

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur
Université de Guelma

3/15410.043



Mémoire du Projet de fin d'étude
2^{ème} Année Master Chimie



Spécialité : Chimie Physique et Analytique

**MONOCONJUGAISON AVEC LA β -CYCLODEXTRINE
SUR LA POSITION 6 VIA LA REACTION DE
CLICK CHEMISTRY**

Présenté par :

- MOUADNA Habiba
- MEKHANCHA Wassila

Sous la Direction de :

D^r M.STITI

**&
H. BOUZIT**



Juin 2011

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de chimie Appliquée (LCA), à l'université 8 Mai 1945 de Guelma, Algérie. Que le professeur M.ABDAOUI, Chef du labo, trouve ici l'expression de notre respectueuse considération et sincère gratitude pour l'intérêt qu'il a accordé à notre travail ainsi que le soutien et l'aide qu'il nous a apporté durant notre stage.

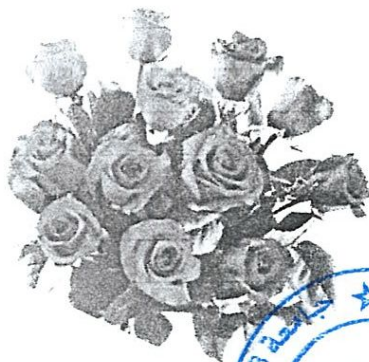
Nous tenons à exprimer notre très sincère reconnaissance à Monsieur le D^r M.STITI ainsi qu'à M^{me} H .BOUZIT qui nous ont fait l'honneur de diriger ce travail, aussi pour leur disponibilité, leur patience, leurs conseils judicieux et leurs orientations précieuses et toute l'attention qu'ils nous ont accordée le long de la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent dans l'aboutissement de ce travail le témoignage de notre profonde gratitude et parfaite considération.

Nous présentons nos remerciements pour les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

A nos enseignants qui nous ont beaucoup aidés et encouragés durant notre formation.

Nous tenons à remercier également toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail en particulier le professeur R.OMEDDOUR et Dr S.NIGRI pour leur aide à tirer les spectres infra -rouge(IR).

Sans oublier enfin notre aimable section « 2011 »



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à ma très chère mère « zahia » à mon père « Amar »
qui ont sacrifié leur vie pour le bien de leurs enfants.*

A la mémoire de ma grande mère « Zohar » et grand père balkasme.

A Lilia, Sana, Assia et Ahlem qui mon encouragé beaucoup.

A mes chère amies

A toute la famille MOUADNA, en particulier « Tata Nassima ».

A tous mes enseignants dès la première classe primaire.

A tous ceux qui j'aime et qui m'aiment

Je dédie ce travail

HABIBA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma très chère mère « Fatima
et Fatima » a mon père « Nasser » qui ont sacrifié leur vie
pour le bien de leurs enfants.

A mon cher frère et sa femme.

A Habiba, Nadjiba, Hasan, Loulou, sousou, chuima, manal
Mariem , Nabila Et amine qui m'ont encouragé beaucoup.

A mes chères amies

A toute la famille MEKHANCHA, en particulier « Tata
Nabila »

A tout mes enseignants dès la première classe primaire.

A tous ceux qui j'aime et qui m'aiment.

Je dédie ce travail

Lilia

Sommaire

SOMMAIRE

Introduction	
Générale	01
Chapitre I :	
I.1.Réactions de click Chemistry.....	03
I.2.Réactions de cycloaddition.....	04
I.3.Propriétés de la réaction de Synthèse des 1, 2,3-triazoles par la Cycloaddition 1,3-Dipolaire azoture-alcyne vra.....	05
I.4. La Cycloaddition catalysée par le cuivre (I).....	05
I. 5. Mécanisme catalytique.....	06
I.6. Exemples de réactions (CuAAC) citées dans la littérature.....	07
Conclusion.....	09
Chapitre II:	
II.1.Importance des saccharides.....	10
II.2.Les glycoconjugués biologiques.....	10
II.3. Couplage des sucres aux agents thérapeutiques.....	10
II.4. LES CYCLODEXTRINES ((PRESENTATION GENERALE.....	12
II.4.1. Caractéristiques structurales et physico-chimiques.....	12
II.4.2 Propriété de reconnaissance chirale des CDs.....	14
II.4.3. Complexes d'inclusion.....	14
II.5.MODIFICATION SELECTIVE DES CYCLODEXTRINES.....	15
II.5.1 Les facteurs qui influencent la sélectivité.....	15
II.6. Les CDs modifiées : présentation générale.....	17
II.7. Monosubstitution d'un des hydroxyles en position 6.....	18
II.8. Applications actuelles et futures.....	21
Conclusion.....	22

Chapitre III:

Motivation.....	23
III.1. Préparation de précurseurs monofonctionnalisés sur la position <u>6</u> de la β -CD.....	24
III.1. 1. Obtention du mono-6tosyl- β -CD.....	25
III.1. 2. Obtention du mono-6azido β -CD.....	27
III.1.3. Caractérisation des produits obtenus.....	28
III.1. 3.1 Identification du mono-6tosyl- β -CD.....	28
III.1.3. 2. Identification du mono-6azido- β -CD.....	31

Chapitre IV:

IV.1. Préparation de glycoconjugués à base de β -CD via la réaction de CuAAC.....	33
IV.2. Caractérisation des glycoconjugués obtenus.....	35
CONCLUSION.....	38

Chapitre V :

V. Conditions générales.....	39
V.1 Protocoles expérimentaux relatifs à la Synthèse des précurseurs dérivés de la β -CD.....	40
V.1.1 mono [6-O-(p-toluenesulfonyl)]- β -cyclodextrine) ou mono-6tosyl- β -cyclodextrine.....	40
V.1.2. 6-monoazido-6-monodeoxy-cyclomaltoheptaose(β CD).....	42
V.2. Protocoles expérimentaux relatifs à la réaction CuAAC.....	43
V.2.1 4- Benzylcarboxy-1,2,3-triazolo- β CD.....	43
V.3.14-Hydroxymethyl-1,2,3-triazolo- β CD.....	44
Conclusion Générale	

Liste des abréviations

Symbole	Signification
APT	Attached Proton Test
L'AZT	Azidothymidine
CuAAC	cycloaddition 1,3-dipolaire Azide-alcyne terminal catalysé par le cuivre(I)
β CD	β -cyclodextrine ou simplement Cyd
CGTase	cyclodextrine glucosyltransférase
CCM	chromatographies sur couches minces
COSY	correlation spectroscopy
D	Debye
DMF	diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
DMSO-d6	diméthylsulfoxyde deutérié
DCM	Dichlorométhane
D ₂ O	l'eau lourde
e.g	Exemple
HIV	Human immunodeficiency virus
HPLC	Chromatographie en phase liquide à Haute Performance
IR	Infra -Rouge
MM	Ou MW :Masse molaire
MS-ESI	electrospray ionisation mass spectroscopy
Ph	groupement ou reste Phényle
PPM	Partie Par Million
Rd	Rendement
Rf	Rapport frontal
RMN-2D	Résonance magnétique nucléaire à deux Dimensions
RMN ¹ H	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ¹³ C	Résonance magnétique nucléaire du carbone-13
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldiméthylsilyle
Tf	Température de fusion
THF	Tétrahydrofurane
TMS	tetraméthylsilane
Tos	Ou Ts groupement tosylé
UV	Ultra -Violet

Liste des schémas

N°	Titre	Page
01	La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen	4
02	Exemple de réaction de cycloaddition thermique de Huisgen	4
03	La cycloaddition catalysée par le cuivre(I) entre un alcyne terminal et un azoture .	5
04	Cycloaddition catalysée par le Cu (I) généré in situ par l'utilisation du couple CuSO ₄ /ascorbate de sodium) .	6
05	Mécanisme de la cycloaddition 1,3-dipolaire Azide-alcyne terminal catalysé par le cuivre (CuAAC).	7
06	Synthèse par (CuAAC) de 1,2,3- triazoles 1- substitués	7
07	Utilisation du carbure de calcium dans la synthèse d'Aryl 1- monosubstitués 1,2,3- triazole par (CuAAC)	8
08	Utilisation du Benzimidazole et d'autres Ligands apparentés dans la réaction de (CuAAC)	8
09	Utilisation du silicotungstate dicuivrique – substitué en tant que précatalyseur dans la réaction de (CuAAC)	8
10	Formation de monométallo-cényle-1 ,2,3-triazolyl- β –cyclodextrine via la réaction de (CuAAC)	9
11	Présentation générale des méthodes pour monosubstituer la position 6 des CDs	20
12	Méthode d'accès aux précurseurs mono6- tosyl β-CD et mono6- azido- β-CD	24
13	Mécanisme proposé pour la réaction de monotosylation de la β-CD sur la face primaire	26
14	Les deux formes mésomères d'un azide	27
15	Stabilisation par résonance de l'ion tosylate.	27
16	Accès au mono6-azido- β-CD	28
17	Préparation de glycoconjugués à base de B-CD via la réaction CuAAC	33
18	Complexation des ions Cu ⁺⁺ par l'ammoniaque.	33

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Critères définissant une réaction de « Click Chemistry ».	3
02	Structure générale de l'AZT	11
03	Formule développée générale des cyclodextrines et représentation schématique de leur structure tridimensionnelle.	12
04	Structures tridimensionnelles des cyclodextrines naturelles (α , γ , et β -CD de gauche à droite), avec de haut en bas : une vue de la face des hydroxyles secondaires ("grand côté"), une vue latérale, et une vue de la face des hydroxyles primaires ("petit côté"). En bas, les dimensions respectives des CD's obtenues d'après les données cristallographiques.	13
05	Présentation générale des méthodes de modification chimiques des CDs	16
06	Localisation des hydroxyles sur une des unités α -D-glucopyranose de la cyclodextrine	16
07	Utilisation de la β -CD pour la vectorisation des principes actifs	21
08	Glycoconjugués à base de β -CD préparés via la réaction de click chemistry (CuAAC).	23
09	Blocage des OII secondaires de la β -CD par formation d'un complexe avec le cu (II)	25
10	Mécanisme proposé pour la réaction de monotosylation de la β -CD sur la face primaire	26
11	Spectrogrammes (ESI- MS) en mode positif du mono6-tosyl β -CD	28
12	Spectre I.R° du mono6- tosyl β -CD	29
13	Spectre RMN ¹³ C du mono6-tosyl β -CD dans le DMSO-d6.	30
14	Spectre RMN du proton du monotosylate β -CD dans le DMSO-d6.	30
15	Spectrogramme (ESI-MS) en mode positif du mono 6azido -- β -CD	31
16	Spectres IR du monoazido-6-BCD	31
17	Spectres RMN du proton du Mono 6- azide- β -CD dans D ₂ O	32
18	4- Hydroxymethyl-1,2,3-triazolo- β CD le glycoconjugué le plus soluble	34
19	Spectre (IR) du 4- Benzylcarboxy-1,2,3- triazolo- β CD	36
20	Spectre IR du 4- Hydroxymethyl-1,2,3- triazolo- β CD	36

Introduction générale

Introduction Générale

Depuis quelques années, la recherche de nouvelles réactions à la fois simples, efficaces et versatiles, permettant la construction de nouvelles architectures moléculaires, est devenu le centre d'intérêt de la communauté des chimistes. A ce nouveau challenge fait écho l'apparition en 2001 du concept de click chemistry définissant une réaction chimique quantitative, régiosélective, compatible avec une grande variété de système réactionnel et facile à mettre en œuvre. Et depuis la découverte l'année suivante (2002, Sharpless et *al*), de la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre alcynes vrais et azotures organiques, catalysée par le cuivre (I) CuAAC, le monde des organiciens s'enthousiasment pour cette réaction qui répond aux critères précédents.

Cette réaction a donné naissance à de nombreuses applications dans les domaines de la chimie, des sciences des matériaux et de la biologie moléculaire.

Le travail présenté dans ce manuscrit s'inscrit dans ce contexte de recherche d'une nouvelle stratégie de conjugaison de la β -cyclodextrine avec certaines molécules via la CuAAC pour l'élaboration de nouvelles structures aux propriétés inédites.

Ce manuscrit se décompose en trois parties distinctes:

La première partie divisée en deux chapitres :

Le premier chapitre propose une étude bibliographique sur la réaction de CuAAC, tout d'abord un état de l'art du mécanisme de cette réaction et des conditions expérimentales qui lui sont associées sera effectué, accompagné d'un rappel sur les propriétés spécifiques du cycle triazoles formé pendant cette réaction.

Le deuxième chapitre est réservé à l'étude des cyclodextrines, vue leur importance en tant que vecteurs biologiques. En effet, un challenge important en chimie supramoléculaire des cyclodextrines est l'obtention de synthons sélectivement modifiés en grandes quantités servant de base pour la construction d'édifices plus sophistiqués permettant une meilleure exploitation de leurs propriétés physiques et chimiques.

La deuxième partie de ce mémoire divisée en deux chapitres, est consacrée aux travaux personnels décrivant les résultats et discussion sur la préparation et la caractérisation des composés synthétisés.

Dans le premier chapitre, nous nous penchons à la fonctionnalisation de la β -cyclodextrine, qui implique la synthèse de la mono-6-tosyle- β -cyclodextrine et de la mono-6azido- β -cyclodextrine : deux précurseurs clefs pour la fonctionnalisation régiosélective des cyclodextrines.

Les étapes de synthèse et de caractérisation de ces composés seront décrites et discutées en détail.

Dans le deuxième chapitre, nous utilisons la réaction de CuAAC comme outil de synthèse efficace et innovante pour le couplage entre la mono-6azido β -cyclodextrine et certain alcynes vrais et de mettre au point les conditions optimales de leur obtention.

La troisième partie donnera le détail des protocoles expérimentaux utilisés pour les différentes synthèses et de fournir quelques éléments de caractérisation pour les composés préparés.

Nous achevons ce travail par une conclusion générale.

PREMIERE PARTIE
Etude Bibliographique

Click Chemistry

I.1.Réactions de click Chemistry

Dans la chimie moderne, il est devenu indispensable de développer de nouvelles méthodologies permettant d'accéder rapidement à une grande diversité de composés de synthèse. De cette idée a émergé le concept proposé par Sharpless, en 2001 de la chimie de "click " ou (click chemistry) qui permet de développer un ensemble de réactions puissantes afin de générer des structures originales [1].

Une réaction pourra être considérée comme "click" si elle répond aux critères suivants [2,3] :

- *Modularité
- *Stéréosélectivité
- *Insensibilité à l'oxygène et à l'eau
- *Pas de groupements protecteurs
- *Pas de purification chromatographique
- *Pureté et Rendement élevés

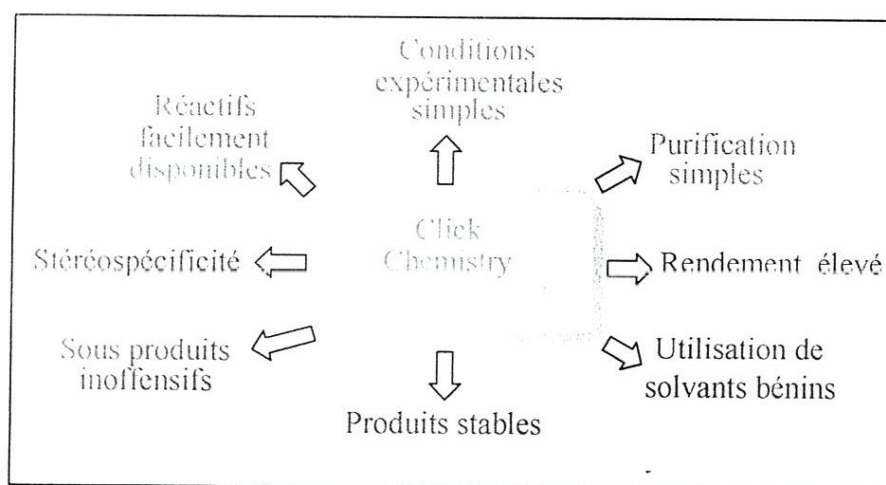


Figure 1: Critères définissant une réaction de « Click Chemistry ».

Les principales réactions de click consistent à former des liaisons carbone -hétéroatome énergétiquement très favorables.

I.2.Réactions de cycloaddition

Les cycloadditions sont un autre type de réactions largement représentées en chimie de click. La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen est une réaction entre un dipolarophile (alcène, alcyne, carbonyle, nitrile) et un composé 1,3-dipolaire (azoture, oxyde de nitrile, diazo-alcane) qui conduit à la formation d'un hétérocycle à cinq atomes [4]. Les cycloadditions 1,3 dipolaire permettent d'obtenir de manière rapide, reproductible et quantitative une grande variété d'hétérocycles à cinq chaînons.

La plus connue des réactions de Huisgen est celle entre un alcyne terminal et un azide générant un mélange de deux triazoles: les isomères disubstitués 1,4 et 1,5(Schéma.1).

Bon nombre d'alcynes monosubstitués de départ et d'azotures organiques sont disponibles dans le commerce, beaucoup d'autres peuvent facilement être synthétisés avec un large éventail de groupes fonctionnels, et leur réaction de cycloaddition donne sélectivement des 1,2,3-triazoles.

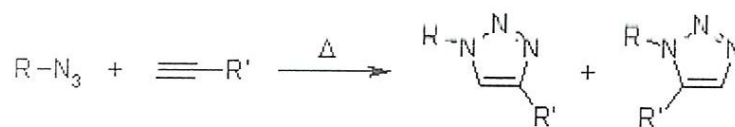


Schéma 1: La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen

Malheureusement, la cycloaddition thermique de Huisgen 1,3-dipolaire d'alcynes à des azides nécessite des températures élevées et produit souvent des mélanges des deux régioisomères lors de l'utilisation d'alcynes asymétrique. À cet égard, la cycloaddition 1,3-dipolaire classique ne représente pas une réaction de click vraie [5].

Du point de vue mécanistique, cette réaction est fortement exothermique, et la barrière d'activation élevée est responsable d'un taux de réaction très faible, même à température élevée. Un autre inconvénient est la formation de régioisomères [6](Schéma 2).

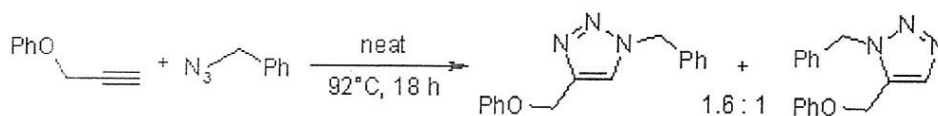


Schéma 2: exemple de réaction de cycloaddition thermique de Huisgen

I.3. Propriétés de la réaction de Synthèse des 1, 2,3-triazoles par la Cycloaddition 1,3-Dipolaire azoture-alcyne vrai.

Le cycle 1, 2,3-triazole formé au cours de la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azoture possède des caractéristiques chimiques le rendant très attrayant à titre de pharmacophore, il est doué d'un caractère aromatique et d'une grande stabilité en milieu physiologique, en étant quasi-inerte face à de fortes conditions d'oxydation, de réduction ou d'hydrolyse acide et basique. De plus, il possède un fort moment dipolaire (5.2 à 5,6 D) ainsi qu'une bonne habileté à accepter des liaisons-H, de par ses deux atomes d'azote comportant un doublet d'électrons libres non conjugués [7].

La cycloaddition de « click chemistry » n'est pas significativement affectée par les propriétés stériques et électroniques des groupements attachés sur l'azoture et l'alcyne.

Par exemple, les azotures reliés à un centre primaire, secondaire ou tertiaire, un groupe électroattracteur ou électrodonneur, un substituant aliphatique, aromatique ou hétéroaromatique réagissent tous généralement bien avec les alcynes terminaux possédant des groupements variés ; De plus, elle peut être effectuée dans une variété de solvants organiques ainsi que dans l'eau, voire même dans les systèmes biologiques.

I.4. La Cycloaddition catalysée par le cuivre (I)

C'est en 2002 que la découverte du catalyseur de cuivre (I) (Schéma 3) (de manière indépendante par les groupes de Sharpless et de Meldal) a permis de résoudre de façon spectaculaire les problèmes de la régiochimie et de la cinétique de la réaction de cycloaddition[8].

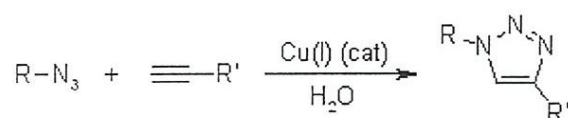


Schéma 3: La cycloaddition catalysée par le cuivre(I) entre un alcyne terminal et un azoture.

Plusieurs propositions ont été faites quant au rôle du cuivre dans l'accélération surprenante de cette réaction de cycloaddition. En se basant sur l'inertie des alcynes internes, le concept d'un acétylénure de cuivre comme espèce réactive était déjà bien accepté. Le cuivre est utilisé comme catalyseur sous diverses formes, la réaction est catalysée par l'espèce Cu(I) qui est soit directement additionné sous forme de sel cuivreux (avec ou sans ligand) (Schéma 3), soit généré in situ par la réduction des sels cuivriques Cu(II). L'exemple le plus utilisé

est le couple CuSO_4 /ascorbate de sodium (Schéma 4).

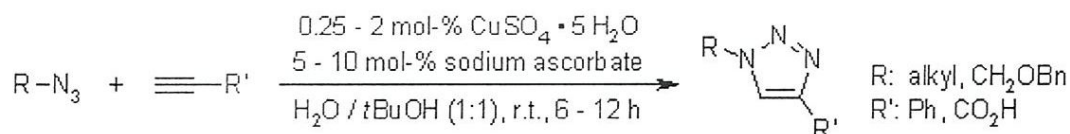


Schéma 4 : La cycloaddition catalysée par le Cu (I) généré in situ par l'utilisation du couple CuSO_4 /ascorbate de sodium).

Cette réaction montre un large champ d'application en formant les 1, 2,3-triazoles 1,4-disubstitués avec d'excellents rendements et une régiosélectivité élevée.

La cycloaddition azide-alcyne catalysée par le cuivre dispose d'une accélération de la vitesse énorme par rapport à la cycloaddition 1,3-dipolaire non catalysée. Elle succède sur une large plage de températures, est insensible aux conditions aqueuses et une gamme de pH variant de 4 à 12, et tolère un large éventail de groupes fonctionnels. Des produits purs peuvent être isolés par simple filtration ou extraction sans qu'il soit nécessaire une chromatographie ou une recristallisation.

Récemment plusieurs chercheurs se sont intéressés à la synthèse des 1, 2,3- triazoles par la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen en utilisant du Cu(I) fixé sur des supports solides ; dans le but d'avoir des produits avec de bons rendements et facilement isolables après récupération du catalyseur par simple filtration.

Un autre exemple de même importance est celui d'un catalyseur à base d'une résine échangeuse d'ions basique ; l'amberlyst A-21 utilisée comme support sur laquelle est fixée l'iodure du cuivre (CuI).

1.5. Mécanisme catalytique

Le cycle catalytique proposé par Sharpless et al (Schéma 5) en 2002 commence par la formation d'un complexe Cu-acétylide (2), suivi d'un complexe Cu-acétylide-azoture(3) qui se cyclise en formant un métallo-cycle intermédiaire (4), une fois le triazole formé (5), il y a régénération du catalyseur par scission [9].

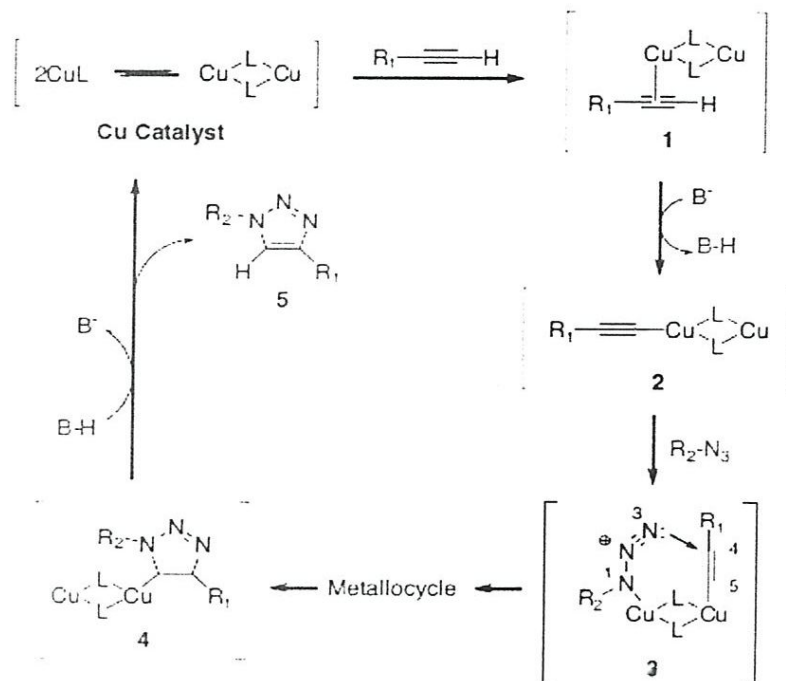


Schéma 5: Mécanisme de la cycloaddition 1,3-dipolaire Azide-alcyne terminal catalysé par le cuivre(I) (CuAAC).

En fin, il est intéressant de noter que l'utilisation de certains catalyseurs à base de ruthénium au lieu de Cu(I) semble favoriser la formation de l'isomère 1,5 du triazole lors de la réaction de cycloaddition, comme cela a été démontré par les travaux de Sharpless et al [10].

I.6. Exemples de réactions (CuAAC) citées dans la littérature

ci-dessous sont présentées quelques réactions citées dans la littérature :

- 1) Synthèse pratique par «Click Chemistry» (CuI/Et₃N, Azides et acétylène gaz) de 1, 2,3-triazoles 1-substitués[11].

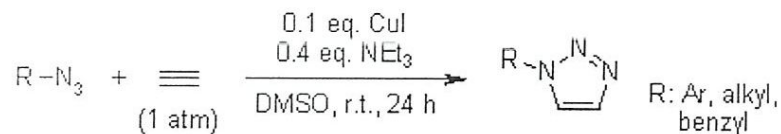


Schéma 6: Synthèse par (CuAAC) de 1, 2,3-triazoles 1-substitués

- 2) Utilisation du carbure de calcium dans la synthèse d' Aryl 1-monosubstitués 1,2,3-triazole par click chemistry[12].

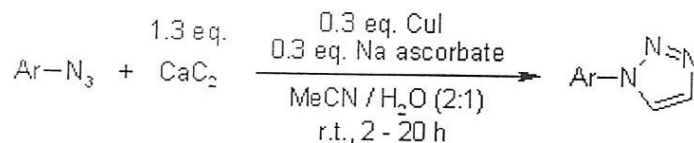


Schéma 7: Utilisation du carbure de calcium dans la synthèse d' Aryl 1-monosubstitués 1,2,3-triazole par (CuAAC).

3) Utilisation du Benzimidazole et d'autres Ligands apparentés pour une Cycloaddition Azide-Alkyne Catalyée par le Cu(I)[13].

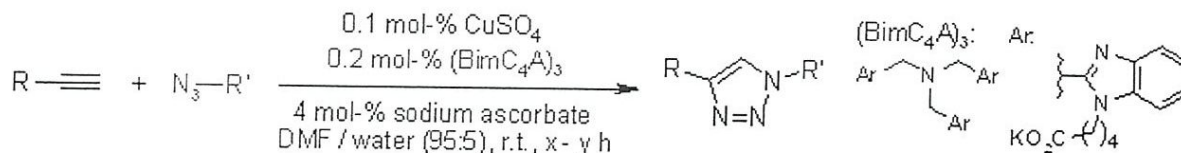


Schéma 8: Utilisation du Benzimidazole et d'autres Ligands apparentés dans la réaction de (CuAAC).

4) Cycloaddition 1,3-dipolaire des azides organiques à des alcynes par un silicotungstate dicuivrique- substitué en tant que précatalyseur[14].

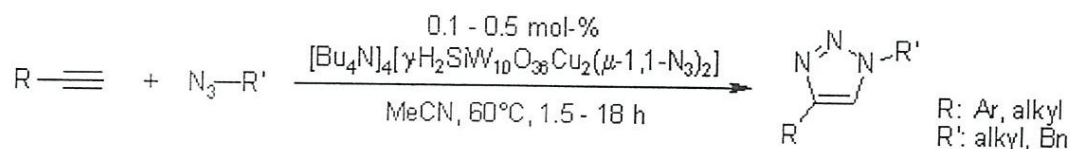


Schéma 9: Utilisation du silicotungstate dicuivrique- substitué en tant que précatalyseur dans la réaction de (CuAAC).

5) Beaucoup d'exemples de réactions de click chemistry entre les azido β -Cyclodextrine ou ses dérivés et divers alcynes organiques sont cités dans la littérature. Tel est l'exemple de la réaction entre l' azido- β -cyclodextrine et l'ethynylferrocene ,qui conduit à la formation de monométallocényle-1 ,2,3-triazolyl- β -cyclodextrine, produit soluble dans l'eau, contrairement aux dérivés biferrocene[15].

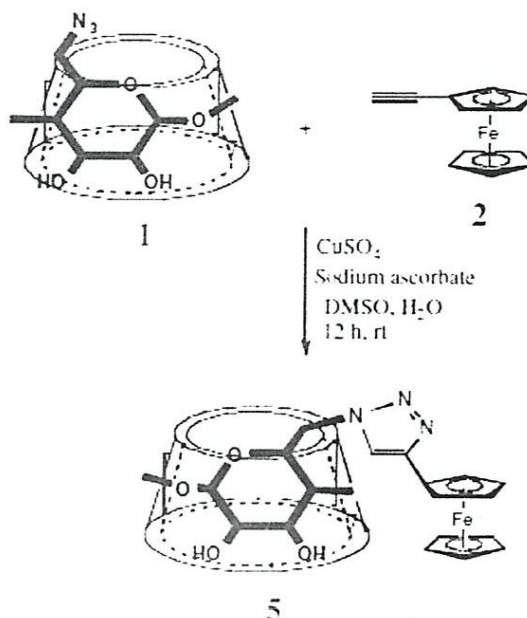


Schéma 10: formation de monométallo-cène-1, 2,3-triazolyl- β -cyclodextrine via la réaction de (CuAAC).

Conclusion

Malgré qu'elle ait seulement 10 ans de sa découverte, la réaction de click chemistry n'a pas cessé de révolutionner les esprits des chercheurs. Bien que toutes les réactions de click sont faciles à utiliser et donnent des rendements élevés et ne nécessitent pas des temps de réaction longs, elles sont également régiospécifiques et faciles à purifier ;

La réaction de Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen entre les azotures et les alcynes terminaux catalysée par Cu(I) s'est avérée de loin la réaction la plus populaire. Cette réaction a trouvé de nombreuses applications dans un large éventail des disciplines, y compris la recherche des matériaux, les polymères, la chimie et les sciences pharmaceutiques. Il est particulièrement recherché par la communauté pharmaceutique pour synthétiser de nouveaux systèmes de vectorisation, des dendrimères, et aussi de modifier les surfaces des différents systèmes nanoparticulaires. La rigidité du motif 1, 2,3-triazole fait également l'objet d'une réaction idéale pour les différentes bioconjugaisons entre diverses substances et les oligonucléotides, les protéines, les polysaccharides, les virus et les bactéries.

Les cyclodextrines

II.1. Importance des saccharides

Il a été montré que les sucres, outre leurs fonctions classiques structurales ou énergétiques sont très impliqués dans des phénomènes de reconnaissances biologiques très fines ; on peut citer par exemple leurs rôles dans les modifications post-traductionnelles des protéines (glycosylation) qui leur apportent de nouvelles propriétés dans le domaine de l'immunologie ou, plus généralement, dans les processus de reconnaissance, d'adhésion ou de transfert d'informations entre des cellules ; ils sont impliqués par exemple dans la reconnaissance de chimiokines lors de la réponse inflammatoire ou dans le mécanisme d'entrée de certains virus dans la cellule (comme le HIV ou l'Herpes simplex [16])

II.2. Les glycoconjugués biologiques

Les glucides biologiques se composent généralement de plusieurs unités monosaccharidiques liées de façon covalente et sont appelés oligosaccharides ou glycanes.

Ces oligosaccharides sont dans la plupart des cas, associés à d'autres biomolécules comme des lipides ou des protéines et ces entités connus sous le nom de glycoconjugués, peuvent être classés comme glycolipides et glycoprotéines [17,18]

II.3. Couplage des sucres aux agents thérapeutiques

Une meilleure connaissance de la fonction des glucides a conduit à les employer comme vecteurs pour le ciblage actif des médicaments. Ils sont des candidats prometteurs en raison de leur diversité structurale qui leur permet d'interagir de manière très spécifique et très sélective.

Le couplage d'un agent thérapeutique à un motif glucidique joue sur la balance

hydrophile-lipophile qui permet de modifier les propriétés de cette molécule vis-à-vis du passage des membranes cellulaires et nucléaires. Ce qui permet d'améliorer ses paramètres pharmacocinétiques (absorption, distribution, élimination, de diminuer la dose utilisée et par conséquent réduire ses effets secondaires indésirables [19].

Il a également été démontré que les maladies auto-immunes et les cancers impliquent des modifications de structure au niveau des molécules glucidiques situées à la surface des cellules.

Dans le domaine pharmaceutique, une grande diversité chimique est accessible et la nature du sucre utilisé peut être modulée en fonction du site d'action où le principe actif doit être délivré.

Il existe divers exemples de médicaments qui sont des glucides ou dont la molécule présente une structure constituée d'une portion glucidique [20].

La formule de certains antibiotiques importants, comme la streptomycine, renferment des entités glucidiques qui jouent un rôle déterminant dans l'activité de ces composés.

L'AZT (un médicament anti-VIH) (Figure 2), contient une entité glucidique hors du commun, laquelle est cruciale dans le cadre du mécanisme d'action de cette substance.

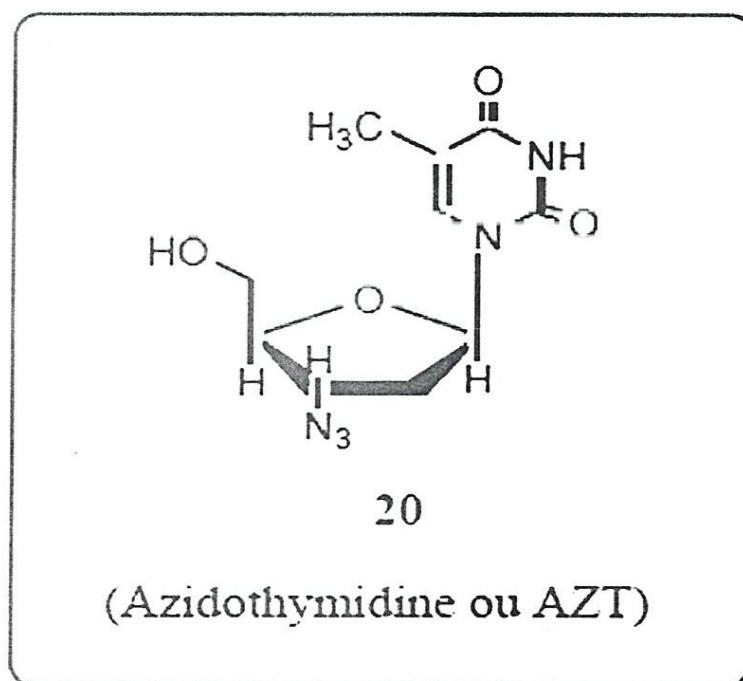


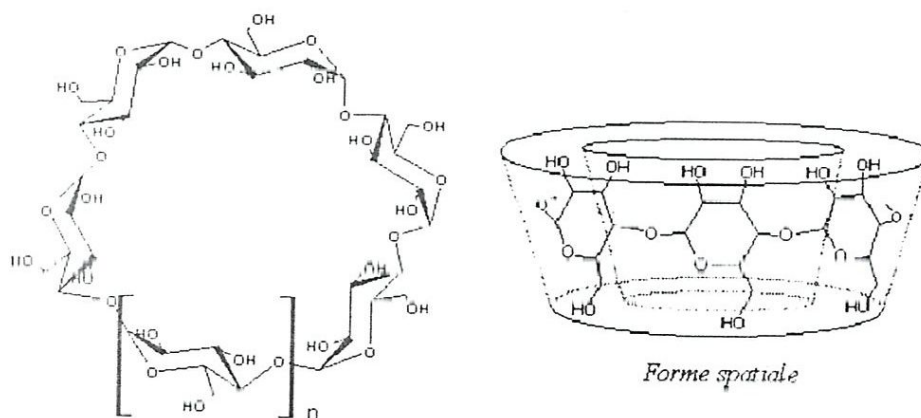
Figure 2 : Structure générale de l'AZT un anti VIH

II.4. LES CYCLODEXTRINES ((PRESENTATION GENERALE))

II.4.1. Caractéristiques structurales et physico-chimiques

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques non réducteurs, obtenues industriellement par la dégradation enzymatique de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) à l'aide d'une enzyme, la cyclodextrine glucosyltransférase (CGTase), d'origine bactérienne (*Bacillus macerans*, *Alkalophylic bacillus*,...).

Les trois CDs les plus fréquemment rencontrées sont l' α -, la β - et la γ -CD constituées respectivement de 6, 7 et 8 sous unités D-glucopyranosiques, liées entre elles par des liaisons glycosidiques α (1 \rightarrow 4) (figure 3).



$n = 1$ α -cyclodextrine, $n = 2$ β -cyclodextrine, $n = 3$ γ -cyclodextrine

Figure 3 : Formule développée générale des cyclodextrines et représentation schématique de leur structure tridimensionnelle.

Les CDs ont une structure tridimensionnelle en forme de cylindre conique dont la paroi est constituée par les unités glucoses, en conformation chaise 4C_1 [21,22].

Tous les hydroxyles secondaires (OH-2, OH-3) sont situés sur le côté le plus grand du tronc conique alors que les hydroxyles primaires (OH-6) sont localisés sur le petit côté.

La présence de ces groupements hydroxyles sur les deux bords de la couronne confère à la partie extérieure de la CD un caractère hydrophile (surface en contact avec le solvant), alors que l'intérieur de la cavité, tapissée d'atomes d'hydrogène (H-3, H-5, H-6) et de l'oxygène 9 inter-glycosidique (O-4), est hydrophobe (surface en contact avec la molécule invitée). De plus, les paires d'électrons non liantes des oxygènes inter-glycosidiques sont

dirigées vers l'intérieur de la cavité, y produisant une densité électronique élevée et conférant à la cavité un caractère de *Base de Lewis*.

La structure des CD's est stabilisée par une véritable ceinture de liaisons hydrogène entre les OH-2 d'une unité glucose et les OH-3 de l'unité voisine. Dans le cas de la β -CD, cette ceinture de liaisons hydrogène rend sa structure très rigide et peut justifier de sa faible solubilité dans l'eau par rapport aux autres CD's[23].

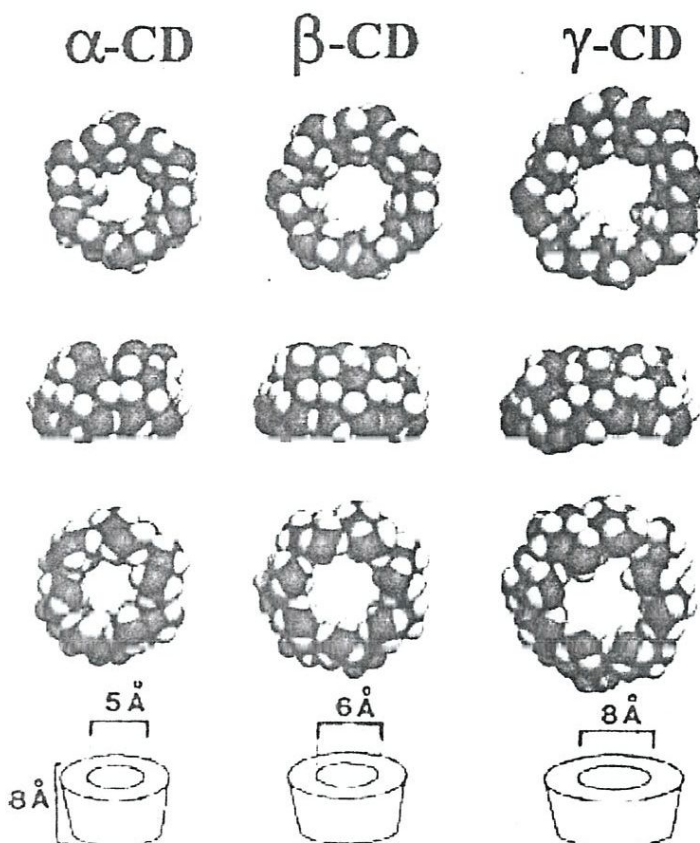


Figure 4 : Structures tridimensionnelles des cyclodextrines naturelles (α , γ , et β -CD de gauche à droite), avec de haut en bas : une vue de la face des hydroxyles secondaires (“grand côté”), une vue latérale, et une vue de la face des hydroxyles primaires (“petit côté”). En bas, les dimensions respectives des CD's obtenues d'après les données cristallographiques.

Les principales caractéristiques structurales et physico-chimiques de l' α -, la β - et la γ -CD sont reportées dans le tableau ci-dessous (tableau 1) :

Le caractère amphiphile des CD's, lié à leur structure spatiale, leur confère leur propriété

majeure : celle de former des complexes supramoléculaires en solution aqueuse avec une ou des molécules invitées hydrophobes.

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des principales CDs

	α -CD	β -CD	γ -CD
Nombre d'unités glucoses	6	7	8
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
MM ($g \cdot mol^{-1}$)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau ($g \cdot L^{-1}$)	145	18.5	232
$[\alpha]_D^{25} \text{ } ^\circ C \text{ (H}_2\text{O, c 1)}$	$+ 150^\circ \pm 0.5$	$+ 162.5^\circ \pm 0.5$	$+ 177.4^\circ \pm 0.5$
O cavité (Å) (petit côté – grand côté)	4.3 – 5.3	6.0 – 6.5	7.5 – 8.3
Hauteur du tore (Å)	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1
Volume approx. cavité (Å ³)	174	262	427
Nombre moyen de molécules d'eau	6 - 8	12	13

II.4.2 Propriété de reconnaissance chirale des CDs

Grâce aux nombreux centres chiraux aux seins de leurs structures, les CDs sont capables de différencier les énantiomères et, plus généralement, les composés structurellement proches comme les isomères, les homologues, etc. Cette propriété est mise à profit dans le domaine de la chimie analytique et plus particulièrement dans celui des méthodes séparatives[24].

II.4.3. Complexes d'inclusion

La cavité apolaire de la CD est occupée par des molécules d'eau, énergétiquement défavorables (interactions polaire – apolaire). Ces molécules d'eau pourront donc être facilement substituées par une “molécule invitée” appropriée, moins polaire que l'eau. Les complexes formés entre la (les) cyclodextrine(s) “hôte(s)” et la (les) molécule(s) “invitée(s)” peuvent être de plusieurs types[25].

La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée confère à ce

complexe des propriétés physico-chimiques et biologiques différentes de celles de la CD et de la molécule incluse prises séparément[26,27].

- *Modification de la solubilité dans l'eau ;
- *Modification des propriétés spectrales ;
- *Modification de la réactivité chimique due à la molécule hôte (protection à l'oxydation, réduction chirale, Diels-Alder,...) et à la molécule invitée (orientation de la régiosélectivité) ;
- *Diminution de la diffusion et de la volatilité (dans le cas de substances volatiles) ;
- *Modification des propriétés chirales ;
- *Modification des propriétés biologiques (par exemple, le caractère hémolytique).

II.5.MODIFICATION SELECTIVE DES CYCLODEXTRINES

Introduction

La modification chimique des cyclodextrines offre à la fois d'énormes opportunités et de réels défis pour les chimistes. La modification des CDs peut en effet permettre d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques (e.g. augmenter leur solubilité dans un solvant donné) et/ou le pouvoir de complexation de leur cavité avec une molécule hôte. C'est également un moyen de créer des molécules originales avec des fonctions spécifiques, trouvant des applications variées au-delà des frontières de la chimie classique (e.g. une activité catalytique de type enzymatique, des propriétés de vectorisation). Le défi qui est posé aux chimistes est celui de développer des méthodes efficaces pour modifier de manière sélective les nombreuses fonctions hydroxyles portées par les CDs (figure 5)[28].

II.5.1. Les facteurs qui influencent la sélectivité

Des facteurs, propres à la nature structurale des CDs, sont susceptibles d'influencer la sélectivité de ces modifications, les principaux étant la différence de nucléophilie des groupements hydroxyles et la capacité des CDs à former des complexes avec les réactifs et solvants utilisés :

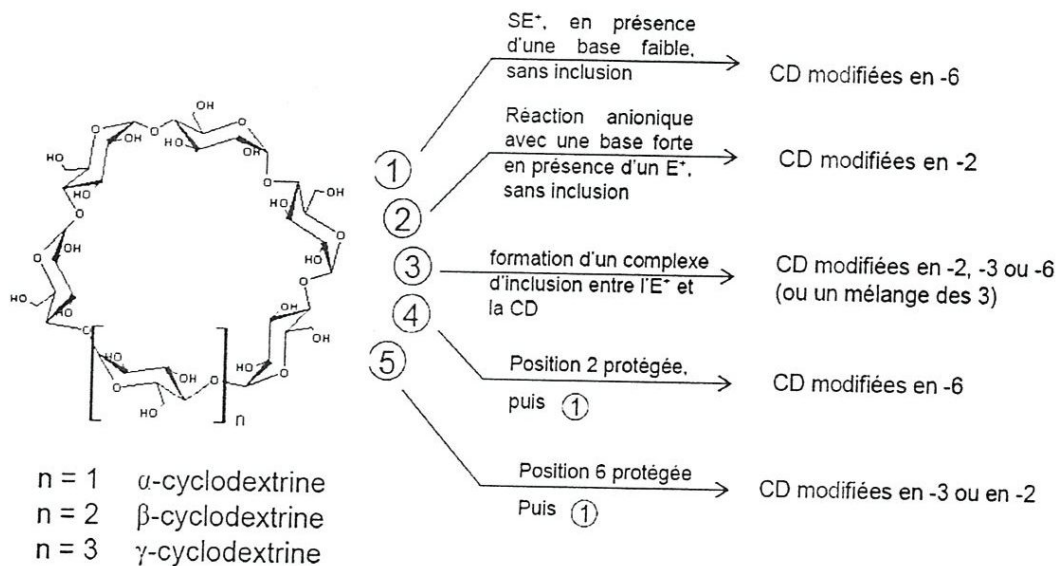


Figure 5 : Présentation générale des méthodes de modification chimique des CDs

A) Réactivité des hydroxyles:

Les cyclodextrines possèdent trois types de fonctions hydroxyles situées sur les positions 2, 3 et 6 des unités glucoses (figure 6). Seules ces trois positions peuvent être modifiées car les positions 1 et 4 des glucoses forment les liaisons inter-glycosidiques de la molécule cyclique. La méthodologie développée sur les monosaccharides est difficilement transposable aux CDs, car il n'y a pas de chimie d'anomère dans notre cas.

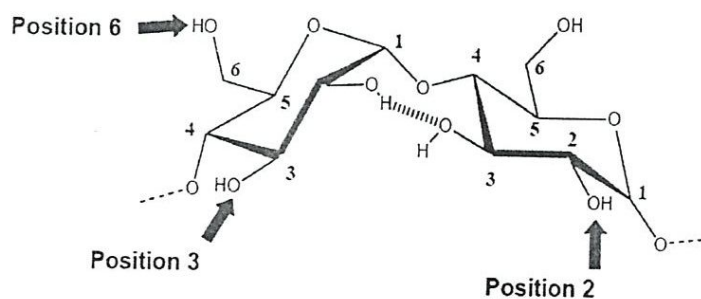


Figure 6 : Localisation des hydroxyles sur une des unités α -D-glucopyranose de la cyclodextrine

Les hydroxyles en 6 sont des hydroxyles primaires, plus réactifs que les hydroxyles secondaires en position 2 et 3. De plus, ceux de la position 6 sont aussi les plus basiques, les plus accessibles et souvent les plus nucléophiles. Ceux de la position 2 sont les plus acides et ceux de la position 3 les plus inaccessibles et de loin les moins réactifs, d'autant plus que la couronne d'hydroxyles secondaires est encombrée, moins flexible et rigidifiée par la ceinture de liaisons hydrogène. De plus, la réactivité est souvent modifiée lors de

persubstitutions, en raison de problèmes d'encombrement stérique dus à la structure tridimensionnelle cyclique de la CD [29,30].

B) Influence de la nature des réactifs:

Un réactif électrophile privilégiera les positions primaires en 6. Toutefois, il est important de noter qu'un réactif "trop efficace" ne réagira pas seulement avec les hydroxyles en 6 mais aussi avec ceux de la position 2. Pour être très sélectif, il vaut mieux choisir un réactif avec une réactivité modérée.

Les hydroxyles situés sur la position 2 sont les plus acides et donc les premiers à être déprotonés. Les alcoolates formés sont alors plus nucléophiles que les hydroxyles primaires en 6. Une base forte permettra donc une meilleure sélectivité en 2 sans toutefois éliminer totalement une substitution en 2 et 6, conduisant à des mélanges complexes[31].

C) Influence de la cavité et du solvant:

La capacité des cyclodextrines à former des complexes peut jouer un rôle important dans la sélectivité et affecter la chimie classique des groupes hydroxyles. Si un réactif électrophile forme avec la CD un complexe fort, alors le produit prédominant formé sera dicté par l'orientation de ce réactif dans le complexe. La nature du solvant et la taille de la cavité de la CD ont une influence importante sur la force et l'orientation du complexe entre le réactif et la cyclodextrine, et affectent le produit de réaction. Par exemple, la réaction du chlorure de *p*-toluène sulfonyle en milieu aqueux basique avec l' α -CD et la β -CD donne respectivement les dérivés 2- et 6-tosylés. Dans la pyridine, le dérivé 6-tosylé est obtenu avec l' α -CD. Pour éviter les complications dues à l'orientation inattendue de l'attaque d'un réactif, soumis à l'influence de la cavité de la CD, la stratégie la plus souvent employée consiste à protéger temporairement certaines positions hydroxyles [32,33].

II.6. Les CDs modifiées : présentation générale

Dans la littérature, les principaux types recensés de fonctionnalisations chimiques effectuées sur les CDs, peuvent être classés de la façon suivante :

- *Éthérisation (dérivés alkylés et silylés) ;
- *Estérisation (dérivés acylés et sulfonylés) ;
- *Halogénéation ;
- *Substitution nucléophile de groupes partants (tosylates, halogénures) pour donner des dérivés azotures, amines, thioalkyles,...

Pour obtenir ces dérivés, les méthodes utilisées peuvent être divisées en trois catégories [28,34] :

- 1) La méthode dite “**intelligente**” exploite la chimie de la CD pour obtenir le produit désiré à partir d’un schéma réactionnel le plus court possible.
- 2) La méthode dite “**longue**” consiste à réaliser une série d’étapes de protection et de déprotection afin de modifier sélectivement des positions qui n’auraient pas pu être atteintes autrement.
- 3) La méthode du “**rouleau compresseur**” où la CD est soumise à un réactif non discriminatoire, conduisant à un mélange de composés. Le produit désiré est alors isolé de ses isomères et homologues, de façon souvent laborieuse, par des méthodes chromatographiques. Cette méthode ne peut pas être exploitée en chimie préparative, elle sert plutôt à établir des banques de produits ou à obtenir des CDs commerciales, la reproductibilité et la répétabilité des produits devenant un problème majeur.

En fait, malgré le nombre impressionnant de publications traitant de la modification chimique des CDs, il en ressort que seules quelques réactions de base conduisent à des composés parfaitement caractérisés, facilement accessibles et avec des rendements acceptables.

II.7. Monosubstitution d’un des hydroxyles en position 6

L’étape clef pour attacher un groupement fonctionnel sur un des hydroxyles de la face

primaire des CDs est une sulfonylation sélective permettant d’obtenir un dérivé monotosylé. Ce précurseur important mène à une grande variété de CDs monomodifiées (Schéma 11). Le déplacement nucléophile du tosylate par des groupements nucléophiles bien adaptés tels que des ions halogénures, azotures, des thiolates, des hydroxylamines, des alkyl- ou poly(alkylamines) donnent des monohalogéno-[35], azido, thio-(hydroxylamino)- [36] ou (alkylamino)cyclodextrines[37].

Les monoazido-CD sont synthétisées classiquement à partir des dérivés monotosylés en présence d’azoture de lithium ou de sodium dans le DMF à reflux [38]. Elles peuvent également être préparées directement à partir de la CD-naturelle en passant par une réaction de type Vilsmeier-Haack, dans laquelle les CDs réagissent avec de l’azoture de lithium, en présence de triphénylphosphine, dans le DMF et avec chauffage [39] (cette réaction conduit aussi à la formation de dérivés polysubstitués). Les dérivés monoamino-CD sont obtenus à partir de dérivés monoazides par réduction avec de la triphénylphosphine en présence d’ammoniaque[34]. Le dérivé aminé sert de synthon pour la

préparation de nombreuses CDs modifiées sur la face primaire, grâce notamment au greffage de molécules variées (sucres, peptides, chaînes alkyles,...) par un couplage de type peptidique[40].

Des dérivés monothio-CD (groupements thiol, thioalkyle) ont été obtenus à partir du dérivé monotosylé pour former des films immobilisés sur une surface d'or, et étudier l'orientation des CDs dans ce film[41]. La synthèse directe de dérivés monothio- β -CD à partir d'une cyclodextrine native et de thiols aromatiques a été réalisée par la réaction de Mitsunobu (triphenylphosphine, diisopropyl azodicarboxylate, pyridine ou DMF). Cette réaction donne des mélanges de produits mono-, di- et tri-substitués qui sont ensuite purifiés par HPLC.

La β -CD monoaldéhyde a été préparée par Czarnik *et coll*[42], par oxydation de la β -CD monotosyle en utilisant la réaction de Nace (DMSO / collidine). Ce monoaldéhyde a ensuite été employé comme matériel de départ pour donner les dérivés monoacide carboxylique, monooxime et monohydrazone. Bienarz *et coll*[43]. ont obtenu directement le dérivé monoaldéhyde en faisant réagir la β -CD native avec le réactif de Dess-Martin (DMP). Par contre, il n'est pas possible d'obtenir directement le monoéther d'alkyle à partir du dérivé monotosylate. L'ion alkoxyde correspondant, qui sert de nucléophile, est produit en présence d'une base forte qui va arracher également les protons de la position 3 de la CD et former le produit secondaire mono-3,6-anhydrocyclodextrine. Les éthers d'alkyle de β -CD sont synthétisés par une méthode "longue" [44].

Deux méthodes ont été décrites dans la littérature pour préparer la très employée mono-6-tosyl-cyclodextrine : La méthode "classique" consiste à préparer ces monosulfonates en faisant réagir un équivalent de chlorure de *p*-toluènesulfonyle avec la CD dans la pyridine, et repose sur un contrôle rigoureux de l'avancement de la réaction (contrôle de la température, du pH, du temps de réaction) [45]. Ce procédé présente le grand inconvénient de ne pas être sélectif et conduit à un mélange de produits secondaires correspondant à des dérivés di- et tri-tosylés sur la face primaire.

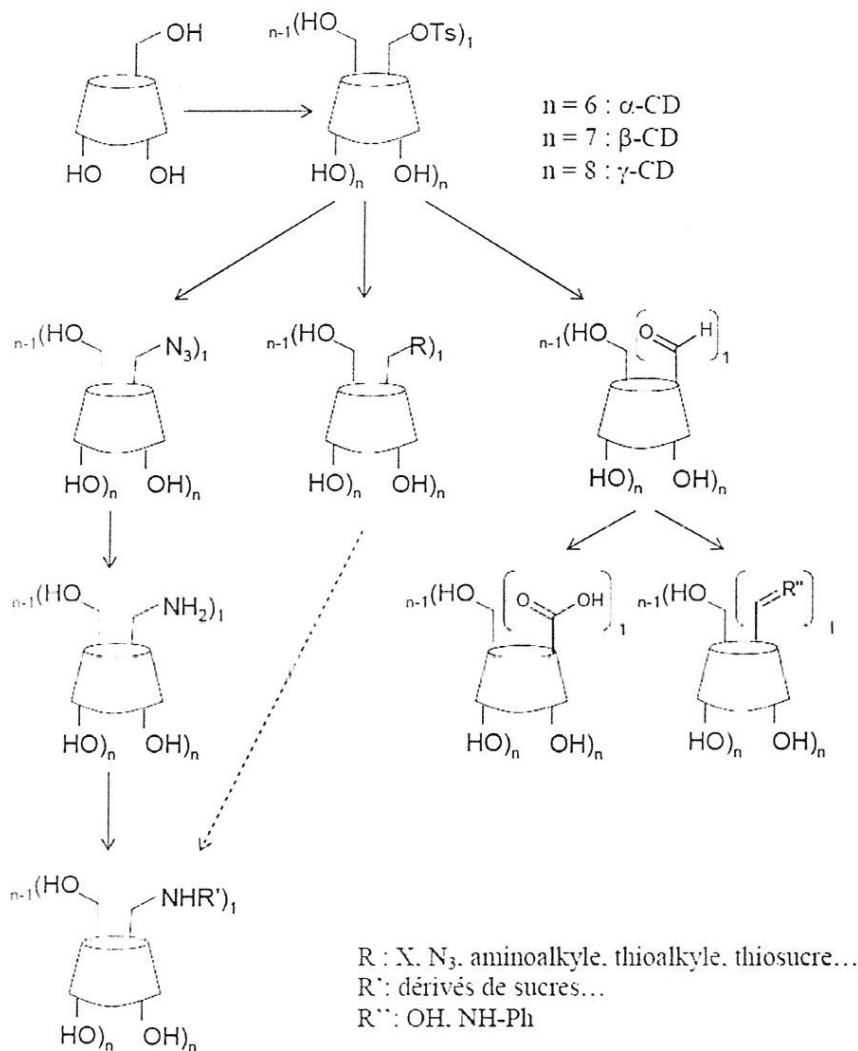


Schéma 11 : Présentation générale des méthodes pour monosubstituer la position 6 des CDs.

Il faut passer par de pénibles étapes de purification pour isoler le mono-6-*O*-tosyl-CD pur. La méthode de choix pour la synthèse des dérivés monotosylés est de faire réagir la CD avec un chlorure de sulfonyle dans une solution aqueuse alcaline. En série β -CD, la monotosylation est réalisée de manière exclusive sur une seule fonction hydroxyle primaire en utilisant le chlorure de *p*-toluènesulfonyle comme réactif[46]. Cette réaction met en jeu la formation d'un complexe de type 1:1 β -CD / TosCl, suivie d'une réaction "intra-complexe" entre l'une des fonctions hydroxyles en 6 et le TosCl. Une fois le groupement tosylate greffé sur le macrocycle, il se forme un complexe intramoléculaire entre le cycle aromatique du groupe tosylé et la cavité de la CD, empêchant tout risque de formation d'un nouveau complexe β -CD-OTos / TosCl. Le problème de cette méthode reste les faibles rendements obtenus (~30 %), principalement à cause de l'hydrolyse du tosylate qui conduit à une régénération partielle de la β -CD lors de la réaction.

Conclusion

De nombreuses méthodes sont décrites dans la littérature pour modifier sélectivement une ou plusieurs positions spécifiques sur les cyclodextrines. Malgré cela, il reste beaucoup de travail à accomplir au niveau de la méthodologie de synthèse pour améliorer l'efficacité des réactions (meilleure sélectivité, meilleurs rendements). De plus, la structure tridimensionnelle et la capacité d'inclusion des cyclodextrines leur confèrent une réactivité particulière qui peut être exploitée pour réaliser des modifications chimiques par des voies de synthèse qui sortent de la chimie classique, comme par exemple l'inclusion des réactifs pour orienter la fonctionnalisation et, la déprotection sélective. Ces méthodes sont peut-être appelées à se développer, aidées par des instruments de prédiction tels que la modélisation moléculaire.

La recherche de méthodologies de synthèse toujours plus performantes est importante. Elle fournit de nouveaux outils, mieux adaptés, pour construire plus facilement et avec une plus grande efficacité des molécules cibles avec des propriétés bien définies (amélioration de la solubilité dans l'eau, activité enzymatique, catalyseur chimique, propriétés de vectorisation...), qui peuvent aboutir à de nombreuses applications.

Depuis plusieurs années, une attention particulière a été portée sur l'utilisation de cyclodextrines modifiées pour le ciblage des médicaments. Le principe consiste à greffer sur la cyclodextrine une ou plusieurs antennes destinées à assurer une fonction de vectorisation vers un site d'action privilégié, la CD jouant le rôle de véhicule moléculaire pour le principe actif. Différentes approches ont été envisagées dans le choix du vecteur. Celui-ci peut avoir un mode de reconnaissance spécifique pour des récepteurs membranaires (antennes polysaccharidiques ou peptidiques) ou non spécifique, privilégiant le passage transmembranaire.

DEUXIEME PARTIE
Résultats & Discussions

Motivation

Depuis 2002, l'intérêt pour la réaction de cycloaddition entre Alcyne vrais et azotures organiques catalysée au cuivre (I) (CuAAC), réaction dite de Click Chemistry, ne cesse de croître. Dès lors, cette réaction a donné naissance à de nombreuses applications dans les domaines de la chimie, des sciences des matériaux et en particulier de la biologie moléculaire, où elle a permis la découverte rapide de nouvelles molécules incorporant des cycles 1,2,3-triazoles, connus pour posséder des propriétés biologiques remarquables comme des anti-allergiques, des antibactériens, des antiviraux, des anti-épileptiques, des anti-HIV et occupant ainsi une place importante dans la chimie médicinale.

Compte tenu de l'intérêt accordé à cette réaction rendue stéréospécifique, et en raison de la facilité avec laquelle la mono-azido- β -CD peut être préparée, et aux différentes molécules organiques propargyliques qui sont à notre disposition, nous nous sommes tout naturellement tournés vers cette nouvelle approche synthétique en la mettant à profit pour préparer deux glycoconjugués à base de β -CD répondant à la formule générale suivante :

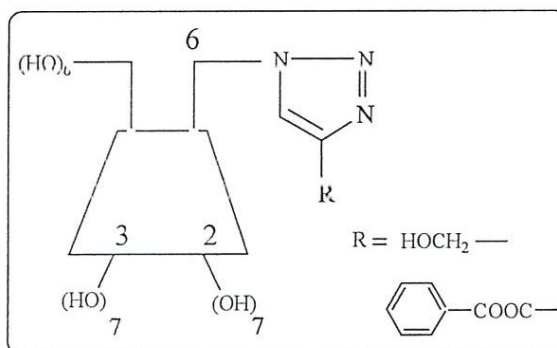


Figure.8. Glycoconjugués à base de β -CD préparés via la réaction de click chemistry (CuAAC).

III.1. Préparation de précurseurs monofonctionnalisés sur la position 6 de la β -CD

Les CDs peuvent être modifiées dans le but d'améliorer la solubilité et la capacité de complexation et de développer des plates formes saccharidiques fonctionnalisées possédant une haute affinité envers des molécules actives, leur synthèse implique généralement plusieurs étapes de réactions accompagnée par de nombreux stéréoisomères.

La préparation des Cyclodextrines modifiées sur la face primaire est bien décrite dans la littérature, cependant les méthodes proposées ont pour la plupart l'inconvénient de nécessiter un nombre trop important d'étapes de synthèse conduisant soit à des rendements trop faibles ou bien même dans certains cas précis montrant une reproductibilité aléatoire.

Il est donc important de mettre au point des stratégies de contournement de ces deux principaux écueils qui nuisent considérablement à la fonctionnalisation sélective des cyclodextrines.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à la synthèse régiosélective des dérivés monosubstitués en position 6 de la β -Cyclodextrine, en l'occurrence le monotosylate et le monoazide β -Cyclodextrine. Ces dérivés trouvent en particulier leur application en tant que précurseurs clefs pour l'accès aux différents composés monofonctionnalisés de la β -Cyclodextrine.

La méthode que nous avons choisie pour la synthèse de ces produits est présentée sur le schéma ci-dessous (Schéma 12).

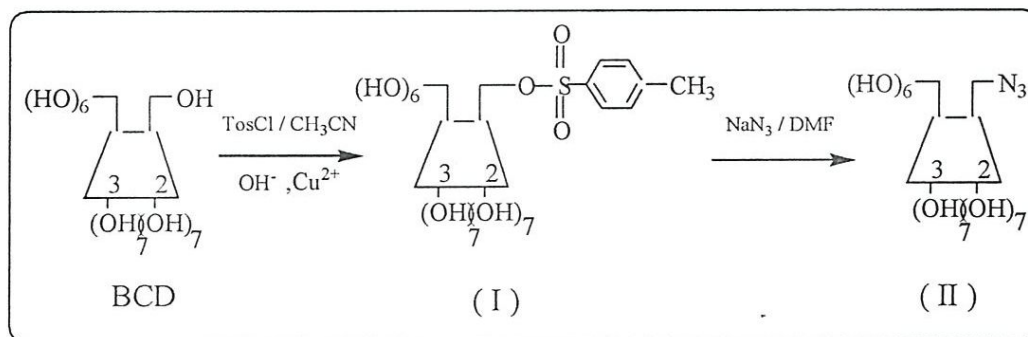


Schéma.12. Méthode d'accès aux précurseurs mono6-tosyl β -CD et mono6-azido- β -CD

III.1.1 Obtention du mono-6tosyl- β -CD

Le monotosyl-6- β -CD (I), qui est le précurseur universel pour accéder aux dérivés monosubstitués sur le carbone 6(C6) de la β -CD, est obtenu en principe par l'action du chlorure de p-toluène sulfonyl(chlorure de tosylo) sur la β -CD dans la pyridine(voir Partie (I) ,chapitre II). Cette préparation renferme des proportions variables de 10 à 15 % de cyclodextrine non modifiée ainsi que des produits de tosylation sur le carbone 2(C2), ce qui diminue considérablement le rendement de la réaction.

Des méthodes de séparations onéreuses sont donc nécessaires pour parvenir au monotosyle pur, d'où la nécessité de la mise au point de nouvelles conditions opératoires pour accéder à une monotosylation régiosélective de la β -CD.

Une nouvelle alternative pour la synthèse du monotosylcyclodextrine consiste à réagir un complexe: cyclodextrine/toluène avec le chlorure de tosylo dans une solution aqueuse de NaOH (Méthode de Pitter–salek modifiée). Les complexes cyclodextrine / toluène et cyclodextrine / chlorure de tosylo ainsi formé au cours de la réaction, vont favoriser l'orientation de la tosylation vers la face primaire, en offrant le produit désiré avec un rendement acceptable.

Plus récemment, une contribution permettant l'amélioration du rendement et la reproductibilité de ce procédé a été rapportée par Defaye *et coll* [47], Il s'agit en fait d'employer un complexe de type sandwich avec le cuivre (II). (Figure 9) pour favoriser la monosubstitution en position C6.

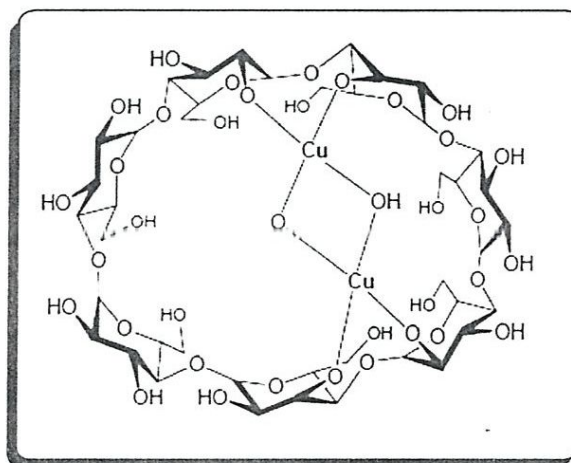


Figure .9 : Blocage des OH secondaires de la β -CD par formation d'un complexe avec le cu(II)

Des méthodes spectroscopiques et une étude de diffraction des rayons X ont révélé que la présence du cation Cu(II) au sein de ce complexe organométallique conduit au blocage des

hydroxyles de la face secondaire évitant ainsi la tosylation sur la position C2, qui est le problème majeur rencontré avec les autres méthodes[50].

En plus du blocage des OH secondaires par la formation du chélate β -CD-Cu(II), l'encombrement stérique du chlorure de tosyloxy, est en faveur de l'attaque des OH primaires. C'est donc cette méthode que nous avons appliquée dans notre travail.

La formation du mono6-tosyl β -CD est une réaction d'addition nucléophile qui s'achève avec élimination d'une molécule d' HCl (Schéma 13).

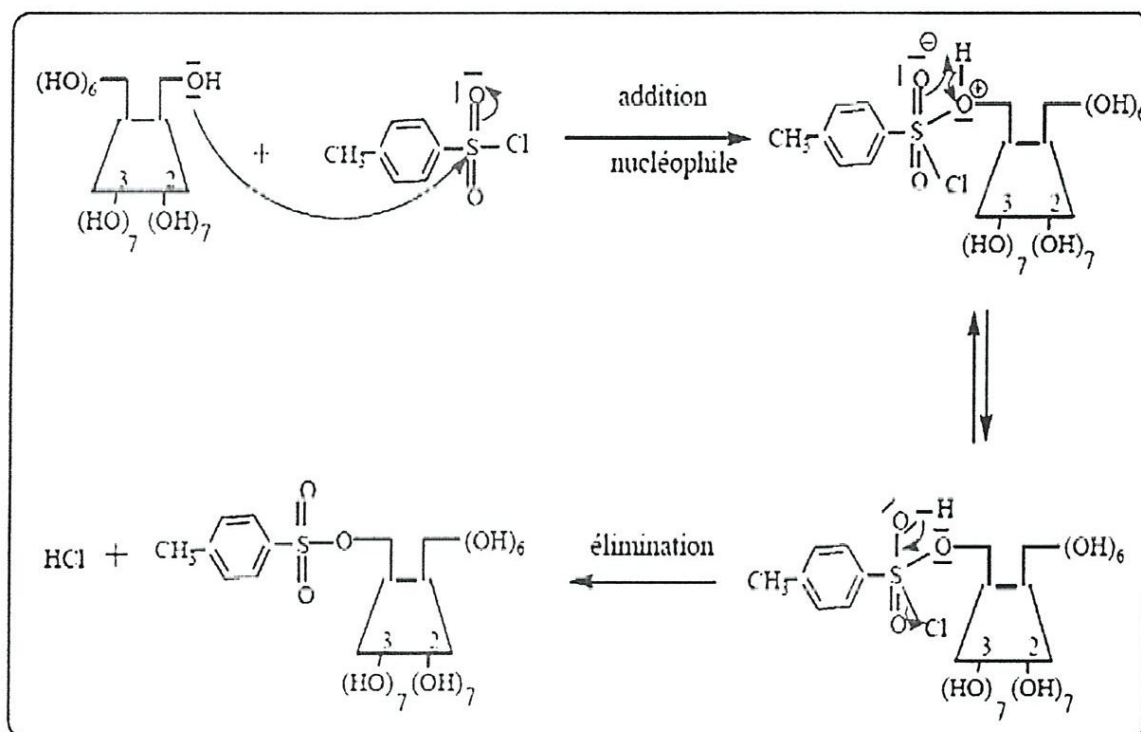


Schéma .13 : Mécanisme proposé pour la réaction de monotosylation de la β -CD sur la face primaire

Effectivement le produit brut contient majoritairement un dérivé monotosylé, ce produit est ensuite purifié par plusieurs recristallisations dans l'eau puis dans un mélange méthanol/eau (5/95% en volume) pour conduire à un dérivé monotosyle pur.

III.1.2. Obtention du mono-6-azido β -CD

Les azides sont des composés 1,3 dipolaires, et peuvent se présenter sous deux formes mésomères (a) et (b) suivantes (Schéma 14):

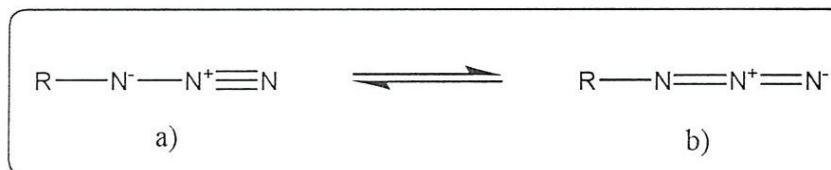


Schéma .14 : Les deux formes mésomères d'un azide

Les azides sont très utilisés dans la chimie organique, et particulièrement dans la chimie des sucres où ils jouent le rôle de précurseurs importants pour accéder aux amines correspondantes.

L'introduction d'un groupement azide dans un sucre est réalisée par le déplacement d'un groupement facilement partant tels que le brome, l'iode ou le tosylate par l'ion azide. En effet, la délocalisation du doublet de l'oxygène dans le tosylate (Schéma 15), lui confère une grande stabilité par rapport à l'ion OH⁻, et sa formation facile, lui donne le rôle d'un meilleur groupement partant.

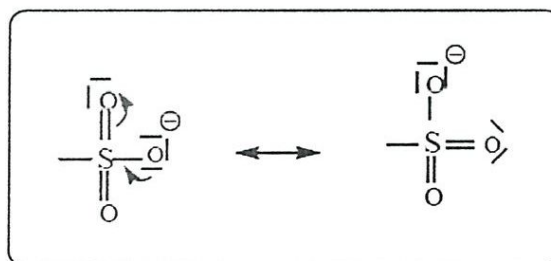
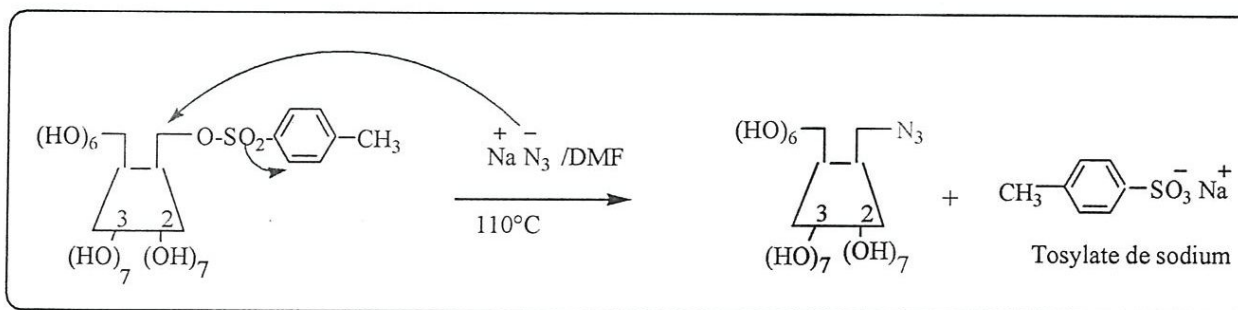


Schéma 15: Stabilisation par résonance de l'ion tosylate.

Dans notre cas, le mono6-azido-6 β -CD (II) (Schéma .16) est obtenu avec un rendement quantitatif par l'action de NaN₃ sur la mono6-tosyl β -CD(I) dans le DMF à reflux, selon une réaction de substitution nucléophile bimoléculaire rendue possible par l'activation de la fonction alcool primaire.

Le précipité cristallin ainsi formé est recristallisé avec (1 /10) en volume de (eau / acétone) pour donner des cristaux blancs.

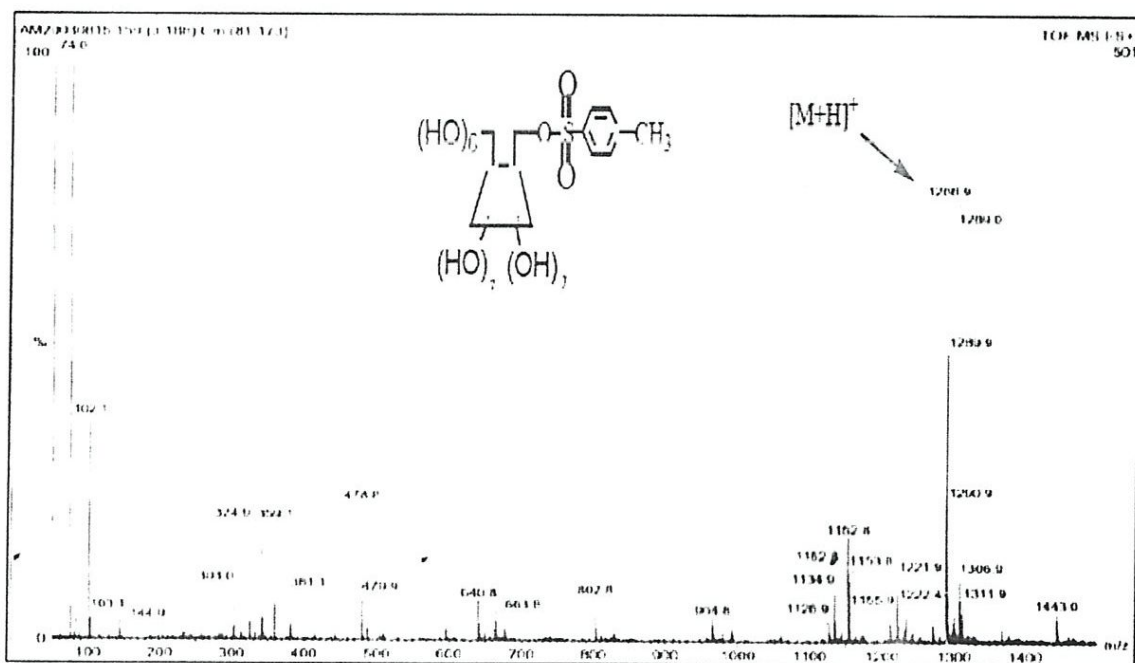
Schéma .16 : Accès au mono6-azido- β -CD

III.1.3. Caractérisation des produits obtenus

III.1.3.1 Identification du mono-6tosyl- β -CD

A) Par spectrométrie de masse

En spectrométrie de masse, le dérivé tosylé utilisé comme brique de départ dans notre travail, présente un spectrogramme en mode positif montrant un pic moléculaire avec les résultats suivants: MS ESI+ 20 Volt, m/z : 1288.9, $[M + H]^+$ (85 %), (Figure 10).

Figure.10 : Spectrogrammes (ESI- MS) en mode positif du mono6-tosyl β -CD).

B) Par Spectrométrie Infra Rouge (IR)

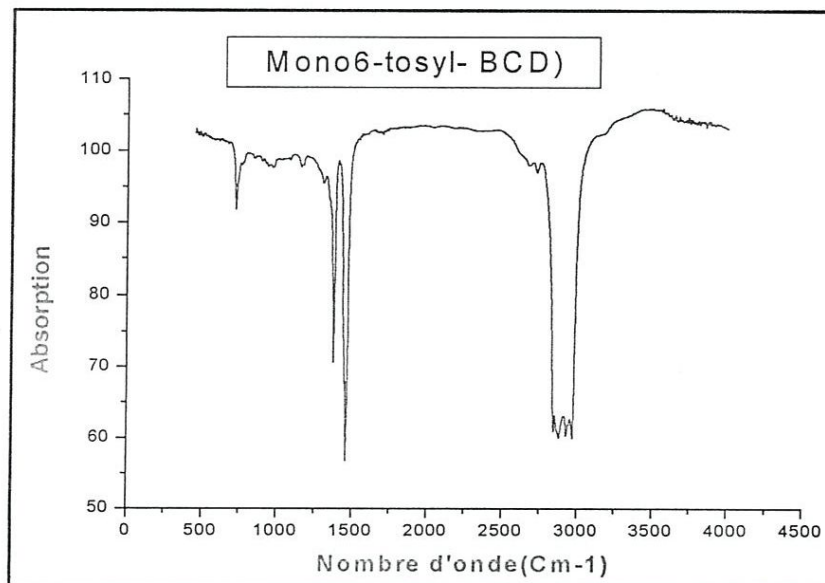


Figure. 11 : Spectre I.R.^odu mono6-tosyl β -CD

Le spectre de la Figure. 11 fait apparaître une forte bande vers 3001.59Cm^{-1} attribuée aux élongations du système aromatique et deux bandes d'absorption, l'une vers 1368.86Cm^{-1} et l'autre vers 1458.42cm^{-1} correspondant aux élongations du groupement SO_3 .

C) Par Spectrométrie RMN ^{13}C

Sur le spectre RMN ^{13}C découplé du proton, séquence APT, enregistré à température ambiante dans le DMSO- d_6 (figure.12), le mono6-tosyl β -CD est caractérisé par l'apparition d'un signal à 163.98ppm correspondant au carbone aromatique lié au groupement sulfamate. Dans cette zone des champs faibles, apparaissent également les autres carbones aromatiques ($127.32 - 144.72\text{ppm}$). Par ailleurs, sur la zone des champs forts, on constate l'apparition d'un signal vers 21.11ppm attribué au carbone du groupement CH_3 .

Les signaux des carbones de la partie cyclodextrine de la molécule apparaissent juste au milieu du spectre ($59.66 - 101.91\text{ppm}$). Apparemment, la monotosylation sur la position 6 de la β -CD n'a pas affecté la symétrie des unités glucosidiques.

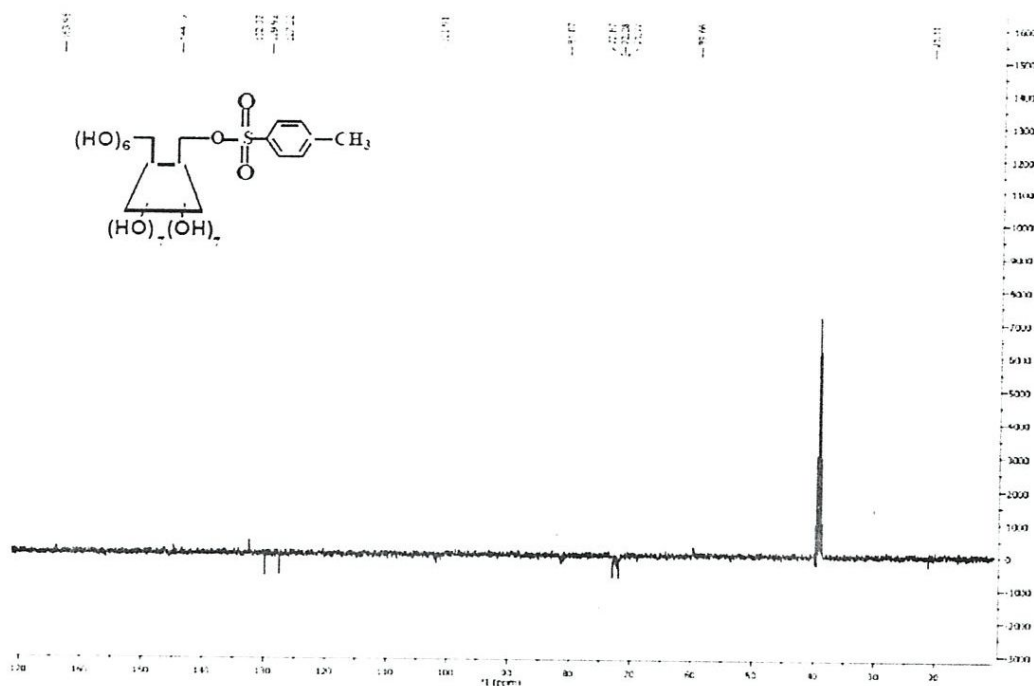


Figure .12: Spectre RMN ^{13}C du mono6-tosyl β -CD dans le DMSO-d₆.

C) Par Spectrométrie RMN ^1H

Ce produit a été caractérisé aussi par RMN du proton dans le DMSO-d₆ (Figure 13).

En effet, sur son spectre, on constate clairement le signal du groupement CH_3 vers les champs forts ($\delta = 2.41$ PPM) et les signaux des protons aromatiques vers les champs faibles ($\delta = 7.43-7.74$ PPM) et juste au milieu on remarque l'apparition des signaux des protons de la partie β -CD ($\delta = 3.30-5.74$ PPM). L'intégration des signaux apparaissant sur le spectre, montre bien la présence d'un seul groupement tosylé en position primaire de la β -CD.

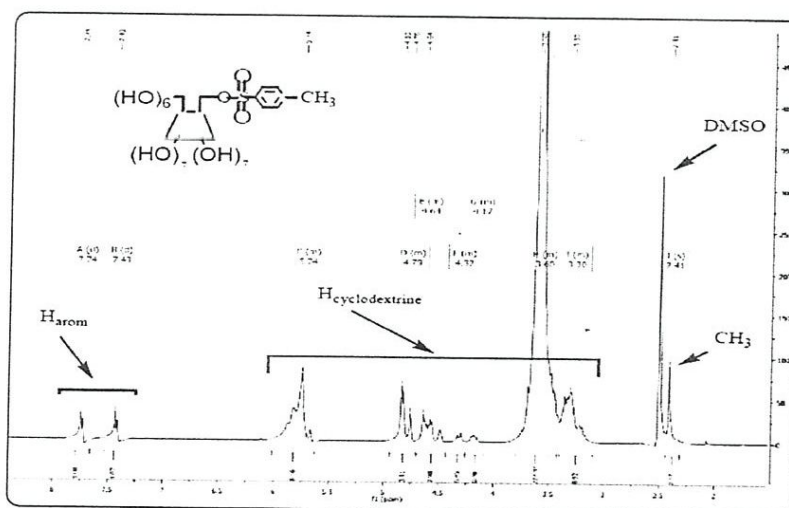


Figure .13 : Spectre RMN du proton du monotosylate β -CD dans le DMSO-d₆.

III.1.3. 2. Identification du mono-6azido- β -CD

A) Par spectrométrie de masse

Ce dérivé est caractérisé par spectrométrie de masse, qui donne un pic moléculaire en mode positif avec les résultats suivants:

MS ESI+ 20 Volt, m/z: 1182.53, $[M + Na]^+$ (100 %), (Figure 14).

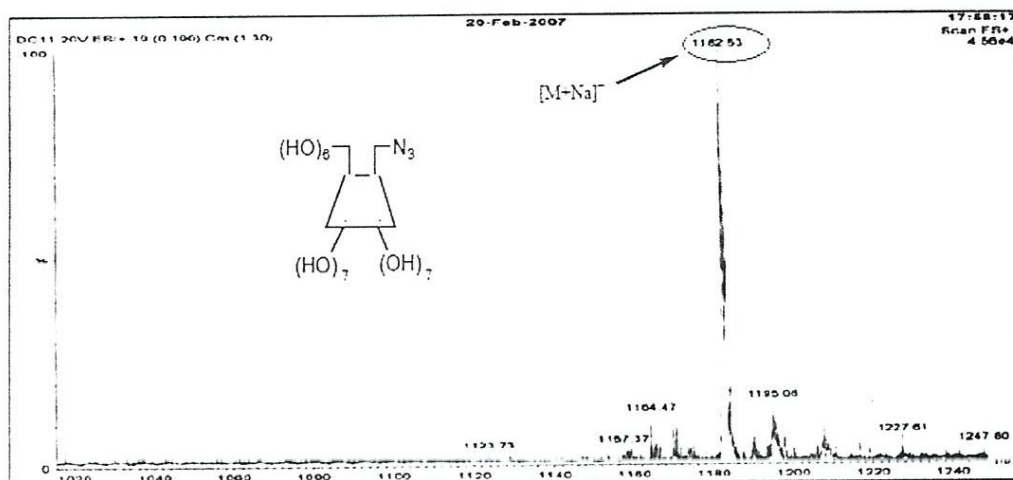


Figure 14 : Spectrogramme (ESI-MS) en mode positif du mono 6azido -- β -CD

B) Par spectrométrie (IR)

En plus de son identification par spectrométrie de masse, ce dérivé est caractérisé également par spectrométrie (IR), qui montre l'apparition d'une forte bande d'élongation vers 2113 cm^{-1} , typique du groupement azide et la disparition complète des bandes aromatiques relatives au motif tosyle de son précurseur (Figure 15).

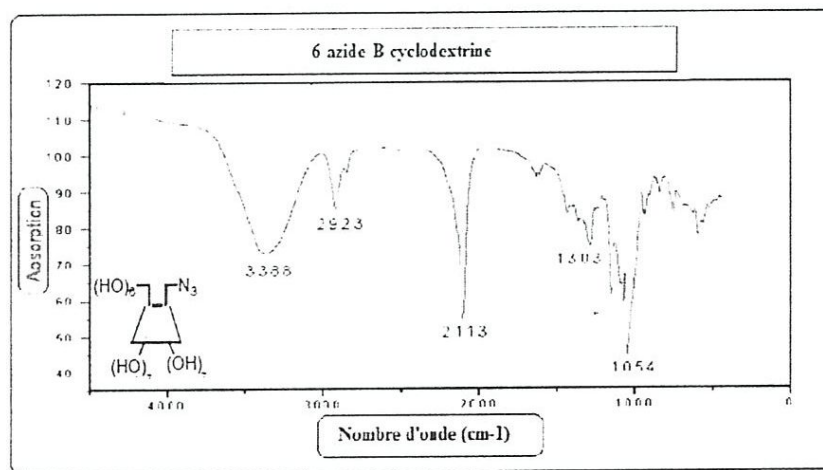


Figure 15 : Spectres IR du monoazido-6- BCD

*

C) Par Spectrométrie RMN 1H

En RMN du proton, le spectre du mono-6-azido- β -CD enregistré dans le D_2O , met en évidence l'absence des signaux aromatiques relatifs au groupement tosylo de son précurseur et l'unique apparition des signaux des protons de la partie β -CD entre (3.5et 5.06 PPM) (Figure 16).

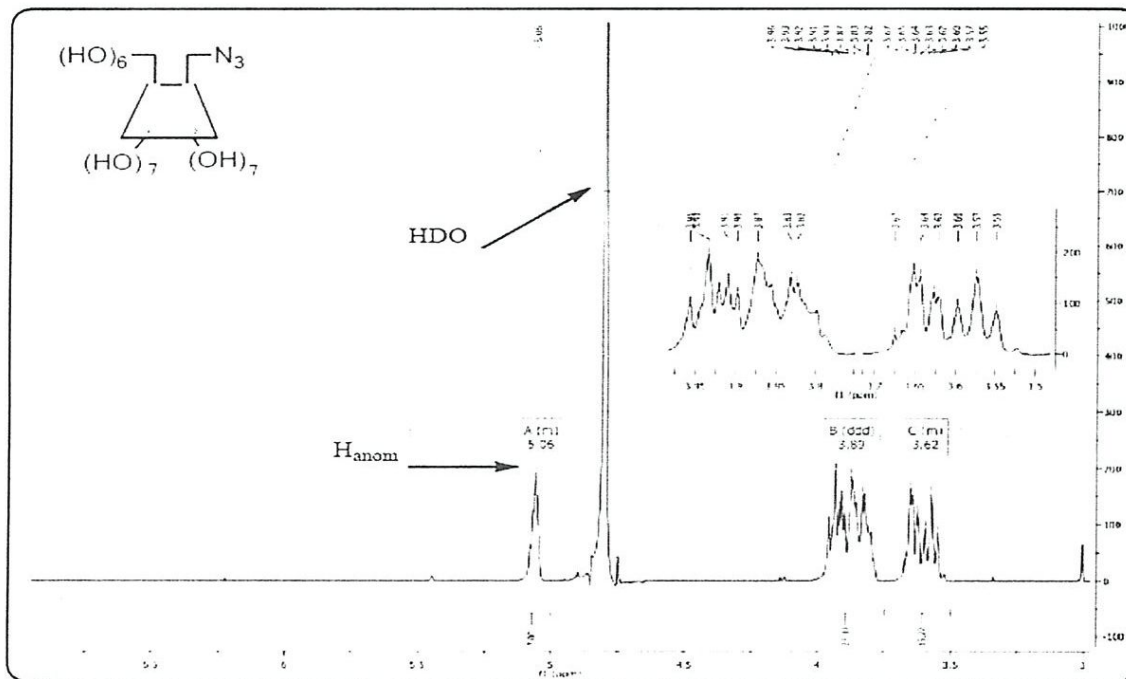


Figure 16 : Spectre RMN du proton du Mono 6- azido- β -CD dans D_2O .

IV.1. Préparation de glycoconjugués à base de β -CD via la réaction de CuAAC

Dans cette partie de notre travail, nous nous proposons d'explorer la réaction de CuAAC en tant qu'outil de conjugaison efficace entre la mono-6-azido-B-CD préalablement préparée, et deux alcynes vrais en l'occurrence le propargyle alcool et le propargyle méthylbenzoate. En effet, la réaction de couplage que nous avons réalisée est une addition nucléophile qui s'est accomplie dans le DMF à température ambiante en présence du $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ et l'ascorbate de sodium ; Ce dernier joue le rôle de catalyseur et génère in situ le Cu(I) utilisé comme catalyseur (schéma.17) .

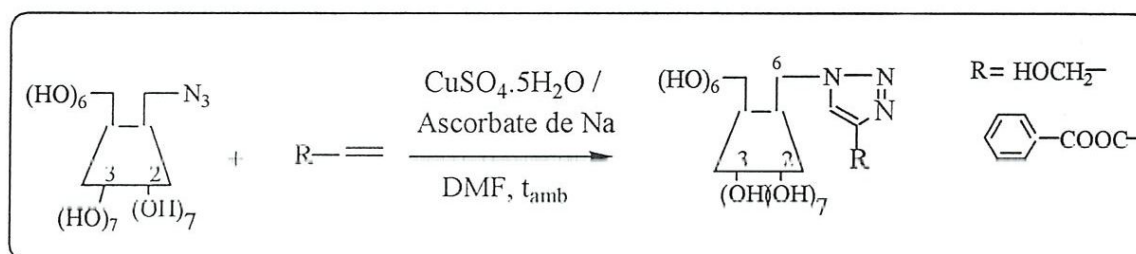


Schéma .17 : préparation de glycoconjugués à base de B-CD via la réaction CuAAC

Nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince ou (CCM) pour suivre l'évolution de la réaction, en se servant des mélanges : dioxane/ammoniaque et dioxane/isopropanol comme systèmes d'élution.

En ajustant et optimisant les paramètres expérimentaux (temps, température, quantité de catalyseur, concentration), à l'aide d'une recherche bibliographique bien documentée, nous avons pu déterminer les conditions idéales de cette réaction qui donnent d'excellents rendements dépassant les 70% et surtout qu'elle est rendue stéréospécifique ne donnant qu'un seul produit 1,2,3-triazol.

A la fin de la réaction, les ions Cu^{++} libérés ont été débarrassés du mélange réactionnel par leur complexation avec l'ammoniaque concentré pour donner un complexe ammoniacal très soluble dans l'eau (Schéma.18). Ces ions peuvent être aussi piégés par une résine spéciale comme l'amberlyste A₂₁.

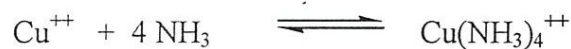


Schéma .18 : Complexation des ions Cu^{++} par l'ammoniaque.

La purification des produits obtenus a été réalisée avec différentes méthodes telles que la filtration, l'extraction, la recristallisation et la chromatographie sur colonne.

Dés lors ,la réaction de click chemistry CuAAC appliquée aux cyclodextrines semble être un moyen simple et efficace pour moduler la solubilité et les propriétés intrinsèques des composés hydrophobes conduisant à des glycoconjugués à cycle 1,2,3-triazole qui peuvent en plus présenter une activité biologique intéressantes.

En effet, les cycles 1,2,3- triazoles se comportent comme des unités de liaisons rigide ce qui peuvent imiter les propriétés électroniques des liaisons peptidiques dans les milieux physiologiques [51](figure.17).

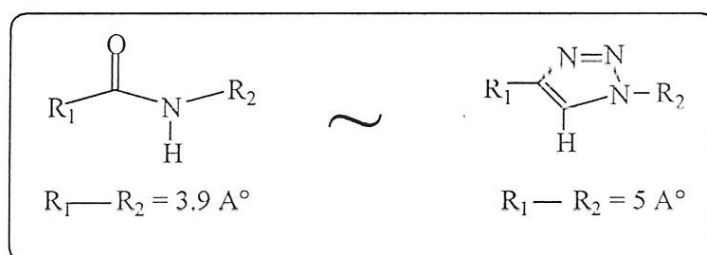


Figure.17 : Bioisostérie entre les unités amides et le 1,2,3-triazol

La première propriété à être influencée de manière évidente par la conjugaison des composés propargyliques cités avec la β -CD est l'hydrosolubilité qui a été qualitativement testée pour chaque glycoconjugué obtenus et qui montre que le 4-Hydroxyméthyl-1,2,3-triazolo- β -CD de structure ci-dessous(Figure.18) est de loin le composé le plus soluble dans l'eau. Et à cause de cette hydrosolubilité très élevée, la purification de ce composé a été la plus délicate, ce qui a nécessité en fin de compte une séparation chromatographique sur colonne en utilisant l'eau comme éluant.

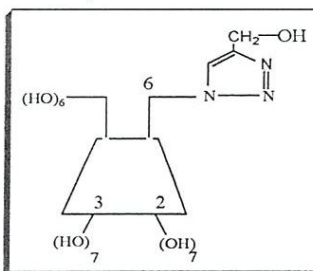


Figure.18 : 4-Hydroxyméthyl-1, 2,3-triazolo- β CD le glycoconjugué le plus soluble

IV.2. Caractérisation des glycoconjugués obtenus

Les glycoconjugués obtenus ont été identifiés et mis en évidence par les différentes méthodes physico-chimiques et spectroscopiques mises à notre disposition.

En effet, le spectre du 4-Benzylcarboxy-1,2,3-triazolo- β CD (Figure.19) fait apparaître une forte bande d'absorption vers 1727.1Cm^{-1} correspondant aux élongations de la fonction (C=O) de l'ester du motif benzoate et deux bandes d'absorption situées vers 1626.3 et 1445.6Cm^{-1} assignées respectivement aux vibrations des liaisons (C=C) et (N=N) du cycle 1,2,3-triazole.

Dans le spectre du même composé, On peut remarquer l'apparition d'une large bande d'absorption vers 3396.6Cm^{-1} caractéristique des vibrations (OH) liées de la β -CD.

Pour le deuxième glycoconjugué :le 4-Hydroxyméthyl-1,2,3-triazolo- β -CD(Figure.20), il est caractérisé aussi par l'apparition de deux bandes d'absorption situées vers 1621.5 et 1426.4Cm^{-1} provenant respectivement des élongations des liaisons (C=C) et (N=N) du cycle 1,2,3-triazole, et une bande très large à 3426.9Cm^{-1} résultant d'un épaulement entre la bande d'absorption des (OH) liées de la β -CD et celles de la fonction alcool.

Mais le fait le plus remarquable dans les spectres (IR) de ces composés est la disparition de la bande d'absorption de la fonction azide située vers 2113Cm^{-1} , confirmant ainsi sa conversion totale en cycle 1, 2,3-triazol.

Les petites bandes d'absorption apparaissant respectivement à 2349.1Cm^{-1} et à 2304.4Cm^{-1} dans les spectres des deux composés, proviennent probablement des traces d'alcynes restants qui sont utilisés comme réactifs en excès pour s'assurer de la transformation totale de la mono-6-azido β CD.

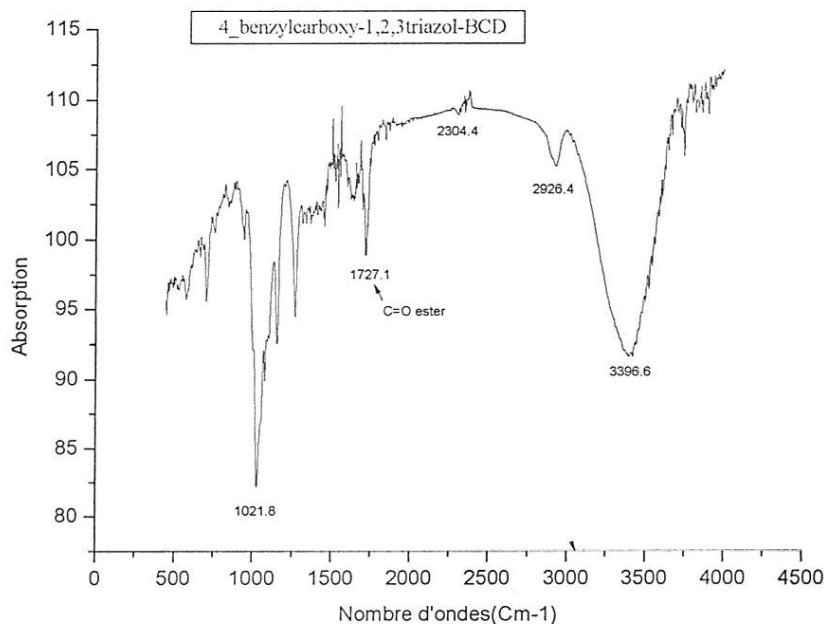


Figure .19 : Spectre (IR) du 4- Benzylcarboxy-1,2,3-triazolo- β CD

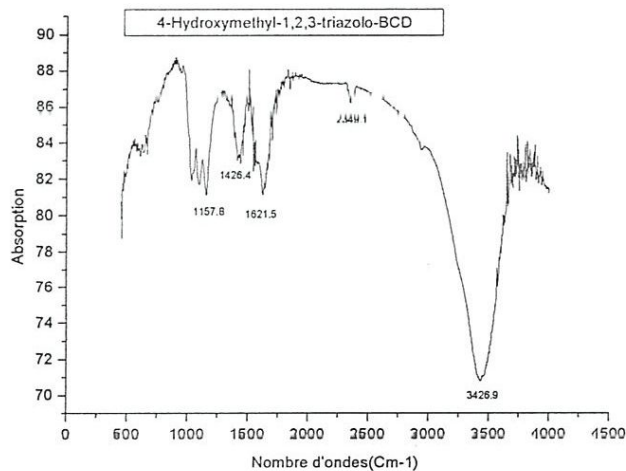
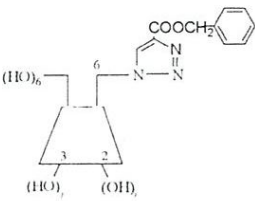
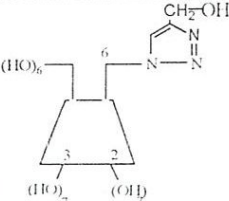


Figure .20 : Spectre IR du 4-Hydroxymethyl-1,2,3-triazolo- β CD

Les rendements, ainsi que certaines caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques telles que l'hydrosolubilité, la température de fusion le R_f (rapport frontal) et les absorptions en (IR) des glycoconjugués obtenus sont récapitulés dans le tableau 2 suivant :

Tableau.2: Rendements et caractéristiques physico-chimiques des glycoconjugués obtenus.

	R _d (%)	R _f (Dioxane/ isopropanol)	T _f (°C)	IR (Cm ⁻¹)	Hydro-solubilité
	80	0.74	210	3396.6 OH B-CD 1727.1 C=O ester 1626.3 C=C triaz 1445.6 N=N triaz	+
	70	0.70	190	3426.9 OH B- CD , OH alcool 1621.5 C=C triaz 1426.4 N=N triaz	+++

Cependant la spectroscopie (IR) qui est une analyse purement fonctionnelle n'est pas suffisante pour caractériser ces composés ; d'autres techniques comme la Spectrométrie RMN^1H et celle du $RMN^{13}C$ que nous n'avons pas utilisé dans cette partie s'avèrent plus que nécessaires pour leur identification. Mais étant donnée la complexité des spectres de ces dérivés et en particulier leur faible dispersion spectrale, leur caractérisation complète, semblent une situation encore beaucoup plus complexe, et seule la $RMN-2D$, comme la technique de base d'un $COSY$ (correlation spectroscopy) donnant des spectres de corrélation $^1H-^1H$ et $^1H-^{13}C$ vient pour contribuer efficacement à l'analyse totale de ces spectres, dans lequel les signaux des protons sont déduits sur la base de leur corrélations avec les carbones, ces derniers sont facilement reconnus grâce à leur $RMN^{13}C$.

CONCLUSION

Au terme de cette étude, nous pourrions tirer comme conclusion, que la fonctionnalisation régiosélective de la β -CD en vue d'obtenir la mono azido -- β -CD, suivie par l'application de la réaction CAAC nous permettront d'avoir une chimiothèque de glycoconjugués à base de β -CD avec différentes molécules organiques propargyliques, en particulier celles possédant un caractère hydrophobe dans le but d'améliorer leur hydrosolubilité.

TROISIEME PARTIE

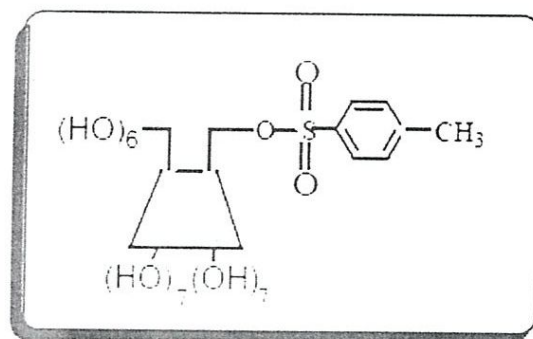
Partie Expérimentales

V. Conditions générales

- Les réactifs utilisés sont fournis par Sigma-Aldrich et Flucka et sont utilisés sans purifications.
 - Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été réalisées sur plaque de silice en aluminium Merck 60 F354 (art.5554). Selon leur nature, les produits ont été révélés par différentes méthodes: à la lumière UV (254nm) pour les composés possédant un chromophore, à l'aide d'un révélateur chimique approprié; pour les aminés dans une solution de ninhydrine dans l'éthanol (0,1%) ou pour les cyclodextrines dans une solution d'acide sulfurique dans l'eau (20%), ou dans le système (dioxane / ammoniaque concentré) ou (dioxane / isopropanol) suivi d'un chauffage jusqu'au développement optique des tâches.
 - Les points de fusion non corrigés ont été déterminés en se servant d'un banc Kofler .
- Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés à température ambiante sur un appareil Bruker DRX 400 (à une fréquence de 400MHz). Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm , utilisant DMSO- d_6 et le D_2O comme solvants et le tetramethylsilane (TMS comme référence interne).
- La multiplicité des signaux est indiquée par une (ou plusieurs) lettre(s) minuscule(s): s :singulet, d : doublet, t : triplet, m : multiplet.
 - Les spectres FT-IR sont enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin Elmer équipé d'une cellule chauffante Les échantillons sont analysés en pastilles de KBr
 - Les spectres de masse sont obtenus par la technique d'electrospray sur un appareil Water Micro-Mass ZQ, en mode positif et négatif.

V.1 Protocoles expérimentaux relatifs à la Synthèse des précurseurs dérivés de la β -CD

V.1.1 mono [6-O-(p-toluenesulfonyl)]- β -cyclodextrine) ou mono-6tosyl- β -cyclodextrine



A une solution de β -CD (4,54g, 1mmol) dans l'eau (200 ml) sont ajoutés successivement : $CuSO_4$ (3g, 3 mmol) dans 300 ml d'eau, NaOH (4g,100 mmol) dans 25 ml d'eau. Après 10 mn, du chlorure de tosylo (6g, 7.9 mmol) dans l'acétonitrile (40 ml) est ajouté goutte à gouttes pendant 1heure. Le mélange est agité pendant 4.5 h puis neutralisé avec HCl (1M, 5 mmol) ; les sels sont filtrés et la solution est concentrée par lyophilisation jusqu'à 2\3 de son volume original (jusqu'à 77 ml) le solide cristallisé obtenu est lavé avec l'acétone (2 x 4 ml), l'éther (2 x 3 ml) et séché. Après deux recristallisations avec l'eau, on obtient (0 633 g, 48%) du Mono 6-tosyle- β CD pur.

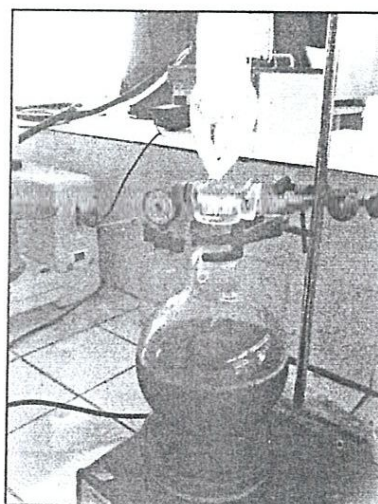


Schéma.19 : Montage montrant la réaction de la monotosylation de la B-CD

Rdt= 48%

$R_f = 0.73$ dans le système (1.4 Dioxane / NH_4OH cc : 10\7), révélé par l'UV, ou avec H_2SO_4

$T_f = 169-170^\circ\text{C}$

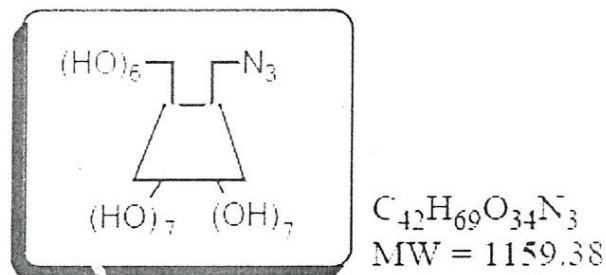
MS ESI+ 20 Volt, m/z: 1288.9 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (85 %), (figure 27)

IR: Absorption vers $3001,59 \text{ cm}^{-1}$; caractéristique du système aromatique et 1458.42 et 1368.86 cm^{-1} attribuées aux vibrations du groupement SO_3 .

RMN¹³C : (400MHz; DMSO-d₆, δ en ppm): 21.11 (CH_3), 127.32-144.72 (C_{arom}), 163.98 ($\text{O}-\text{C}_{\text{arom}}$), 59.66 ($\text{C}_6\text{-cyd}$), 71.77 ($\text{C}_2\text{-cyd}$), 72.28 ($\text{C}_5\text{-cyd}$), 72.87 ($\text{C}_3\text{-cyd}$), 81.07 ($\text{C}_4\text{-cyd}$), 101.91 ($\text{C}_1\text{-cyd}$)

RMN¹H: (400MHz; DMSO-d₆, δ en ppm): 7.43-7.74 (H arom), 3.30 -5.74 ($m_m\text{H-cyd}$)
2.41(s, 3H, CH_3).

V.1.2. 6-monoazido-6-monodeoxy-cyclomaltoheptaose(β CD).



Dans un ballon monocol, le mono- 6 tosyl β CD (0.4g, 0.088 mmol) est dissout dans du DMF absolu (2ml) ensuite une quantité d'azide de sodium (0.024g 0.092 mmol) est ajoutée. Le mélange réactionnel est chauffé à 105-110C° en agitant pendant 1 heure sous cette température, la solution presque claire est traitée avec l'acétone à température ambiante. Un précipité blanc cristallin se forme, le produit brut est recristallisé avec (0.5 /5) en volume de (eau / acétone) pour donner des cristaux blancs.



Schéma.20 : Montage montrant la réaction de la monoazidation de la B-CD

Rdt =95%;

Rf=0.39 dans le système (1.4 Dioxane / NH₄OH cc : 10\7).

Tf=240°C

MS ESI+ 20 Volt, m/z: 1182.53, [M + Na] + (100 %),

IR: 2113 Cm⁻¹; caractéristique du groupement azide

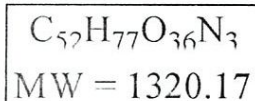
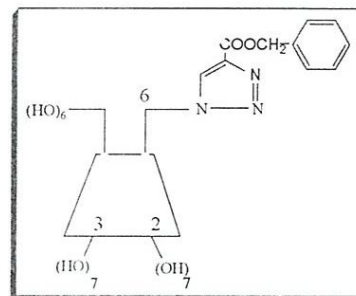
RMN¹H,(D₂O, δ en ppm): 3.55-5.06(m_s,H-cyd)

V.2. Protocoles expérimentaux relatifs à la réaction CuAAC

V.2.1 4- Benzylcarboxy-1,2,3-triazolo- β CD



Schéma.21 : Montage montrant l'accès au 4- Benzylcarboxy-1,2,3-triazolo- β CD par la réaction de CuAAC



A une solution de propargyl-methylbenzoate (0.00013mmol,0.01289ml) dans le DMF(1.5ml) est ajoutée (0.0010mmol,m=0.116g) de mono-6- azido- β CD et (0.00013 mol, 0.032435g) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, la solution devient jaunâtre, ensuite du sodium ascorbate (0.00026mmol, m=0.051508g) dans 0.5ml d'eau est ajouté goutte à goutte durant 15 mn au mélange réactionnel, ce dernier est laissé agité à température ambiante pendant 2h 30 mn, puis traité avec l'acétone et l'ammoniaque pour complexer les ions Cu^{++} . Après filtration et lavage avec l'eau puis de l'acétone, on obtient un précipité blanc verdâtre.

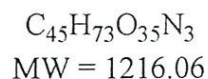
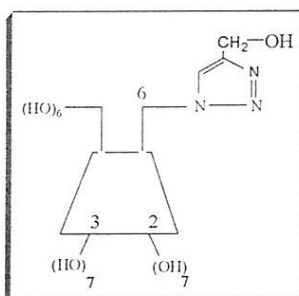
Rdt= 80%

R_f =0.74 dans le système (1,4 Dioxane / NH_4OH cc : 10\7), révélé par l'UV, ou avec H_2SO_4

T_f =210°C

IR (Cm^{-1}):3396.6(OH β -CD),1727.1(C=O_{ester}), 1626.3 (C=C)_{triazol} , 1445.6 (N=N_{triazol})

V.2.1 4-Hydroxyméthyl-1,2,3-triazolo- β CD



A une solution de mono-6- azido- β CD (0.0000777mmol, 0.0901g) dans 1.5ml de DMF est ajouté du propargyl alcool ou alcool propiolyque (0.0001010mmol,0.006ml) et (0.0001010mmol,0.0251g) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ensuite du sodium ascorbate (0.0002020mmol,0.0040022g) dans 0.5ml d'eau est ajouté goutte à gouttes au mélange réactionnel durant 15 mn; ce dernier est laissé agité à température ambiante pendant 1h . Après extraction par l'acétate d'éthyle, le produit passe facilement dans la phase aqueuse, et suite à une concentration sous vide, on obtient un produit verdâtre qui est ensuite séparé par chromatographie sur colonne en utilisant l'eau comme éluant.



Schéma.22 : Montage montrant la séparation sur colonne chromatographique du 4-Hydroxyméthyl-1,2,3-triazolo- β CD.

Rdt= 70%

R_f =0.70 dans le système (1,4 Dioxane / isopropanol: 50\50), révélé par l'UV, ou avec H_2SO_4

T_f =190°C

IR (Cm^{-1}): 3426.9(OH β -CD, OH_{alcool}) , 1621.5 (C=C)_{triazol} , 1426.4 (N=N_{triazol}).

Conclusion générale

Conclusion Générale

La première partie de ce mémoire a fait le point bibliographique sur la réaction de click chemistry, qui a récemment suscité un grand engouement en raison de son efficacité et de sa versatilité ; ainsi qu'une étude détaillée sur les propriétés et la fonctionnalisation de la β -cyclodextrine .

La deuxième partie de notre travail, a été consacrée à l'application de la réaction de CuAAC pour la conjugaison entre deux alcynes vrais le methylbenzoate propargyle et l'alcool propargyle avec un azoture organiques la mono-6 azido- β -cyclodextrine

Dans un premier temps, nous avons décrit la synthèse de la mono-6-azido- β -cyclodextrine issus de la fonctionnalisation régiosélective de la β -cyclodextrine via un précurseur clef: la mono-6-tosyl- β -cyclodextrine.

Dans un deuxième temps, nous avons réalisé la réaction de conjugaison entre ces réactifs tout en veillant sur l'optimisation des paramètres expérimentaux, en termes d'ordre d'ajout des réactifs ,de solvant , de temps et de température de la réaction, pour accéder à deux glycoconjugués à base de cyclodextrine :Le 4- Benzylcarboxy-1,2,3-triazolo- β CD et le 4-Hydroxymethyl-1,2,3-triazolo- β CD.

La réaction de couplage aboutissant à ces glycoconjugués s'est accomplie dans le DMF à température ambiante en présence de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ et l'ascorbate de sodium qui génère in situ le Cu(I) jouant le rôle de catalyseur.

Les résultats obtenus en particulier l'amélioration de l'hydrosolubilité des alcynes de départ offrent une base solide pour de nouvelles perspectives d'utilisation de cette réaction.

Bibliographie

Références Bibliographiques

- [1] Kolb, H.C. and Sharpless, K.B. *Drug Discov. Today*, 2003, 8, 1128-1137.
- [2] Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V.V.; Noodleman, L.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 210-216.
- [3] H. C. Kolb, M. G. Finn, and K. B. Sharpless. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 40:2004–2021 (2001).
- [4] R. Huisgen. 1,3-Dipolar cycloadditions. *Angew. Chem.* 75:604–637 (1963).
- [5] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 2004.
- [6] V. D. Bock, H. Hiemstra, and J. H.-V. Maarseveen. CuI-catalyzed alkyne-azide “click” cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective. *Eur. J. Org. Chem.* 2006:51–68 (2006).
- [7] Padwa A, Pearson WH (2003) Synthetic applications of 1,3-dipolar cycloaddition chemistry toward heterocycles and natural products. Wiley, Chichester, UK.
- [8] V. O. Rodionov, V. V. Fokin, and M. G. Finn. Mechanism of the ligand-free CuI-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 44:2210–2215 (2005).
- [9] V. O. Rodionov, V. V. Fokin, and M. G. Finn. Mechanism of the ligand-free CuI-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 44:2210–2215 (2005).
- [10] Christopher D. Hein,¹ Xin-Ming Liu,¹ and Dong Wang. Click Chemistry, A Powerful Tool for Pharmaceutical Sciences *Pharmaceutical Research*, Vol. 25, No. 10, October 2008 #2008. DOI: 10.1007/s11095-008-9616-1
- [11] G. Molteni, C.L. Bianchi, G. Marinoni, N. Santo, A. Ponti, *New J. Chem.* 2006, 30, 1137.
- [12] T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org. Lett.* 2004, 6, 2853; [16b] W. Lewis, F.G. Magallon, V. V. Fokin, M. G. Finn, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 9152.
- [13] V. Ladmiral, G. Mantovani, G. J. Clarkson, S. Cauet, J. L. Irwin, D. M. Haddleton, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 4823.
- [14] L.D. Pachon, J.H. van Maarseveen, G. Rothenberg, *Adv. Synth. Catal.* 2005, 347, 811.
- [15] Abdou K. Diallo a, Stéphane Menuel b, Eric Monflier b, Jaime Ruiz a, Didier Astruc ‘Click’ synthesis of ferrocenyl-, biferrocenyl-, and cobalticenyl-triazolyl-b-cyclodextrins *Tetrahedron Letters* 51 (2010) 4617–4619.
- [16] David, S., *Chimie moléculaire et supramoléculaire des sucres, introduction chimique aux glycosciences*, InterEdition / CNRS Edition, Paris, (1995).
- [17] Nicolaou K.C.; Mitchell H.J.; *Adventures in carbohydrate chemistry: new synthetic technologies, chemical synthesis, molecular design and chemical biology*; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (2001); 40 : 1576-1624.
- [18] Williams S.J.; Davics G.J.; *Protein-carbohydrate interactions: learning lessons from nature*; *Trends in Biotechnol.*; (2001); 19(9): 356-362.
- [19] Maeder T.; *De nouveaux médicaments: les sucres*; *Pour la Science*; (2002); 299:70-77.
- [20] Guerrini, R.; Parmeggiani, L., Topiramate and its clinical applications in epilepsy. Saenger W., Jacob J., Gessler K., Steiner T., Hoffmann D., Sanbe H., Koizumi K., Smith S. M., Takaha T., *Chem. Rev.* 1998, 98(5), 1787-1802
- [21] Duchêne, D., *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*; Editions de Santé; Paris, (1991).
- [22] Harata K., *Chem. Rev.* 1998, 98(5), 1803-1828.
- [23] Saenger W., Jacob J., Gessler K., Steiner T., Hoffmann D., Sanbe H., Koizumi K., Smith S. M., Takaha T., Structures of the Common Cyclodextrins and Their Larger Analogues Beyond the Doughnut, *Chem. Rev.* (1998), 98, 1787-1802.
- [24] Singh. M., Sharma. R., Banerjee. U.C., *Biotechnological applications of cyclodextrins*; *Biotechnology Advances* 20 (2002) 341–359.

- [25] Wenz G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994, 33, 803-822
- [26] Schneider H.-J., Hacket F., Rüdiger V., Ikeda H., *Chem. Rev.* 1998, 98(5), 1755-1786
- [27] Rekharsky M. V., Inoue Y., *Chem. Rev.* 1998, 98(5), 1875-1918;
- [28] Khan A. R., Forgo P., Stine K. J., D'Souza V.T., Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins, *Chem. Rev.* (1998), 98, 1977-1996.
- [29] Hybl A., Rundle R. E., William D. E., *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 2779;
- [30] Saenger W., Noltemeyer M., Manor P. C., Himgerty B., Klar B., *Bioorg. Chem.* 1976, 5,187;
- [31] Rong D., D'Souza V. T., *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 4275
- [32] Ueno A., Breslow R., *Tetrahedron Lett.* 1982, 23, 3451.
- [33] Takeo K., Mitoh H., Uemara K., *Carbohydr. Res.* 1989, 187, 203.
- [34] Fröming K.-H., Szejtli J., *Cyclodextrins in pharmacy*, Kluwer Academic Publishers:Dordrecht, 1994, p 224.
- [35] Ueno A., Breslow R., *Tetrahedron Lett.* 1982, 23, 3451
- [36] Fikes L. E., Winn D. T., Sweger R. W., Johnson M. P., Czarnik A. W., *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 1493-1495
- [37] Petter R. C., Sulck J. S., Sikorski C. T., Kumaravel G., Lin F. T., *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 3860-3868
- [38] Hanessian S., Benalil A., Laferriere C. J., *J. Org. Chem.* 1995, 60, 4786-4797
- [39] Djedāni-Pilard F., Désalos J., Perly B., *Tetrahedron Lett.* 1993, 34(15), 2457-2460
- [40] Péan C., Créminon C., Wijkhuijen A., Grassi J., Guenot P., Jéhan P., Dalbiez J.-P., Perly B., Djedāni-Pilard F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* 2000, 853-863
- [41] Nelles G., Weisser M., Back R., Wohlfart P., Wenz G., Mittler-Neher S., *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 5039-5046
- [42] Bellanger N., Perly B., *J. Mol. Struct.* 1992, 215-226
- [43] Nelles G., Weisser M., Back R., Wohlfart P., Wenz G., Mittler-Neher S., *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 5039-5046
- [44] Sallas F., Leroy P., Marsura A., Nicolas A., *Tetrahedron Lett.* 1994, 35(33), 6079-6082;
- [45] Petter R. C., Salek J. S., *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 7897-7899
- [46] Djedāni-Pilard F., Gosnat M., Steinbruckner S., Dalbiez J.-P., Crini G., Perly B., Gadelle A., *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins, 9th*, Santiago de Compostella : Spain, Kluwer Eds., 1998, 73-76.
- [47] Defaye J., Crouzy S., Evrard N., Law, Ho., PCT Int. Appl. 1999, 25pp, WO9961483, CAN 132:24077.
- [48] Uekama K., Hirayama F., Irie T., Cyclodextrin Drug Carrier Systems, *Chem. Rev.* (1998), 98, 2045-2076.
- [49] Hirayama F., Uekama K., Cyclodextrin-based controlled drug release system, *Advanced Drug Delivery Reviews* 36 (1999) 125-141
- [50] P. K. Bose, P. L. Polavarapu, *Carbohydrate Res.* 2000, 323, 63
- [51] TORNOE C. W., CHRISTENSEN C., MELDAL M., Peptidotriazoles on Solid Phase [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides, *The Journal of Organic Chemistry*, 2002, 67, p. 3057-3064.