la synthèse de porphyrines glycosylées d'origine naturelle afin de compléter les travaux antérieurs réalisés au laboratoire sur le même thème. A partir de la deuxième année de thèse, le Conseil Régional m'a attribué une bourse FSE et j'ai donc pu me consacrer complètement à mes travaux. La dernière année, un financement supplémentaire m'a permis de finaliser ma thèse dans de bonnes conditions. Nous avons été, cependant, confrontés à des difficultés liées à la nature des porphyrines utilisées et avons élargi, après quelques temps, le sujet de ma thèse en menant, en parallèle, la

synthèse de porphyrines glycosylées par métathèse des alcènes. Dès le départ, cette nouvelle thématique a donné des résultats plus qu'intéressants si bien que, petit à petit, nous avons écarté le sujet portant sur les porphyrines naturelles pour ne plus nous concentrer que sur ce projet.

Ces quatre années de thèse ont été ponctuées régulièrement par des réunions en présence de mon encadrant et du directeur du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles afin de discuter des avancées de mes travaux ou tenter d'apporter une solution à un problème qui s'était présenté. Ces réunions avaient lieu à ma demande, en fonction des difficultés rencontrées. De plus, les doctorants, chacun à leur tour, présentaient les résultats de leur recherche lors de réunions hebdomadaires réunissant l'ensemble des étudiants et membres permanents du laboratoire. Compte tenu du nombre de doctorants, variant suivant les promotions, c'est en moyenne tous les deux à trois mois que nous étions amenés à exposer, à nos pairs, l'avancée de nos travaux.

Tableau A4-1. Coût de la thèse.

Ressources humaines	Encadrants	80 000 €
	Bourses	30 923 €
	Permanents du laboratoire	24 640 €
	Administration	1 200 €
	Ecole Doctorale	1 200 €
	Sous total	137 963 €
Matériel	Consommable	17 300 €
	Gros matériel	5 530 €
Infrastructure	Loyer	2 700 €
	Fluide et énergie	1 330 €
Sous-traitance	Analyse	3 130 €
Documentation		670 €
Déplacement		103 €
Total		168 726 €

III - AUTRES ACTIVITÉS

III.1 - MEMBRE DU COMITÉ D'ORGANISATION DU SYCOCAL II

Parallèlement à mes travaux de recherche, j'ai, également, participé à l'organisation d'un congrès. En effet, la mise en œuvre de la seconde édition du SyCOCAL (Symposium de Chimie Organique en Centre – Auvergne –Limousin) a été confiée au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles. Lorsque le directeur du laboratoire a demandé des volontaires pour s'occuper de l'organisation de cette manifestation, j'ai proposé mon aide sans savoir, alors, à quel point cette expérience allait être enrichissante pour moi. Il nous a fallu tout d'abord recenser tous les lieux possibles pouvant accueillir le congrès, les contacter et faire établir des devis ce qui nous a permis d'éliminer un certain nombre de candidatures. A l'issue de cette première étape, nous avons retenu une dizaine de lieux et nous sommes rendus sur place afin de faire notre choix. Deux centres de vacances restaient encore en lice avec chacun, leurs avantages et inconvénients. Nous avons finalement opté pour un centre de vacances se situant en bordure du lac de Vassivière, en partie pour le cadre mais aussi parce que nous avions eu un bon contact avec le gérant du centre. Cette décision a été validée, par la suite, par le directeur du laboratoire avec qui nous nous sommes allés sur le site une deuxième fois. Tout au long de la phase de préparation, j'ai été régulièrement en contact avec le commercial de l'organisme gérant le centre de vacances afin de renégocier quelques points et les modalités de paiement. Nous avons, alors, établi un budget prévisionnel et nous sommes mis en quête de financement. Nous avons rédigé des courriers de demandes de subvention que nous avons, envoyés, après avoir identifié les interlocuteurs possibles, à des organismes publics et privés, parmi ces derniers, essentiellement des fournisseurs du laboratoire et des entreprises de la région. Ce fut un travail de longue haleine réclamant patience et persévérance car bon nombre de demandes restaient sans réponse. Régulièrement, nous faisons des bilans et relançons ceux dont nous n'avons aucune nouvelle. Parmi l'ensemble des organismes sollicités, une quinzaine, finalement, a répondu favorablement à notre demande de soutien. Nous avons mené, parallèlement, l'aspect communication. La remise à jour du site internet de la première édition, notamment, a été réalisée en étroite collaboration avec son créateur. Un pré-programme a été établi et nous avons fixé les frais d'inscription en essayant de trouver un compromis entre rester attractifs et couvrir, notamment, tout ou partie des frais d'hébergement. Nous avons, surtout, essayé de favoriser les inscriptions de jeunes doctorants par des tarifs volontairement bas comparés à ceux pratiqués couramment. Nous avons, ensuite, diffusé l'information auprès des laboratoires pouvant être intéressés par ce congrès. Des réunions du comité d'organisation ont eu lieu, très régulièrement, tout au long de la phase

de préparation et nous avons bénéficié à de nombreuses reprises des conseils avisés de la présidente de la précédente édition de ce symposium. En plus de ces différentes activités, je me suis occupée, plus particulièrement, de la gestion des inscriptions et du budget global et ai, notamment, assuré la liaison avec les services financiers de la Faculté des Sciences et Techniques de Limoges. Je me suis, également, occupée de la répartition des participants dans les gîtes du centre de vacances. La dernière phase de la préparation de cette manifestation a consisté à l'organisation matérielle du SyCOCAL II. Nous sommes allés sur le site de Vassivière afin de mettre au point les détails avec le gérant du centre, discuter du contenu des menus, des pauses... La veille du congrès, un petit groupe d'étudiants dont je faisais partie en qualité de membre du comité d'organisation, s'est rendu sur place afin de commencer à installer les différentes salles et préparer l'arrivée des participants. A tour de rôle, nous avons été de permanence à l'accueil et avons orienté ces derniers. Cette manifestation s'est donc déroulée du 30 septembre au 03 octobre 2002 et a réuni une centaine de personnes parmi lesquels une majorité d'étudiants présentant leurs travaux, comme nous le désirions. Tout s'est déroulé à peu près comme nous l'avions imaginé avec toutefois, quelques petits imprévus que nous avons su gérer avec efficacité. Ces quelques jours resteront, quant à moi, gravés dans ma mémoire et je suis très fière d'avoir pu apporter ma modeste contribution à l'organisation de ce symposium. Depuis, jusqu'à encore récemment, je gère l'après congrès avec l'établissement du bilan financier (positif) et le suivi des factures en cours, en collaboration avec les services financiers. Notamment, j'ai constitué les dossiers de remboursement des frais des différents conférenciers invités parmi lesquels un dossier plus délicat, relatif à un conférencier étranger.

III.2 - PARTICIPATION À LA VIE DE L'ECOLE DOCTORALE STS

Depuis maintenant deux ans, je suis une des six représentants des doctorants, élus par ces derniers au conseil de l'Ecole Doctorale STS. Dans ce cadre, j'assiste aux différentes réunions et sers de relais entre les doctorants et cette institution. Nous intervenons sur divers sujets et notamment, sur l'attribution des allocations de recherche et autres bourses dont la répartition auprès des différents instituts incombe à l'Ecole Doctorale.

Dans ce cadre, je participe, également, à un comité de réflexion dont le travail consiste à apporter des améliorations aux formations proposées aux doctorants. Dans un premier temps, nous avons analysé les questionnaires remplis par les étudiants à l'issue des formations et avons établi un bilan. Nous avons, ensuite, rencontré les différents formateurs afin de leur faire part des observations des doctorants et voir comment faire évoluer leurs interventions de manière à mieux répondre aux attentes des étudiants. De nouvelles propositions portant sur la

communication d'entreprise ou encore la création de page web ont été introduites afin de compléter le panel des formations existantes. La recherche d'intervenants pouvant assurer ces nouvelles formations ainsi que des discussions quant aux modalités de leur intervention ont fait, également, partie de nos activités. Une réunion en présence du directeur de l'Ecole doctorale et de la personne en charge des formations au sein de cette institution a validé, par la suite, ce travail et le programme des formations pour la prochaine année universitaire a été réalisé en tenant compte de nos propositions.

En outre, j'ai participé à l'organisation d'un forum sur l'emploi des docteurs, se déroulant sur une journée, avec des interventions d'institutionnels, le matin, tels que l'ANPE ou encore l'Association Bernard Grégory, et l'après-midi, des tables rondes portant sur différentes thématiques autour du recrutement. Plusieurs réunions nous ont permis d'établir le programme de la journée en tenant compte, là aussi, des souhaits des doctorants quant aux intervenants invités. J'ai, de plus, réalisé la conception d'une affiche et d'une animation Internet afin de prévenir, par mail, les étudiants de la tenue de cette journée. Enfin, je me suis portée volontaire pour assurer l'animation de plusieurs tables rondes en tant que modératrice.

Pour mener à bien ces différentes activités, j'ai bénéficié de l'appui du directeur de l'Ecole Doctorale qui a bien voulu me faire confiance, de celui qui est également mon « mentor » pour la rédaction de ce nouveau chapitre de la thèse et pour pleins d'autres sujets ainsi que de mon directeur de laboratoire, qui, bien que voyant tout le temps que je consacrais à des projets autres que ma thèse, ne m'a jamais empêchée de m'investir par ailleurs. J'ai, également, sollicité, à de nombreuses reprises, l'assistance de la secrétaire de l'Ecole Doctorale qui a toujours répondu présente, bien que surchargée de travail, ce en quoi, je la remercie vivement.

IV - COMPÉTENCES ET SAVOIR FAIRE

Outre la satisfaction et une certaine fierté d'avoir été aussi loin que je le pouvais dans mes études, je me suis, tout d'abord, découvert des capacités manuelles que je ne pensais pas posséder. En effet, ce que l'on appelle communément le « travail à la paille » requiert de l'habileté, de la concentration et un certain sens de l'organisation. Qui plus est, certains types de réactions, notamment la métathèse, nécessitent des conditions rigoureuses et doivent être opérées en prenant toutes sortes de précautions, en particulier vis-à-vis de l'air environnant. De la rigueur dans la manipulation dépendent donc l'issue de la réaction et sa réussite. J'ai, de plus, été amenée à utiliser des technologies innovantes telles que les micro-ondes. En effet, l'activation par les micro-ondes en synthèse organique, parce qu'elle permet, entre autre,

d'accélérer certaines réactions et d'opérer dans des conditions plus écologiques s'est développée ces dernières années. Le LCSN ayant fait l'acquisition de ce genre de matériel, j'ai, alors, pu pratiquer l'activation par les micro-ondes sur deux appareils différents. J'ai été initiée, par ailleurs, à différentes méthodes de purification par chromatographie en phase normale et inverse. Une fois les produits isolés, après traitement et purification par des techniques classiques de laboratoire, une dernière phase consiste en leur caractérisation. Une partie des analyses telles que la spectroscopie UV-Visible ou Infra-Rouge se faisait au laboratoire. Pour la spectroscopie RMN ou la spectrométrie de masse, les produits étaient envoyés à des laboratoires extérieurs avec lesquels nous étions en relation. Des échanges avec les responsables des unités concernées, le cas échéant, avaient lieu de manière à effectuer au mieux la caractérisation des échantillons. Une fois l'analyse effectuée, les données spectrales nous étaient renvoyées et il nous incombait de les examiner afin d'en soutirer les informations relatives à la structure des composés synthétisés. Les spectres RMN des porphyrines glycosylées, notamment, étaient relativement complexes et avec la pratique, j'ai appris à les analyser avec de plus en plus d'efficacité.

A côté de ce savoir faire technique, quelques unes de mes qualités se sont révélées ou confirmées. Ainsi, il m'a fallu de la persévérance et une forte aptitude à ne pas se laisser aller au découragement lorsque mes recherches étaient bloquées, entraînant des réorientations de mon sujet ou encore, lorsque nous relançons les organismes sollicités pour subventionner le SyCOCAL II. J'ai, par ailleurs, développé un certain sens de l'organisation en programmant mes journées au laboratoire de manière à optimiser mon travail de recherche. Ainsi, pendant qu'une réaction était en cours, je prévoyais d'autres activités de façon qu'il n'y ait pas de temps mort. Mes compétences organisationnelles ont, également, été mises en exergue par ma participation à la préparation de diverses manifestations, le congrès SyCOCAL II, d'une part et le forum sur l'emploi des docteurs, d'autre part, dont l'initiative revient à l'Ecole Doctorale STS. Dans ce cadre, j'ai participé, notamment, à la mise en place logistique de ces séminaires ainsi qu'à l'élaboration de leur contenu.

La conduite de ces différents projets que sont la thèse, la mise en place de manifestations,... m'ont beaucoup appris sur moi-même. De nature timide ou plutôt réservée à mon entrée en thèse, je me suis découvert des capacités relationnelles et ne crains plus, désormais, de me mettre en avant. Même si, parfois, j'ai encore quelques appréhensions lorsqu'il s'agit de prendre la parole en public, j'ose, à présent, les surmonter et faire valoir mon opinion.

La communication est, de fait, très présente dans la vie des doctorants. Tout d'abord, les réunions de laboratoire où chacun peut présenter ses travaux à tour de rôle ou encore les différentes réunions auxquelles j'ai assisté de part mes activités parallèles relèvent toutes de la communication interne. Il en va de même pour mes activités au sein de l'Ecole Doctorale, en tant que représentante élue. En effet, dans ce cadre, je jouais le rôle de relais entre les doctorants et cette institution et transmettais les informations dans un sens comme dans l'autre. Nous sommes, également, amenés à faire de la communication externe tout au long de notre thèse. La présentation de nos travaux, orale ou par affiche, lors de congrès, en fait partie. Ainsi, j'ai pu concevoir plusieurs posters et ai, récemment, exposé le résultat de mes recherches par une intervention orale d'une dizaine de minutes. Mes travaux ont, d'ailleurs, été récompensés par le Groupe Français des Glucides, comme je l'ai souligné précédemment. De même, la remise à jour du site internet du SyCOCAL II en étroite collaboration avec son créateur ou encore l'affiche du forum dont la conception m'avait été confiée sont d'autres exemples de communication externe et requiert un minimum de créativité.

De plus, j'ai occupé, récemment, la fonction de modératrice lors de trois tables rondes du forum sur l'emploi des docteurs ce qui me confère une première expérience dans le domaine de l'animation. Mon intervention a même évolué entre le premier atelier et le dernier. En effet, j'ai adapté ma façon d'animer en fonction du public mais aussi, n'étant pas complètement satisfaite de ma première prestation, tout au long des tables rondes.

Au cours de ma thèse, j'ai eu l'occasion d'encadrer des étudiants de maîtrise lors de leur stage TER (Travail d'Etude et de Recherche). Ma tâche, dans ce cadre, allait de l'élaboration de leur sujet à la mise en œuvre des réactions en passant par l'initiation aux techniques classiques de laboratoire. J'ai, également, été amenée à corriger leur rapport de stage et ai donné mon appréciation lors de la soutenance sur la qualité de leur travail. De la même façon, étant impliquée, avec une autre collègue, dès le départ dans la préparation du SyCOCAL II, j'ai pu, lorsque l'organisation l'a nécessité, solliciter mes collègues pour nous aider et ai supervisé les tâches à accomplir. Ces différents projets menés au cours de ma thèse ont prouvé, par ailleurs, ma capacité à travailler en équipe. Certes, nous sommes seuls devant la paillasse mais travaillons en interaction constante avec les autres, nous aidant mutuellement selon nos compétences. La mise en œuvre de manifestation exige, de la même façon, de travailler en équipe, chacun apportant sa pierre à l'édifice et faisant de la réalisation du projet, une réussite.

La thèse m'a, également, permis de développer mes capacités d'analyse et de synthèse. Pour pouvoir progresser sur mon sujet de recherche, tout d'abord, j'ai régulièrement

fait le point et rédigé des notes synthétiques soumises à discussion avec mes deux directeurs de thèse. De la même façon, dans le cadre du comité de réflexion travaillant sur les formations proposées en thèse, j'ai réalisé une synthèse des questionnaires remplies par les doctorants à l'issue des formations en relevant les remarques et observations qui me paraissaient pertinentes. Ce travail a, par la suite, fait l'objet d'une réunion avec le directeur de l'Ecole Doctorale et la personne en charge des formations et a servi de base pour les rencontres du comité avec les différents intervenants extérieurs. J'ai, également, rédigé, dans ce cadre, des comptes-rendus de réunions que j'ai transmis, par la suite, aux personnes concernées. La synthèse de tous ces travaux a permis, outre l'introduction de nouvelles propositions, de faire évoluer les formations existantes de manière à ce qu'elles répondent au mieux aux attentes des doctorants.

Représentante élue des doctorants depuis maintenant deux ans au conseil d'école de l'Ecole Doctorale STS, j'ai pu appréhender, par ailleurs, le fonctionnement et la façon dont étaient prises les décisions au sein de cette institution et par extension, dans les administrations en général. De même, ayant assuré la gestion du budget du SyCOCAL II et l'élaboration de divers documents administratifs (factures, dossiers de remboursement de frais pour les conférenciers invités...), j'ai travaillé en étroite collaboration avec les services financiers de la Faculté des Sciences et Techniques de Limoges.

Au cours de ma thèse, également, j'ai été amenée à négocier avec certains fournisseurs même si cela est arrivé peu souvent, cette tâche incombant à une technicienne du laboratoire mais aussi, avec le commercial du centre de vacances où s'est déroulé le SyCOCAL II. Ainsi, j'ai obtenu un échelonnement des paiements et une révision des échéances du fait des contraintes administratives. De même, au cours de l'une de nos nombreuses conversations téléphoniques, j'ai sollicité et obtenu que les cafés soient compris dans le prix, ce qui n'était pas prévu dans le devis initial. Cette expérience m'a fait prendre conscience que rien n'était ferme et définitif et qu'on pouvait, bien souvent, trouver un compromis arrangeant les deux parties.

Grâce aux différentes formations volontairement tournées vers le monde de l'entreprise et mes contacts avec ce milieu, j'ai, maintenant, une meilleure appréhension de ce dernier. Les formations en anglais, la conception d'une bibliographie à partir d'articles rédigés en anglais, l'élaboration d'articles portant sur mes travaux dans cette même langue m'ont permis d'acquérir certaines compétences linguistiques. J'ai, de plus, repris récemment des cours d'espagnol dans le cadre de l'Ecole Doctorale et même si j'ai dû les abandonner, faute de temps, j'ai pu me rendre compte que, sans trop d'efforts, je pourrais retrouver un bon

niveau dans cette langue. La réalisation de documents informatiques, de posters ou encore d'un support multimédia pour ma communication orale m'ont permis, en outre, de me perfectionner dans ce domaine et d'utiliser plus efficacement les logiciels usuels de traitement de texte et de données.

Enfin, grâce aux différentes rencontres que j'ai pu faire lors de mes diverses activités, j'ai pu me constituer un réseau que je compte bien mettre à profit lors de ma future recherche d'emploi. En effet, assister à des congrès, par exemple, permet de s'ouvrir à l'extérieur, de nouer des contacts qui, à terme, pourrait déboucher sur du concret. De la même façon, ma participation à l'organisation du forum ou les intervenants rencontrés dans le cadre du comité de réflexion sur les formations sont autant de pistes à explorer par la suite.

V - RÉSULTATS ET IMPACT DE LA THÈSE

Je n'ai pas encore récupéré toutes les données relatives aux tests biologiques mais je pense, néanmoins, pouvoir affirmer sans trop me tromper que ce n'est pas encore aujourd'hui que sera trouvé le remède miracle contre ce mal universel qu'est le cancer. Toutefois, comme je l'ai dit précédemment, les résultats de mes travaux sur les porphyrines glycosylées ont permis de donner de nouvelles orientations au programme de recherche du laboratoire dans ce domaine. Plus grand est sans doute l'impact sur le LCSN apportée par l'organisation du congrès SyCOCAL II. Nous avons démontré qu'une structure, relativement petite telle que la notre, comparée à d'autres instituts sur Limoges, était capable de mettre en place avec succès une telle manifestation. De la même façon, ma contribution à l'amélioration des conditions de travail des doctorants porte, d'ores et déjà, ses fruits puisque l'évolution des formations a tenu compte des observations du comité de réflexion. Les différents intervenants que nous avons pu rencontrer ont, d'ailleurs, fort apprécié notre démarche et, en particulier, la présence de doctorants au sein de la délégation. En outre, devant le succès rencontré par la première édition du forum, cette manifestation va être pérennisée.

D'un point de vue personnel, la thèse et les différentes activités que j'ai pu mener dans ce cadre ont été très enrichissantes. Si je suis aujourd'hui ce que je suis, c'est sans nul conteste grâce aux différents projets dans lesquels je me suis investie. Certes, du coup, il m'a fallu quatre années pour achever mon doctorat soit une année supplémentaire par rapport à ce qu'il m'aurait, sans doute, fallu si je ne m'étais consacrée qu'à mon sujet de recherche. Mais je pense que la formation par la recherche, c'est aussi cela à savoir l'opportunité de pouvoir participer à la vie du laboratoire dans tout ce qu'il fait et plus largement, à la vie de l'Ecole

Doctorale dont le but est de nous permettre, rappelons le, de nous insérer au mieux dans la vie professionnelle.

Les différentes compétences que j'ai retirées de l'ensemble de mes activités m'ont permis de cerner mon ou plutôt, mes projets professionnels ainsi que mon projet de vie qui a une incidence directe sur les premiers. J'ai réalisé, à la suite de ces diverses expériences, que j'aimais être le moteur d'un projet et le voir progresser jusqu'à son terme. Ces caractéristiques se retrouvent dans les différents postes pour lesquels j'envisage de postuler. Tout d'abord, je ne souhaite pas poursuivre des activités de recherche, contrairement à certains de mes collègues, car je suis intimement convaincue que la formation par la recherche ne mène pas seulement à ses métiers que ce soit dans un cadre privé ou public. Les docteurs sont détenteurs de compétences différentes de celles apportées par d'autres formations et ont largement leur place dans le tissu économique. Les docteurs témoins ayant participé aux tables rondes du forum m'ont, d'ailleurs, conforté dans mon opinion. En effet, parmi ces derniers, rares étaient ceux occupant un poste de chercheur et bien souvent même, ils occupaient des fonctions dans des domaines diamétralement opposés au sujet de leur thèse.

Je compte, quant à moi, mettre à profit les différentes compétences que j'ai développées soit pour un métier se situant autour de la communication, soit travailler pour des collectivités territoriales en tant qu'agent de développement local. Dans le domaine de la communication, ce n'est pas tant l'animation qui m'attire, même si j'ai révélé certaine aptitude à l'exercer mais tout l'aspect logistique et mise en place du projet. Différents contacts, dont certains par le biais de l'Ecole Doctorale, restent à explorer et je compte bien valoriser, le moment venu, mes différentes expériences dans ce champ d'application. Au fond, pas si éloigné, mon autre projet professionnel à savoir l'exercice de la fonction d'agent de développement local, s'est, également trouvé confirmé par le témoignage d'un docteur issu de Limoges et occupant une fonction similaire dans une communauté de communes du Limousin. Mon activité, au sein de l'Ecole Doctorale, constituée d'élus et de représentants des divers instituts, me paraît être un atout à valoriser dans cet optique. Là encore, j'ai pu me constituer un réseau relationnel, en partie grâce à l'Ecole Doctorale mais n'ai pas encore pris le temps de faire des démarches en ce sens.

Je songe, également, de plus en plus, à créer ma propre entreprise ou à m'insérer dans un projet de création d'entreprise. Cette dernière piste est sans doute celle qui permet de mieux rendre compte de mon évolution. En effet, ce dernier projet se situe aux antipodes de ce que j'imaginai à mon entrée en thèse. Pourtant, je m'en sens capable maintenant et surtout, en ai le désir, ce qui est essentiel. Reste à trouver l'idée ou un groupe de personnes

acceptant de m'impliquer dans leur projet. J'ai rencontré, lors du forum sur l'emploi des docteur, le directeur de l'incubateur du Limousin, organe assistant la création d'entreprise en prise directe avec l'innovation et il n'a pas paru hostile à mon projet. Reste là aussi à concrétiser les différents contacts que j'ai pu nouer ici et là.

En conclusion, la thèse et les activités que l'on peut mener dans ce cadre sont de réelles expériences professionnelles. A nous de les valoriser, par la suite, en tant que telles lors de notre future recherche d'emploi. C'est en tout cas comme cela que je compte procéder.