



HAL
open science

**Synthèse d'antigènes présentés par la protéine CD1b,
analogues des sulfoglycolipides diacylés mycobactériens.
Vers un nouveau vaccin contre la tuberculose.**

Julie Guiard

► **To cite this version:**

Julie Guiard. Synthèse d'antigènes présentés par la protéine CD1b, analogues des sulfoglycolipides diacylés mycobactériens. Vers un nouveau vaccin contre la tuberculose.. Chimie. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2008. Français. NNT: . tel-00282233

HAL Id: tel-00282233

<https://theses.hal.science/tel-00282233>

Submitted on 26 May 2008

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

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



UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
U.F.R. S.V.T.



THESE

en vue de l'obtention du

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE TOULOUSE
délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier**

Discipline : Chimie Organique

Présentée et soutenue par

Julie GUIARD

Le 15 Février 2008

**Synthèse d'antigènes présentés par la protéine CD1b,
analogues des sulfoglycolipides diacylés mycobactériens.**

Vers un nouveau vaccin contre la tuberculose.

JURY

Alain MILON, Professeur à l'Université Paul Sabatier, Toulouse

Françoise GUERITTE, Directrice de Recherche INSERM, Gif-sur-Yvette

Jean-Marie BEAU, Professeur à l'Université d'Orsay

Brigitte GICQUEL, Professeur à l'Institut Pasteur, Paris

Jacques PRANDI, Chargé de Recherche CNRS, Toulouse

Germain PUZO, Directeur de Recherche CNRS, Toulouse

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Directeur de thèse

Co-directeur de thèse

Remerciements

Ce manuscrit de thèse marque la fin de quatre très belles années passées à l'IPBS. La réussite de ce travail ainsi que tous les bons souvenirs, je les dois à bon nombre de personnes.

Tout d'abord, je suis très reconnaissante au Professeur François Amalric, directeur de cet institut, de m'avoir accueillie dans cet « hôtel 5 étoiles ».

Puis, je voudrais remercier Françoise Guéritte et Jean-Marie Beau pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail, ainsi que Brigitte Gicquel et Alain Milon pour leur présence dans mon jury de thèse.

Ce travail, c'est l'histoire d'une famille de sulfoglycolipides :

Il était une fois un sulfoglycolipide diacylé découvert et adopté par Martine et Germain. Très fiers de lui pour ses propriétés qui semblent annoncer une carrière très prometteuse, ils demandèrent à Jacques d'en fabriquer d'autres qui lui ressemblent, une tâche qu'il me confia. Pour la réaliser, j'ai bénéficié de renforts successifs et très efficaces : Mélody, François-Xavier, Bahiya et Laurence sans qui la famille SGL ne serait pas si nombreuse. Pour chacune de ces molécules, une fois analysées par Emilie, je les confiais à Thérèse, Luis et Anthony qui en déterminaient les différentes propriétés. Puis, il a fallu en choisir une parmi toutes pour aller lutter contre les Mycos. Tous mes vœux de longue vie aux sulfoglycolipides !

Tous ces acteurs (sauf les Mycos !), je tiens à les remercier très sincèrement. Particulièrement, Germain pour accueillir des chimistes dans son équipe ainsi que pour avoir « trouvé » cette bourse et me l'avoir offerte. Mais plus spécialement encore, un grand merci à Jacques, pour sa disponibilité et ses conseils qui ont été une aide précieuse pour avancer.

Tous les membres de l'équipe ont contribué à la bonne ambiance quotidienne de travail. Je commencerai par les chimistes avec qui j'ai partagé bureau, labo et quelques fous rires : Jacques, Karine, Emilyne, Bahiya, Fabien, François, Manon, Valérie, Cyril, Mélody et Laurence ; et puis les biologistes : Thérèse, Martine, Germain, Michel, Jérôme, Alain, Luis, Emilie, Chia-Fang, Sandrine, Eliette, Marlène, Aurélie, Gérald, Diane... qui m'ont tous aidé à comprendre petit à petit les mystères de la biologie !

Bien sûr, ça n'aurait pas été pareil sans Emilie, Lucie, Corinne, Damien, Xavier, Bruno et Julien avec qui j'ai partagé cette belle galère et aussi tous les week-end, soirées et autres activités extra-labo ! Un énorme MERCI à vous.

Je n'oublie pas toutes les personnes de l'institut qui m'ont aidées et celles avec qui j'ai partagé de bons moments (scientifiques ou non...) notamment nos voisins de l'équipe Guilhot ... autour de leur cafetière !

Et pour finir, je remercie toutes les personnes extérieures au labo mais qui ont été très présentes, de près ou de loin, à travers leur soutien et leurs encouragements : les A7iens, les nageurs et bien sûr toute ma famille...

SOMMAIRE

ABREVIATIONS	5
RESUME	7
INTRODUCTION	9
I. La tuberculose	9
1. Bref historique de la tuberculose	9
2. Etat des lieux actuel de la tuberculose	10
II. Nécessité d'un nouveau vaccin contre la tuberculose	13
1. Le BCG : seul vaccin actuellement disponible	13
a. De la mise au point à nos jours	13
b. Insuffisance du BCG	14
2. Vers un nouveau vaccin...	14
3. Premières immunisations de cochons d'Inde par des lipides	18
III. Les protéines CD1 : molécules présentatrices d'antigènes lipidiques	19
1. Infection et réponse immunitaire	19
2. Structure des protéines CD1	21
3. Les antigènes présentés par les protéines CD1	24
4. Trafic intracellulaire des protéines CD1 et chargement des antigènes	26
IV. Modulation de la réponse immunitaire par la structure fine des antigènes	29
1. Déterminants structuraux des antigènes mycobactériens présentés par la protéine CD1b	29
2. Etude d'un antigène de CD1d : l' α -Galactosylcéramide	33
a. Le galactose	34
b. La partie polaire du céramide	35
c. La partie lipidique du céramide	35
V. Sujet de recherche	38
1. Les sulfoglycolipides diacylés	38
2. Projet de thèse	40

<u>CHAPITRE 1</u> : SYNTHÈSE D'ANALOGUES DES SULFOGLYCOLIPIDES DIACYLES MYCOBACTERIENS	43
I. Synthèse générale des sulfoglycolipides diacylés	43
1. Stratégie de synthèse	44
2. Synthèse des sulfoglycolipides diacylés	45
a. Benzylidénation de l' α,α -D-tréhalose	45
b. Monoacylation en position 2 par un chlorure d'acyle	46
c. Protection des positions 2' et 3'	47
d. Acylation de la position 3 par la deuxième chaîne lipidique	47
e. Déprotection des positions 2' et 3'	49
f. Sulfatation de la position 2'	49
g. Déprotections finales	50
II. Mise en évidence de l'importance de la structure fine des chaînes lipidiques	52
1. Analogues estérifiés par des acides linéaires	52
2. Préparation de sulfoglycolipides par hémisynthèse	54
a. Purification des sulfoglycolipides naturels	56
b. Ethanolyse et purification des esters	59
c. Hémisynthèse de sulfoglycolipides à partir des esters C	61
d. Importance du groupement hydroxyle de l'acide hydroxyphthiocéranolique	62
III. Synthèse d'acides gras polyméthylés	64
1. Littérature	64
a. Par résolution d'un mélange racémique	65
b. Aldolisation asymétrique d'un énolate	66
c. Alkylation d'un énolate	67
d. Substitution allylique (S_N2') asymétrique	70
e. Addition conjuguée 1,4	71
2. Stratégie utilisée	72
3. Synthèse des acides polyméthylés chiraux	74
a. Introduction du premier groupement méthyle par couplage de Wittig puis dédoublement	74
b. Méthode stéréospécifique d'Enders	76
c. Cas particulier de l'acide (4 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-2,4,6-triméthyl-2-énoïque	79
d. Cas particulier de l'acide (<i>S</i>)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diénoïque	79
IV. Synthèse des sulfoglycolipides diacylés	81
<u>CHAPITRE 2</u> : ACTIVITÉ ANTIGÉNIQUE DES SULFOGLYCOLIPIDES DE SYNTHÈSE	85
I. Tests réalisés sur les analogues	85
1. Chargement des sulfoglycolipides de synthèse dans la protéine CD1b	85
2. Activation d'une lignée cellulaire de lymphocytes T spécifiques des Ac ₂ SGL	87
a. Antigènes présentés par des cellules dendritiques	87
b. Antigènes présentés par la protéine humaine CD1b soluble	88

II. Résultats	89
1. Les sulfoglycolipides contenant deux chaînes linéaires	89
2. Hémissynthèse	90
3. Le nombre de substituants méthyles contrôle l'activité antigénique des sulfoglycolipides	91
4. Importance des doubles liaisons	92
5. Effet de la longueur des chaînes	93
a. En position 2 du tréhalose	93
b. En position 3 du tréhalose	94
c. Sur les positions 2 et 3 du tréhalose	94
6. Importance de la configuration absolue des atomes de carbone asymétriques	95
7. Positions d'acylation par les acides gras	95
III. Discussion	96
CONCLUSION - PERSPECTIVES	101
PARTIE EXPERIMENTALE	105
I. Remarques générales	105
II. Modes opératoires	106
III. Caractéristiques des composés synthétisés	109
BIBLIOGRAPHIE	193
ANNEXES	

ABREVIATIONS

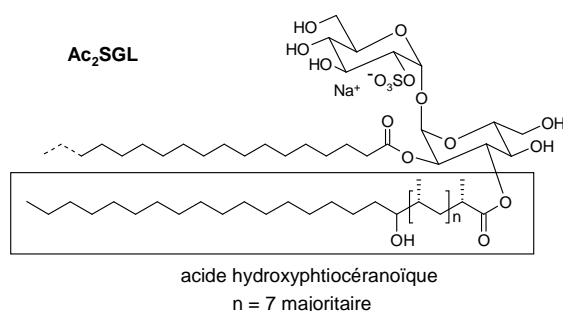
- Ac₂SGL : Sulfoglycolipide diacylé
Ac₃SGL : Sulfoglycolipide triacylé
Ac₄SGL : Sulfoglycolipide tétraacylé
AE : Acétate d'éthyle
β₂m : β₂-microglobuline
BCG : Bacille de Calmette et Guérin
CCM : Chromatographie sur couche mince
CETP : Carboéthoxyéthylidènetriphénylphosphorane
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
CSA : Acide camphresulfonique
DAT : Tréhalose diacylé
DCC : 1,3-Dicyclohexylcarbodiimide
DCI : Désorption-ionisation chimique
DCM : Dichlorométhane
DE : Diéthyléther
DHP : 3,4-Dihydro-2*H*-pyrane
DIBAL-H : Diisobutylaluminium
DMAP : 4-*N,N*-diméthylaminopyridine
DMF : *N,N*-Diméthylformamide
DMT : α,α-Diméthoxytoluène
DOTS : Directly observed treatment, short-course
ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
EP : Ether de pétrole
e. d. : Excès diastéréoisomérique
éq. : équivalent
GM-CSF : Granulocyte macrophage colony stimulating factor
GMM : Glucose monomycolate
HMAP : Hexaméthylphosphoramide
IC : Inducteur chiral

IEF : Isoelectric focusing
IFN- γ : Interféron γ
IL : Interleukine
KHMDs : Hexaméthylidisilazane de potassium
LAH : Tétrahydroaluminat de lithium
LDA : Diisopropylamide de lithium
NKT : Lymphocytes T « natural killer »
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PC : Phosphatidylcholine
PCC : Chlorochromate de pyridinium
PCRDT : Programme-cadre de recherche et de développement technologique
PIM : Phosphatidyl-*myo*-inositol mannoside
Py. : Pyridine
RMN : Résonance magnétique nucléaire
SAMP (RAMP) : (*S*)-1-Amino-2-(méthoxyméthyl)-pyrrolidine (ou (*R*)-)
SGL : Sulfoglycolipide diacylé de synthèse
shCD1b : Protéine humaine CD1b soluble
SIDA : Syndrome de l'immunodéficience acquise
TAT : Tréhalose triacylé
TB : Tuberculose
THF : Tétrahydrofurane
THP : Tétrahydropyrane
TIPSCl₂ : 1,3-Dichloro-1,1,3,3-tétraisopropylsiloxane
TMS : Tétraméthylsilane
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

RESUME

La tuberculose reste aujourd'hui un problème majeur de santé dans le monde. L'efficacité protectrice du vaccin BCG, le seul actuellement disponible, est remise en question.

Dans le cadre d'un programme européen de développement d'un nouveau vaccin contre la tuberculose, les sulfoglycolipides diacylés (Ac_2SGL), spécifiques de *Mycobacterium tuberculosis*, ont été décrits comme des antigènes présentés par la protéine CD1b et activant des clones de lymphocytes T $CD8^+$ *in vitro*. Il a également été montré *in vivo* que ces glycolipides, dont la structure est représentée ci-dessous, sont immunogènes. Ils semblent donc être de bons candidats pour tester leur activité protectrice sur des modèles animaux.



Ces sulfoglycolipides sont présents en faible quantité dans la membrane de *M. tuberculosis*, seuls des composés synthétiques pourraient permettre la poursuite des études immunologiques.

L'acide hydroxyphthaloyl est un acide gras dextrogyre, ramifié par plusieurs groupements méthyles et un hydroxyle. Etant donnée sa complexité, il est difficile de le synthétiser à l'identique. L'objectif de cette

thèse est de préparer des analogues de ces Ac_2SGL dans lesquels cet acide gras est remplacé par d'autres de structure plus simple et qui auraient les mêmes activités biologiques que le composé naturel. Pour cela, une famille de molécules a été synthétisée dont toutes ont la même tête polaire que le composé naturel et différent par la structure de leur partie lipidique.

Une voie de synthèse générale de ces sulfoglycolipides (SGL) a été mise au point. Puis, après avoir montré le rôle essentiel de l'acide gras complexe dans la reconnaissance de l'antigène par les cellules immunitaires, différents acides gras chiraux ont été synthétisés par alkylation stéréospécifique d'énolates. Ainsi, une vingtaine de composés ont été obtenus.

L'activité antigénique de ces analogues a été évaluée *in vitro*. D'une part, cette étude nous a permis de montrer que les structures des deux chaînes lipidiques contrôlaient la reconnaissance des complexes CD1b:SGL par le récepteur des cellules T. En effet, la longueur de la chaîne située en position 2 est importante ainsi que le nombre de substituants méthyles et la configuration absolue des carbones asymétriques de l'acide gras estérifiant la position 3 du tréhalose. De plus, les sulfoglycolipides acylés en position 3 par des acides gras polyméthylés α,β insaturés se sont montrés plus actifs que leurs analogues saturés.

D'autre part, certains analogues ont montré une activité comparable à celle du sulfoglycolipide diacylé naturel et sont accessibles en quantité suffisante pour évaluer leur pouvoir protecteur chez le cochon d'Inde.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

I. La tuberculose

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse dont l'agent étiologique est *Mycobacterium tuberculosis*. Malgré l'existence d'un vaccin et d'antibiotiques, elle est une des principales causes de mortalité due à un agent infectieux unique et tue, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de deux millions de personnes chaque année.¹

1. Bref historique de la tuberculose

La tuberculose est la plus vieille de toutes les maladies identifiables dans l'Histoire, elle a touché l'Humanité depuis la préhistoire, comme l'ont montré des études archéologiques dans diverses parties du monde.²

Au 19^{ème} siècle, on assiste à d'importantes épidémies de tuberculose causant de nombreux décès en Europe et en Amérique du Nord. La surpopulation des villes et les mauvaises conditions d'hygiène favorisèrent sa propagation. A cette époque, et jusqu'en 1940, la cure « hygiéno-diététique » et le repos dans les établissements spécialisés (sanatoriums) étaient la seule chance de guérison pour les tuberculeux.

En 1882, Robert Koch isole le bacille responsable de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, que l'on appelle également bacille de Koch. Cette découverte révolutionna l'histoire de la tuberculose et valu à Koch le prix Nobel de médecine en 1905.

Dans un premier temps, l'amélioration des conditions de vie et d'hygiène ont ralenti la propagation de la maladie. Puis, de nouvelles approches thérapeutiques ont été développées. En 1921, Calmette et Guérin mirent au point un vaccin, puis à partir de 1944, plusieurs antibiotiques furent découverts, notamment les cinq antituberculeux de première ligne encore

utilisés aujourd'hui : Isoniazide, Ethambutol, Pyrazinamide, Rifampicine et Streptomycine. Ces avancées ont permis de faire reculer la maladie, mais malheureusement, depuis une vingtaine d'années, on assiste à une recrudescence de la tuberculose.

2. Etat des lieux actuel de la tuberculose

La tuberculose est une maladie fréquente et répandue, particulièrement dans les pays en voie de développement (90 % des cas). La moitié des nouveaux cas se situent dans des pays asiatiques : Bangladesh, Pakistan, Inde, Chine et Indonésie où l'incidence a cependant clairement diminué. Il existe en revanche une forte recrudescence dans les pays de l'Europe de l'Est et en Afrique (Figure 1).

Selon l'OMS, un tiers de la population mondiale serait actuellement infecté par la tuberculose et on estime à près de 8.8 millions le nombre de nouveaux cas dans le monde en 2005, occasionnant 1.6 millions de décès.¹

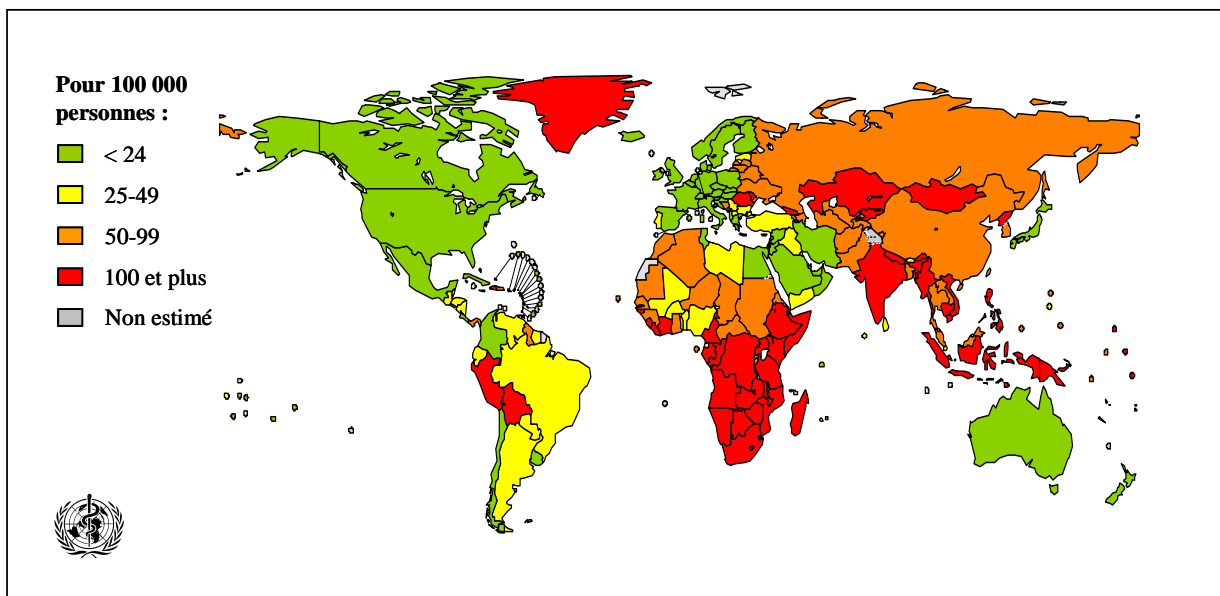


Figure 1 : Estimation du nombre de cas de tuberculose dans le monde en 2005, source : OMS.¹

Toutefois, les pays industrialisés ne sont pas épargnés, des milliers de cas ont également été recensés en Europe et en Amérique du Nord. Il s'agit essentiellement d'une infection touchant l'adulte jeune, et on constate que les hommes sont presque deux fois plus atteints que les femmes.

En France, selon l'Institut de Veille Sanitaire, la tuberculose a touché environ 5400 personnes en 2005, causant environ 900 décès.³ On remarque que cette maladie touche principalement les immigrés ainsi que les personnes vivant dans des conditions précaires (Figure 2).

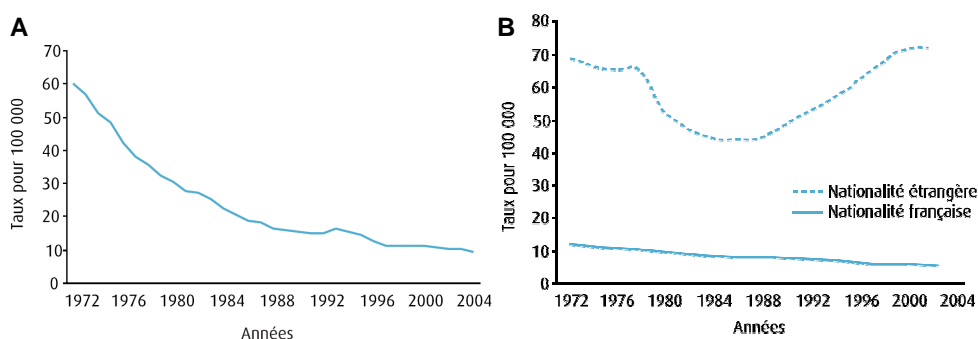


Figure 2 : Taux d'incidence de la tuberculose maladie pour 100 000 personnes en France métropolitaine pour la période 1972-2004. **A.** Totale. **B.** Selon la nationalité.⁴

Malgré le soutien des organisations internationales, la situation dans le monde s'aggrave à cause de la pauvreté, de la promiscuité, mais aussi de l'insécurité et des combats, qui poussent les gens à se déplacer, augmentant ainsi les risques de contamination. Mais la propagation du VIH (Virus de l'immunodéficience humaine) et l'apparition de souches résistantes aux antibiotiques sont clairement identifiés comme étant les principaux facteurs responsables de la recrudescence de la maladie.

En effet, le VIH a pour effet de diminuer les défenses immunitaires de la personne infectée, c'est pour cette raison qu'un séropositif risque, plus qu'un autre, de développer une tuberculose. En Afrique, l'épidémie de tuberculose associée à celle du SIDA a provoqué des millions de décès ces dix dernières années. On estime que 13 % des adultes nouvellement diagnostiqués tuberculeux sont également infectés par le VIH.⁵ Cette co-infection accélère la propagation de la tuberculose, compromettant l'espoir d'éradication.

De plus, des souches résistantes aux antibiotiques se développent de façon inquiétante. Une tuberculose normale peut usuellement être traitée en associant les cinq antituberculeux de première ligne. Mais si ces médicaments sont mal utilisés ou mal administrés, des tuberculoses multi-résistantes peuvent alors se développer. Ces dernières sont beaucoup plus longues à traiter, nécessitant des médicaments de deuxième ligne, plus chers, et provoquant davantage d'effets secondaires. L'incidence de telles tuberculoses est d'environ 10 % des nouveaux cas (résistance pour un seul antibiotique) et de 1 % (pour plusieurs antibiotiques).

En mars 2006, l'apparition de souches extrêmement résistantes aux antibiotiques a été signalée dans le KwaZulu-Natal, en Afrique du Sud. Ces souches sont responsables de tuberculoses ultra-résistantes qui, dans la majeure partie des cas, ne peuvent pas être soignées. Cette épidémie peut se propager rapidement dans un tel pays où la prévalence du SIDA est très élevée. Une dissémination de telles souches est très inquiétante et appelle une vigoureuse réponse internationale pour implanter partout des mesures de dépistage et de soins ainsi que des moyens de prévention.

Le programme DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course) mis en place en 1995 par l'OMS a permis de traiter 26 millions de patients. Cette stratégie de lutte contre la maladie repose sur un renforcement du dépistage et sur le suivi des traitements par surveillance directe des malades. Elle a permis d'obtenir de bons résultats parmi les cas dépistés. Mais, face à l'impact croissant du SIDA et à l'émergence de tuberculoses multi-résistantes, ce seul programme ne pouvait faire reculer l'épidémie à l'échelle mondiale.

Depuis 2006, le nouveau programme : « Halte à la tuberculose » est basé sur le succès du DOTS en investissant davantage dans les domaines clés : développement de programmes pour traiter les tuberculoses pharmaco-résistantes ; renforcement des capacités humaines et financières dans les laboratoires de diagnostic ; extension de la lutte et de la surveillance ; financement de la recherche pour trouver de nouveaux moyens de diagnostic, vaccins et médicaments.⁶ Les nouveaux objectifs sont de réduire, avant 2015, la prévalence et la mortalité de 50 % par rapport à 1990 et d'éliminer la tuberculose en tant que problème de santé publique (un cas par million d'habitants) avant 2050.

II. Nécessité d'un nouveau vaccin contre la tuberculose

1. Le BCG : seul vaccin actuellement disponible

a. De la mise au point à nos jours

Le BCG (Bacille de Calmette et Guérin) est le seul vaccin actuellement disponible contre la tuberculose. Il a été mis au point en 1921 par Albert Calmette et Camille Guérin à l'Institut Pasteur de Lille.

Ces médecins ont montré qu'en cultivant le bacille virulent de la tuberculose bovine *Mycobacterium bovis* sur des pommes de terre baliées glycélinées, en longues séries successives (230 cultures sur 13 ans), ils obtenaient une nouvelle souche de bacilles atténués, appelée *M. bovis* BCG, devenus avirulents pour le bœuf. Bien tolérée par l'organisme bovin, elle ne provoquait aucune lésion tuberculeuse et surtout protégeait l'hôte contre l'infection par la souche pathogène *M. bovis*.⁷

C'est en 1921, qu'a eu lieu la première vaccination humaine par le BCG : trois doses administrées par voie orale à un nouveau-né. Puis plusieurs autres administrations à des enfants se sont avérées concluantes. Cependant certains pays se montrent très réticents à l'utilisation massive de ce vaccin.

En France, la vaccination de tous les enfants de moins de six ans par le BCG était obligatoire depuis 1950. A cause de la faible incidence de la tuberculose dans notre pays, l'obligation a été suspendue à partir de juillet 2007. Elle reste toutefois indiquée pour les enfants présentant un risque d'exposition au bacille c'est-à-dire ceux étant nés ou ayant séjourné dans des pays de forte endémie, ayant des antécédents familiaux de tuberculose, ou ceux vivant dans des conditions de logement défavorables.

Aujourd'hui, plus de 3 milliards de personnes ont été vaccinées, ce qui en fait le vaccin le plus utilisé au monde. Malheureusement, son efficacité se révèle très limitée chez l'adulte.

b. Insuffisance du BCG

Le vaccin BCG est très efficace pour prévenir la lèpre⁸ et les formes graves de la tuberculose chez les jeunes enfants⁹ (près de 90% d'efficacité contre la tuberculose méningée), mais il protège mal les adultes contre la forme pulmonaire de la maladie, particulièrement dans les régions tropicales et subtropicales.^{10, 11}

Des hypothèses sont émises pour expliquer les insuffisances du BCG et les inégalités d'efficacité face aux différentes populations :

- la souche d'origine a dérivé, et ceci différemment selon les pays producteurs du vaccin.^{12, 13}
- des antigènes de *M. tuberculosis* impliqués dans la réponse de l'hôte sont absents de la souche BCG, comme par exemple la protéine ESAT-6 qui est fortement antigénique.¹⁴ Les lymphocytes T spécifiques de ces antigènes ne sont donc pas présents chez les personnes vaccinées par BCG.^{15, 16}
- dans les régions tropicales, les populations sont exposées à des mycobactéries environnementales non pathogènes ayant des antigènes communs avec *M. bovis* BCG. Ces sujets sont alors immunisés contre la souche vaccinale : elle est éradiquée avant d'avoir permis le développement d'une réponse protectrice contre la tuberculose.¹⁷

Différents programmes de recherche visent actuellement à mettre au point un vaccin plus efficace que le BCG.

2. Vers un nouveau vaccin...

Le BCG, dont l'efficacité est très discutée, ne permet pas d'enrayer l'épidémie mondiale. La recherche d'une nouvelle stratégie de vaccination efficace contre la tuberculose pulmonaire chez l'adulte est ainsi devenue une priorité internationale. Depuis quelques années, en Europe et aux Etats-Unis, plusieurs programmes ont pour objectif d'identifier, de développer et d'évaluer en test clinique des vaccins nouveaux ou améliorés contre la tuberculose. Pour être retenus, ces vaccins doivent montrer une protection efficace chez les adultes des pays de forte endémie, ne doivent pas être altérés par une immunité préalable aux mycobactéries environnementales et doivent être efficaces et surtout inoffensifs sur les personnes infectées par le VIH.

Deux stratégies vaccinales sont envisageables pour une immunisation plus efficace de l'homme contre la tuberculose¹⁸ :

- Elaborer un vaccin rappel du BCG : tout en gardant les avantages de la vaccination par le BCG chez l'enfant, ce vaccin permettrait de prolonger l'immunité chez l'adulte en amplifiant une réponse immunitaire protectrice (Figure 3A). Pour cela, on envisage plutôt un vaccin sous-unitaire ou moléculaire (c'est-à-dire non vivant) composé d'antigènes de *M. tuberculosis*, absents de la souche BCG.

- Remplacer le BCG par un autre vaccin efficace plus longtemps (Figure 3B). Une étude très récente montre que la souche vivante *M. bovis* BCG génèrerait une réponse mémoire plus importante que l'immunisation par ces mêmes bactéries mortes.¹⁹ Pour cette stratégie, les vaccins développés sont donc des souches vivantes mycobactériennes génétiquement modifiées de *M. bovis* BCG ou atténuées de *M. tuberculosis*.²⁰

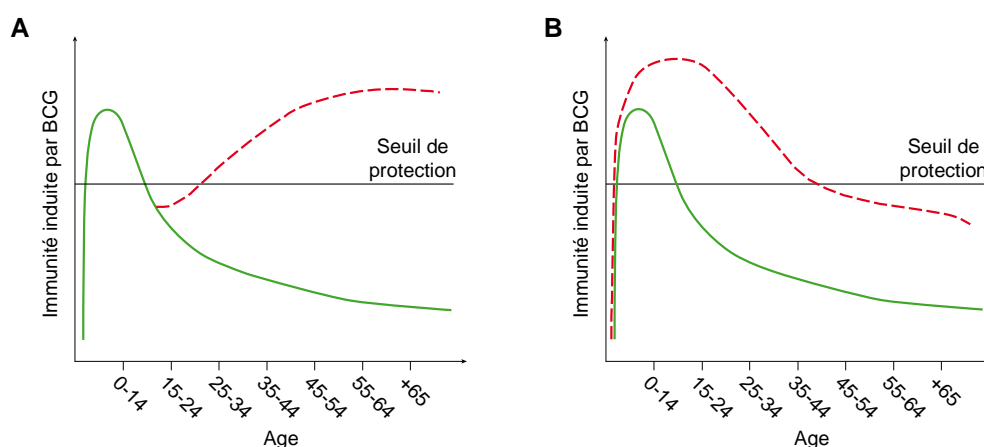


Figure 3 : Courbe hypothétique représentant la protection de l'homme par le vaccin BCG en fonction de l'âge (en vert). Les courbes en pointillés rouge montrent l'effet espéré **A** : d'un rappel ou **B** : d'un nouveau vaccin. La ligne en noir montre le seuil arbitraire d'une protection efficace contre la tuberculose. Un nouveau vaccin doit avoir une courbe qui reste plus longtemps au-dessus de ce seuil et un vaccin rappel a pour but de restaurer l'immunité.²¹

Plusieurs vaccins, appartenant à chacune de ces deux catégories, sont en phase I de tests cliniques sur l'homme (Tableau 1).

<u>Nom</u>	<u>Type de vaccin</u>	<u>Phase I des tests cliniques</u>
rBCG30	Vivant, BCG modifié	Terminée en 2004, bien toléré par l'humain
rBCG $\Delta ureC:Hly$	Vivant, BCG modifié	Début prévu fin 2007
MVA-85A	Virus de la vaccine modifié	En cours
H1/IC31	Sous-unitaire	En cours
MTB72f/AS02A	Sous-unitaire	En cours
H1/LTK63	Sous-unitaire	En cours
H4/IC31	Sous-unitaire	Début prévu mi-2007

Tableau 1 : Avancement des essais cliniques de la Phase I pour les principaux candidats vaccins contre la tuberculose.¹⁸

- Le plus avancé dans les tests cliniques est le vaccin rBCG30. C'est une souche de BCG qui surexprime l'antigène 85B (Ag85B). Cet antigène, impliqué dans la biosynthèse de l'enveloppe externe est un composé présent dans plusieurs candidats vaccin. Bien qu'il soit abondamment sécrété par BCG, sa surexpression semble augmenter la protection chez le cochon d'Inde, ce qui montre l'importance de cette protéine.²² rBCG30 a été testé en Phase I sur l'homme et semble bien supporté par l'organisme.
- Un autre vaccin BCG recombinant est entré en phase I de test clinique fin 2007. rBCG $\Delta ureC:Hly$ est une souche qui exprime la listeriolysine (Hly), protéine qui perfore la membrane du phagosome. Pour une activité optimale de Hly, le gène *ureC* qui code pour une uréase a été interrompu pour éviter la neutralisation du phagosome.²³ L'apoptose des macrophages infectés semble être le mécanisme responsable d'une réponse amplifiée des lymphocytes T CD8⁺, d'où une meilleure efficacité de ce vaccin.²⁴

-
- MVA-85A est un vaccin qui utilise comme vecteur le virus de la vaccine qui exprime Ag85A, un autre membre de la famille des antigènes protecteurs Ag85. Les premiers tests cliniques ont montré qu'il était non pathogène et bien toléré, et qu'il induisait une forte réponse immunitaire, notamment chez les individus ayant été préalablement vaccinés par BCG.²⁵
 - La protéine de fusion Ag85B-ESAT6 (H1) est obtenue à partir des deux antigènes sécrétés Ag85B et ESAT6 qui font individuellement l'objet de nombreuses études confirmant leur antigénicité chez l'homme. Ag85B-TB10.4 (H4) est une autre protéine de fusion faisant intervenir l'antigène TB10.4, qui a des propriétés immunologiques similaires à ESAT6, mais qui, contrairement à cette dernière, est exprimée chez BCG. Dans l'élaboration des vaccins sous-unitaires, le rôle des adjuvants est très important. H1 est actuellement en cours de test avec deux adjuvants différents IC31²⁶ (combinaison d'un peptide et d'un oligodeoxynucléotide immunostimulants, pour une administration par injection) ou LTK63²⁷ (toxine mutée pour perdre ses propriétés toxiques, pour une administration nasale), et les tests sur H4/IC31 ont commencé en 2007.
 - MTB72f est une protéine de fusion des deux antigènes MTB32 et MTB39 qui sont des cibles importantes des lymphocytes T impliqués dans la réponse à médiation cellulaire chez des patients infectés. Il est formulé avec l'adjuvant AS02A et les résultats des premiers tests cliniques indiquent qu'il est bien toléré chez des sujets sains et induit à la fois une réponse immunitaire à médiation cellulaire et humorale.²⁸

Plusieurs candidats vaccin ont montré des résultats encourageants suite aux premiers tests cliniques sur l'homme. Mais, les recherches continuent afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la réponse immunitaire et d'identifier de nouveaux antigènes pour améliorer ces différents vaccins. Toutes ces formulations mettent en jeu des antigènes peptidiques. Cependant, il a été montré que des lipides pouvaient également être impliqués dans la réponse immunitaire contre la tuberculose.

3. Premières immunisations de cochons d'Inde par des lipides

Des molécules lipidiques et glycolipidiques de l'enveloppe de *M. tuberculosis* peuvent également être présentées aux lymphocytes T.^{29, 30} De tels composés sont présentés par les protéines CD1 analogues aux protéines du CMH. Ces lymphocytes spécifiques des lipides ont aussi une activité bactéricide. Dascher *et al.* ont, pour la première fois, immunisé des cochons d'Inde par un extrait lipidique de *M. tuberculosis*.³¹ Ces lipides ont été formulés en liposomes avec l'adjuvant QS-21, saponine couramment utilisée dans les vaccins pour améliorer leur efficacité.³² Les cochons d'Inde ont reçu trois fois cette préparation, puis ont été infectés par *M. tuberculosis*. Un mois après l'infection, l'étude des poumons et de la rate de ces animaux a montré une réduction significative de la taille des lésions granulomateuses par rapport aux animaux témoins³¹ (Figure 4).



Figure 4 : Analyse des poumons de cochons d'Inde après immunisation par (1) l'adjuvant QS-21 seul, (2) un extrait lipidique de *M. tuberculosis* en formulation avec QS-21 ou (3) le vaccin BCG, puis infection par *M. tuberculosis*. **A.** Nombre moyen de lésions par poumon : il n'y a pas de différences significatives entre les trois groupes. **B.** Les lésions sont plus petites chez les cochons d'Inde ayant reçu l'extrait lipidique ou BCG. Il en découle que le pourcentage de tissus infectés est plus faible pour ces deux derniers groupes.

Ces données montrent un rôle des antigènes lipidiques dans la réponse protectrice à l'infection par *M. tuberculosis*, certainement par la génération de lymphocytes T restreints par CD1. Ces lipides immunogènes, inclus dans la formulation d'un vaccin sous-unitaire, pourront ainsi accroître son effet protecteur.

Il est donc intéressant d'étudier ces protéines CD1 ainsi que les antigènes qu'elles présentent.

III. Les protéines CD1 : molécules présentatrices d'antigènes lipidiques

Parmi toutes les bactéries, *Mycobacterium tuberculosis*, agent responsable de la tuberculose, est le pathogène le plus persistant chez l'Homme. Mais, dans la majorité des cas, le système immunitaire peut contrôler cette infection et, malgré la survie du pathogène, la maladie ne se développe pas.

1. Infection et réponse immunitaire

Mycobacterium tuberculosis peut provoquer diverses formes de la maladie. La tuberculose pulmonaire (phtisie) est de loin la plus fréquente et la plus répandue, mais il existe des atteintes osseuses (mal de Pott, tumeur blanche du genou...), rénales, intestinales, génitales, méningées, cutanées (tuberculomes), etc. La tuberculose pulmonaire est également la plus contagieuse, et se transmet par voie aérienne. Une personne atteinte de tuberculose pulmonaire non traitée peut infecter de 10 à 15 personnes en moyenne chaque année.

A l'occasion de toux ou d'éternuements, un malade contagieux répand dans l'air des microgouttelettes contenant le bacille tuberculeux. Suite à l'inhalation de ces aérosols par un sujet sain, les bacilles vont se loger directement dans les alvéoles pulmonaires où ils sont phagocytés par les macrophages alvéolaires, cellules effectrices importantes du système immunitaire. C'est la primo-infection. Mais, contrairement aux autres bactéries, *M. tuberculosis* inhibe le pouvoir microbicide des macrophages, il peut alors survivre et se multiplier dans ces cellules. Des granulomes, constitués principalement de macrophages, de cellules géantes multinucléées et de lymphocytes T, se forment autour des cellules infectées, ce qui permet de contenir et d'isoler les mycobactéries, assurant ainsi un équilibre entre l'infection et son contrôle par le système immunitaire.³³ Les bacilles peuvent survivre dans cet environnement sans que l'hôte n'ait jamais le moindre symptôme de la maladie. On parle alors de tuberculose latente.³⁴ Dans 5 à 10 % des cas, suite à une immunodéficience, les granulomes ne peuvent plus contenir les bacilles qui se répandent dans les bronches, c'est alors que la maladie se déclare.

La localisation intracellulaire du bacille le protège de la détection par les anticorps. Par conséquent, une réponse anti-mycobactérienne efficace de l'hôte repose sur la mise en place de l'immunité cellulaire dont les effecteurs sont les lymphocytes T $CD4^+$ et $CD8^+$. Conventionnellement, ces cellules sont stimulées par des antigènes peptidiques présentés par les protéines du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et II (CMH-I et CMH-II respectivement) à la surface des cellules présentatrices d'antigènes³⁵ (Figure 5).

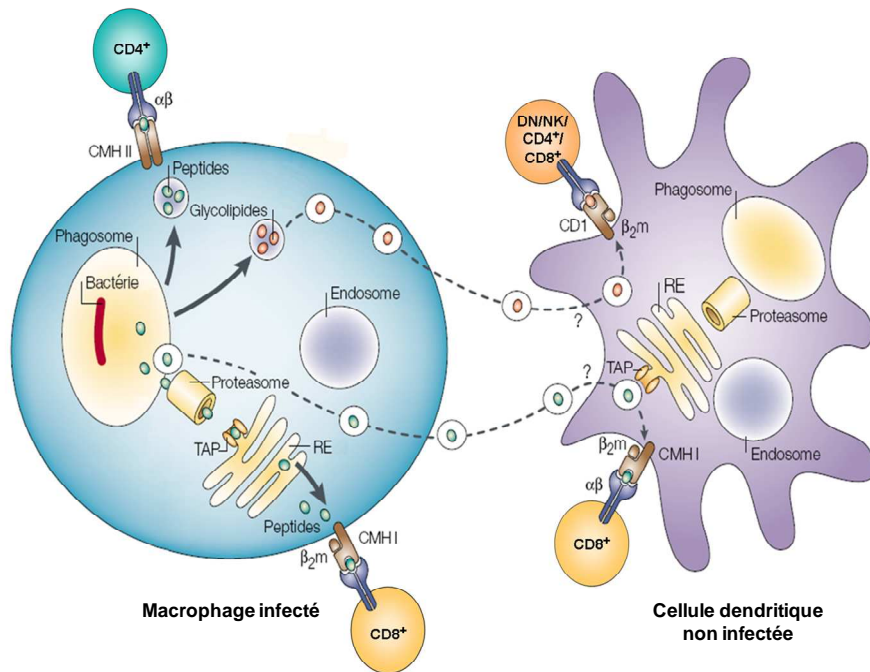


Figure 5 : Trafic des antigènes et présentation aux différents lymphocytes T.³⁶ Les protéines CD1 présentent des antigènes lipidiques par des mécanismes similaires à ceux des protéines du CMH. La présentation croisée, assurée par des vésicules apoptotiques, permet la présentation des antigènes par des cellules non infectées.

Les lymphocytes T peuvent également être stimulés par des lipides bactériens. Ces antigènes lipidiques sont présentés par une troisième classe de molécules présentatrices d'antigènes : les protéines CD1 dont le rôle et la structure sont très proches de ceux des molécules du CMH-I et -II.³⁷ Ce sont des glycoprotéines membranaires exprimées principalement dans les cellules dendritiques³⁸ et qui sont absentes des macrophages.³⁹ Elles sont non ubiquitaires et non polymorphiques.

Grâce à la présentation croisée, des cellules non infectées peuvent également présenter des antigènes lipidiques. Des vésicules apoptotiques contenant des lipides sont libérées des cellules infectées afin de délivrer leur chargement antigénique aux cellules environnantes et notamment aux cellules dendritiques^{40, 41} (Figure 5). Ce mécanisme semble jouer un rôle important dans le cas d'une infection par *M. tuberculosis*, qui touche principalement les macrophages.

Ces antigènes peuvent stimuler des lymphocytes T CD4⁺, CD8⁺, CD4⁻/CD8⁻ ou NKT.⁴² Dans le cas de la tuberculose, la majorité des lymphocytes T spécifiques des lipides circulant dans le sang périphérique des patients semble être CD4⁺.⁴³ De plus, des études récentes indiquent que la plupart des cellules T CD8⁺, activées par des cellules infectées par *M. bovis* BCG, reconnaissent les antigènes lipidiques mycobactériens⁴⁴ et participent à la réponse protectrice.^{45, 46}

Le trafic des protéines CD1 dans la cellule dendritique ainsi que le chargement des antigènes seront détaillés dans un chapitre ultérieur.

2. Structure des protéines CD1

Les protéines CD1 sont présentes chez toutes les espèces mammifères étudiées à ce jour et certains oiseaux. Cinq isoformes existent chez l'Homme, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d et CD1e, que l'on peut classer en trois groupes selon leur structure et leur localisation intracellulaire. Le groupe I comprend CD1a, CD1b et CD1c qui sont présentes chez les primates et le cochon d'Inde, le groupe II est représenté par CD1d, seule isoforme présente chez les souris et les rats.⁴⁷ La protéine CD1e, constituant le groupe III,⁴⁸ est exprimée exclusivement dans les compartiments intracellulaires contrairement à toutes les autres isoformes qui transitent des endosomes à la surface de la cellule. Elle ne présente donc pas les antigènes mais elle joue un rôle dans les mécanismes d'apprêtement des antigènes lipidiques.⁴⁹

Les protéines CD1 sont impliquées dans diverses maladies : les lymphocytes T restreints par la protéine CD1d sont impliqués dans les maladies auto-immunes, les phénomènes de tolérance et d'allergie ainsi que les infections bactériennes, parasitaires, virales ou fongiques.⁵⁰ Ceux restreints par CD1a, CD1b et CD1c participent de façon spécifique à l'immunité anti-mycobactérienne.^{38, 42, 51, 52}

Les protéines CD1 des deux premiers groupes sont structurellement proches des molécules du CMH-I, ce sont des glycoprotéines transmembranaires d'environ 49 kDa, composées de trois domaines extracellulaires (α_1 , α_2 et α_3) liés de façon non-covalente à la β_2 -microglobuline (β_2m).⁵³ (Figure 6)

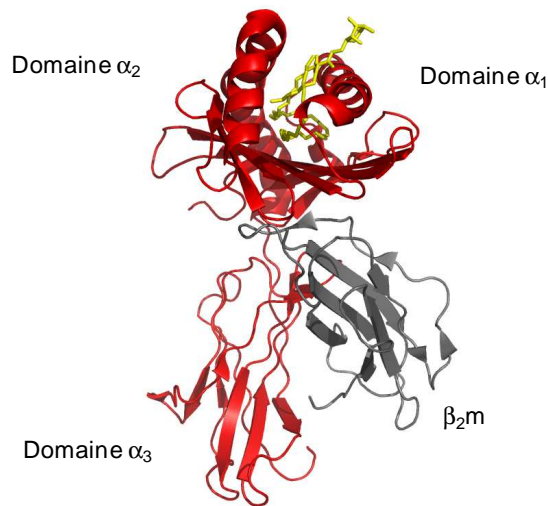
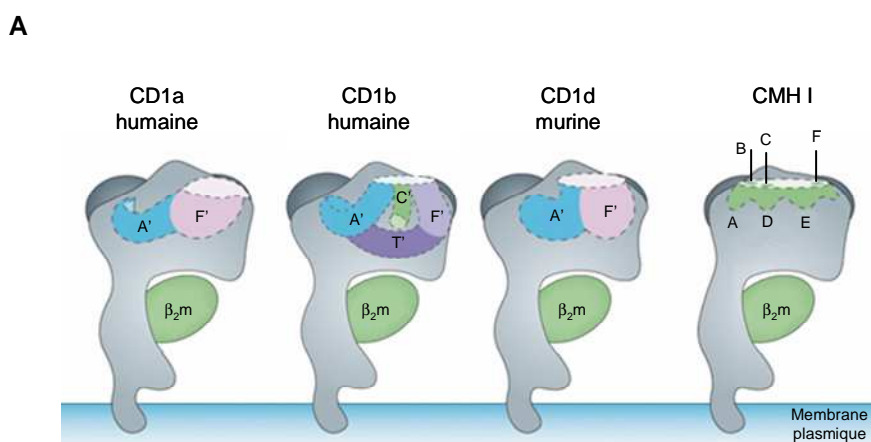


Figure 6 : Exemple d'une structure cristalline de protéine CD1 (CD1b, en rouge) avec la β_2m (en gris) en complexe avec un lipide (glucose monomycolate, en jaune).⁵⁴ Le site de liaison à l'antigène est situé entre les domaines α_1 et α_2 .

Les structures cristallines de trois protéines CD1 ont été réalisées (CD1a⁵⁵ et CD1b^{54, 56, 57} humaines (h) et CD1d murine⁵⁸ (m)) et montrent la présence de cavités apolaires dans les domaines α_1 et α_2 (Figure 6), ce qui est analogue aux domaines de liaison à l'antigène des protéines du CMH-I et -II. Dans le cas des protéines CD1, ces domaines hydrophobes sont plus volumineux (Figure 7) et leur permettent d'ancrer des antigènes lipidiques.

Les protéines CD1 diffèrent les unes des autres principalement par la structure de leur site de liaison à l'antigène, le domaine α_3 étant très bien conservé parmi les isoformes de CD1. Pour hCD1a et mCD1d, il est constitué de deux poches, A' et F'^{55, 58-60}, alors que hCD1b, qui contient le site de liaison le plus volumineux, possède trois canaux hydrophobes A', C' et F' ouverts vers l'extérieur et un tunnel T' qui connecte les canaux A' et F' (Figure 7A). La formation de ce canal est due à la présence de résidus glycine en positions 98 et 116 c'est-à-dire aux extrémités des canaux A' et F'. Ces résidus, dans les autres protéines CD1, possèdent

des chaînes latérales qui ne permettent pas la connexion A'-T'-F', unique à CD1b.^{54, 56, 57} Ce « supercanal » peut accommoder des acides gras extrêmement longs, d'environ 50 atomes de carbone⁵⁴ (Figure 7B). De plus, une des structures de CD1b (avec le phosphatidylinositol (PI)) révèle une sortie en bas du canal C', stabilisée par un pont disulfure Cys131-Cys145, ce qui permet également de lier une chaîne longue.⁵⁶ Mais cette observation n'a pas été confirmée par la structure de CD1b avec la phosphatidylcholine (PC).⁵⁷



B

	CD1a	CD1b	CD1d
A'	C ₁₈	C ₁₈	C ₃₀
F'	C ₁₈	C ₁₂	C ₁₈
T'		C ₂₂	
C'		C ₁₈	
Volume total	1300 Å ³	2200 Å ³	1650 Å ³

Figure 7 : **A.** Représentation schématique des sites de liaisons à l'antigène des différentes protéines CD1 en comparaison avec CMH-I.⁵³ **B.** Tableau récapitulatif des volumes des différentes poches des protéines CD1 cristallisées et les longueurs des chaînes qu'elles peuvent accommoder.^{55, 56, 61}

3. Les antigènes présentés par les protéines CD1

Les antigènes présentés par les protéines CD1 sont des molécules amphiphiles, souvent des glycolipides. Dans les complexes CD1:antigène, les chaînes alkyles du lipide sont ancrées dans les profondes poches hydrophobes, alors que la partie hydrophile est exposée à la surface de la protéine. Le récepteur des lymphocytes T (TCR) interagit à la fois avec la tête hydrophile de l'antigène et avec les acides aminés provenant des deux hélices α_1 et α_2 de CD1 situées à l'entrée de la cavité hydrophobe.⁶²⁻⁶⁴

Les premiers lipides identifiés comme des ligands de la protéine CD1 (et plus particulièrement CD1b) sont les acides mycoliques de *M. tuberculosis* H37Rv²⁹ (Figure 8). Aujourd'hui, diverses familles de molécules sont connues comme stimulant les lymphocytes T restreints par CD1. CD1a présente des sulfatides⁵⁵ et des lipopeptides comme la didéoxymycobactine^{65, 66}; CD1b, des glycolipides⁶⁷ (GMM), des sulfoglycolipides⁶⁸ (Ac₂SGL), des phospholipides (PI ou PC)⁶⁹⁻⁷¹ et des lipoglycane mycobactériens^{30, 72, 73} comme le lipoarabinomannane; CD1c, le β -1-mannose polyprénylphosphate^{74, 75}; et CD1d des glycosphingolipides⁷⁶⁻⁷⁹ comme l' α -galactosylcéramide, ainsi que des petites molécules hydrophobes non lipidiques⁸⁰ comme le phénylpentaméthyl-dihydrobenzofuransulfonate (Figure 8).

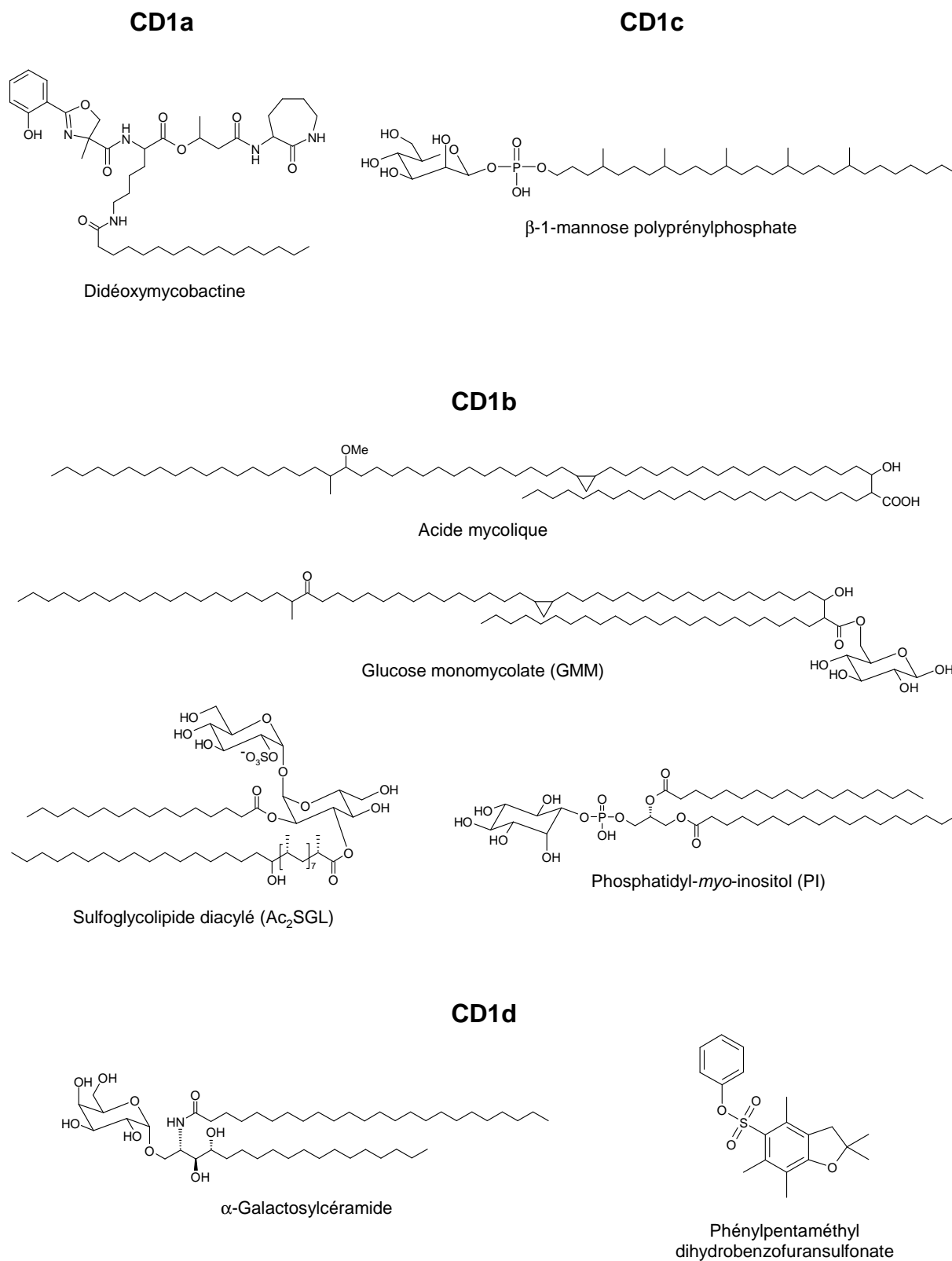


Figure 8 : Structure de quelques ligands des protéines CD1.

4. Trafic intracellulaire des protéines CD1 et chargement des antigènes

Les protéines CD1 sont présentes majoritairement dans les cellules dendritiques. Elles sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique, où elles sont associées à la β_2 -microglobuline. Afin de les stabiliser et de protéger leurs sites de liaisons, il a été montré que CD1b et CD1d étaient chargées par des phospholipides endogènes.^{57, 81}

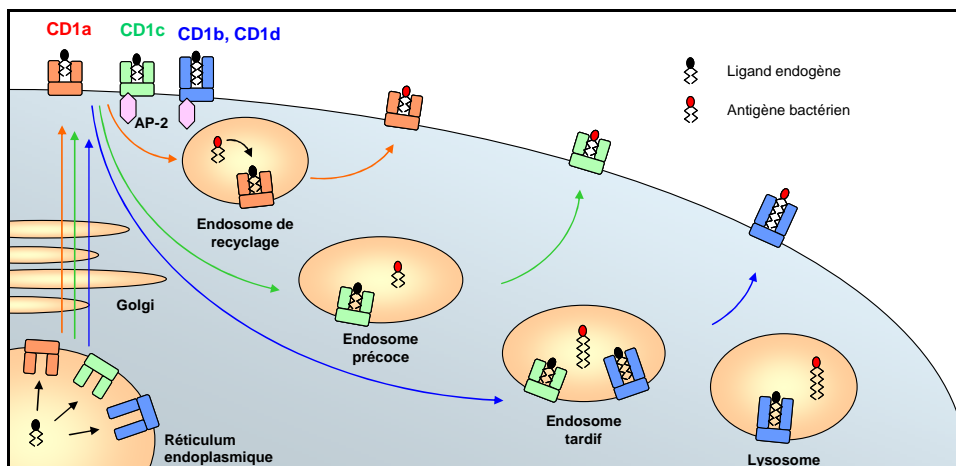


Figure 9 : Localisation et trafic intracellulaire des différentes protéines CD1 dans la cellule dendritique. Toutes ces protéines ne transitent pas jusqu'aux mêmes stades de maturation des endosomes.

Chaque protéine CD1 est caractérisée par un trafic intracellulaire particulier. Après avoir été exprimées à la surface de la cellule (exception faite de CD1e qui est uniquement intracellulaire), elles sont internalisées puis distribuées dans différents compartiments endosomaux plus ou moins tardifs. Les mécanismes d'internalisation ne sont pas bien connus. Cependant, les différences d'adressage sont attribuées à la présence d'un motif YXXZ (où Y est une tyrosine, X, un acide aminé et Z un résidu hydrophobe) dans le domaine cytoplasmique des protéines CD1 qui se lie à la protéine adaptatrice AP-2, impliquée dans l'internalisation des récepteurs membranaires.⁸² Les isoformes CD1b, CD1c et CD1d contiennent cette séquence, contrairement à CD1a. Ainsi, CD1a est adressée aux endosomes de recyclage, CD1c se retrouve dans les endosomes précoces et tardifs, alors que CD1b et CD1d transitent jusqu'aux endosomes tardifs et lysosomes.⁸³ C'est dans ces compartiments que se produisent les rencontres avec les antigènes bactériens, les éventuels apprêtements ainsi que le chargement dans la protéine. Les protéines CD1 sont ensuite recyclées jusqu'à la surface de la cellule

présentatrice d'antigènes afin d'activer les lymphocytes T spécifiques de l'antigène présenté (Figure 9). Selon les compartiments dans lesquels les protéines CD1 transitent, elles rencontrent et chargent les antigènes de structures différentes.

Les lipides exogènes transitent aussi dans les différents compartiments endosomaux de la cellule présentatrice d'antigènes.⁸⁴ Selon la longueur de leurs chaînes, ils sont distribués dans des compartiments cellulaires différents. En effet, des études réalisées sur le glucose monomycolate (GMM, Figure 8) révèlent que selon la longueur de l'acide mycolique, les localisations intracellulaires sont différentes. Ceux estérifiés par de longues chaînes (C₈₀) saturées s'accumulent dans les endosomes tardifs et/ou les lysosomes alors que ceux avec de courtes chaînes (C₃₂) insaturées sont localisés dans les endosomes de recyclage.⁸⁵ Ceci a, par conséquent, des répercussions sur la présentation de ces antigènes par les protéines CD1.^{86, 87} Cette distribution du trafic lipidique entre les endosomes de recyclage et les endosomes tardifs ou lysosomes corrèlerait avec les trafics des différentes protéines CD1 : CD1b et CD1d présentent des molécules dont la partie lipidique est, de façon générale, plus volumineuse que celles des antigènes présentés par CD1a⁸⁸ (Figure 9). Cependant, certains composés comme les PIM (phosphatidyl-*myo*-inositol mannosides) qui contiennent deux acides palmitiques (C₁₆), sont présentés par l'isoforme CD1b.

A la sortie du réticulum endoplasmique, les protéines CD1 sont chargées par des lipides endogènes. Il a été montré que CD1b était chargé par une molécule de phosphatidylcholine (PC) et un autre lipide constitué de 41 à 44 atomes de carbone, dont la structure exacte reste inconnue.⁵⁷ Le chargement des antigènes dans les compartiments endosomaux requiert donc le déplacement de ces lipides. Dans le cas des antigènes dont les chaînes sont trop courtes pour occuper entièrement les poches, on peut imaginer que seulement un des deux lipides est déplacé. Zajonc *et al.* ont publié la structure de CD1d en complexe avec un α -GalCer dont la chaîne acyle est de longueur C₈ et la sphingosine de longueur C₁₈. Étonnamment, la plus courte occupe le canal A', qui est le plus volumineux des deux canaux de CD1d, et un lipide en C₁₆ occupe le reste de la poche.⁸⁹ Pour les antigènes dont les chaînes lipidiques sont plus longues, les deux lipides doivent être déplacés. Dans la structure de CD1b:GMM, la chaîne méromycolique de longueur C₅₀ occupe tout le canal A'-T'-F'.⁵⁴

Pour les sulfoglycolipides diacylés par exemple, il a été montré qu'un passage dans les endosomes tardifs, où le pH est acide, était nécessaire à l'association de cet antigène lipidique avec les protéines CD1.⁶⁸ De même, le chargement des acides mycoliques ou du GMM dans CD1b n'est possible qu'à faible pH.⁹⁰ Ces observations suggèrent que l'acidité générée par des ATPases dans les vésicules pourraient déstructurer les hélices α qui protègent le site de liaison et ainsi permettre l'entrée de l'antigène dans les poches de la protéine.⁷²

Dans le cas des antigènes présentés par les molécules du CMH, le chargement est précédé par de nombreux mécanismes d'apprêtements des protéines par la cellule qui permettent de générer les peptides antigéniques. En ce qui concerne les antigènes lipidiques, subissent-ils une dégradation de leur tête polaire et/ou de leur partie lipidique avant leur chargement ou sont-ils présentés tels quels par les protéines ? Ces mécanismes demeurent encore très mal connus.

Certains antigènes présentés par CD1 sont chargés dans les endosomes tardifs ou les lysosomes, ce qui leur offre l'opportunité d'être exposés à des enzymes qui pourraient modifier leur structure.^{30, 37, 85} Prigozy *et al.* ont été les premiers à mettre en évidence un mécanisme d'apprêtement d'un lipide. Ils ont montré, sur un antigène non naturel, que le disaccharide Gal(α 1 \rightarrow 2)GalCer perdait son galactose terminal avant d'être présenté par la protéine CD1d au TCR.⁹¹ L'existence de tels mécanismes a été confirmé par de la Salle *et al.* sur un antigène mycobactérien. En effet, avant d'être présentés par CD1b aux lymphocytes T, les PIM hexamannosylés (PIM₆) sont dégradés en molécules dimannosylées (PIM₂) par une α -mannosidase lysosomale assistée par la protéine CD1e.⁴⁹ En revanche, aucun apprêtement des parties lipidiques des antigènes n'est encore connu.

Contrairement aux antigènes peptidiques pour lesquels de nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer leurs apprêtements, trafic et chargement, il reste encore de nombreux mécanismes à élucider pour les antigènes lipidiques. Ces molécules hydrophobes se comportent tout à fait différemment des peptides en solution, formant des micelles et des agrégats. Ceci suggère que les mécanismes mis en jeu soient différents de ceux connus pour la présentation par les molécules du CMH.

IV. Modulation de la réponse immunitaire par la structure fine des antigènes

La plupart des antigènes connus présentés par l'isoforme CD1b sont d'origine mycobactérienne. En effet, les lipides présents dans l'enveloppe de *M. tuberculosis* étant plus longs en général que les lipides endogènes ou des autres bactéries, CD1b semble la plus adaptée de la famille CD1 à les présenter aux lymphocytes T. En effet, elle est l'isoforme dont le site de liaison à l'antigène est le plus volumineux et sa localisation dans les endosomes tardifs / lysosomes^{40, 84} permet l'accommodation d'acides gras très longs (cf. paragraphe III. 4. p.26).

Ceci met en évidence l'importance des antigènes lipidiques dans la mise en place d'une réponse protectrice contre la tuberculose. Des études structurales réalisées sur ces lipides permettent de mieux comprendre les bases moléculaires de présentation et de reconnaissance des antigènes par les cellules immunitaires.

1. Déterminants structuraux des antigènes mycobactériens présentés par la protéine CD1b

Tous les composés connus présentés par CD1b sont des molécules amphiphiles. Ils peuvent être divisés en trois classes : i) les acides mycoliques libres,²⁹ ii) les glycolipides comme le glucose mono-mycolate⁶⁷ et les sulfoglycolipides diacylés⁶⁸ et iii) les lipoglycane représentés par le lipoarabinomannane,³⁰ le lipomannane,³⁰ et les PIM^{49, 72} (Figure 10).

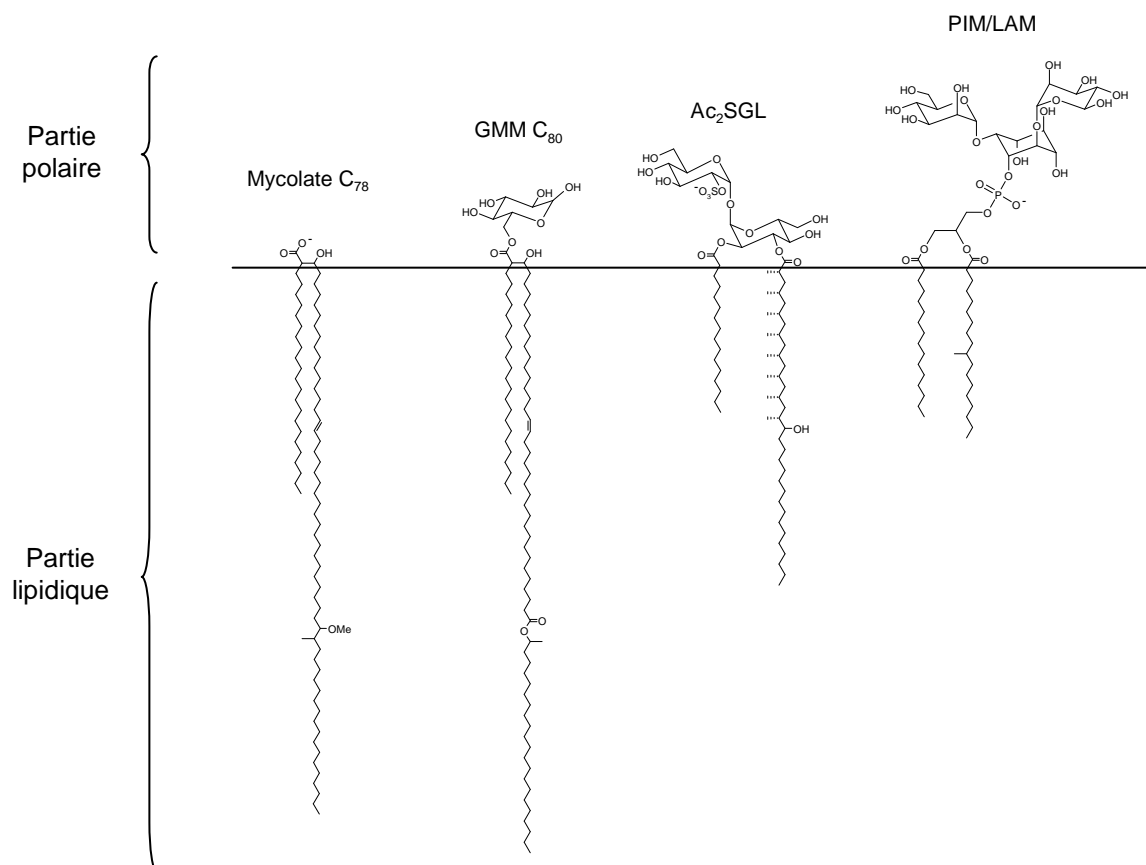


Figure 10 : Structures de quelques antigènes de CD1b.

Parmi ces antigènes, l'acide mycolique et le glucose monomycolate ont été les plus étudiés. Des études structure-fonction ont permis de déterminer les éléments structuraux nécessaires à la reconnaissance de ces composés par le récepteur des lymphocytes T. Pour cela, les lymphocytes T spécifiques de chacun d'eux ont été stimulés avec plusieurs de leurs analogues structuraux.

En ce qui concerne le GMM, les études ont été réalisées sur le clone de lymphocytes T LDN5 CD4⁻/CD8⁻ spécifique du GMM. Ces cellules ont été isolées d'une biopsie de peau d'un sujet atteint de la lèpre, infection causée par *M. leprae*.⁶⁷ Moody *et al.* mesurent l'activation de ces lymphocytes T par le dosage de l'interleukine IL-2 sécrétée en présence du glycolipide présenté par des cellules dendritiques. Tout d'abord, ce clone n'est pas activé par l'acide mycolique, ce qui souligne la nécessité de l'unité glucose. Plus particulièrement, ces travaux indiquent que la reconnaissance des éléments de la partie hydrophile du glycolipide est extrêmement précise.^{67, 92} En effet, d'autres glycolipides tels que le mannose monomycolate ou le galactose monomycolate ne stimulent pas le clone LDN5 ; ce qui montre la spécificité pour

le glucose. La réponse des lymphocytes T au GMM est également dépendante de la configuration absolue des carbones asymétriques α et β de l'acide mycolique⁹² (Figure 11).

En revanche, l'activation de ces lymphocytes T n'est pas affectée par des variations structurales au niveau de la partie lipidique (Figure 11). Plusieurs GMM issus d'autres espèces de mycobactéries ont également été testés et activent les cellules LDN5 avec la même intensité que celui de *M. tuberculosis*. Ils diffèrent les uns des autres par la nature des décorations sur les positions distale et proximale de l'acide mycolique⁶⁷ (Figure 11). Pour étudier l'effet des longueurs de chaînes, un GMM estérifié par un acide mycolique à 32 atomes de carbone a été synthétisé. Celui-ci induit le même niveau de stimulation des lymphocytes T que le GMM naturel, mais à une concentration mille fois supérieure.⁸⁵ Comme on l'a vu précédemment, selon les longueurs de chaînes, les antigènes lipidiques ne sont pas localisés dans les mêmes compartiments cellulaires, ce qui explique les différences de présentation.

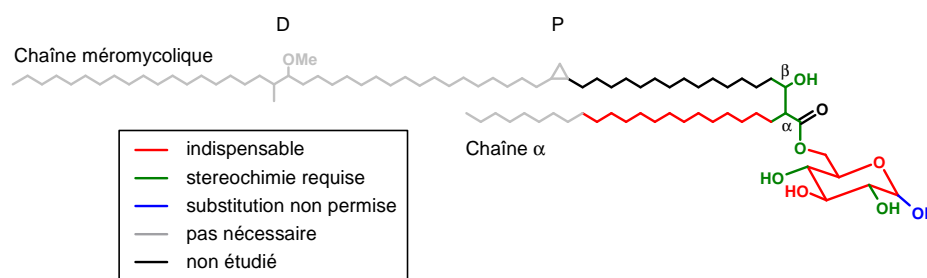


Figure 11 : Importance des éléments structuraux du glucose monomycolate (GMM) pour la reconnaissance par les cellules immunitaires.⁹² 'P' et 'D' indiquent respectivement les positions proximale et distale de la chaîne méromycolique.

Les conclusions de cette étude sont donc que les chaînes lipidiques de l'antigène se lient non spécifiquement à CD1b afin de positionner correctement le groupement hydrophile qui, lui, présente de fortes interactions spécifiques avec le récepteur des lymphocytes T.

De la même manière, des études sur les acides mycoliques ont été réalisées avec le clone DN1 CD4⁻/CD8⁻, obtenu à partir de cellules du sang périphérique d'un donneur sain stimulées par un extrait de *M. tuberculosis*.³⁷ Elles confirment l'importance de la structure de la tête polaire.⁶³ Seule la forme carboxylate est reconnue, et non la forme ester de méthyle, ce qui montre l'importance de la charge négative. Des résultats similaires ont été obtenus avec le sulfoglycolipide diacylé sur le clone correspondant : sans le groupement sulfate, la molécule perd son activité antigénique.⁶⁸

Contrairement au clone spécifique du GMM, les lymphocytes T DN1 sont sensibles à des modifications sur la chaîne méromycolique ; la présence d'un groupement oxygéné (cétone ou méthoxy) est nécessaire sur la position distale de la chaîne (Figure 10).⁶³ Lorsque l'acide mycolique est chargé dans CD1b, une telle modification sur la chaîne se situe au cœur de la protéine ; aussi le mécanisme de cette discrimination par le lymphocyte T reste incompris.

Des études cristallographiques ont permis de comprendre comment le GMM était pris en charge par les protéines CD1b. En effet, Batuwangala *et al.* publient en 2004 la structure du complexe CD1b:GMM à 3.1 Å⁵⁴ (Figure 12A). L'antigène utilisé est un GMM de synthèse dont la structure est représentée Figure 12B, la chaîne α de l'acide mycolique qui l'estérifie (C₈) est plus courte que le naturel (C₂₄). La carte de densité établie par rayons X leur permet de conclure que la chaîne de longueur C₈ s'insère dans la poche C' et la deuxième (C₅₀) entre par A' et occupe tout le canal A'-T'-F'.

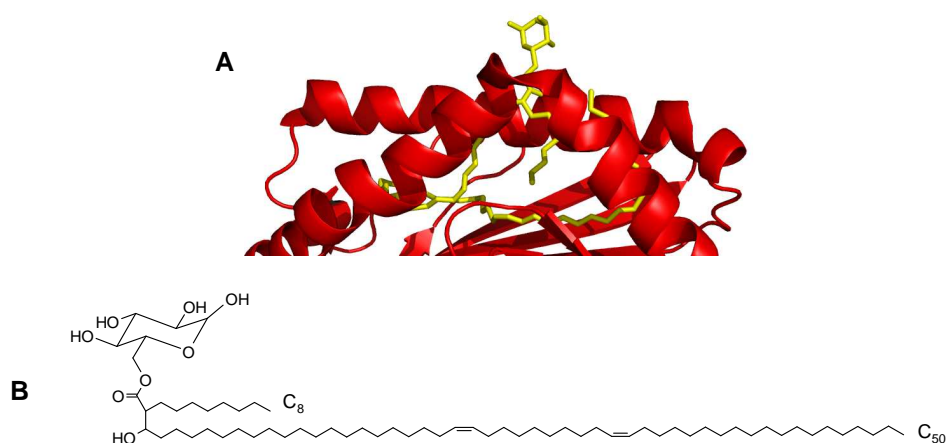


Figure 12 : A. Complexe CD1b:GMM à 3.1 Å.⁵⁴ Structure du site de liaison à l'antigène : les hélices α_1 et α_2 sont en rouge et le GMM en jaune. Sa chaîne courte occupe le canal C' et la plus longue entre par la poche A' et ressort par F'. B. Structure du GMM présent dans le complexe.

2. Etude d'un antigène de CD1d : l' α -Galactosylcéramide

Parmi les protéines CD1, l'isoforme CD1d est, de loin, celle dont la structure a été la plus étudiée. Bien qu'elle ne soit pas impliquée dans la présentation d'antigènes mycobactériens, les travaux réalisés sur CD1d peuvent aider à comprendre les mécanismes de présentation des antigènes par CD1b.

La protéine CD1d présente des antigènes aux lymphocytes T « natural killer » (NKT) dont le récepteur $\alpha\beta$ est semi-invariant. L'agelasphine, glycolipide isolé d'une éponge marine, est le premier lipide identifié stimulant les cellules NKT⁹³ (Figure 13A). Cet antigène, présenté par la protéine CD1d, induit la production de deux principales cytokines, l'IFN- γ et l'interleukine 4 (IL-4) qui conduisent à deux types de réponses immunitaires. D'une part, l'IFN- γ provoque une réponse inflammatoire de type T_H1, et d'autre part, IL-4 engendre une réponse T_H2.

Il semble peu probable que ce composé soit un ligand naturel de CD1d étant données ses origines, cependant, aucun autre lipide naturel n'a encore montré autant d'activité stimulatrice des cellules NKT. L' α -galactosylcéramide (α -GalCer), analogue synthétique de structure plus simple (Figure 13B), a montré une activité comparable à celle de l'agelasphine.⁹⁴ Il est présenté uniquement par CD1d et active sélectivement les cellules NKT V α 14 *in vivo*.⁷⁶ Il est alors utilisé comme glycolipide de référence dans l'étude des interactions de CD1d avec les cellules NKT.

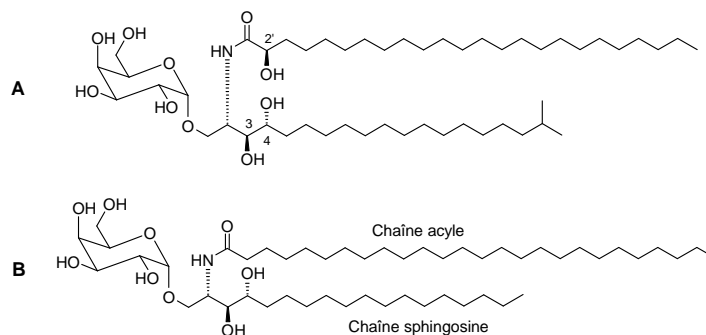


Figure 13 : Structures de deux antigènes présentés par CD1d : **A.** L'agelasphine, un composé naturel. **B.** α -GalCer, une molécule synthétique.

De nombreuses études structure-fonction ont été réalisées à partir de l' α -GalCer afin de déterminer les éléments structuraux nécessaires à sa reconnaissance par les cellules NKT V α 14. Les trois parties de la molécule ont été étudiées : le galactose, la partie polaire du céramide et sa partie lipidique.

a. Le galactose

Comme le céramide seul ne montre aucune activité sur les cellules NKT.⁷⁶ L'étude de plusieurs analogues, ne différant que par leur partie osidique, a permis de définir les éléments structuraux importants reconnus par le TCR.

Tout d'abord, la conformation anomérique α du galactose qui porte le céramide est très importante. En effet, le β -GalCer ne montre aucune activité antigénique.⁷⁶ Alors que la configuration de l'hydroxyle en position 2 doit être équatoriale, celle de l'hydroxyle en position 4 ne semble pas avoir une grande importance (α -GluCer est presque équivalent à α -GalCer alors que α -ManCer est inactif).⁷⁶

Lorsque α -GalCer est substitué sur les positions 2, 3 ou 4 du galactose par un deuxième ose, on observe un apprêtement de ces molécules dans la cellule présentatrice d'antigènes afin de générer l' α -GalCer.^{79, 91} Elles activent alors les cellules NKT de la même façon que α -GalCer. En revanche, si le deuxième galactose glycosyle la position 6 du premier, la molécule est active sans apprêtement.⁷⁹

Les structures cristallines du complexe CD1d: α -GalCer d'une part,⁸⁹ et du complexe ternaire CD1d: α -GalCer:TCR d'autre part,⁶⁰ ont montré que les positions O2 et O3 du glycolipide interagissaient à la fois avec CD1b et avec le TCR. C'est pourquoi aucune modification ni substitution n'est possible sur ces positions. En revanche, O6 n'est en contact ni avec le TCR, ni avec CD1d, et pointe vers le solvant, ce qui permet d'expliquer qu'une substitution en position 6 soit autorisée.

b. La partie polaire du céramide

Les études préliminaires sur la molécule issue de l'éponge marine ont montré que le groupement hydroxyle de la chaîne acyle (position 2', Figure 13) n'avait pas d'influence sur l'activité du composé.⁹⁴

Des études d'interaction entre le complexe CD1d:glycolipide et le TCR ont montré que l'absence de l'hydroxyle en position 4 augmentait la valeur de la constante de dissociation et qu'en absence de celui en position 3 aucune interaction n'était détectée^{95, 96} (Figure 14). En effet, il a été montré plus tard que ce dernier interagissait avec le TCR lors de la reconnaissance par les lymphocytes T. En revanche, celui en position 4, n'interagissant pas avec le TCR, peut jouer un rôle dans l'orientation de la tête polaire à la surface de CD1d.

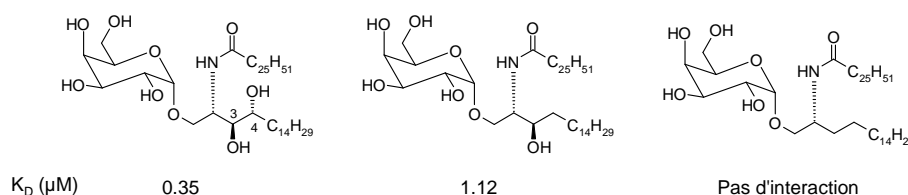


Figure 14 : Structure de glycolipides utilisés pour l'étude des groupements hydroxyyles. Mesure des constantes de dissociation du complexe CD1d:glycolipide avec le TCR des cellules NKT.

c. La partie lipidique du céramide

Pour stimuler les cellules NKT, la présence des deux chaînes acyle et sphingosine est indispensable⁷⁶ (Figure 13). Si l'une des deux chaînes est raccourcie (C_8), le composé active encore les cellules NKT mais entraîne une réponse immunitaire différente de celle provoquée par l' α -GalCer. En effet, alors que ce dernier induit les deux réponses T_H1 et T_H2 , les stimulations avec ces analogues conduisent uniquement à une réponse T_H2 ^{77, 97} (Figure 15). Le même résultat est observé pour les molécules dont la chaîne acyle contient des doubles liaisons de configuration *cis*.⁹⁸

D'après la structure cristalline du complexe CD1d: α -GalCer, la chaîne acyle occupe le canal A' et la sphingosine se loge dans F'.⁵⁹ Elles ne sont donc pas en contact direct avec le TCR, il est alors difficile d'expliquer la manière dont la structure des chaînes peut agir sur le type de réponse induit par les cellules NKT.

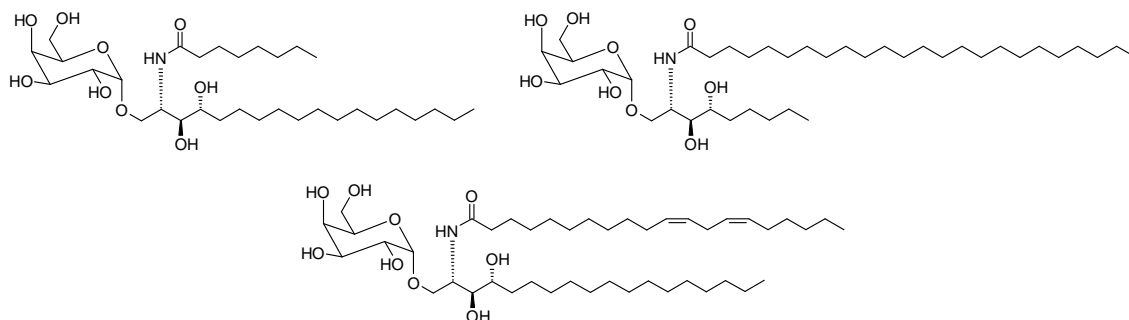


Figure 15 : Structure de quelques antigènes induisant une réponse T_H2 uniquement.

Récemment, McCarthy *et al.* ont publié une étude sur l'effet des longueurs des chaînes de α -GalCer sur l'activation des lymphocytes T, en analysant indépendamment les deux phénomènes qui interviennent dans cette stimulation, à savoir la stabilité du complexe CD1d:glycolipide et l'affinité du TCR pour ce complexe.⁹⁹

Plus les chaînes acyle et sphingosine sont longues et plus le complexe CD1d: α -GalCer est stable. De plus, la présence de deux doubles liaisons *cis* sur les positions C-11 et C-14 de la chaîne acyle (comme dans la Figure 15) augmente également l'affinité du glycolipide pour CD1d par rapport à son analogue saturé.

Cependant, la partie sphingosine, et seulement elle, joue un rôle sur l'affinité du complexe ternaire CD1d:glycolipide avec le TCR des cellules NKT et donc sur l'activation de ces dernières.⁹⁹ En effet, ils montrent que des modifications apportées sur la chaîne lipidique chargée dans le canal F' peuvent moduler la stimulation des lymphocytes T indépendamment de la stabilité du complexe CD1d:antigène. Selon la longueur de la chaîne sphingosine, la protéine CD1d adopterait des conformations différentes perceptibles par le TCR.

La structure cristalline du complexe ternaire CD1d: α -GalCer:TCR publiée par Borg *et al.* supporte cette théorie. Cette structure montre que le glycolipide n'est reconnu que par la chaîne α du TCR et que la chaîne β interagit avec la surface de la protéine située directement au dessus de la poche F'⁶⁰ (Figure 16). Ceci va à l'encontre des modèles établis par analogie avec les complexes CMH-I:peptide:TCR.^{100, 101} En effet, dans ce cas, les deux chaînes α et β sont en contact avec l'antigène.

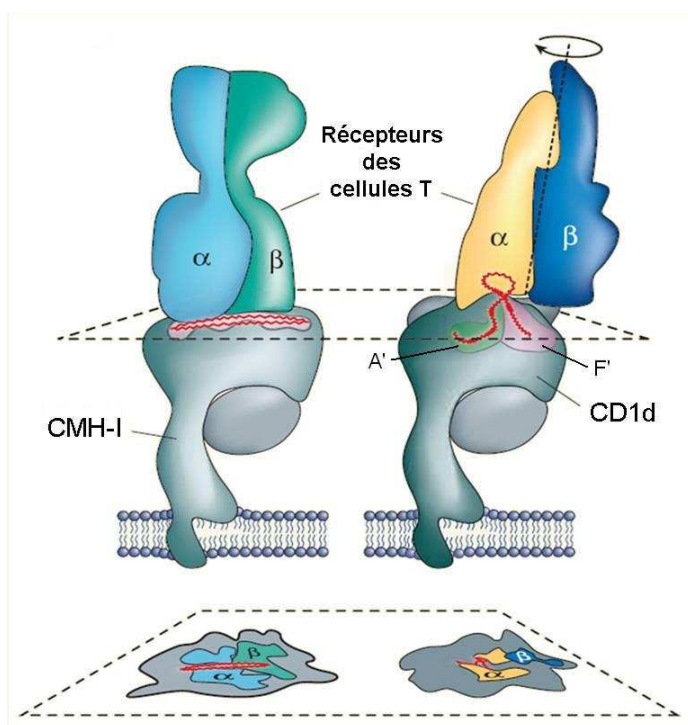


Figure 16 : Schémas des complexes ternaires CMH-I ou CD1d:antigène:TCR.¹⁰²

Comme pour le glucose monomycolate et l'acide mycolique dans le cas de CD1b, les études sur CD1d révèlent que la structure de la partie polaire de α -GalCer est importante pour l'immunogénicité du glycolipide.

En revanche, contrairement au GMM, la structure fine des chaînes lipidiques de α -GalCer joue un rôle dans la modulation de la stimulation des lymphocytes T.

V. Sujet de recherche

1. Les sulfoglycolipides diacylés

Plusieurs lipides mycobactériens sont capables de stimuler des sous-populations de lymphocytes T chez l'Homme. Parmi eux, les sulfoglycolipides diacylés (Ac₂SGL) appartiennent à la famille nommée communément 'sulfolipides' qui sont spécifiques de *Mycobacterium tuberculosis* et dont les représentants majoritaires dans l'enveloppe sont tétra-acylés (Ac₄SGL).¹⁰³

Les Ac₂SGL sont constitués d'un α,α -D-tréhalose sulfaté en position 2' et estérifié sur les positions 2 et 3, respectivement par un acide gras banal (palmitique ou stéarique) et un acide hydroxyphthiocéranolique.⁶⁸ Ce dernier est un acide gras hydroxylé dont la longueur varie de 22 à 38 atomes de carbone. Cette longue chaîne est ramifiée par des groupements méthyles dont le nombre peut varier de 3 à 10 (8 pour la forme majoritaire des Ac₂SGL). Les carbones asymétriques portant ces branchements appartiennent à la série *L* (c'est-à-dire 2*S*,4*S*,6*S*,8*S*,10*R*,12*R*,14*R*,16*R*), la configuration absolue de celui qui porte le groupement hydroxyle n'est pas connue¹⁰⁴ (Figure 17).

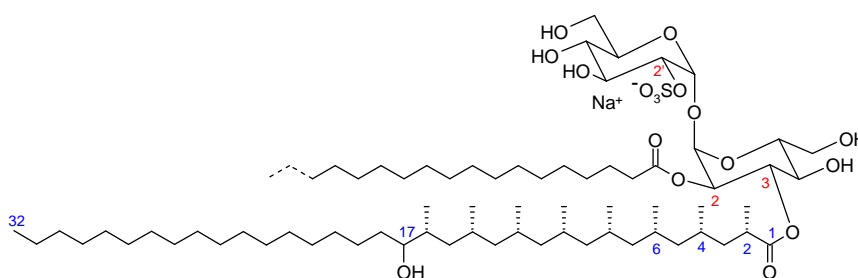


Figure 17 : Structure des formes majoritaires de la famille des sulfoglycolipides diacylés Ac₂SGL.⁶⁸ Il s'agit d'un tréhalose acylé en position 2 par un acide palmitique ou stéarique, acylé en position 3 par un acide hydroxyphthiocéranolique et sulfaté en position 2'.

Ces Ac₂SGL, présentés par la molécule CD1b à la surface des cellules dendritiques, ont la capacité d'activer des lymphocytes T CD8⁺ *ex vivo*. Le clone spécifique de ces Ac₂SGL produit de l'interféron γ , qui active le pouvoir bactéricide des macrophages ainsi que de la perforine et de la granulysine qui tuent les cellules infectées et le bacille intracellulaire.¹⁰⁵ En effet, lorsque des cellules dendritiques, infectées par *M. tuberculosis* H37Rv, sont incubées avec des quantités croissantes de lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL, le nombre de bactéries vivantes diminue.

De plus, des tests effectués sur le sang de différents donneurs révèlent que seuls les patients ayant une tuberculose pulmonaire latente ou active possèdent les lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL. Ces cellules sont donc stimulées uniquement lors d'une infection par *M. tuberculosis*, ce qui montre un rôle particulier de ces lipides dans la défense de l'hôte contre ce bacille.⁶⁸

Les sulfoglycolipides diacylés ont une structure différente des autres antigènes connus présentés par CD1b : ils n'ont ni chaînes mycoliques ni phosphatidylinositol. Il a été montré que l'antigénicité de ces sulfoglycolipides dépendait de la présence du groupement sulfate et des deux acides gras, ce qui suggère qu'ils ne subissent aucun apprêtement dans les compartiments endosomaux par lesquels ils doivent passer pour être chargés. De plus, les sulfoglycolipides tri- et tétraacylés n'activent pas le clone spécifique des Ac₂SGL, ce qui montre que ces Ac₂SGL ne sont pas générés suite à l'apprêtement des formes tri- ou tétraacylés.

La structure du complexe CD1b:Ac₂SGL n'est pas encore résolue. Cependant, en se basant sur les structures cristallines connues des complexes CD1b:lipide,^{54, 56} et en considérant les longueurs des chaînes lipidiques des Ac₂SGL, on peut proposer que la plus courte des deux (palmitique ou stéarique) soit accommodée dans la poche C', la plus longue (hydroxyphthiocéranolique, C₃₂) dans le canal A'-T'-F' et la partie hydrophile exposée à la surface de la protéine, accessible aux récepteur des lymphocytes T.

Pendant l'infection, les Ac₂SGL sont présentés efficacement par la protéine CD1b aux lymphocytes T CD8⁺ dont la fonction clé est de tuer les pathogènes intracellulaires. Ils contribuent donc activement à l'immunité contre *M. tuberculosis*, ce qui en fait un candidat prometteur pour l'élaboration d'un nouveau vaccin moléculaire contre la tuberculose.

2. Projet de thèse

Face à la menace grandissante que représente la tuberculose, le développement d'un nouveau vaccin est devenu une priorité internationale. Dans le cadre de la recherche d'un vaccin sous-unitaire, deux classes d'antigènes semblent intéressantes. D'une part, des antigènes protéiques sont en phase avancée de tests chez l'homme comme Ag85B. D'autre part, les antigènes lipidiques montrent un intérêt grandissant dans l'immunité contre *M. tuberculosis*. En effet, il a été montré que des glycolipides mycobactériens sont capables d'activer des sous-populations de lymphocytes T *via* les protéines de présentation CD1. Au sein du programme européen TB-VAC, notre équipe travaille en collaboration avec l'équipe de G. De Libero (Bâle) sur des antigènes mycobactériens non-protéiques en vue de l'élaboration d'un vaccin sous-unitaire.

Les sulfoglycolipides diacylés (Ac_2SGL) présentent une activité antigénique *in vitro*. Ils ont la capacité d'activer des clones de lymphocytes T $CD8^+$, cellules présentes chez les sujets porteurs du bacille tuberculeux. Ils semblent donc avoir les activités requises pour être testés chez un modèle animal. Ces antigènes sont présentés aux lymphocytes T par la protéine CD1b à la surface des cellules dendritiques. La souris ou le rat, modèles animaux les plus couramment utilisés, ne sont pas adaptés à l'étude des Ac_2SGL car ils ne possèdent que l'isoforme CD1d. Les campagnes d'immunisation doivent donc être réalisées sur des cochons d'Inde.¹⁰⁶ De telles expériences nécessitent une quantité de produit purifié de l'ordre de 10 mg pour chaque essai. Et plusieurs essais sont nécessaires pour déterminer les meilleures conditions de vaccination : l'adjuvant à utiliser, les quantités à injecter, le nombre de rappels...

Cette famille de molécules est présente en faible quantité dans l'enveloppe de *M. tuberculosis*. Environ 1 mg d' Ac_2SGL sont purifiés à partir de 2 L de culture de la bactérie. Si on prend en considération cette faible teneur et également la pathogénie du bacille, il n'est pas concevable de produire et purifier à grande échelle ce composé naturel. Le seul moyen d'obtenir des quantités suffisantes est par synthèse chimique. Mais étant donnée la complexité de la molécule, il est difficile de la synthétiser à l'identique. En particulier, l'acide hydroxyphthiocéranolique, composé d'environ 40 atomes de carbone, possède de 4 à 11 centres asymétriques.

Le sujet de cette thèse porte sur la synthèse d'analogues de ces sulfoglycolipides afin de trouver une molécule ayant une activité antigénique comparable à celle des Ac₂SGL *in vitro*, tout en ayant une structure la plus simple possible pour que sa synthèse soit accessible, et transférable à une production à grande échelle à moindre coût. Les analogues synthétisés ont tous la même partie polaire (2,3-diacyl-2'-sulfate- α,α -tréhalose) et diffèrent les uns des autres par la structure des chaînes lipidiques. Les tests d'activation réalisés sur ces différentes molécules ont permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires qui régissent la présentation des antigènes aux lymphocytes T.

La première partie traitera des stratégies utilisées pour synthétiser ces analogues. Une synthèse générale du sulfoglycolipide diacylé a été mise au point puis, après avoir montré le rôle crucial de la structure fine des chaînes lipidiques, différentes stratégies ont été abordées pour synthétiser des acides gras polyméthylés chiraux.

Une fois les analogues obtenus, leur activité antigénique a été testée *in vitro* sur le clone de lymphocytes T spécifique des Ac₂SGL naturels. Ces résultats, présentés et discutés en deuxième partie, nous ont permis d'évaluer le rôle de la structure des acides gras sur la réponse immunitaire et de trouver un analogue présentant une activité similaire à l'antigène naturel.

Chapitre 1

SYNTHESE D'ANALOGUES DES
SULFOGLYCOLIPIDES DIACYLES
MYCOBACTERIENS

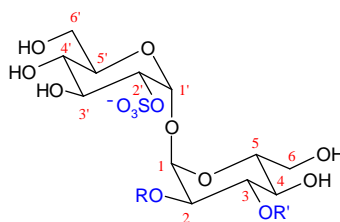
SYNTHÈSE D'ANALOGUES DES SULFOGLYCOLIPIDES DIACYLES MYCOBACTERIENS

L'objectif de cette thèse est de synthétiser des analogues des sulfoglycolipides diacylés mycobactériens (Ac_2SGL) afin de trouver une molécule de structure la plus simple possible ayant une activité biologique similaire à celle du composé naturel. La partie la plus complexe de la molécule réside dans la structure de l'acide hydroxyptiocéranolique. Nous avons donc choisi de synthétiser des analogues ayant la même partie polaire que les Ac_2SGL et différant par la structure des chaînes lipidiques.

Nous avons tout d'abord mis au point une stratégie de synthèse générale des sulfoglycolipides diacylés. Puis, nous avons synthétisé plusieurs acides gras de structures différentes afin d'obtenir une vingtaine d'analogues.

I. Synthèse générale des sulfoglycolipides diacylés

Toutes les molécules synthétisées partagent la même tête polaire à savoir un α,α -tréhalose diacylé sur les positions 2 et 3 et sulfaté en position 2'. La numérotation utilisée est décrite dans la Figure 18.



SGL

Figure 18 : Numérotation utilisée pour les atomes du tréhalose.

1. Stratégie de synthèse

La synthèse de composés 2,3-di-*O*-acyl-2'-sulfate- α,α -D-tréhalose n'a jamais été décrite dans la littérature. Cependant, Baer *et al.* ont publié la synthèse du 2,3-di-*O*-acyl- α,α -D-tréhalose¹⁰⁷ et Liav *et al.* celle du 2-sulfate- α,α -D-tréhalose.¹⁰⁸

La synthèse que nous avons élaborée est inspirée de ces deux publications. Le schéma de synthèse est présenté ci-dessous (Figure 19).

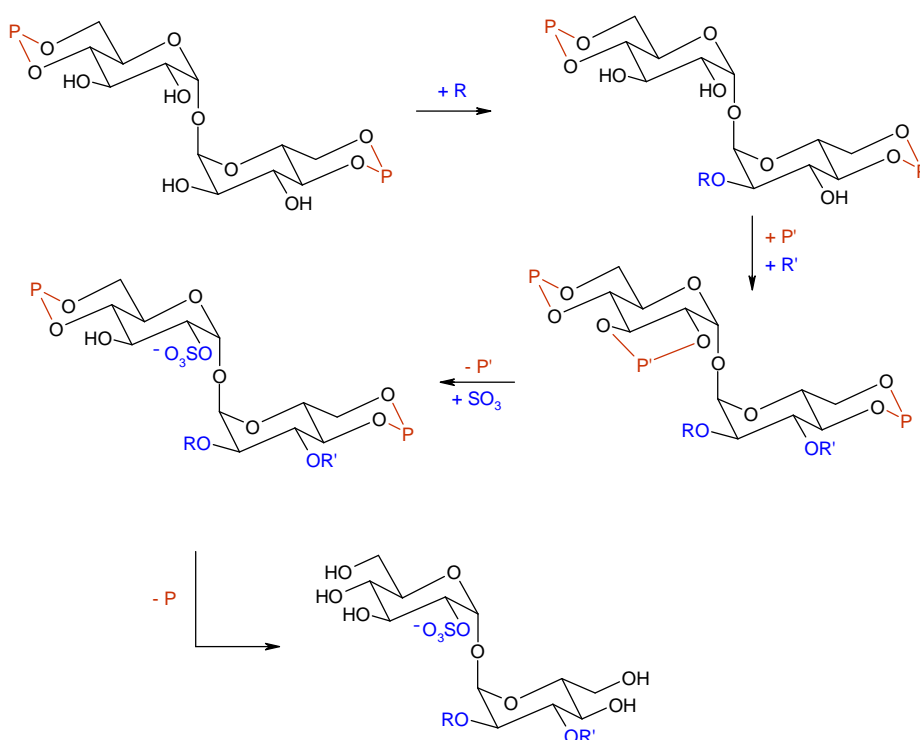


Figure 19 : Schéma de synthèse d'un sulfoglycolipide diacylé. R et R' désignent des groupes acyles et P et P' des groupes protecteurs.

Les positions 4, 6, 4' et 6' du sulfoglycolipide final sont libres, elles doivent donc être bloquées pour toute la durée de la synthèse. Le groupe protecteur (P, Figure 19) choisi par Baer et Liav est le benzylidène, il est donc compatible à la fois avec les estérifications et la sulfatation.^{107, 108}

Cette stratégie de synthèse fait intervenir une protection temporaire (P', Figure 19) des positions 2' et 3'. Elle est réalisée par un groupe silylé bidenté : le tétraisopropylidisiloxane (TIPS) qui permet une déprotection sélective de ces fonctions.

2. Synthèse des sulfoglycolipides diacylés

Tous les analogues ont été synthétisés en utilisant la même stratégie. Elle est décrite dans le cas du 2,3-di-*O*-palmitoyl-2'-*O*-sulfate- α,α -D-tréhalose.

a. Benzylidénation de l' α,α -D-tréhalose

La première étape consiste à protéger les hydroxyles des positions 4, 6, 4' et 6' par des groupements benzylidènes par formation de liaisons acétals pour obtenir le composé **1**,¹⁰⁹ intermédiaire commun à tous les analogues synthétisés.

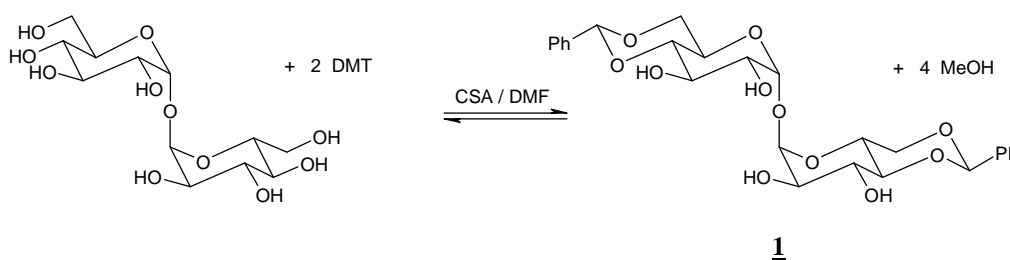


Figure 20 : Synthèse du tréhalose protégé **1**

L' α,α -D-tréhalose est traité par l' α,α -diméthoxytoluène (DMT) en présence d'une quantité catalytique d'acide camphresulfonique (CSA) dans le *N,N*-diméthylformamide (DMF) (Figure 20). Le méthanol formé est éliminé au fur et à mesure afin de déplacer l'équilibre dans le sens de la protection. Après recristallisation, le 4,6;4',6'-di-*O*-benzylidène- α,α -D-tréhalose **1** est obtenu avec un rendement de 84 %.

b. Monoacylation en position 2 par un chlorure d'acyle

Les positions 4 et 6 des deux unités glucose étant protégées, la fonction alcool la plus réactive de **1** est dorénavant celle en position 2 (ou 2' puisque la molécule est symétrique).¹¹⁰ Il est alors possible d'y fixer la première chaîne palmitique.

L'estérification s'effectue dans la pyridine avec le chlorure de palmitoyle qui est un produit commercial (Figure 21).

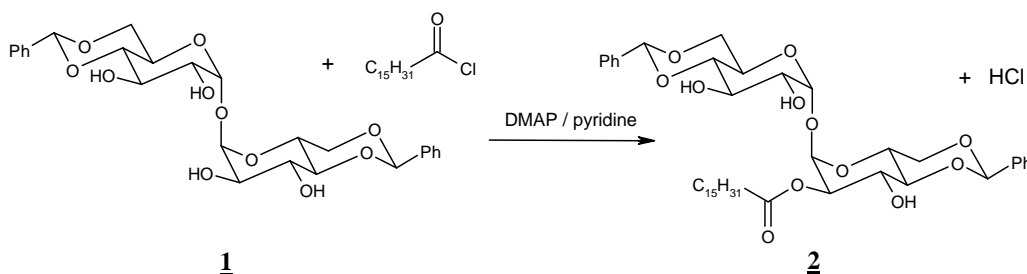


Figure 21 : Synthèse de l'intermédiaire monoacylé en position 2.

Le chlorure d'acyle est introduit en défaut afin de limiter la formation de produit di, tri ou tétraacylé. Le produit acylé en position 3 (ou 3') se forme également, mais il est facilement séparable du produit d'intérêt par chromatographie sur colonne de silice. Le composé **2** est obtenu pur avec un rendement de 27 %.

Il est facile de vérifier par RMN du proton la localisation de la chaîne lipidique sur le sucre. En effet, le déblindage du doublet dédoublé correspondant au proton H-2 vers 5 ppm indique que l'estérification a eu lieu en position 2. Le proton H-3 couplant avec les protons H-2 et H-4 avec la même constante de couplage, son signal est un « faux » triplet. Dans le cas d'une acylation en position 3, c'est donc un triplet qui est déblindé.

c. Protection des positions 2' et 3'

Afin de pouvoir fixer la deuxième chaîne lipidique en position 3 sur la même unité glucose que la première, les positions libres (2' et 3') de l'autre unité doivent être préalablement protégées.

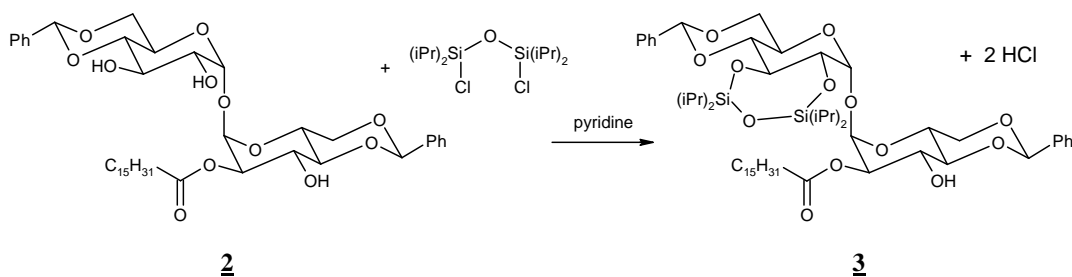


Figure 22 : Protection des hydroxyles 2' et 3' par un groupement TIPS.

Le 1,3-dichloro-1,1,3,3-tétraisopropyldisiloxane (TIPSCl_2) est un agent de silylation qui permet la protection en une seule étape de deux fonctions hydroxyles voisines (Figure 22). En effet, ce composé bidenté se fixe d'abord sur la position 2' (la plus nucléophile de **2**) puis se ferme sur la position 3'. Il peut également se refermer sur la position 3, bien qu'entropiquement moins favorable. Ce sous-produit est éliminé par chromatographie sur colonne de silice.

Le produit silylé **3** est obtenu pur avec un rendement de 58 %.

d. Acylation de la position 3 par la deuxième chaîne lipidique

Il n'y a maintenant plus qu'une seule fonction alcool libre sur le tréhalose (position 3) susceptible de réagir pour fixer la seconde chaîne hydrocarbonée. Cependant, cette acylation est plus difficile que la première :

- à cause de la gêne stérique engendrée par la présence du groupement TIPS et de la chaîne palmitique
- du fait que la position 3 est moins nucléophile que la position 2.

Cette deuxième acylation sur **3** s'effectue également avec le chlorure de palmitoyle. Dans ce cas, afin d'améliorer le rendement d'estérification, le chlorure d'acyle est introduit en excès puisqu'il n'y a pas de risques de former des composés indésirables (Figure 23). Le composé **4** est obtenu avec 74 % de rendement.

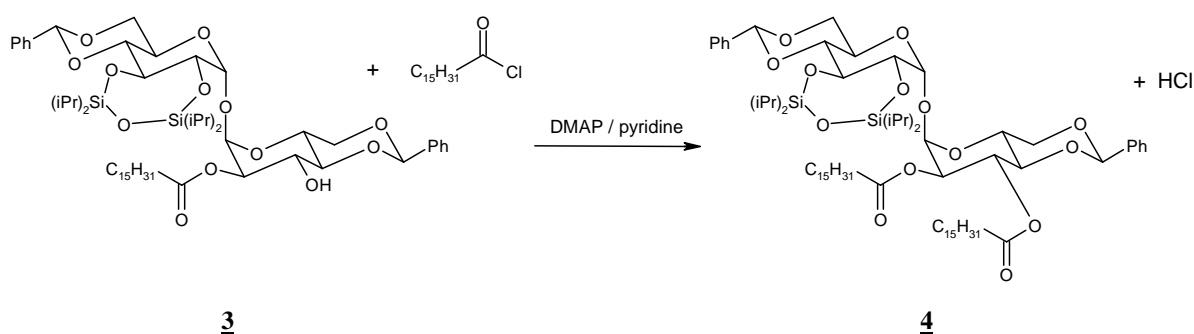


Figure 23 : Acylation de la position 3.

Pour la plupart des autres analogues synthétisés, la chaîne lipidique acylée en position 3 n'est pas commerciale, elle est obtenue par synthèse sous forme d'acide carboxylique. Dans ces cas là, une activation préalable avec le chlorure d'oxalyle est nécessaire afin d'obtenir le chlorure d'acyle correspondant.

De meilleurs rendements ont été obtenus en utilisant le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) comme agent d'activation de l'acide carboxylique. Cette réaction nécessite au moins deux jours de chauffage classique à 110°C, conditions fortes qui peuvent provoquer la dégradation des produits, et donc la présence de nombreux composés dans le milieu. Le chauffage aux micro-ondes permet de parvenir en seulement 15 minutes à des rendements similaires et des milieux réactionnels plus propres. L'inconvénient de cette méthode est que l'acide, souvent précieux, qui n'a pas réagi, ne peut pas être récupéré. D'après les spectres RMN, il semble avoir réagi avec le DCC pour donner un composé que nous n'avons pas réussi à hydrolyser ni en milieu basique ni acide.

Selon l'acide gras utilisé dans cette réaction, des rendements très variables ont été observés. Les plus courts se fixent plus facilement et les acides conjugués, moins électrophiles que leurs analogues saturés, estérifient le tréhalose avec de moins bons rendements.

Un fort déblindage du signal du proton H-3 en RMN (triplet) permet de confirmer l'acylation de la position 3 du tréhalose.

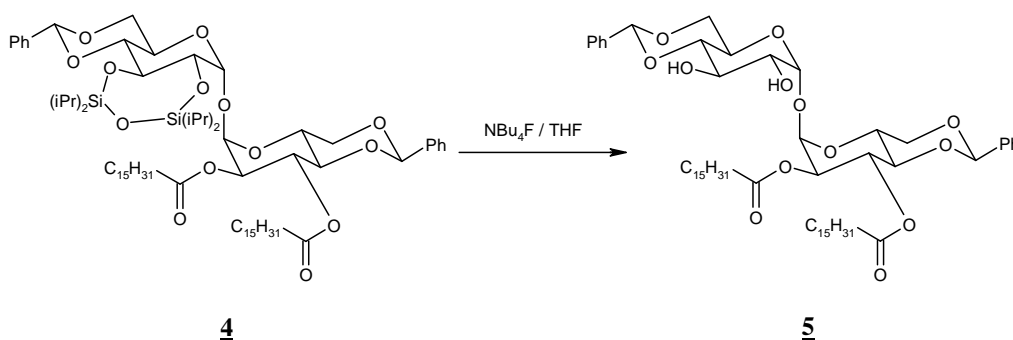
e. Déprotection des positions 2' et 3'

Figure 24 : Déprotection sélective du groupement silylé.

Afin de permettre la sulfatation en position 2', les positions 2' et 3' de **4** sont déprotégées sélectivement avec une solution de fluorure de tétrabutylammonium (NBu₄F, 1M) dans THF (Figure 24). Le pH de cette solution commerciale est ajusté à 6-6.5 par ajout d'acide trifluoroacétique. En effet, un milieu réactionnel basique provoque la migration des groupements acyles d'une unité glucose à l'autre, et si le milieu est trop acide, les fonctions acétals des groupements benzylidènes peuvent s'hydrolyser. Le composé **5** est obtenu avec un bon rendement (81 %).

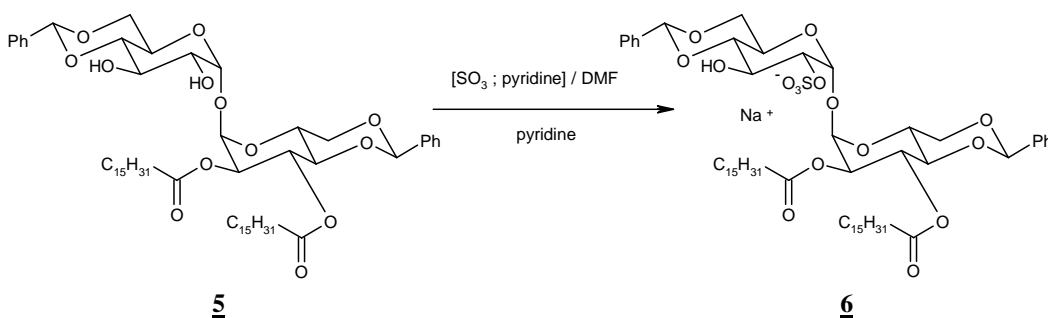
f. Sulfatation de la position 2'

Figure 25 : Sulfatation de la position 2'.

Le réactif utilisé pour la sulfatation est le complexe [SO₃ ; pyridine] (Figure 25). Un mélange DMF / pyridine est utilisé comme solvant de réaction, il permet de réduire le temps de réaction par rapport à l'utilisation de pyridine seule.

La sulfatation conduit à la formation de trois composés : deux isomères monosulfatés, en 2' et en 3' et un composé disulfaté en très petite quantité. Le groupement hydroxyle de la position 2' étant plus nucléophile que celui de la position 3'¹¹¹, le produit souhaité est le composé majoritaire du mélange. Il est obtenu pur avec un rendement de 45 %.

Le composé est obtenu sous forme anionique. Le contre-cation associé est certainement un cation apporté par l'eau ajoutée en fin de réaction : sodium ou potassium.

g. Déprotections finales

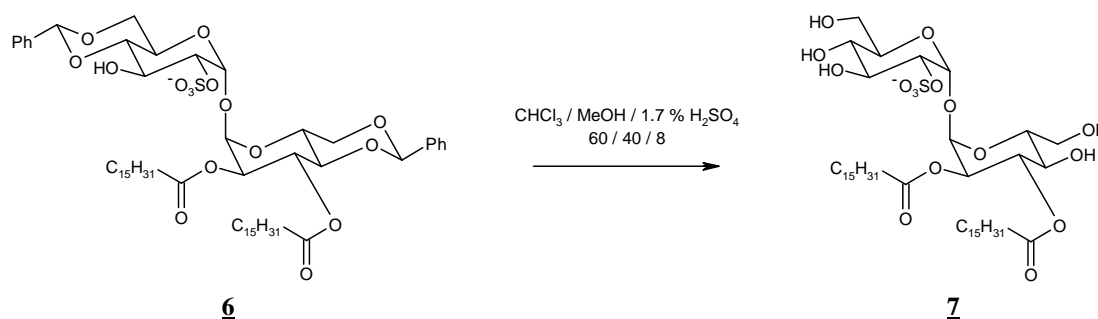


Figure 26 : Déprotections finales.

La dernière étape consiste à éliminer les dernières protections encore présentes sur la molécule à savoir les benzylidènes en positions 4, 6, 4' et 6'. Les fonctions acétals étant sensibles aux conditions acides, le composé **6** est déprotégé avec une solution d'acide sulfurique. Cependant, l'acidité est soigneusement contrôlée pour éviter le départ du groupement sulfate. Tenant compte de ces contraintes ainsi que de la solubilité du composé, la déprotection est réalisée avec un mélange : $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/1.7\% \text{H}_2\text{SO}_4$ (60/40/8) (Figure 26). En fin de réaction, le milieu est neutralisé avec de la triéthylamine ou une solution aqueuse de NaHCO_3 . Le sulfoglycolipide **7** est ainsi obtenu de façon quantitative.

Ce premier sulfoglycolipide synthétisé nous a d'abord permis de confirmer la structure du sulfoglycolipide naturel, c'est à dire les positions d'estérifications par les acides gras et du groupement sulfate sur le tréhalose. En effet, en comparant les spectres RMN dans la zone autour de 5 ppm, du produit naturel (Figure 27A) avec le composé **7** (Figure 27B) et son

analogue sulfaté en position 3' (Figure 27C), on peut conclure que la molécule naturelle est bien acylée sur les positions 2 et 3 et sulfatée en position 2'.

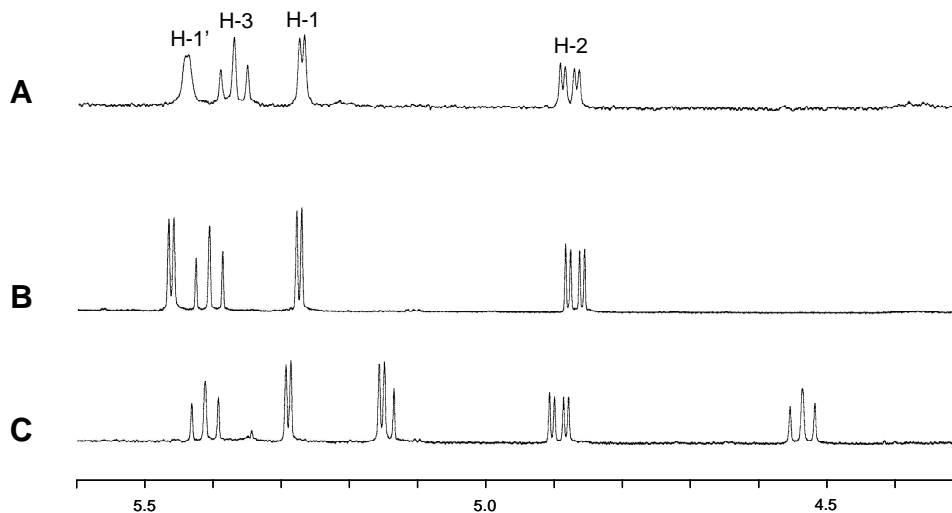


Figure 27 : Comparaison des spectres RMN ^1H (4.3-5.6 ppm) de **A.** Ac_2SGL (Na^+) avec **B.** Composé **7** (NH_4^+) ; et **C.** 2,3-Di-*O*-hexadécanoyl-3'-*O*-sulfate- α,α -D-tréhalose (NH_4^+). La structure du produit naturel est ainsi confirmée et notamment la position du groupement sulfate.

Nous avons pu remarquer que la présence du contre-cation triéthylammonium permettait d'obtenir des spectres RMN mieux résolus que dans le cas du cation Na^+ . Les sulfoglycolipides sont des molécules amphiphiles, qui ont par conséquent tendance à s'organiser en micelles dans les solvants organiques. La présence des cations triéthylammonium semble aider leur solubilisation, homogénéisant ainsi le milieu. Cependant, comme ces composés sont ensuite utilisés pour des tests d'activation sur cellules, l'utilisation de triéthylamine n'est pas préconisée. Tous les analogues synthétisés ont donc été obtenus avec le cation sodium.

Nous avons donc mis au point une synthèse de sulfoglycolipides diacylés de structure analogue à celle des Ac_2SGL naturels. Dans un premier temps, grâce à la synthèse du 2,3-di-*O*-hexadécanoyl-2'-*O*-sulfate- α,α -D-tréhalose **7**, nous avons pu confirmer les positions des deux acides gras et du groupement sulfate sur le tréhalose dans la structure de l'antigène naturel.⁶⁸ Puis cette stratégie a pu être adaptée à la synthèse d'autres sulfoglycolipides estérifiés par des chaînes lipidiques de structures diverses.

II. Mise en évidence de l'importance de la structure fine des chaînes lipidiques

Une fois la stratégie de synthèse générale des sulfoglycolipides mise au point, l'objectif était de synthétiser un composé ayant une activité biologique similaire à Ac₂SGL.

Pour cela, nous nous sommes basés sur les études structurales réalisées par Moody *et al.* concernant le GMM, antigène glycolipidique mycobactérien également présenté aux lymphocytes T par la protéine CD1b (cf. paragraphe IV. 1., p.29). Ces travaux indiquent que la structure de la partie lipidique de l'antigène n'a aucune influence sur la reconnaissance par le TCR des lymphocytes T, seule la structure de la partie polaire peut moduler la réponse immunitaire.^{67, 92} Les premiers analogues ont alors été synthétisés avec des acides gras banals commerciaux.

1. Analogues estérifiés par des acides linéaires

Le premier sulfoglycolipide **7** (Figure 26, p.50), dont la synthèse est décrite en partie I., est acylé par un acide hexadécanoïque en positions 3 du tréhalose (Figure 28B).

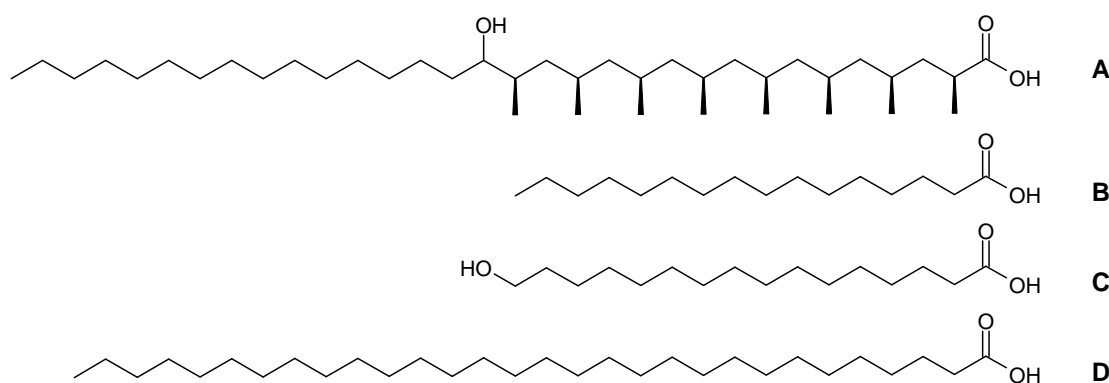


Figure 28 : Comparaison des structures des acides (A) hydroxyptiocéanoïque, (B) hexadécanoïque, (C) 16-hydroxyhexadécanoïque et (D) triacontanoïque.

Nous avons souhaité synthétiser un analogue de sulfoglycolipide contenant un acide gras hydroxylé. En effet, l'acide hydroxyphthiocéranolique porte un groupement hydroxyle au milieu de sa chaîne (sur le C-17 pour la forme majoritaire des Ac₂SGL). Un tel groupement peut avoir un rôle particulier dans un environnement hydrophobe tel que les poches de CD1b. L'acide 16-hydroxyhexadécanoïque est commercial et sa fonction alcool est située à peu près sur le même atome de carbone que l'acide hydroxyphthiocéranolique dans sa forme majoritaire (Figure 28A et C).

Avant d'acyler la position 3 du tréhalose, la fonction alcool doit être protégée en prévision de l'étape de sulfatation. Le groupement tétrahydropyrane (THP) permet de protéger cet hydroxyle par formation d'une fonction acétal. THP est compatible avec la suite de la synthèse du sulfoglycolipide et l'alcool sera déprotégé lors de la dernière étape d'hydrolyse des groupements benzylidènes (Figure 26).

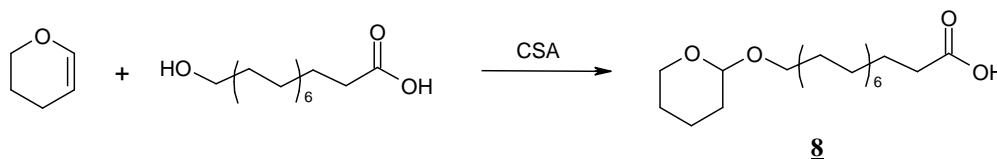


Figure 29 : Protection de la fonction alcool.

L'acide 16-hydroxyhexadécanoïque réagit avec le 3,4-dihydro-2*H*-pyrane (DHP) pour protéger sélectivement le groupement hydroxyle de l'alcool (Figure 29). L'acide **8** est utilisé pour l'estérification du composé **3** afin de synthétiser le sulfoglycolipide **12** (Figure 30).

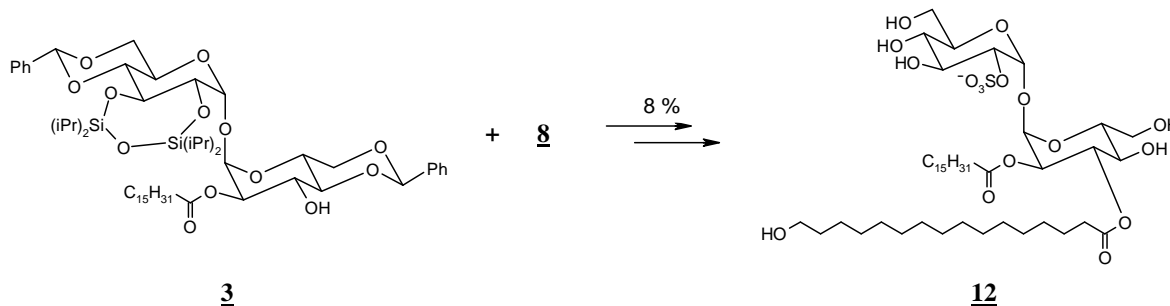


Figure 30 : Synthèse du sulfoglycolipide **12**, estérifié en position 3 par l'acide 16-hydroxyhexadécanoïque. Il est obtenu avec un rendement de 8 % sur les 4 dernières étapes.

Puis, nous avons synthétisé le sulfoglycolipide **16** (Figure 31) acylé en position 3 par l'acide triacontanoïque afin d'être plus proche de la longueur de l'acide hydroxyptiocéranolique (Figure 28A et D).

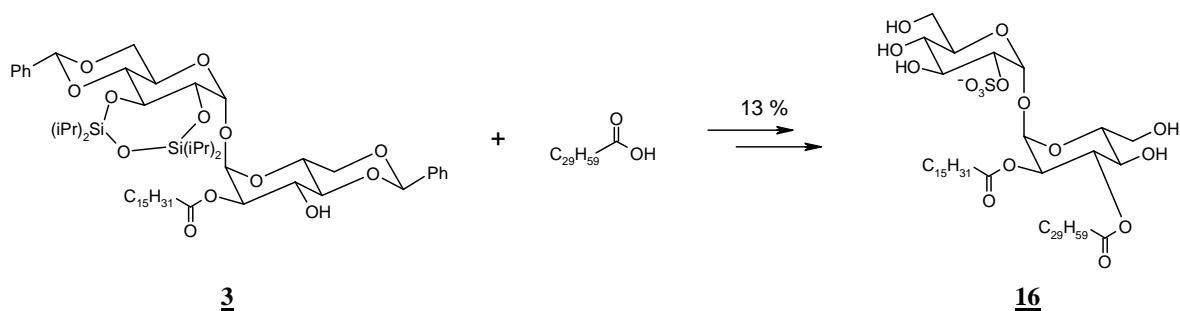


Figure 31 : Synthèse du sulfoglycolipide **16**, estérifié en position 3 par l'acide triacontanoïque. Il est obtenu avec un rendement de 13 % sur les 4 dernières étapes.

Ces trois analogues **7**, **12** et **16** ont été testés sur cellules et n'ont montré aucune activité antigénique (cf. Chapitre 2). Le composé **16**, estérifié par l'acide triacontanoïque, ne diffère du composé naturel que par l'absence des substituants méthyles et hydroxyle de l'acide gras situé en position 3 du tréhalose. Ceci semble indiquer que ces ramifications joueraient un rôle dans l'activation des cellules immunitaires.

2. Préparation de sulfoglycolipides par hémisynthèse

Les premiers analogues synthétisés, contenant des chaînes linéaires, n'ont montré aucune activité sur le clone de lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL. Ceci va à l'encontre des résultats publiés par Moody sur l'étude de l'influence des structures lipidiques du GMM sur la reconnaissance par le TCR.⁹²

Pour confirmer la structure de l'antigène naturel, nous l'avons synthétisé à l'identique par hémisynthèse c'est-à-dire en estérifiant le dérivé de tréhalose synthétique **3** par l'acide hydroxyphthiocéranolique naturel, purifié de l'enveloppe mycobactérienne. Cet acide est spécifique du complexe *M. tuberculosis* et parmi tous les glycolipides de l'enveloppe, il n'est présent que sur les sulfoglycolipides di- (Ac_2SGL , Figure 17, p.38), tri- (Ac_3SGL) et tétraacylés^{68, 112} (Ac_4SGL). Les Ac_4SGL sont ceux présents en plus grande quantité et contiennent, en moyenne, deux chaînes hydroxyphthiocéranolique (Figure 32).

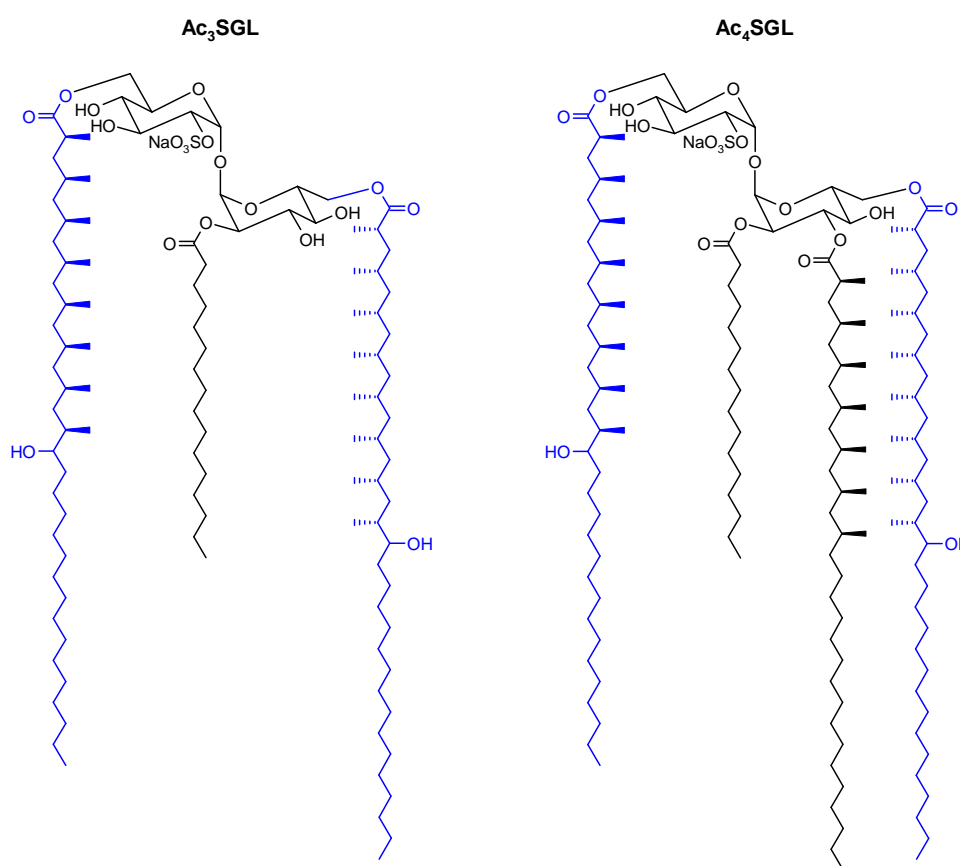


Figure 32 : Structures des Ac_3SGL et Ac_4SGL majoritaires. Les chaînes hydroxyphthiocéranoliques sont représentées en bleu.

Une première étape a été de purifier ces glycolipides puis ceux-ci ont été éthanolysés afin de récupérer les différentes chaînes lipidiques sous forme d'esters d'éthyle.

a. Purification des sulfoglycolipides naturels

Le schéma de purification utilisé est celui élaboré par Martine Gilleron au laboratoire lors de l'isolation des sulfoglycolipides diacylés⁶⁸ (Figure 33).

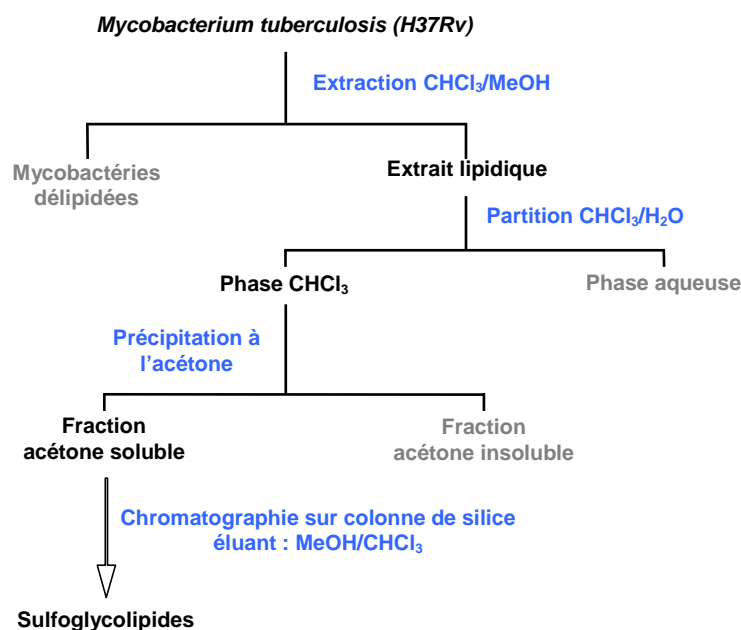


Figure 33 : Schéma de purification des sulfoglycolipides de *M. tuberculosis*.

La culture de la souche virulente *M. tuberculosis* H37Rv est extraite avec un mélange chloroforme / méthanol puis l'extrait lipidique obtenu est partitionné entre du chloroforme et de l'eau afin d'éliminer les protéines et les glucides. Le mélange obtenu est précipité à l'acétone pour éliminer les phospholipides, puis filtré, les sulfoglycolipides sont dans le filtrat avec tous les glycolipides de la paroi (Fraction acétone soluble). Une chromatographie sur colonne de silice, éluee avec du chloroforme contenant une proportion croissante de méthanol, permet de fractionner ce mélange de glycolipides (Figure 33).

Les différentes fractions sont analysées par spectrométrie de masse MALDI-Tof en mode négatif, pour vérifier la présence des sulfoglycolipides (Figure 34).

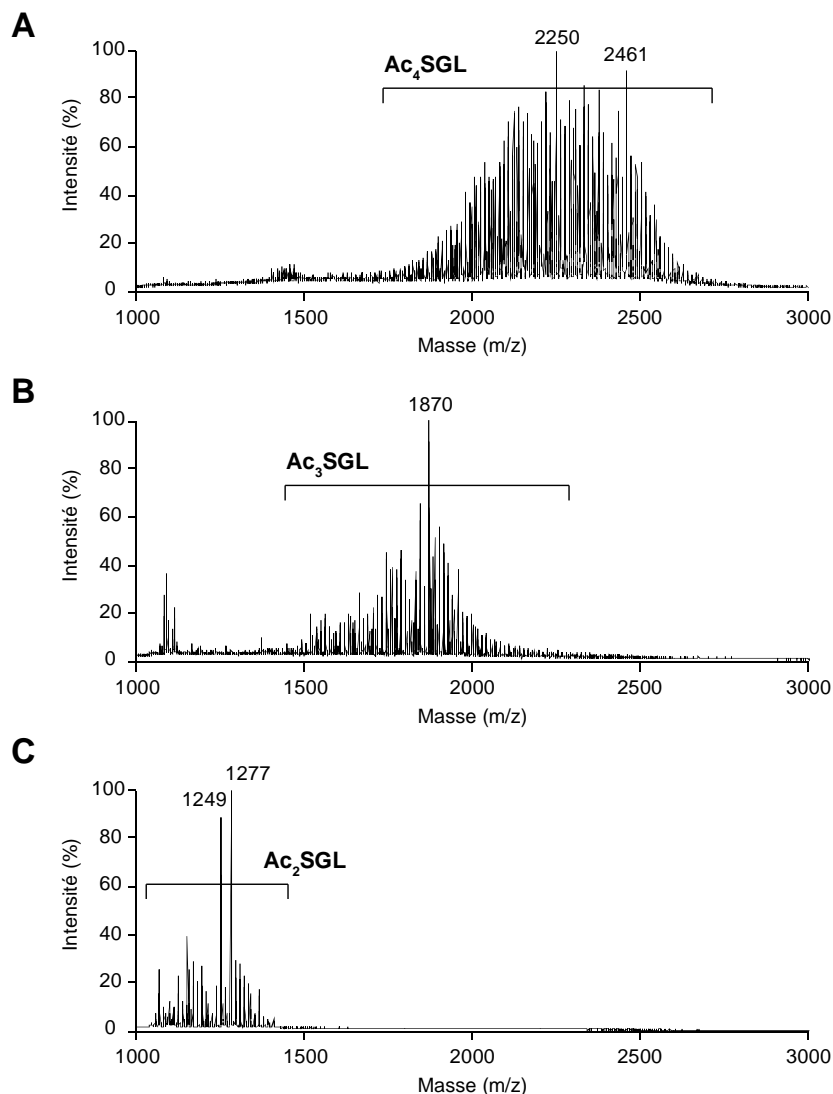


Figure 34 : Spectres MALDI-Tof en mode négatif de différentes fractions contenant, dans l'ordre d'éluion : **A.** les Ac₄SGL, **B.** les Ac₃SGL et **C.** les Ac₂SGL.

A ce stade de la purification, ces fractions sont contaminées par les tréhaloses di- et triacylés (DAT et TAT respectivement, Figure 35A) élués respectivement avec les Ac₃ et Ac₄SGL. Ce sont des glycolipides neutres présents dans l'enveloppe de *M. tuberculosis*, en quantité plus importante que les sulfoglycolipides : 1 g de fraction acétone soluble contient environ 1 mg d'Ac₂SGL, 0.5 mg d'Ac₃SGL, 12 mg d'Ac₄SGL, 23 mg de DAT, et environ 30 mg de TAT. Leur présence est confirmée par spectrométrie de masse MALDI-Tof en mode positif (Figure 35B).

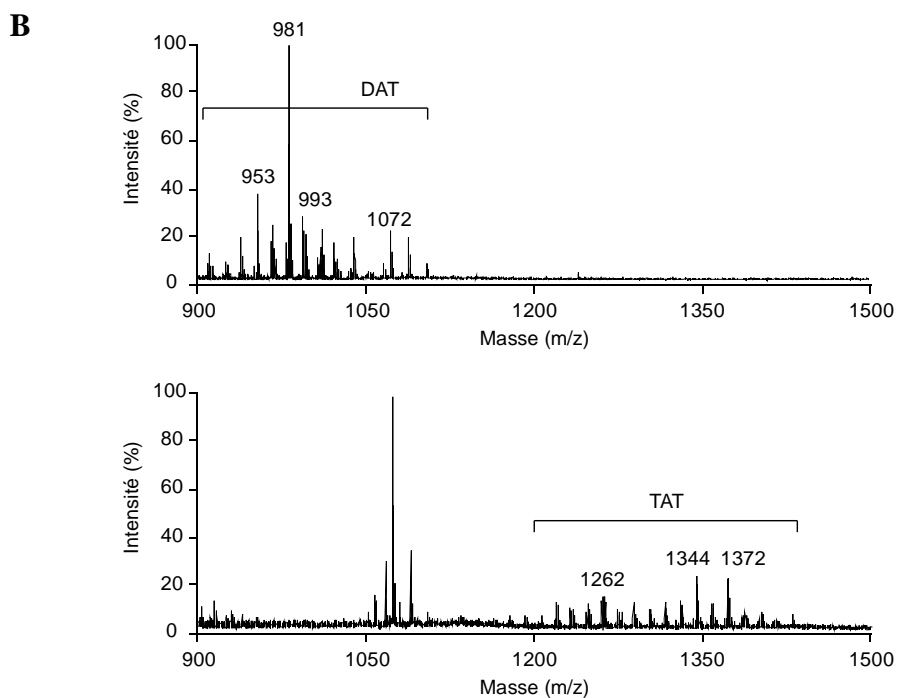
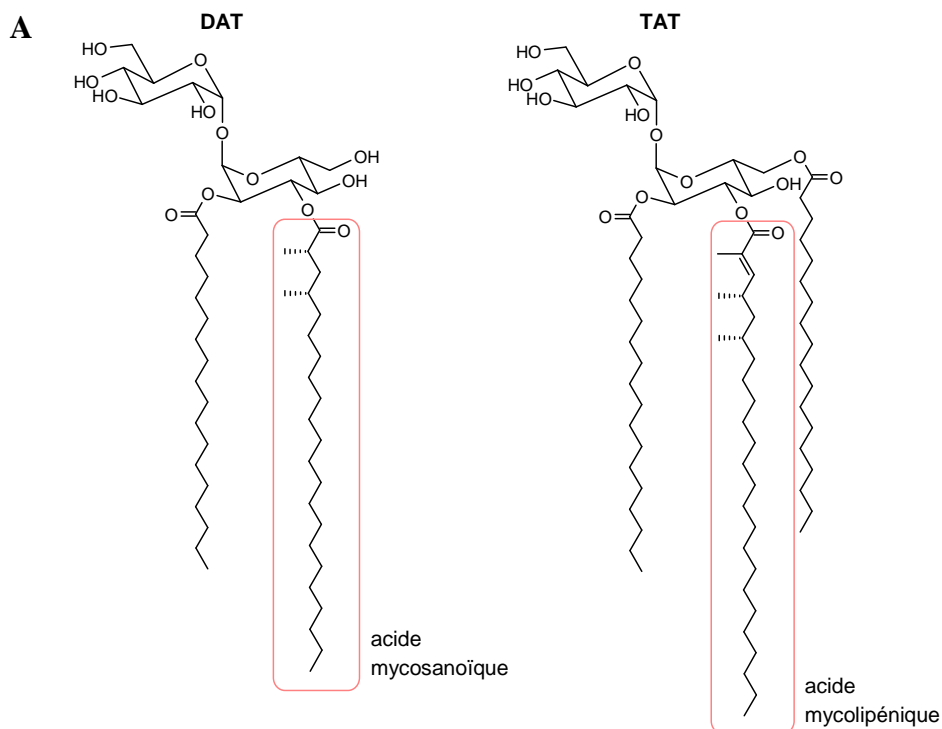


Figure 35 : A. Structure des formes majoritaires des DAT et TAT.¹¹³ B. Spectre MALDI-ToF (mode positif) des fractions contenant les DAT et les TAT.

Ces DAT et TAT contiennent également des acides gras polyméthylés mais plus courts et non hydroxylés. Plus précisément, les DAT sont estérifiés en position 2 par un acide mycosanoïque, acide polyméthylé saturé, et les TAT par un acide mycolipénique, acide polyméthylé α,β -insaturé (Figure 35A).

Les esters correspondants, qui sont obtenus suite à l'éthanolysé du mélange, sont facilement séparables des esters hydroxyphthiocéraniques par chromatographie sur silice. Ces glycolipides ne sont donc pas gênants pour la suite du travail.

Les fractions contenant les Ac₃SGL et les Ac₄SGL sont alors regroupées afin d'être éthanolysées. Les Ac₂SGL, composés précieux, ne sont pas utilisés pour cette expérience.

b. Ethanolysé et purification des esters

Les glycolipides naturels sont éthanolysés pour libérer un mélange d'esters lipidiques¹¹⁴ (Figure 36). Ces esters sont séparés par chromatographie « flash » sur colonne de silice. D'après la littérature, les esters polyméthylés non hydroxylés sont les moins polaires du mélange, ils sont élués les premiers. Puis, sortent les palmitiques et stéariques (linéaires à 16 et 18 atomes de carbone), difficilement séparables des premiers, et enfin, les esters hydroxyphthiocéraniques sont bien plus polaires.¹⁰⁴

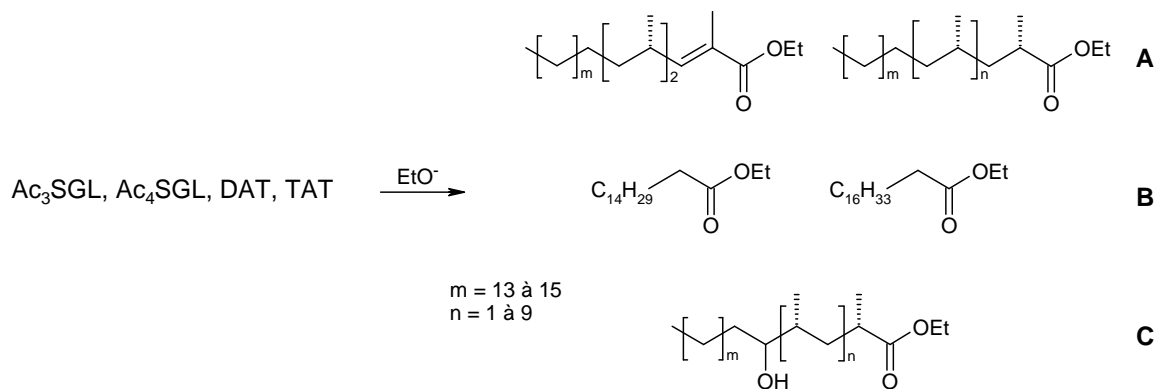


Figure 36 : Ethanolysé du mélange de glycolipides. Esters obtenus dans l'ordre de polarité croissante : **A.** esters polyméthylés, non hydroxylés ; **B.** esters banals ; **C.** esters polyméthylés, hydroxylés.

Sur 100 mg du mélange d'esters, on récupère environ 6 mg de fraction A, 70 mg de fraction B et 3 mg d'esters hydroxyphthiocéraniques dans la fraction C (Figure 36). Les différentes fractions sont analysées par chromatographie sur couche mince, par RMN et par spectrométrie de masse par désorption / ionisation chimique (DCI) avec l'ammoniac pour connaître les longueurs de chaînes des esters présents.

Fraction A : Ce mélange est composé des esters polyméthylés, non hydroxylés. Les formes majoritaires présentes sont les esters les plus courts issus des DAT et des TAT. Leur structure est reportée Figure 37.

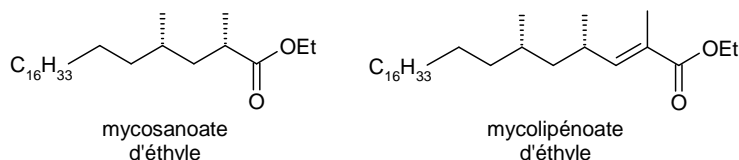


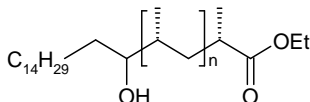
Figure 37 : Structure des deux esters majoritaires de la fraction A.

D'après la littérature, ces esters sont dextrogyres et les carbones asymétriques sont de configuration *S* (ou *L*, comme dans l'acide hydroxyphthiocéranique).¹⁰⁴

Les fractions A et B étant difficilement séparables, cette fraction contient également des esters banals.

Fraction B : cette fraction est la plus importante en masse, elle contient les acides palmitiques et stéariques, présents dans tous les glycolipides.

Fraction C : Les masses correspondent aux esters hydroxyphthiocéraniques qui nous intéressent. Les principaux pics observés sont reportés dans le tableau ci-dessous (Figure 38). Les esters présents dans ce mélange sont longs de 32 à 38 atomes de carbone avec de 8 à 11 ramifications méthyliques.



m/z (DCI/NH ₃)	654	696	738	780
n	7	8	9	10

Figure 38 : Structure et masse des espèces présentes dans le mélange d'esters hydroxyphthiocéraniques.

c. Hémisynthèse de sulfoglycolipides à partir des esters C

Les hydroxyphthiocéanoates d'éthyle portent sur leur chaîne un groupement hydroxyle. Avant l'estérification du composé **3** par l'acide issu de cet ester, la fonction alcool doit être protégée en prévision de l'étape de sulfatation. Comme dans le cas de l'acide 16-hydroxyhexadécanoïque, cet ester naturel est protégé par le groupement DHP (Figure 29, p.53). Puis une hydrolyse en milieu basique permet d'obtenir l'acide correspondant.

Celui-ci est utilisé pour synthétiser le sulfoglycolipide semi-synthétique **17**. Cette synthèse a été réalisée sur des quantités si petites (3 mg d'acide hydroxyphthiocéanoïque) qu'elles ne permettaient pas de réaliser des purifications à chaque étape. Le spectre de masse MALDI-Tof du produit final témoigne de la présence du produit désiré à $m/z = 1249$, identique au composé majoritaire de la famille des Ac_2SGL naturels (Figure 39) en mélange avec des sulfoglycolipides estérifiés par des acides gras banals (de masses $m/z < 1000$, non montrées).

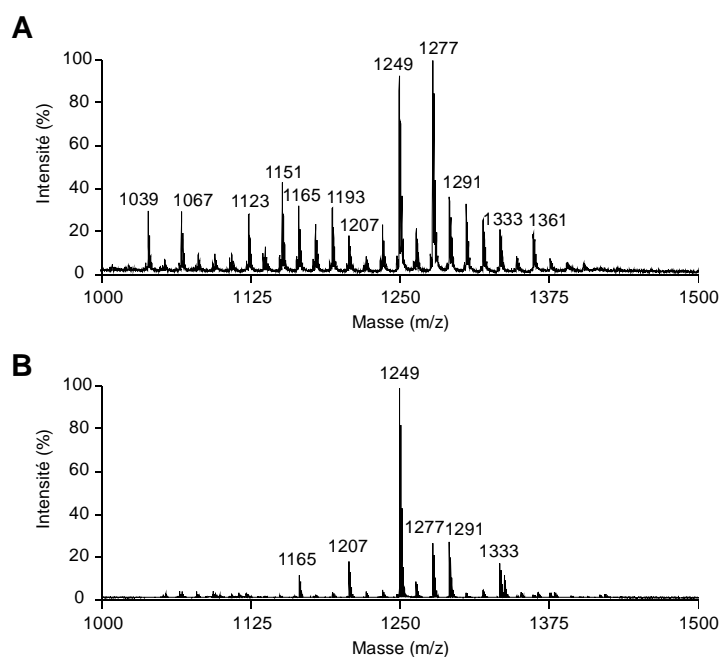


Figure 39 : Comparaison des spectres de masse MALDI-Tof (mode négatif) (A) des Ac_2SGL naturels avec (B) le composé semi-synthétique **17**.

Le pic à $m/z = 1277$ dans le mélange naturel (Figure 39A) correspond au même sulfoglycolipide que celui de masse 1249 mais acylé en position 2 par un acide octadécanoïque. Un composé à $m/z = 1277$ est également présent dans le mélange des

sulfoglycolipides hémisynthétiques (Figure 39B), il résulte de la variation naturelle de la longueur des acides hydroxyphthiocéraniques (m dans la Figure 36C).

Ce mélange de sulfoglycolipides **17** a été testé sur cellules et il active des lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL (cf. Chapitre 2). On a donc ici confirmé que les Ac₂SGL ont une activité antigénique.⁶⁸

Bien que le mélange **17** soit actif, cette synthèse n'est pas utilisable pour l'obtention de grosses quantités de produits étant données la faible abondance des acides hydroxyphthiocéraniques dans l'enveloppe mycobactérienne.

En complément des premiers résultats sur les analogues portant des chaînes linéaires, ces résultats confirment l'importance des ramifications que porte la chaîne hydroxyphthiocéranique pour l'antigénicité de la molécule.

Nous allons maintenant évaluer le rôle du groupement hydroxyle en utilisant la fraction obtenues d'esters non hydroxylés pour réaliser par hémisynthèse le sulfoglycolipide correspondant.

d. Importance du groupement hydroxyle de l'acide hydroxyphthiocéranique

Il est maintenant intéressant d'étudier le rôle du groupement hydroxyle de la chaîne hydroxyphthiocéranique. Est-il indispensable pour l'antigénicité du composé? Pour y répondre, nous avons réalisé la synthèse de sulfoglycolipides estérifiés par la fraction A d'esters non hydroxylés obtenue suite à l'éthanololyse des glycolipides naturels (Figure 37).

Ce mélange d'esters doit d'abord être saponifié pour obtenir le mélange d'acides carboxyliques correspondants. Puis, en utilisant la stratégie de synthèse des sulfoglycolipides décrite précédemment, ces acides ont permis d'obtenir un mélange de sulfoglycolipides semi-synthétiques **18**. Cette famille a été analysée en spectrométrie de masse MALDI-Tof afin d'évaluer les espèces présentes. Bien que cette analyse ne soit pas quantitative, tous les sulfoglycolipides d'une même famille sont supposés avoir le même comportement, et ainsi établir quelles sont les espèces majoritaires (Figure 40A). Le pic le plus intense, à $m/z = 897.4$, représente le sulfoglycolipide acylé par deux acides hexadécanoïques et celui à 925.5 , le sulfoglycolipide acylé par un acide octadécanoïque en position 3 du tréhalose.

Les deux pics à $m/z = 1009.5$ et 1049.6 correspondent aux sulfoglycolipides issus des deux esters majoritaires présents dans la fraction après la colonne de purification. Le sulfoglycolipide de masse 1009.5 est estérifié par un acide mycosanoïque (saturé), le deuxième par un acide mycolipénique (α,β -insaturé) (Figure 40B).

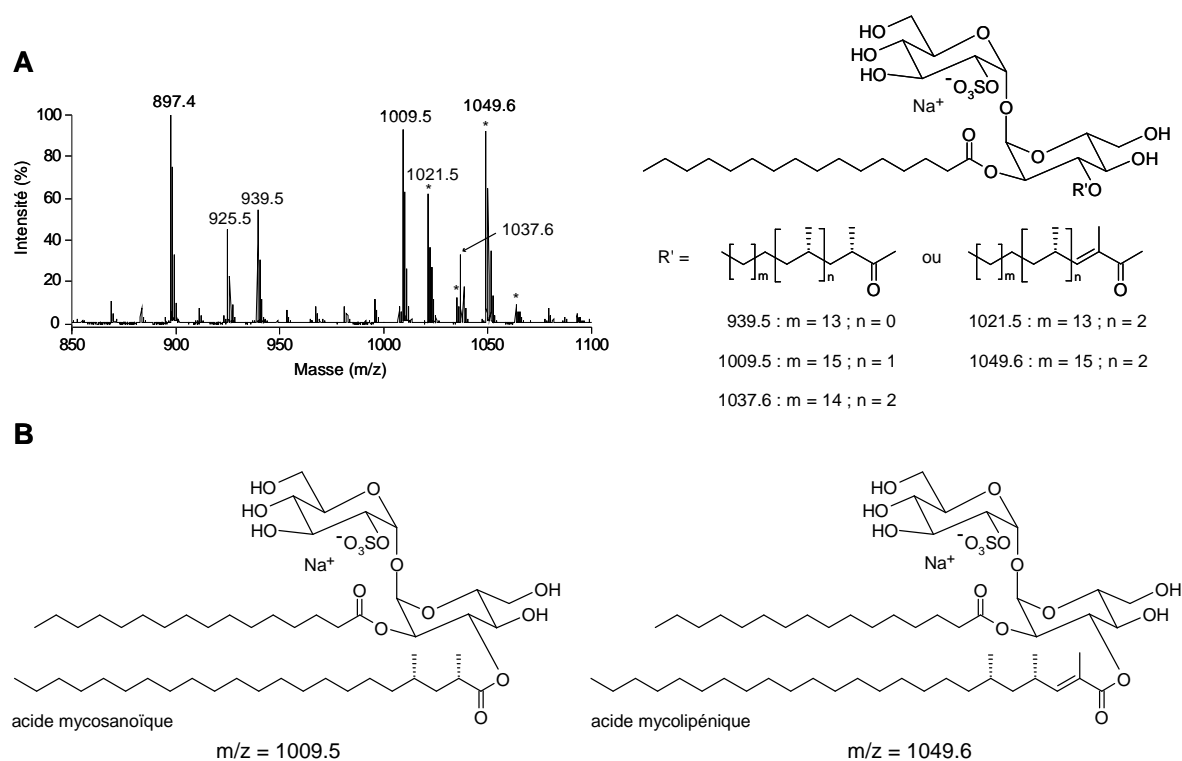


Figure 40 : **A**. Spectre MALDI-Tof (mode négatif) du mélange **18** et interprétation des pics les plus intenses ; * marquent les sulfoglycolipides acylés par un acide insaturé ; 897.4 et 925.5 correspondent à des sulfoglycolipides estérifiés par un acide banal (hexadécanoïque et octadécanoïque respectivement) ; **B**. structure des deux sulfoglycolipides majoritaires contenant une chaîne polyméthylée.

Ce mélange de sulfoglycolipides **18** active le clone de lymphocytes T spécifique des Ac_2SGL (cf. Chapitre 2). Ces résultats montrent que le groupement hydroxyle n'est pas nécessaire et suggèrent que les substituants méthyles de l'acide hydroxyphthiocéranolique naturel jouent un rôle important dans l'activité antigénique du composé.

Nous avons donc entrepris la synthèse d'acides polyméthylés chiraux saturés et α,β insaturés afin d'évaluer l'importance des groupements méthyles sur l'antigénicité des sulfoglycolipides.

III. Synthèse d'acides gras polyméthylés

Les résultats précédents montrent l'importance des substituants méthyles sur la chaîne lipidique située en position 3 du tréhalose. Nous avons donc mis au point une synthèse d'acides gras polyméthylés saturés et insaturés afin d'étudier plus précisément l'importance de ces ramifications sur l'antigénicité des sulfoglycolipides.

1. Littérature

De nombreux composés naturels, dont la biosynthèse fait intervenir différentes polykétides, possèdent des unités déoxypropionates (Figure 41).^{115, 116} Parmi eux, l'acide hydroxyptiocéranolique est un acide gras dextrogyre ramifié par plusieurs groupements méthyles, les carbones asymétriques appartenant à la série *L*.¹⁰⁴

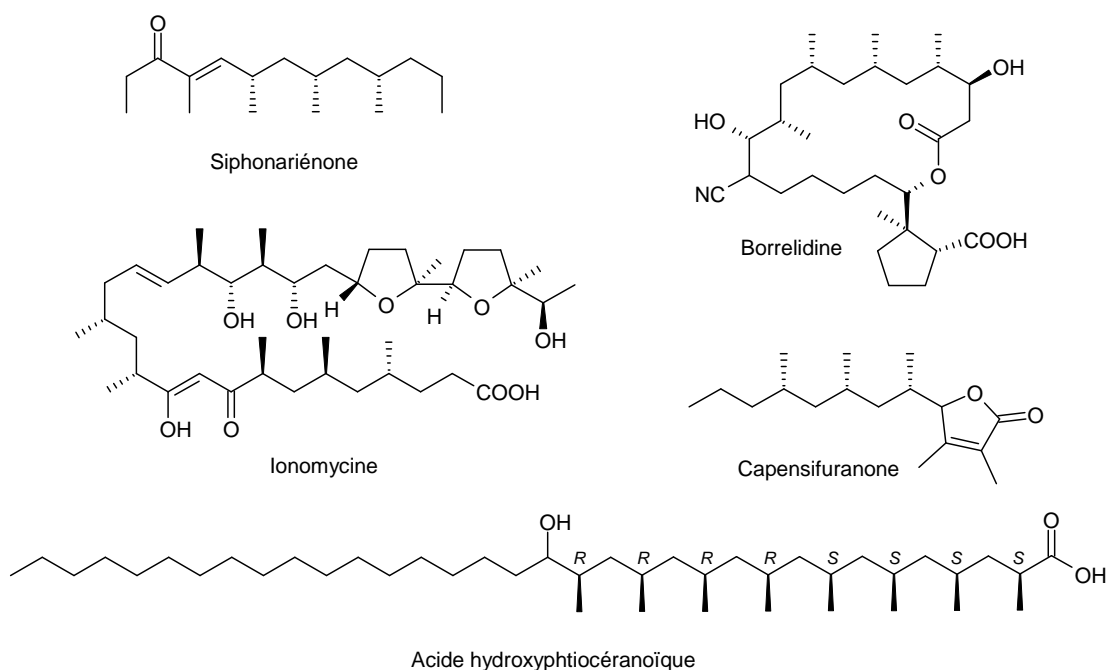


Figure 41 : Exemples de composés naturels contenant des unités déoxypropionates.

Ces vingt dernières années, différentes méthodes ont été développées pour synthétiser des molécules chirales contenant des motifs polypropionates et polydéoxypropionates. Quelques unes de ces stratégies sont décrites ci-dessous.¹¹⁷

a. Par résolution d'un mélange racémique

Lors d'une étude de la biosynthèse des acides mycoliques, Besra *et al.* en 1993, ont établi une stratégie pour synthétiser un acide gras α -méthylé à partir d'octadécane-1-ol.

Cette synthèse permet de former un acide α -méthylé en mélange racémique, en faisant intervenir un couplage de Wittig avec un ylure de phosphore. Puis une amidation par une amine chirale permet de séparer les deux diastéréoisomères¹¹⁸ (Figure 42).

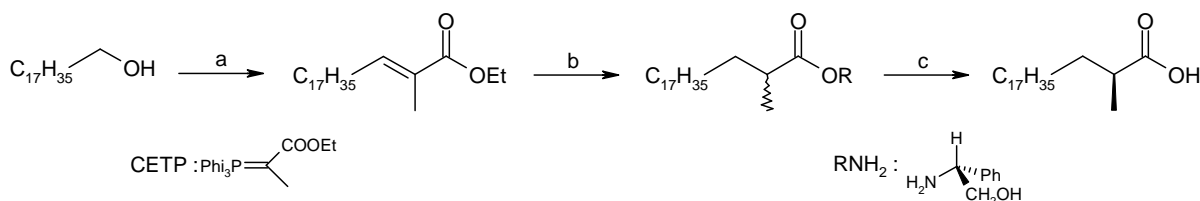


Figure 42 : Stratégie de synthèse d'un acide (*S*) α -méthylé énantiomériquement pur élaborée par Besra *et al.*. a : 1) PCC, DCM, 2) CETP, DCM ; b : 1) H_2 , Pd/C, AcOEt, 2) KOH, MeOH/ H_2O ; c : 1) $(\text{COCl})_2$, RNH_2 , DMAP, DCM, 2) H_2SO_4 , dioxane/ H_2O .

Une telle stratégie fournit les deux énantiomères optiquement purs à plus de 98 %. Mais à cause du dédoublement, le rendement total est très faible (22 %¹¹⁸). Même si cette synthèse est applicable à grande échelle, elle n'est pas adaptée à la synthèse d'acides gras contenant plus de deux substituants méthyles.

b. Aldolisation asymétrique d'un énolate

Evans a été l'un des premiers à mettre au point des réactions asymétriques faisant intervenir des énolates chiraux.¹¹⁹ Quelques exemples d'inducteurs chiraux (IC) qu'il a développés sont représentés Figure 43.

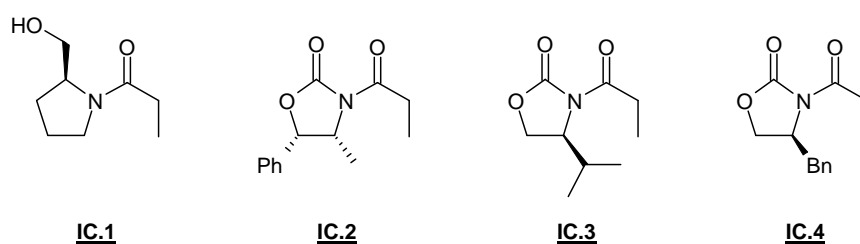


Figure 43 : Structures de quelques inducteurs chiraux développés par Evans.¹²⁰

Les énolates correspondants sont obtenus avec une base forte, puis sont complexés avec un ion métallique : le bore (Bu_2BOTf)¹²¹ ou le titane (TiCl_4)¹²² par exemple. Ils peuvent alors réagir de façon stéréosélective par substitution nucléophile avec un aldéhyde pour donner un composé ramifié en position α de l'imide (ou amide pour **IC.1**) et substitué par un groupement hydroxyle en β . La fonction alcool est mésylée puis une réduction par LiAlH_4 permet de cliver l'oxazolidinone et de supprimer le groupement mésylate pour obtenir l'acide carboxylique α -ramifié (Figure 44).¹²³

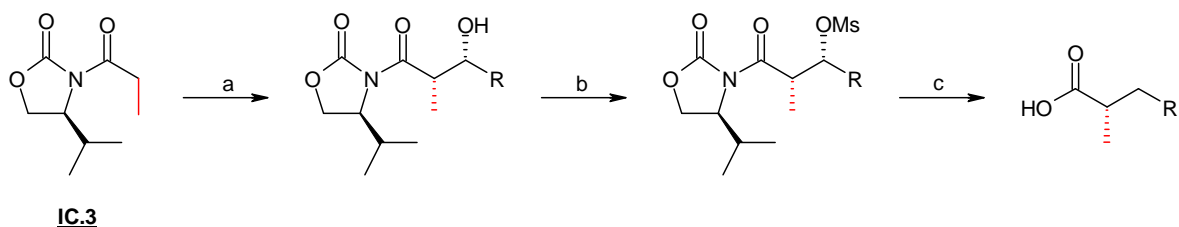


Figure 44 : Exemple d'aldolisation asymétrique pour synthétiser un acide α -méthylé. a : LDA, Bu_2BOTf , THF, RCHO ; b : MsCl, py, DMAP ; c : LiAlH_4 , THF.

Une acylation asymétrique sur **IC.4** permet de synthétiser un synthon dicarboxylé stable **IC.5**. L'énolate correspondant peut à son tour réagir avec un aldéhyde (Figure 45).¹²⁴

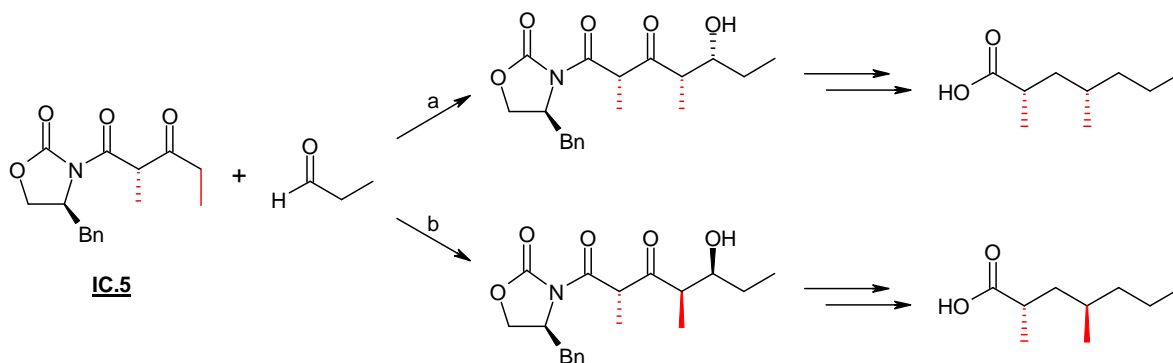


Figure 45 : Réaction d'aldolisation asymétrique sur une imide β -cétonique **IC.5** avec a : TiCl_4 , $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ ou b : $\text{Sn}(\text{OTf})_2$, NEt_3 qui induisent des sélectivités différentes.¹²⁴

Lors de ce couplage, la stéréosélectivité est principalement contrôlée par l'orientation du groupement méthyle situé en position α de l'imide. Le centre chiral de l'oxazolidinone permet seulement de l'accentuer.¹²³ Selon que l'on utilise le tétrachlorure de titane ou le ditriflate d'étain pour complexer l'énolate, la stéréosélectivité est différente (Figure 45).¹²⁴

L'intérêt de cette réaction est d'introduire stéréosélectivement en un cycle de réactions deux substituants méthyles.

Ces réactions élaborées par Evans fournissent de bons rendements et de bonnes stéréosélectivités à -78°C . En ce qui nous concerne, les aldéhydes à longue chaîne ne sont pas solubles à cette température et réaliser cette réaction à plus haute température affecte la stéréosélectivité. De plus, l'aldolisation introduit d'un groupement hydroxyle dont il faudra se débarrasser.

c. Alkylation d'un énolate

Les synthons chiraux élaborés par Evans lui ont également permis de mettre au point des réactions d'alkylation asymétrique.¹²⁵ Notamment des composés α -ramifiés ont été obtenus par alkylation de ces énolates chiraux par des halogénures.¹²⁰ De manière générale, l'introduction d'un premier groupement propionyle sur une molécule activée est réalisée avec un bon rendement (80-98 %) et une très bonne sélectivité (e. d. : 92-96 %). Cependant, l'halogénure α -

alkylé obtenu n'est pas suffisamment électrophile pour réagir une deuxième fois sur l'énolate : la sélectivité est maintenue mais le rendement n'est pas bon.

Les énolates d'Evans manquent ainsi de réactivité nucléophile pour les alkylations.

Dans le cadre de la synthèse de la (+)-siphonariénone (Figure 41), Abiko *et al.* ont utilisé un inducteur chiral dont l'énolate est plus nucléophile, la *N*-propionylbenzopyranoisoxazolidine **IC.6** (Figure 46).¹²⁶ Ils obtiennent des excès diastéréoisomériques supérieurs à 97 % pour chaque centre asymétrique. L'énolate est obtenu à partir d'**IC.6** en utilisant l'hexaméthyldisilazane de potassium (KHMDS) comme base. L'alkylation est réalisée, non pas par un halogénure mais par un triflate, plus nucléofuge. Deux groupements propionyles sont introduits de cette manière.

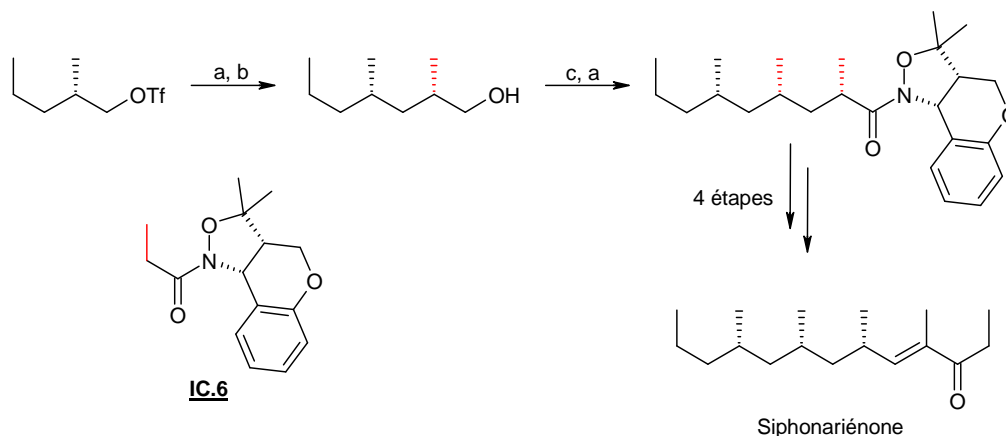


Figure 46 : Synthèse de la Siphonariénone élaborée par Abiko *et al.* : utilisation d'un énolate d'isoxazolidine pour les alkylations asymétriques.¹²⁶ a : (**IC.6** + KHMDS), Et₂O, -78°C ; b : LiBH₄, EtOH-Et₂O ; c : Tf₂O, 2,6-*t*-Bu₂py.

Myers *et al.* décrivent un protocole mettant en jeu une propanamide chirale dérivée de pseudoéphédrine (**IC.7**) utilisable dans des synthèses itératives de molécules contenant des unités déoxypropionates.¹²⁷

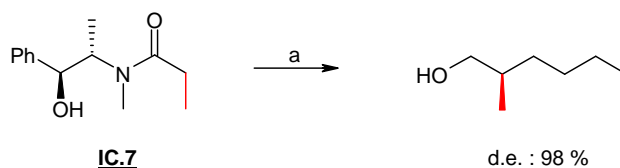


Figure 47 : Structure de l'amide chirale utilisée par Myers *et al.* **IC.7** et exemple d'une alkylation asymétrique.¹²⁷ a : 1) LDA, LiCl, *n*-BuI ; 2) LiH₂NBH₃.

L'énolate correspondant est obtenu avec le LDA. Du chlorure de lithium est ajouté au milieu, il permet d'accélérer la réaction et d'empêcher une *O*-alkylation sur l'hydroxyle (Figure 47). A 0°C, l'alkylation est rapide (< 1 heure), fournit de bons rendements (75-90 %) et une très bonne stéréosélectivité (de : 94-98 %) avec une large variété d'halogénures d'alkyles. Puis, différentes réactions de clivages permettent l'obtention d'acides carboxyliques, d'alcools, d'aldéhydes ou de cétones optiquement pures.

Cette stratégie semble très efficace, elle a été utilisée par Duffey *et al.* pour la synthèse de la borrelidine (Figure 41).¹²⁸

Pour la synthèse de molécules à motifs déoxypropionates, Enders *et al.* utilisent une hydrazone alkylée comme inducteur chiral (**IC.8**) : obtenue à partir de (*S*)- ou (*R*)-1-amino-2-(méthoxyméthyl)-pyrrolidine (SAMP ou RAMP)¹²⁹ (Figure 48).

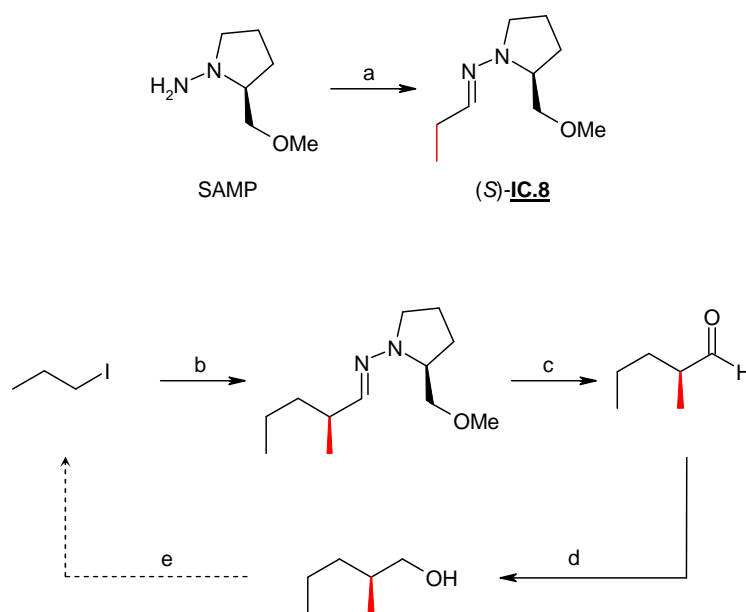


Figure 48 : Stratégie d'alkylation asymétrique utilisée par Enders *et al.*¹³⁰ a : Propanal ; b : (**IC.8** + LiTMP), THF, -78°C ; c : MeI, HCl ; d : BH₃·Me₂S ; e : 1) NO₂PhSO₂Cl, py, DMAP, DCM, 2) LiI, THF puis pentane, -78°C.

L'hydrazone **IC.8** est convertie en azaénolate de lithium par action d'une base forte (2,2,6,6-tétraméthylpipéridure de lithium, LiTMP) puis réagit avec l'iodure de propyle pour donner une nouvelle hydrazone alkylée avec un excès diastéréoisomérique de 94 %. Le clivage de celle-ci en milieu acide donne l'aldéhyde α -méthylé dont la configuration absolue du carbone asymétrique est *S*. Puis après réduction en alcool et iodation, l'iodure obtenu peut réagir à nouveau sur l'azaénolate. Ce cycle peut être répété autant de fois que l'on souhaite, en maintenant un bon rendement et une bonne stéréosélectivité d'alkylation.

d. Substitution allylique (S_N2') asymétrique

Une substitution nucléophile asymétrique sur carbone allylique a été développée par Spino *et al.* et adaptée pour la synthèse de fragments d'ionomycine (Figure 41).¹³¹ L'inducteur chiral utilisé (**IC.9**), dérivé de la menthone, réagit avec le dérivé cyanocuvré de *tert*-butoxyméthyllithium pour donner exclusivement le composé *C*-méthylé (Figure 49). Un clivage à l'ozone permet d'obtenir l'aldéhyde correspondant, puis l'iodure est facilement généré afin de recommencer le cycle.¹³²

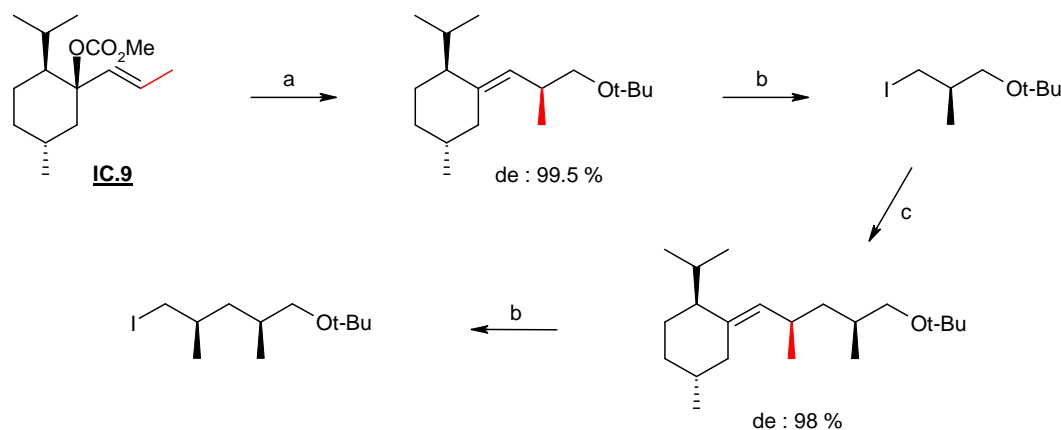


Figure 49 : S_N2' asymétrique développée par Spino *et al.*. a : *t*-BuOCH₂CuCN, THF ; b : 1) O₃, NaBH₄, 2) I₂, PPh₃ ; c : *t*-BuLi, EtO₂, CuCN, THF, **IC.9**.¹³²

Cette méthode de synthèse, par itérations successives du cycle, permet l'obtention de molécules polyméthylées avec un rendement de 75 % par cycle et une bonne stéréosélectivité (>100:1 pour chaque centre asymétrique).

e. Addition conjuguée 1,4

Williams *et al.*, dans leur synthèse de la capensifuranone (Figure 41), introduisent stéréospécifiquement les ramifications méthyles par une addition sur une oxazolidinone chirale (Figure 50).¹³³ Cette addition asymétrique nécessite la préparation in situ d'un organocuprate, qui réagit régiosélectivement en 1,4.

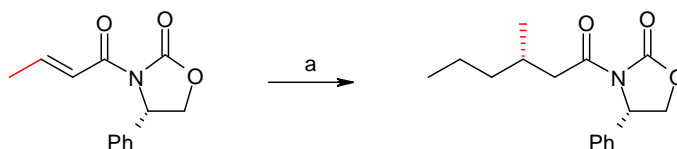


Figure 50 : Addition 1,4 sur une oxazolidinone.¹³³ a : $n\text{PrMgBr}$, $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$, $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, THF, -78°C .

Cette réaction fournit le composé β -méthylé avec un rendement de 85 % (en isomère souhaité) et un excès diastéréoisomérique assez modeste de 82 %.

Des additions en 1,4 sur des thioesters ont également été publiées, catalysées par le réactif de Grignard (cat., Figure 51).¹³⁴ Elles donnent en moyenne de meilleurs rendements, et une meilleure stéréosélectivité.

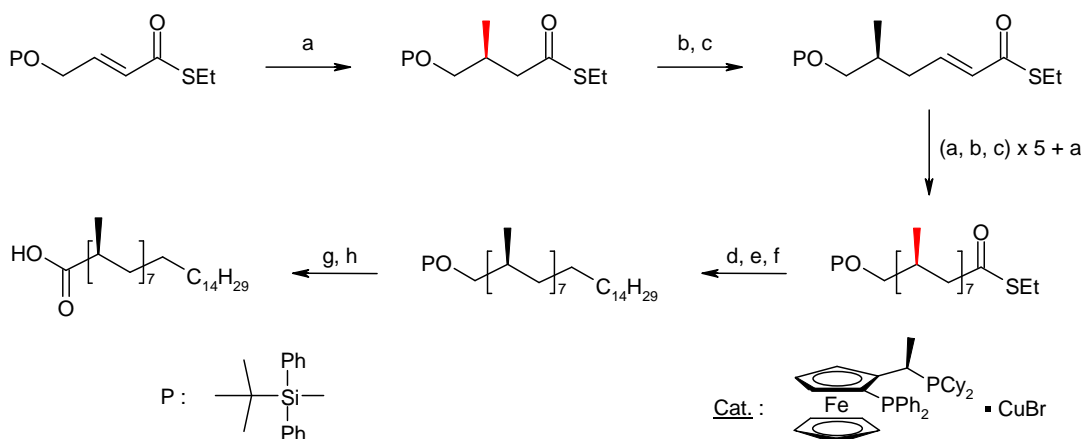


Figure 51 : Synthèse de l'acide phtiocéranique par terHorst *et al.*¹³⁵. a : MeMgBr , cat., $t\text{-BuOMe}$, -78°C ; b : DIBAL-H , -78°C ; c : $\text{Ph}_3\text{PCHCOSEt}$; d : DIBAL-H ; e : TsCl , py ; f : $\text{C}_{14}\text{H}_{29}\text{MgBr}$, $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$; g : NBu_4F ; h : RuCl_3 , NaIO_4 .

Très récemment, la première synthèse de l'acide phtiocéranique a été publiée par terHorst *et al.*¹³⁵ Ils utilisent cette méthode itérative d'addition 1,4 sur un thioester conjugué pour introduire de manière stéréospécifique les substituants méthyles. Puis, la partie linéaire de l'acide est ajoutée en fin de synthèse (Figure 51).

2. Stratégie utilisée

Notre objectif est de synthétiser des acides gras, saturés ou α,β -insaturés, ramifiés par de un à cinq groupements méthyles. Les atomes de carbone asymétriques de ces composés sont de configuration *S* et la difficulté est d'obtenir ces molécules avec une pureté optique maximale.

Parmi les stratégies décrites ci-dessus, la plus résolutive est celle élaborée par Besra *et al.* qui met en jeu un dédoublement diastéréoisomérique.¹¹⁸ Étant donné le faible rendement avec lequel on introduit un seul substituant méthyle, elle est difficilement applicable à la synthèse de composés polyméthylés. Cependant, nous l'avons utilisée pour l'introduction du premier groupement méthyle, ce qui nous a permis d'obtenir les deux énantiomères afin d'évaluer le rôle de la configuration absolue des atomes de carbone (Figure 52).

Pour les ramifications méthyles suivantes, il était plus judicieux d'appliquer une méthode stéréospécifique pour éviter de perdre trop de produit à chaque cycle. En effet, elles mettent en jeu moins d'étapes et de meilleurs rendements par cycle sont obtenus. Dans la littérature, les excès diastéréoisomériques ne sont jamais décrits dans le cas de la synthèse d'acides gras. Ces synthèses sont généralement réalisées à -78°C ou -100°C , températures pour lesquelles la stéréosélectivité est meilleure. Mais les acides gras ne sont pas solubles à de telles températures, ce qui implique de travailler à des températures supérieures, la pureté diastéréoisomérique est par conséquent altérée.

Des essais d'aldolisation asymétrique ont été menés, mais il s'est avéré que le groupement hydroxyle introduit était difficile à enlever. L'application d'une alkylation asymétrique résout ce problème. Celle élaborée par Evans, comme on l'a vu, nécessite des halogénures activés et n'est plus efficace à partir de l'introduction du deuxième méthyle. Notre choix s'est alors porté sur celle décrite par Enders qui donne des résultats satisfaisants à des températures entre -40 et -25°C . De plus, elle est facile à mettre en œuvre, l'étape limitante est l'alkylation mais toutes les autres (clivage de hydrazone, réduction et iodation) sont rapides et quantitatives (Figure 52).

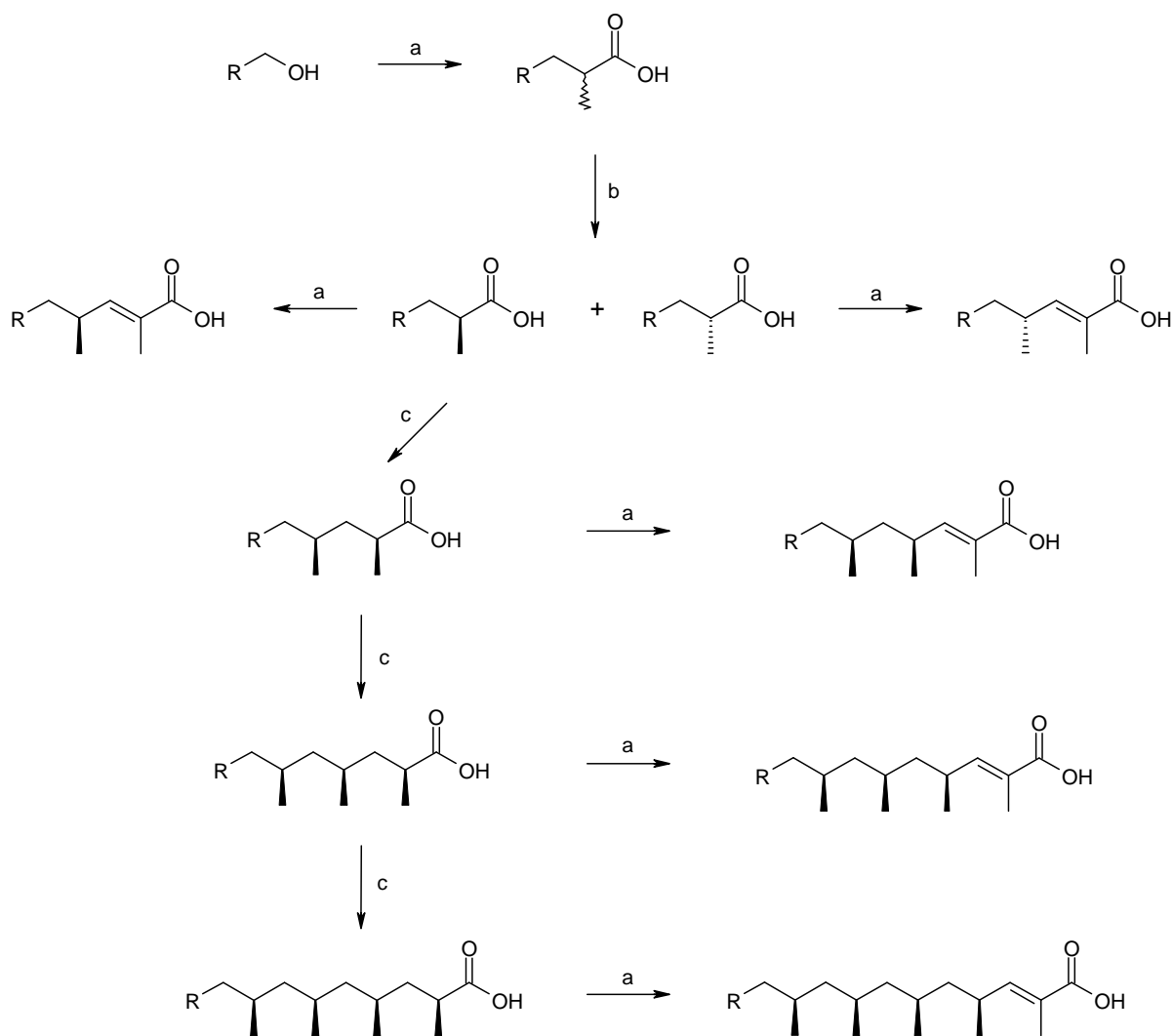


Figure 52 : Stratégie utilisée pour la synthèse des acides gras polyméthylés. a : élongation par réaction de Wittig ; b : dédoublement par formation de diastéréoisomères ; c : élongation par alkylation stéréospécifique.

3. Synthèse des acides polyméthylés chiraux

Certains acides ont été synthétisés à partir de l'hexadécanol (C₁₆) et d'autres de l'octadécanol (C₁₈). Toutes les synthèses sont décrites sans différencier les deux cas, dans les schémas R = C₁₅H₃₁ ou C₁₇H₃₅. Les détails sont donnés en partie expérimentale.

a. Introduction du premier groupement méthyle par couplage de Wittig puis dédoublement

Après oxydation de l'alcool (hexadécan-1-ol ou octadécan-1-ol) par le chlorochromate de pyridinium (PCC), l'aldéhyde **19** réagit avec le carboéthoxyéthylidènetriphénylphosphorane (CETP) afin d'allonger la chaîne tout en introduisant le groupement méthyle en position α du carbonyle. Les deux isomères Z et E de l'ester conjugué **20** sont obtenus dans les proportions 10/1 environ avec un rendement de 90 % pour les deux premières étapes.¹¹⁸ D'une part, une saponification permet de donner l'acide insaturé **21**. D'autre part, une hydrogénation catalysée par du palladium sur charbon activé permet de réduire la double liaison pour conduire au mélange des deux esters énantiomères **22**. Une hydrolyse basique mène au mélange racémique de l'acide carboxylique correspondant **23** (Figure 53).

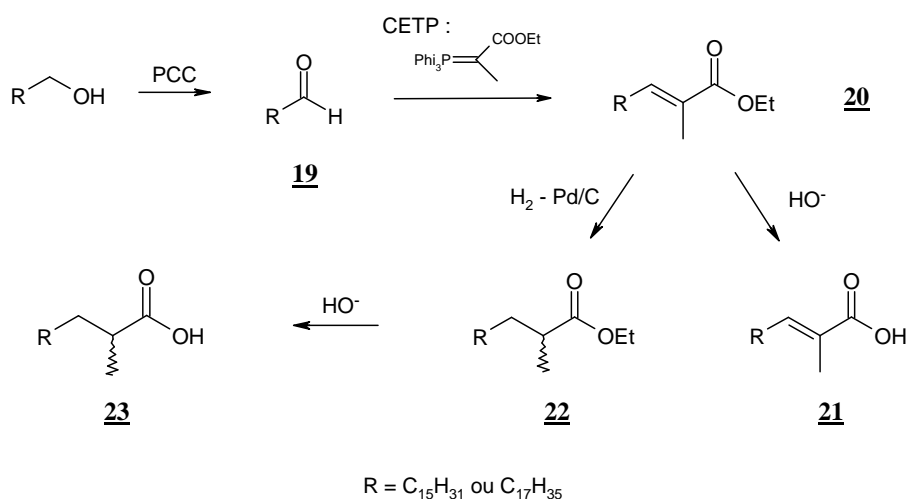


Figure 53 : Synthèse des acides gras α-méthylés insaturés **21** et saturé **23**.

Afin de s'assurer que cette synthèse conduit au produit α -méthylé pur, on analyse l'ester **22** en chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse. La première permet, d'une part, de vérifier la pureté du produit obtenu, et d'autre part, de vérifier le nombre d'atomes de carbone de la molécule par comparaison avec des esters standard linéaires ayant le même nombre de carbone. En effet, le paramètre principal qui détermine la rétention est la masse du produit et non sa structure.

De plus, les esters ont la particularité de se réarranger en spectrométrie de masse (réarrangement Mc Lafferty, Figure 54). Celui-ci met en évidence le groupement méthyle ramifié en α du carbonyle. En effet, pour un ester linéaire, le pic à $m/z = 88$ est le pic majoritaire. Dans notre cas, il est à $m/z = 102$. Ceci confirme la présence d'un produit α -méthylé.

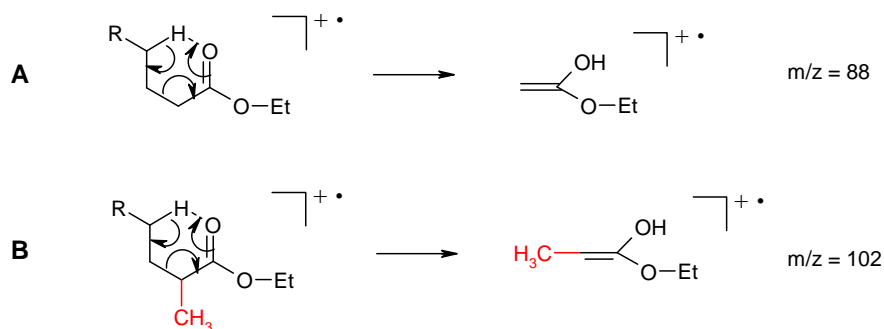


Figure 54 : Réarrangement de Mc Lafferty. **A.** pour un ester linéaire ; **B.** pour un ester α -méthylé.

Pour obtenir une molécule optiquement pure, nous avons procédé à un dédoublement par formation de diastéréoisomères. Après activation de l'acide par le chlorure d'oxalyde, celui-ci a été couplé à une amine chirale, la (*R*)-phénylglycinol, pour obtenir les deux amides (*R,S*) **24** et (*R,R*) **25** séparables par chromatographie sur colonne de silice. La pureté de chacune des deux amides est vérifiée par CCM et RMN. Le doublet correspondant aux protons du groupement méthyle n'a pas le même déplacement chimique selon la configuration absolue du carbone en α . On estime la pureté supérieure à 98 %. Enfin une hydrolyse acide de chacune des amides conduit aux deux acides (*S*) **26** et (*R*) **27** séparés (Figure 55). La mesure de leur pouvoir rotatoire permet de confirmer la configuration absolue du carbone asymétrique : l'acide **26** est dextrogyre et **27** lévogyre.¹¹⁸

Après réduction de ces deux acides pour obtenir les alcools correspondants, la première partie de ce cycle est réitérée, sans l'étape d'hydrogénation, pour arriver aux acides insaturés **30** et **31** (Figure 55).

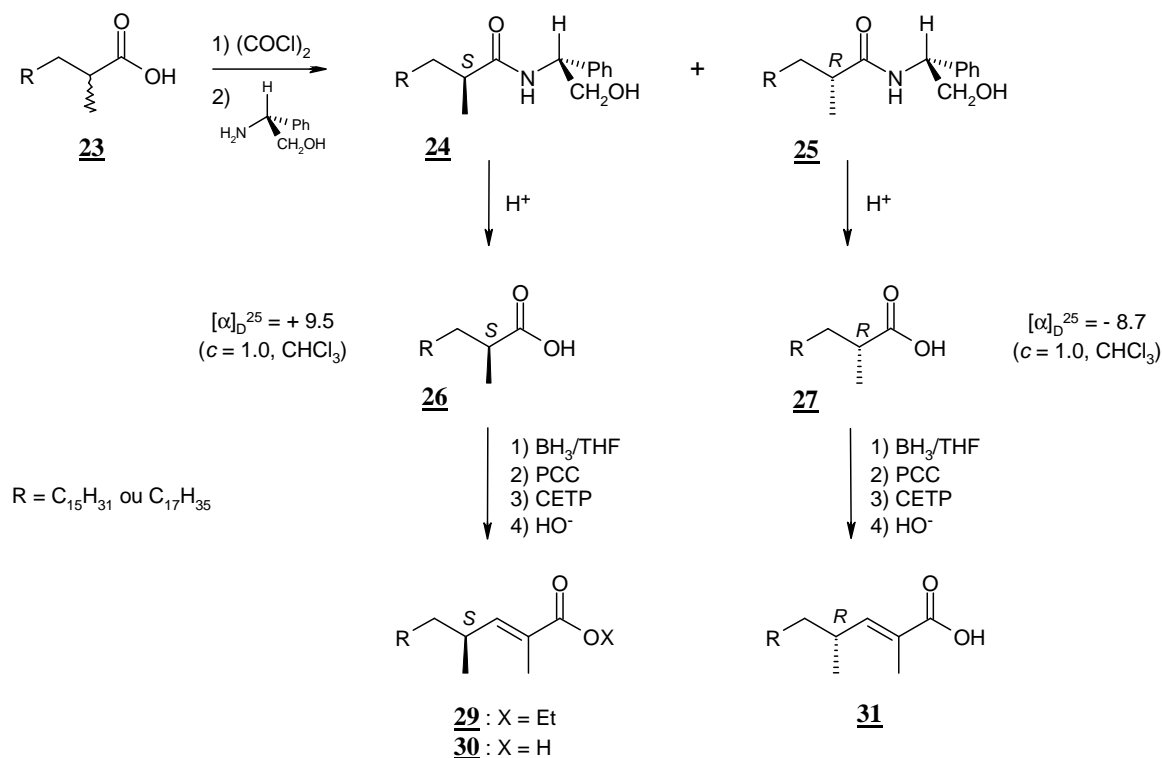


Figure 55 : Dédoublage permettant de séparer les acides α -méthylés **S 26** et **R 27**. Synthèse des acides insaturés diméthylés correspondant **30** et **31**.

b. Méthode stéréospécifique d'Enders

Pour ajouter des autres groupements méthyles, une stratégie a été mise au point faisant intervenir une étape de couplage stéréospécifique d'un iodure sur un azaénolate.

L'acide **26** obtenu précédemment est d'abord réduit en alcool **28** par une solution de borane (BH_3) dans le tétrahydrofurane (THF).¹³⁶ Puis l'iodure correspondant **32** est synthétisé de façon quantitative dans les conditions de Garegg *et al.*¹³⁷ avec du diiode (I_2), de la triphénylphosphine (PPh_3) et de l'imidazole dans le toluène (Figure 56).

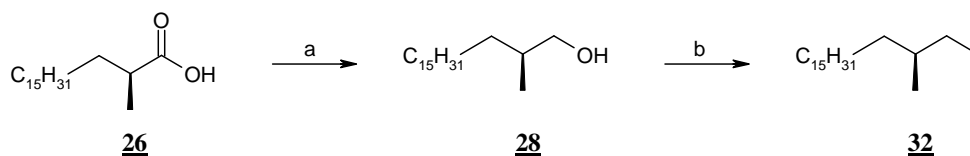


Figure 56 : Synthèse de l'iodure **32**. a : BH_3/THF , 98 % ; b : I_2 , PPh_3 , imidazole, toluène, 130°C , 93 %.

L'inducteur chiral **33** est préparé à partir de (*S*)-1-amino-2-(méthoxyméthyl)-pyrrolidine (SAMP) avec du propanal¹³⁸ (Figure 57).

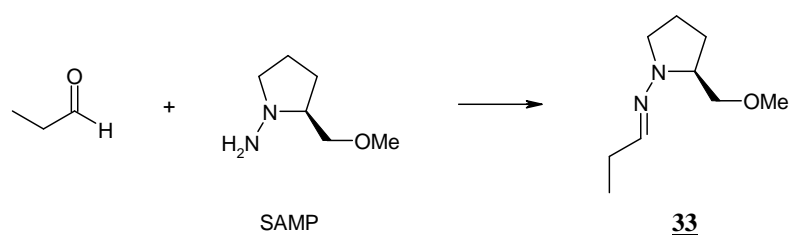


Figure 57 : Préparation de l'inducteur chiral (92 %).

Pour réaliser le couplage, on prépare *in situ* l'énoolate de lithium de **33** avec le diisopropylamidure de lithium (LDA) à 0°C dans le THF.¹³⁸ Puis l'iodure **32** est ajouté à -50°C , agité une heure à cette température puis laissé toute la nuit à -25°C . On obtient l'hydrazone alkylée **34** de configuration (*2S*) avec un rendement de 70 %. Le rapport *S/R* est d'environ 94/6 calculé à partir du spectre RMN ^1H par intégration du pic de H-1, d'où un excès diastéréoisomérique de 88 %. Dans la littérature, cet excès est décrit supérieur à 96 % mais la réaction est réalisée à -78 ou -100°C pour le 1-iodohexane. L'iodure **32** n'est soluble qu'à partir d'environ -30°C .

Le clivage de l'hydrazone est réalisé dans un mélange biphasique éther de pétrole / solution aqueuse d'acide chlorhydrique 4 M et conduit à l'aldéhyde **35** ramifié par deux groupements méthyles.

A ce niveau de la synthèse, trois chemins différents sont possibles (Figure 58) :

- une oxydation par le réactif de Jones¹³⁹ ($\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$) dans l'acétone permet d'obtenir l'acide saturé **36**. De cette façon, après une ou deux itérations du cycle supplémentaires, nous avons pu synthétiser les acides saturés **43** et **50**.

- une addition de Wittig avec l'ylure de phosphore CETP utilisé précédemment (Figure 55) suivi d'une hydrolyse basique conduit à l'acide insaturé portant un groupement méthyle supplémentaire. Ainsi nous avons synthétisé les acides **38**, **45** et **52**.

- une réduction de l'aldéhyde avec BH_3/THF conduit à l'alcool **39** qui peut être transformé en iodure et réagir à nouveau sur l'inducteur chiral **33** afin d'introduire un groupement méthyle supplémentaire.

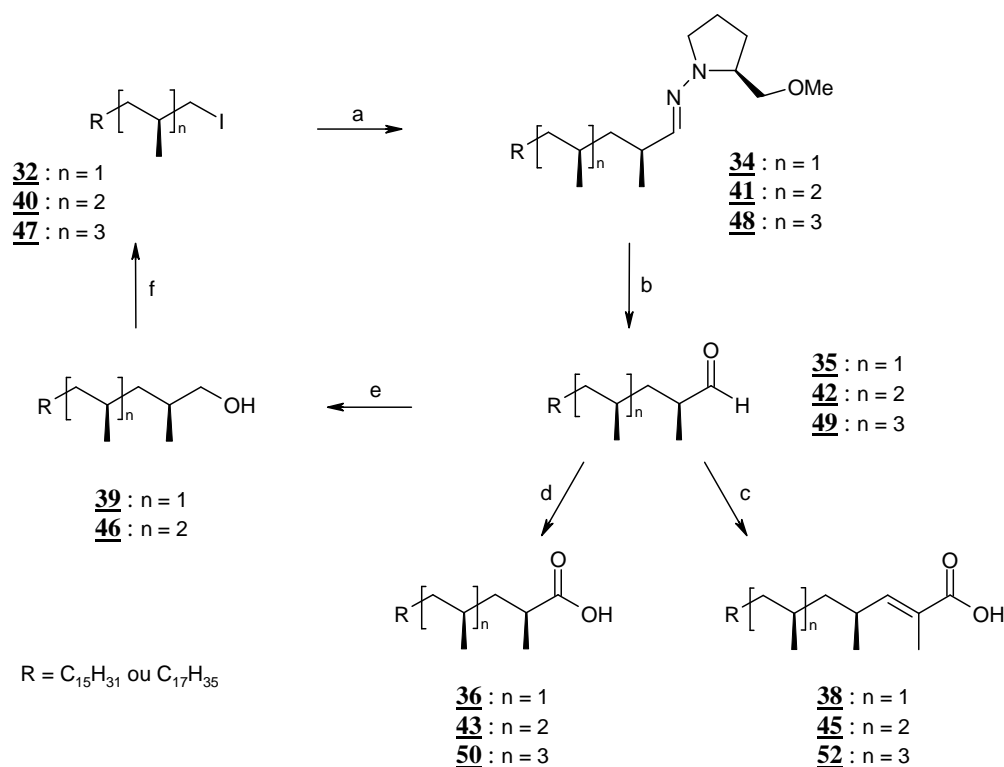


Figure 58 : Schéma de synthèse des acide gras polyméthylé par une alkylation stéréospécifique. a : **33**, LDA, THF, -25°C ; b : HCl 6M ; c : CETP puis KOH ; d : $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$; e : BH_3/THF ; f : I_2 , PPh_3 , imidazole, toluène, 130°C .

c. Cas particulier de l'acide (4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-énoïque

Cet acide court a été synthétisé de façon analogue aux précédents à partir du (S)-1-iodo-2-méthylbutane commercial. L'alkylation stéréospécifique qui permet d'introduire le deuxième groupement méthyle conduit à l'hydrazone alkylée **53** avec une excellente diastéréosélectivité (le composé (2R) n'est pas visible en RMN du proton). En effet, nous avons pu réaliser cette réaction à -78°C.

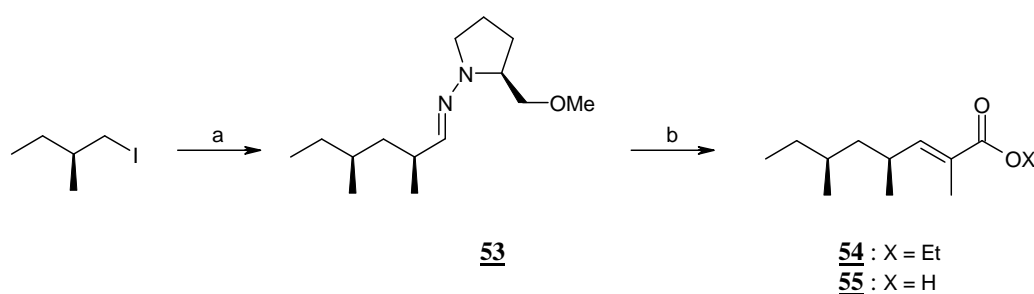


Figure 59 : Synthèse de l'acide **55**. a : **33**, LDA, THF, -78°C, 66 %, e.d. : 90 % ; b : 1) HCl 6M, 2) CETP, 49 %, 3) KOH, 78 %.

L'aldéhyde obtenu après hydrolyse acide est très volatile, il est aussitôt engagé dans la réaction d'addition de Wittig avec le CETP. Enfin une hydrolyse basique de l'ester **54** conduit à l'acide **55** (Figure 59).

d. Cas particulier de l'acide (S)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diénoïque

Comme nous le verrons dans le chapitre 2, les sulfoglycolipides estérifiés par des acides α,β -insaturés stimulent les lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL. Il est alors intéressant d'étudier l'effet du nombre de doubles liaisons de l'acide sur l'activité antigénique du sulfoglycolipide. Pour cela nous avons synthétisé l'acide (S)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diénoïque.

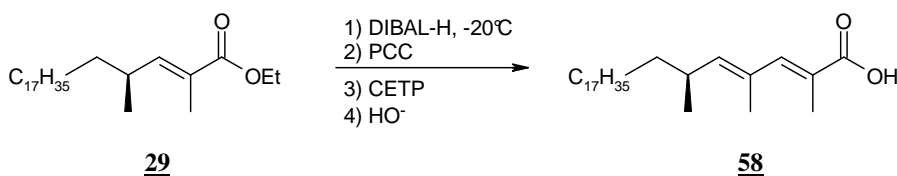


Figure 60 : Synthèse de l'acide **58** avec deux doubles liaisons.

L'acide **30** ne peut pas être réduit en alcool par BH_3/THF , comme ce qui a été fait dans les synthèses de tous les acides gras α,β -monoinsaturés. En effet, BH_3 s'additionne sur les doubles liaisons. Dans la littérature, la réduction d'un acide carboxylique conjugué (acide 2 méthylhepta-2,6-diénoïque) en alcool est décrite avec le tétrahydruroaluminat de lithium (LAH) dans le THF à température ambiante.¹⁴⁰ Dans ces conditions, l'acide **30** ne réagit pas. Le diisobutylaluminium (DIBAL-H) est alors utilisé comme réducteur sur l'ester **29** qui est plus réactif que l'acide.

Une telle réduction aurait dû permettre avec 1 équivalent de DIBAL-H d'obtenir directement l'aldéhyde à -78°C mais l'ester **29** n'est pas soluble dans le toluène à cette température. A -20°C , la réduction ne s'arrête pas à l'aldéhyde. Il faut donc traiter l'ester avec 2.5 équivalents de DIBAL-H pour obtenir quantitativement l'alcool correspondant.¹⁴¹

Puis une oxydation avec PCC, un couplage avec le CETP et enfin une hydrolyse basique conduisent à l'acide **58** (Figure 60).

Nous avons mis au point une synthèse d'acides polyméthylés chiraux saturés et α,β -insaturés qui met en jeu une alkylation stéréospécifique d'un azaénolate. Pour ces acides gras, chaque centre asymétrique introduit est obtenu avec un rapport S/R de 94/6, les diastéréoisomères n'ayant pas pu être séparés.

Ces acides ont servi à la synthèse de sulfoglycolipides diacylés. La série d'analogues obtenue a permis d'étudier l'influence de la structure des chaînes lipidiques sur l'antigénicité de la molécule.

IV. Synthèse des sulfoglycolipides diacylés

L'étude des sulfoglycolipides acylés par des chaînes linéaires a mis en évidence l'importance des substituants méthyles de l'acide hydroxyphthiocéranolique pour l'antigénicité du composé. Ce résultat a été confirmé par l'étude des analogues obtenus par hémisynthèse.

Afin d'étudier plus en détail le rôle de la structure de la partie lipidique sur l'antigénicité des sulfoglycolipides, des acides gras polyméthylés ont été synthétisés. Ils ont permis la synthèse d'une famille d'analogues des sulfoglycolipides diacylés mycobactériens (Ac₂SGL). La stratégie de synthèse utilisée est celle décrite dans le paragraphe I.

Plusieurs aspects ont pu être abordés :

- Le nombre de ramifications méthyles

Les sulfoglycolipides **62**, **66**, **70** et **74** ont été synthétisés à partir des acides saturés mono- (**23**), di- (**36**), tri- (**43**) et tétraméthylés (**50**) respectivement (Figure 61).

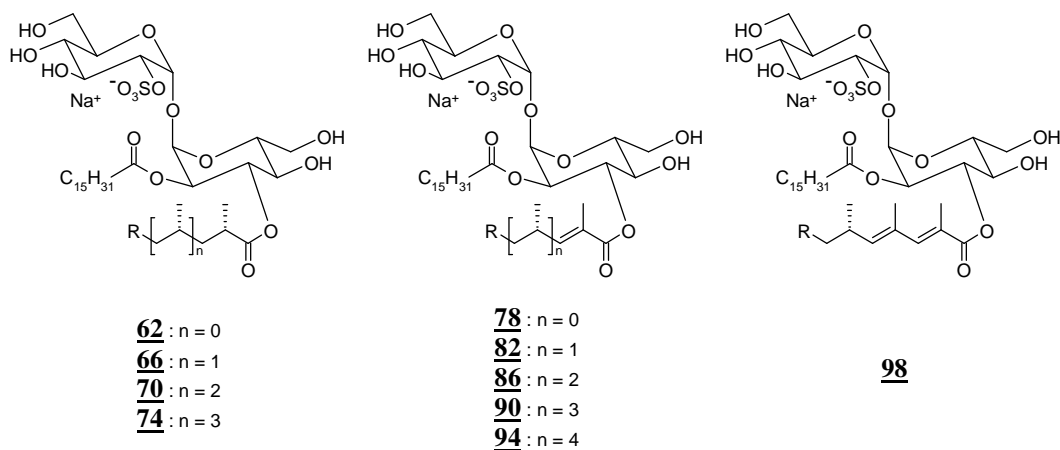


Figure 61 : Sulfoglycolipides synthétisés pour l'étude de l'importance du nombre de substituants méthyles et le nombre de double liaisons. R = C₁₅H₃₁ ou C₁₇H₃₅.

- Le nombre de doubles liaisons

De la même manière que pour les acides saturés, les α,β -insaturés **21** (mono-), **30** (di-), **38** (tri-), **45** (tétra-) et **52** (pentaméthylé) ont conduit aux analogues **78**, **82**, **86**, **90** et **94** pour étudier l'effet des doubles liaisons sur l'activité antigénique (Figure 61). Dans le cas des acides insaturés, l'acylation du tréhalose a donné de moins bons rendements en moyenne (28-48 %) que pour les acides saturés (49-68 %), leur électrophilie étant diminuée par l'effet de conjugaison dû à la présence de la double liaison. Encore moins électrophile, l'acide **58**, possédant deux doubles liaisons conjuguées, n'estérifie le tréhalose qu'avec un rendement de 25 %, pour la synthèse du sulfoglycolipide **98** (Figure 61).

- La chiralité des acides gras

L'importance de la configuration absolue des atomes de carbone asymétriques est évaluée grâce à la synthèse du sulfoglycolipide **102** estérifié par l'acide **31** (Figure 62).

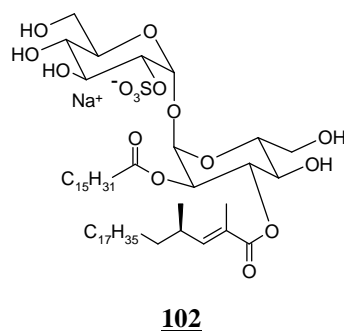


Figure 62 : Analogue synthétisé pour montrer l'importance de la chiralité de la chaîne lipidique estérifiant la position 3.

- Les longueurs des chaînes

Nous nous sommes intéressés à l'influence des longueurs de chaînes sur le chargement des sulfoglycolipides dans la protéine CD1b et sur leur activité antigénique. Pour cela, nous avons synthétisé l'analogue **106** estérifié en position 3 par l'acide triméthylé **55** (C_8) ; les analogues **112** et **118** qui diffèrent par la longueur de la chaîne linéaire située en position 2 : C_8 et C_{24} respectivement ; et enfin, l'analogue **128** acylé par deux acides gras de longueurs C_8 : l'acide octanoïque et l'acide **55** (Figure 63).

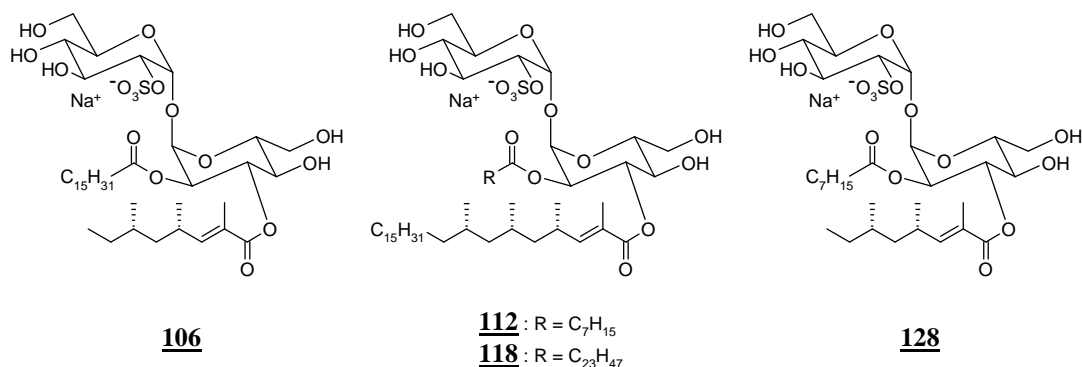


Figure 63 : Sulfoglycolipides estérifiés par des acides gras de différentes longueurs.

- Localisation des chaînes

Pour étudier le positionnement du glycolipide dans la protéine CD1b, nous avons synthétisé le composé **124**, estérifié en position 2 par l'acide diméthylé **30** et en position 3 par l'acide hexadécanoïque. Le sulfoglycolipide **124** est l'isomère de **82**, dans lequel les deux chaînes sont permutées (Figure 64).

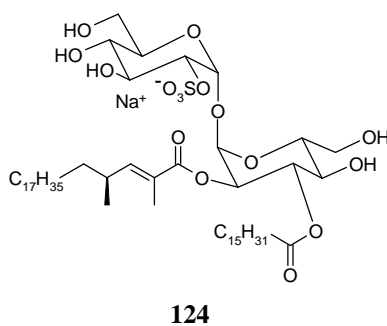


Figure 64 : Structure de l'analogue **124** pour l'étude du positionnement de l'antigène dans les poches de CD1b.

Ainsi, seize analogues contenant des chaînes polyméthylés ont été synthétisés. Ils partagent tous la même structure de la partie polaire, à savoir un α,α -D-tréhalose, sulfaté en position 2' et diacylé sur les positions 2 et 3, et diffèrent par la structure de leurs chaînes lipidiques. Un tableau récapitule toutes les structures en Annexe 1.

Le chargement dans la protéine CD1b ainsi que l'activité antigénique de tous ces sulfoglycolipides ont ensuite été testés.

Chapitre 2

ACTIVITE ANTIGENIQUE DES SULFOGLYCOLIPIDES DE SYNTHÈSE

ACTIVITE ANTIGENIQUE DES SULFOGLYCOLIPIDES DE SYNTHÈSE

Pour chacune des molécules synthétisées, le chargement dans la protéine CD1b *in vitro* ainsi que son activité antigénique sur les lymphocytes T ont été testés. Les résultats obtenus ont permis de mieux comprendre certains mécanismes moléculaires intervenant dans la présentation des antigènes par la protéine CD1b et dans la reconnaissance des complexes ainsi formés par le récepteur des lymphocytes T.

I. Tests réalisés sur les analogues

1. Chargement des sulfoglycolipides de synthèse dans la protéine CD1b

La formation des complexes ainsi que les analyses par électrophorèse (IEF, isoelectric electrofocusing) sur gel ont été effectués à l'IPBS par Luis F. Garcia-Allès et les analyses par électrophorèse capillaire (cIEF), par Thérèse Brando dans l'équipe.

Le domaine extracellulaire soluble de la protéine CD1b humaine (shCD1b) a été exprimé dans des cellules de souris et purifié par chromatographie d'affinité anti-CD1b.⁵⁷ Elle est, à ce moment là, chargée par deux lipides endogènes neutres, une molécule de phosphatidylcholine et un autre lipide contenant de 41 à 44 atomes de carbone de structure exacte inconnue.⁵⁷ La protéine shCD1b est ensuite incubée avec les Ac₂SGL naturels ou les analogues synthétiques à 37°C et pH 4 pendant 6 heures. Dans une deuxième série d'expériences, les sulfoglycolipides sont mélangés à un milieu détergent contenant 10 mM de taurocholate puis incubés avec shCD1b pendant une heure à 37°C et pH 5.

Le chargement des sulfoglycolipides dans la protéine est contrôlé par électrophorèse sur gel et évalué quantitativement par électrophorèse capillaire.

Comme les sulfoglycolipides sont chargés négativement, le complexe shCD1b:SGL a un point isoélectrique différent de celui du complexe initial, et par conséquent une migration électrophorétique différente. Effectivement, la protéine shCD1b initiale montre une seule bande en analyse IEF et un seul pic en cIEF, et lorsque shCD1b est incubée avec Ac₂SGL, une deuxième bande, plus acide, apparaît sur le gel. De même, un pic supplémentaire est détecté par électrophorèse capillaire à un temps de migration plus élevé. (Figure 65).

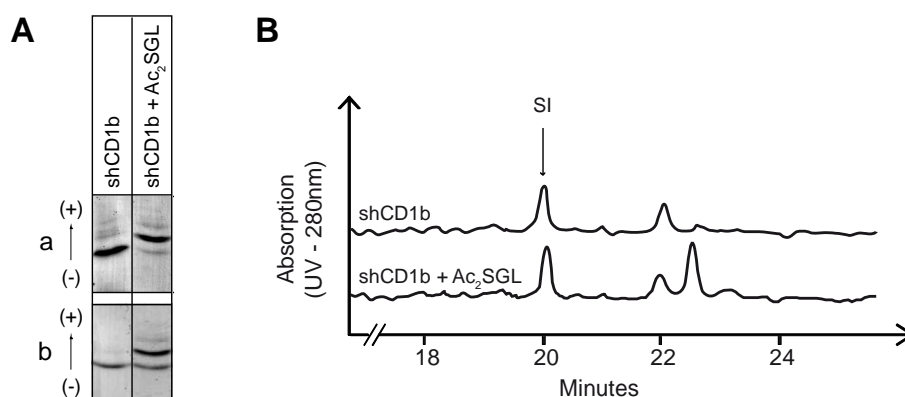


Figure 65 : A. Analyse par IEF sur gel des Ac₂SGL chargés par la protéine shCD1b. a) Incubation pendant 6 h à 37°C, pH 4.0; b) Incubation pendant 1 h à 37°C, pH 5.0, en présence de 10 mM de taurocholate. B. Electrophérogramme obtenu dans le cas d'une incubation de shCD1b avec les Ac₂SGL, en présence de taurocholate par électrophorèse capillaire (SI : standard interne).

De façon générale, les sulfoglycolipides se chargent mieux en présence de taurocholate. En milieu aqueux, les sulfoglycolipides s'organisent en micelles et l'ajout de détergent permet de libérer les molécules qui sont ainsi plus disponibles pour être prises en charge par les protéines. Les analyses par cIEF ne sont réalisées que pour les incubations en présence de taurocholate.

Par l'intégration des pics de l'électrophérogramme, on peut calculer le pourcentage de protéines shCD1b chargées. Dans les cas des Ac₂SGL, le taux de chargement est mesuré à 70 % (Figure 65B).

Ces méthodes ont ensuite été utilisées pour tous les analogues synthétisés ce qui nous a permis d'évaluer qualitativement et quantitativement le taux de chargement des différents composés dans la protéine shCD1b. Ces résultats sont montrés en Annexes 2 et 3.

2. Activation d'une lignée cellulaire de lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL

Tous les composés synthétisés ont été testés pour leur activité antigénique sur une lignée cellulaire de lymphocytes T spécifique des Ac₂SGL, Z4B27.⁶⁸ Celle-ci a été obtenue par l'équipe de Gennaro De Libero à Bâle (Suisse) avec laquelle nous collaborons et toutes ces expériences ont été effectuées par Anthony Collmann, doctorant dans cette équipe. Les tests d'activation ont été réalisés de deux manières : les sulfoglycolipides étaient présentés soit par la protéine soluble shCD1b, sous forme de complexes formés *in vitro*, soit par des cellules dendritiques.

a. Antigènes présentés par des cellules dendritiques

Des cellules dendritiques humaines exprimant un taux important de CD1b ont été utilisées en tant que cellules présentatrices d'antigènes pour stimuler les lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL (Z4B27) en présence d'une quantité croissante de sulfoglycolipides. La quantité d'IFN- γ sécrété par les lymphocytes T, mesurée par test ELISA, est représentative du pouvoir antigénique du composé (Figure 66).

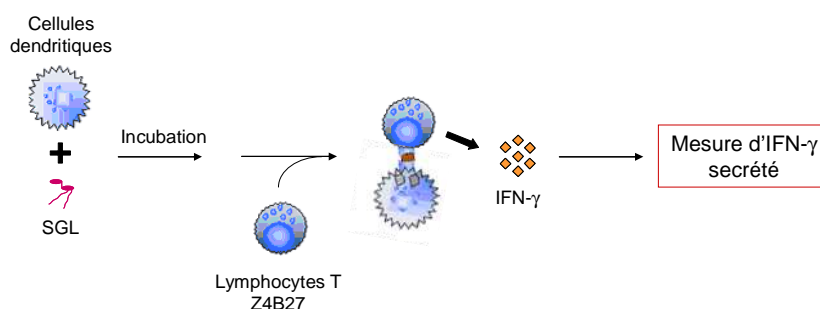


Figure 66 : Principe du test d'activation des lymphocytes T par les sulfoglycolipides présentés par des cellules dendritiques. L'activité antigénique est proportionnelle à la quantité d'IFN- γ sécrété.

Les résultats de ces expériences sont détaillés pour chacun des composés dans le paragraphe II.

b. Antigènes présentés par la protéine humaine CD1b soluble

Les complexes shCD1b:SGL, tels qu'on les a utilisés pour les expériences d'IEF, ont été testés sur les lymphocytes T Z4B27 afin de s'assurer que le complexe formé *in vitro* était analogue à celui formé dans les cellules dendritiques.

Les complexes sont fixés dans des puits de plaque ELISA et on ajoute les lymphocytes T. La quantité de GM-CSF (facteur stimulant les colonies de granulocytes et macrophages) secrété est mesurée par un test ELISA (Figure 67).

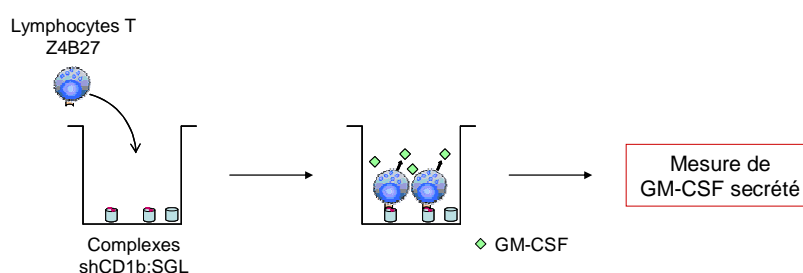


Figure 67 : Principe du test d'activation des lymphocytes T par les sulfoglycolipides en complexe avec la protéine shCD1b. L'activité antigénique est proportionnelle à la quantité de GM-CSF secrété.

Le complexe shCD1b:Ac₂SGL formé *in vitro* est reconnu par le clone Z4B27 de lymphocytes T, ce qui montre que les complexes formés *in vitro* sont identiques à ceux présentés à la surface de la cellule dendritique. Nos expériences de chargement sont alors validées.

Ceci montre également que les sulfoglycolipides ne subissent pas d'apprêtement dans la cellule présentatrice d'antigènes avant d'être chargés dans CD1b.

De plus, nous avons étudié l'influence du taux de chargement des sulfoglycolipides dans la protéine sur la stimulation des lymphocytes T. Les complexes actifs shCD1b:Ac₂SGL ont été mélangés avec une quantité croissante de protéines non chargées tout en maintenant la concentration totale de protéine constante. Chaque mélange a été testé sur les lymphocytes T Z4B27. Ceux-ci sont environ trois fois moins stimulés lorsque le taux de chargement diminue de 100 à 70 % et ne sont plus activés à 50 % (Figure 68). Ceci montre la corrélation directe entre la quantité de complexes actifs et la stimulation des lymphocytes T suggérant un effet cluster nécessaire à la stimulation des lymphocytes T.

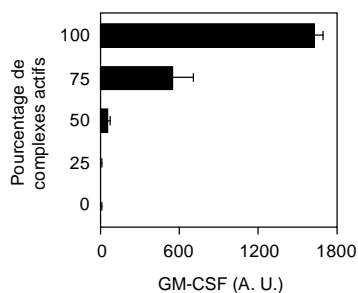


Figure 68 : Activité du complexe shCD1b:Ac₂SGL en fonction de la concentration en complexes actifs.

Les résultats pour chaque complexe shCD1b:SGL sont montrés en Annexe 4. Ils ne sont que qualitatifs, les concentrations en protéines chargées sont différentes pour chacun des mélanges utilisés, les activités ne sont donc pas comparables.

II. Résultats

1. Les sulfoglycolipides contenant deux chaînes linéaires

Les expériences par IEF ont montré que les trois analogues **7**, **12** et **16**, estérifiés par un acide linéaire en position 3, se liaient à shCD1b mais avec des taux de chargement différents. Les composés **7** et **12**, acylés par les acides « courts » (C₁₆), forment des complexes à des taux similaires aux Ac₂SGL (60-80 %, Annexe 2 et 3). En revanche, l'analogue **16** ne se lie qu'à 20 % des protéines, indépendamment des conditions de chargement. Ce résultat est surprenant car le sulfoglycolipide **16** est, parmi ces trois, celui dont la structure est la plus proche des sulfoglycolipides naturels.

Les activités antigéniques de ces trois composés ont été évaluées sur les lymphocytes T Z4B27, aucun n'est reconnu par le récepteur des lymphocytes T.

Ces résultats montrent que la présence d'une chaîne linéaire à la place de l'acide hydroxyphthiocéranolique altère l'antigénicité de la molécule et suggèrent que les substituants méthyles de l'acide estérifiant la position 3 du tréhalose sont nécessaires pour la reconnaissance du complexe CD1b:SGL par le récepteur des lymphocytes T.

Ces données sont assez inattendues puisque Moody *et al.* avaient montré, dans le cas du GMM, que, quelque soient les motifs présents en positions distale et proximale de l'acide mycolique, le GMM stimulait les lymphocytes T.⁶⁷

2. Hémisynthèse

Le mélange **17** de sulfoglycolipides obtenus par hémisynthèse avec des acides hydroxyptiocéranoniques, contient le composé majoritaire des Ac₂SGL selon le spectre de masse MALDI-Tof en mode négatif. Comme attendu, ce mélange active les lymphocytes T Z4B27 (Figure 69).

Le mélange **18**, contenant majoritairement des sulfoglycolipides estérifiés par des acides mycosanoïques et mycolipéniques (Annexe 1), stimule aussi les lymphocytes T (Figure 69).

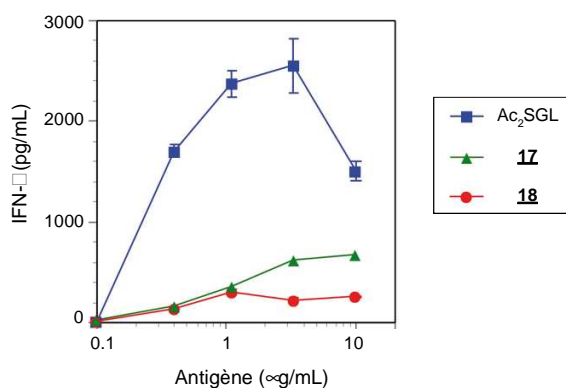


Figure 69 : Résultats des tests d'activation des composés **17** et **18** obtenus par hémisynthèse.

Le fait que la quantité d'IFN- γ produite soit inférieure pour les mélanges **17** et **18** que pour l'antigène naturel s'explique par la présence dans ces mélanges de sulfoglycolipides estérifiés par des chaînes linéaires, composés montrés inactifs dans le paragraphe II.1. Par conséquent, la concentration en complexes actifs à la surface des cellules dendritiques est diluée, ce qui diminue de façon importante la stimulation des lymphocytes T (Figure 68). Ces résultats montrent ainsi l'importance des groupements méthyles de l'acide hydroxyptiocéranonique sur l'antigénicité des sulfoglycolipides.

3. Le nombre de substituants méthyles contrôle l'activité antigénique des sulfoglycolipides

Le chargement de chacun des analogues **62**, **66**, **70** et **74** par la protéine shCD1b a été déterminé par IEF et comparé à celui de l'antigène naturel. Ils se lient à la protéine CD1b avec le même pourcentage que le composé naturel, environ 60 %, constant pour tous les analogues de cette famille (Annexe 3).

En revanche, pour les sulfoglycolipides **78**, **82**, **86**, **90** et **94**, acylés par un acide gras α,β -insaturé, le pourcentage de protéine chargée semble dépendre du nombre de ramifications méthyles. En effet, le chargement diminue de 80 % à 50 % quand le nombre de méthyles augmente de 1 à 5 (Annexe 3). Il est difficile d'expliquer ce résultat, d'autant qu'il semble spécifique des molécules contenant une chaîne insaturée.

En ce qui concerne le pouvoir antigénique de tous ces composés, les résultats des tests de stimulation des lymphocytes T montrent, de façon générale, que l'activité augmente avec le nombre substituants méthyles, que ce soit pour les analogues contenant une chaîne saturée ou insaturée (Figure 70).

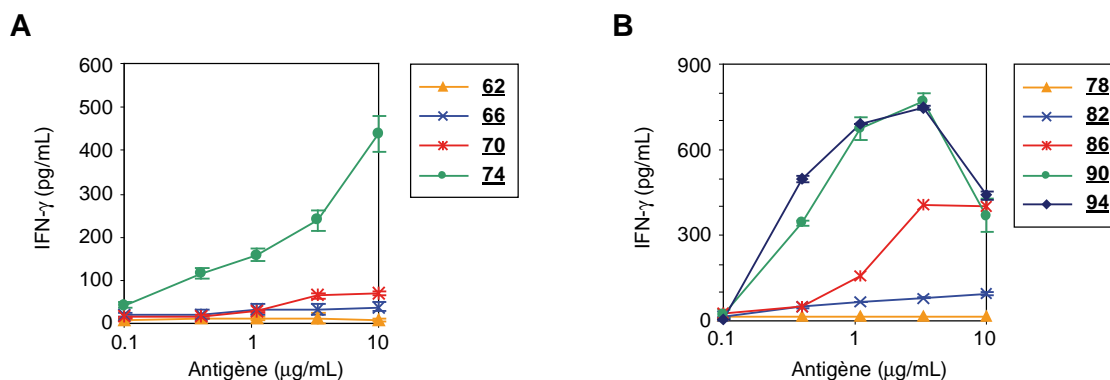


Figure 70 : Activité antigénique *ex vivo* des sulfoglycolipides de synthèse par mesure de la quantité d'IFN- γ produite par les lymphocytes T Z4B27, spécifiques des Ac₂SGL. **A**. Activité des analogues **62**, **66**, **70** et **74** contenant un acide polyméthylé saturé et **B**. des analogues **78**, **82**, **86**, **90** et **94**, acylés par un acide gras α,β -insaturé.

La courbe représentative de l'activité des Ac₂SGL n'est pas montrée ici mais, à titre indicatif, environ 2500 pg/mL d'IFN- γ sont mesurés pour une concentration d'antigène de 3 $\mu\text{g/mL}$. On peut remarquer que les composés **90**, acylé par l'acide (4*S*,6*S*,8*S*)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoïque, et **94**, acylé par l'acide (4*S*,6*S*,8*S*,10*S*)-2,4,6,8,10-pentaméthylhexacos-2-énoïque, ont une activité similaire.

4. Importance des doubles liaisons

En comparant maintenant les activités des sulfoglycolipides estérifiés par un acide saturé par rapport à ceux estérifiés par un acide gras α,β -insaturé, on montre, pour un même nombre de substitutions méthyles, les acides conjugués confèrent aux sulfoglycolipides un pouvoir antigénique supérieur (Figure 71).

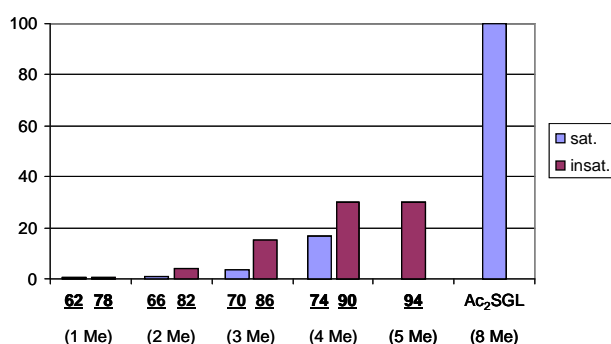


Figure 71 : Pourcentage d'activité des analogues synthétisés par rapport aux Ac₂SGL naturels. Mise en évidence d'une stimulation plus importante des lymphocytes T dans le cas des sulfoglycolipides acylés par un acide contenant une double liaison conjuguée.

Ainsi, alors que les sulfoglycolipides estérifiés par des acides insaturés sont actifs à partir de deux groupements méthyles, ceux contenant des chaînes saturées le sont à partir de trois ramifications méthyles.

Le composé **98**, contenant un acide gras avec deux doubles liaisons, stimule le clone Z4B27 de façon équivalente au composé saturé (Figure 72).

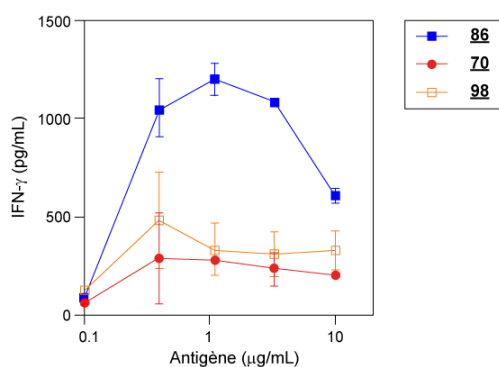


Figure 72 : Comparaison des activités des sulfoglycolipides estérifiés en position 3 par un acide triméthylé saturé (**70**, rouge), mono-insaturé (**86**, bleu) et di-insaturé (**98**, orange).

Pour un nombre de ramifications méthyles donné, le pouvoir antigénique des sulfoglycolipides est maximal pour les composés acylés en position 3 par un acide gras α,β -insaturé. Ce résultat est très intéressant pour la synthèse chimique d'analogues actifs puisque ces acides gras contiennent un centre de chiralité en moins par rapport aux molécules saturées. Toutefois, les origines de ce gain d'activité restent inexplicables étant donné que le composé naturel est estérifié par un acide gras saturé, l'acide hydroxyphthiocéranique.

5. Effet de la longueur des chaînes

a. En position 2 du tréhalose

En ce qui concerne le chargement, le composé **118**, contrairement à **112**, se lie très peu aux protéines shCD1b, indépendamment des conditions de chargement. Seulement 20 % des protéines forment des complexes avec **118** alors que 50 % chargent l'analogue **112** (Annexes 2 et 3).

De plus, comme on peut s'y attendre, **118** n'active pas les lymphocytes T Z4B27, mais on peut détecter une activité pour le composé **112**, néanmoins plus faible que celle du composé **90** (Figure 73).

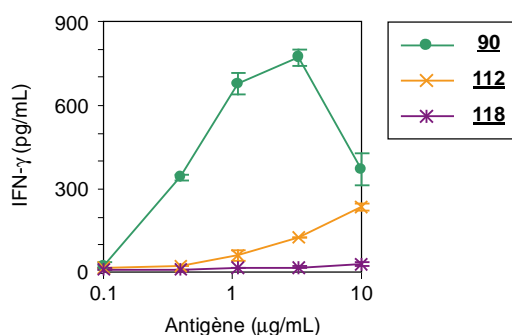


Figure 73 : Comparaison des activités des composés **90**, **112**, **118**. Ces composés diffèrent par la longueur de l'acide gras qui estérifie la position 2 du tréhalose : C₁₆ pour **90** (vert), C₈ pour **112** (orange) et C₂₄ pour **118** (violet).

Dans le cas du composé **112**, la présence d'une chaîne courte (C₈) peut modifier le trafic du composé dans la cellule dendritique, ce qui empêche sa rencontre avec la protéine CD1b et donc altère les mécanismes de présentation aux lymphocytes T.

L'absence de chargement de l'analogue **118** dans shCD1b reflète probablement la difficulté d'accommoder dans le canal C' une des deux chaînes lipidiques de longueur C₂₄.

b. En position 3 du tréhalose

Le composé **106** est estérifié en position 2 par un acide hexadécanoïque et en position 3 par l'acide (4*S*,6*S*)-2,4,6-triméthyl-oct-2-énoïque. Par comparaison avec le composé **86**, nous avons pu évaluer l'importance de la longueur de la chaîne localisée en position 3 du tréhalose, indépendamment du nombre de groupement méthyles.

Les tests d'activation des lymphocytes T Z4B27 par le composé **106**, n'ont montré aucune production d'IFN- γ . Pourtant, d'après l'analyse par IEF sur gel, le composé semble se charger. Une hypothèse similaire à celle donnée pour le composé **112** peut expliquer ce manque de stimulation.

c. Sur les positions 2 et 3 du tréhalose

Suite aux résultats obtenus pour les analogues **106** et **112**, comme attendu, le test d'activation sur cellules avec l'analogue **128** n'a montré aucune stimulation des lymphocytes T.

Les essais de chargement du composé **128** dans la protéine CD1b a montré par IEF sur gel, qu'aucun complexe ne se formait. Les protéines CD1b, telles qu'elles sont utilisées dans ce test, sont initialement chargées par une molécule de phosphatidylcholine (PC) et un autre lipide contenant entre 41 et 44 atomes de carbone. Le composé **128** ne parvient donc pas à déplacer la PC, suggérant un manque d'affinité entre ce sulfoglycolipide et la protéine, certainement dû à un manque d'interactions hydrophobes entre la partie lipidique et l'intérieur du site de liaison à l'antigène.

6. Importance de la configuration absolue des atomes de carbone asymétriques

Les taux de chargement des composés **82** et **102** sont à peu près identique (Annexes 2 et 3) mais l'analogue **102** n'a aucune activité sur les lymphocytes T Z4B27. On a ainsi démontré que la chiralité des chaînes lipidiques des sulfoglycolipides affectait leur reconnaissance par le TCR.

7. Positions d'acylation par les acides gras

Pour tenter de comprendre ce qui guide le positionnement de l'antigène dans la poche de CD1b, nous avons synthétisé le composé **124** dans lequel les substituants des positions 2 et 3 du tréhalose ont été interchangeés. La position 2 du tréhalose est estérifiée par l'acide (4S)-2,4-diméthyl-docos-2-énoïque (C₂₂) et la position 3 par un acide hexadécanoïque (C₁₆). **124** porte les mêmes chaînes que **82**, mais permutées.

Le composé **124** se charge dans shCD1b avec un pourcentage supérieur à 80 % (Annexes 2 et 3) mais n'active pas les lymphocytes T Z4B27.

On a vu que le composé **118**, acylé par deux chaînes de longueur C₂₄, n'était pas chargé par la protéine shCD1b, ce qui suggère que la poche C' ne puisse pas accueillir des acides d'une telle longueur. On suppose alors que la chaîne C₂₂ s'insère dans le canal A'-T'-F' et l'acide hexadécanoïque dans la poche C'. Le tréhalose serait alors tourné de 180° par rapport à la position qu'il a dans le complexe CD1b:**82**, expliquant pourquoi il n'est pas reconnu par le récepteur des lymphocytes T. Ce modèle proposé est présenté Figure 74.

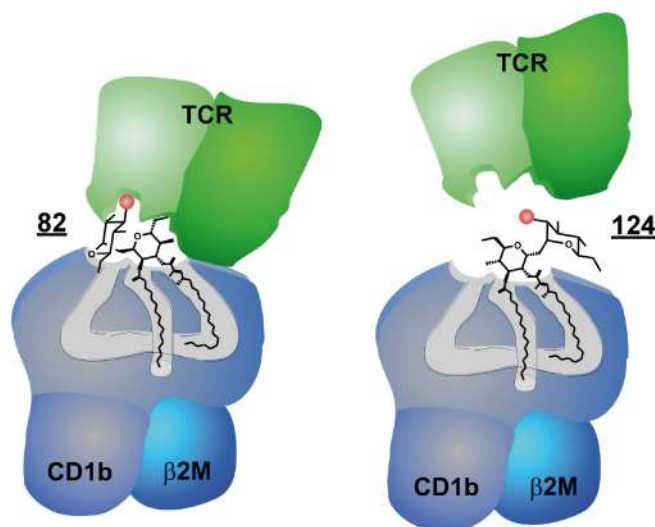


Figure 74 : Représentation schématique des complexes ternaires CD1b:82:TCR (à gauche) et CD1b:124:TCR (à droite). Dans le composé 124 (inactif), les deux chaînes lipidiques sont permutées par rapport au composé 82 qui, lui, est actif. Dans les deux cas, la partie lipidique se positionne de la même manière, en revanche, le tréhalose est tourné de 180° par rapport à la position qu'il devrait adopter dans le site de CD1b.

Pour résumer, toutes ces données montrent que les analogues des sulfoglycolipides sont antigéniques s'ils portent une chaîne lipidique de longueur inférieure à 18 atomes de carbone en position 2 et si la position 3 est estérifiée par un acide gras dextrogyre polyméthylé saturé ou α,β -insaturé

III. Discussion

Les sulfoglycolipides diacylés (Ac_2SGL), spécifiques des mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*, stimulent les lymphocytes T restreints par CD1b des sujets atteints de tuberculose active ou latente.⁶⁸ Nous montrons ici comment la structure fine de la partie lipidique des Ac_2SGL contrôle la réponse des lymphocytes T spécifiques. Il est important de comprendre les mécanismes moléculaires qui gouvernent la présentation des antigènes lipidiques ainsi que la structure minimale requise pour synthétiser des analogues en vue d'éventuels essais de vaccination.

Les Ac₂SGL sont caractérisés par la présence d'un acide hydroxyphthiocéranolique estérifiant la position 3 du tréhalose. C'est un acide gras dextrogyre dont la forme majoritaire de la famille contient 32 atomes de carbone en longueur et est ramifié par 8 groupements méthyles.⁶⁸ Nous avons synthétisé des analogues différant du composé naturel par la structure des chaînes lipidiques, la partie hydrophile restant inchangée. Tous les analogues synthétisés ont subi trois tests différents : essai de chargement dans la protéine CD1b soluble, tests d'activation d'une lignée cellulaire de lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL (Z4B27) *via* des cellules dendritiques ou en complexe avec la protéine CD1b soluble. Ces expériences nous ont permis d'étudier la manière dont les chaînes lipidiques contrôlent la stimulation des lymphocytes T.

Nous avons d'abord montré que la structure fine des chaînes d'acides gras déterminait la reconnaissance par le TCR. En effet, les analogues pour lesquels l'acide hydroxyphthiocéranolique est remplacé par l'acide hexadécanoïque (**7**) ou 16-hydroxyhexadécanoïque (**12**) ne stimulent pas les lymphocytes T alors qu'ils sont chargés dans la protéine. En revanche, l'analogue contenant l'acide triacontanoïque (**16**), dont la structure est pourtant plus proche de celle des Ac₂SGL, n'est pas chargé par CD1b *in vitro* et n'active pas les lymphocytes T Z4B27, même dans le contexte de la cellule dendritique. Les différences de structure de l'acide gras peuvent modifier le comportement de ces molécules en milieu aqueux, et notamment la stabilité des micelles formés. On peut supposer que le détergent utilisé n'est pas suffisamment puissant pour désagréger les structures micellaires formées par **16** alors que son pouvoir détergent suffit pour les micelles d'Ac₂SGL.

Ensuite, nous avons montré que l'activité antigénique dépendait de la présence de substituants méthyles sur l'acide gras acylant la position 3 du tréhalose, ainsi que de la configuration absolue des atomes de carbone portant ces ramifications.

Dans une publication récente, l'importance des chaînes lipidiques polyméthylées a été décrite pour le β -1-mannose polyprénylphosphate (Figure 8, p. 25), qui est un antigène mycobactérien présenté par la protéine CD1c. La réponse des lymphocytes T à cet antigène est strictement dépendante de la configuration absolue des atomes de carbone asymétriques de la partie lipidique.¹⁴² Nos résultats vont dans le même sens et généralisent à l'isoforme CD1b.

L'insertion d'acides ramifiés dans les poches de CD1b peut induire des changements conformationnels dans la structure tridimensionnelle de la protéine, modifications qui se répercuteraient jusqu'à la surface de la protéine, ainsi détectables par le récepteur des

lymphocytes T. En effet, les substituants méthyles de la chaîne sont proches de la tête polaire de l'antigène et donc probablement en contact direct avec les acides aminés des hélices α_1 et α_2 de CD1b. Cette hypothèse expliquerait également l'absence d'activité du composé **102**, contenant un acide lévogyre. Cet analogue se charge efficacement dans la protéine et diffère du composé **82** uniquement par la configuration absolue du carbone méthylé de l'acide gras qui estérifie la position 3 du tréhalose.

Selon la structure cristalline du complexe ternaire CD1d: α -GalCer:TCR récemment publiée, le TCR interagit avec les acides aminés situés au-dessus du canal F' de CD1d⁶⁰ (Figure 16 ; p.37). Si on suppose que le TCR se positionne de la même façon au-dessus de CD1b, il est tentant de proposer que la chaîne méthylée des sulfoglycolipides vient s'insérer dans la poche F' de CD1b au lieu de A' conformément à toutes les structures publiées des complexes CD1b:antigène.^{54, 56}

Les premières études réalisées par Moody sur le GMM, montraient que l'activité antigénique de ce composé n'était pas altérée par des modifications au niveau des décorations de la chaîne méromycolique.⁶⁷ Dans le cas du GMM, la décoration située en position proximale (double liaison, cyclopropane...) est séparée de la partie polaire par au moins 17 atomes de carbone, elle est donc insérée profondément dans les poches de CD1b⁵⁴, et n'a donc aucun effet sur la reconnaissance par le TCR. Cette hypothèse expliquerait pourquoi le composé **94**, contenant une chaîne pentaméthylée, n'est pas plus actif que l'analogue **90**, estérifié par un acide tétraméthylé. Tout ceci suggère que les modifications apportées sur la chaîne après le carbone C-10 n'ont pas d'influence sur la reconnaissance du complexe par le TCR.

Un point de notre étude reste également inexpliqué. Pourquoi les analogues synthétisés sont moins actifs que l'antigène naturel lorsqu'ils sont présentés par les cellules dendritiques, alors qu'ils présentent une activité comparable quand ils sont présentés par CD1b soluble ? Comme on l'a vu, la stimulation des lymphocytes T dépend de la quantité de protéine chargée *in vitro*, laissant supposer qu'une concentration minimum de complexe CD1b:SGL est nécessaire à la surface de la cellule dendritique pour activer les lymphocytes T spécifiques. Si les analogues ne transitent pas jusqu'aux endosomes tardifs, ils ne sont pas présentés aussi efficacement que les Ac₂SGL naturels, d'où une stimulation moins importante des lymphocytes T. Les acides gras des analogues sont plus courts (C₂₆ au maximum) que ceux des Ac₂SGL (C₃₂ pour la forme majoritaire), ce qui peut expliquer des différences de trafic

cellulaire. Dans ce sens, une étude sur le GMM a montré que lorsque l'acide mycolique est plus court (C₃₂ au lieu de C₈₀) une baisse significative du trafic dans les endosomes tardifs est détectée.⁸⁵ Une accumulation réduite d'antigènes dans ces compartiments cellulaires entraîne une diminution de la quantité de complexes CD1b:antigène à la surface de la cellule présentatrice d'antigènes. Cependant, à forte concentration, le GMM C₃₂ stimule avec la même intensité les lymphocytes T que le GMM C₈₀, ce qui n'est pas le cas pour nos composés.

Enfin, une étude sur la chaîne située en position 2 a révélé que la longueur optimale de l'acide estérifiant la position 2 est d'environ 16 atomes de carbone. Les composés **112** et **118**, acylés respectivement par des acides octanoïque et tétracosanoïque, n'activent pas ou peu les lymphocytes T par rapport à l'analogue **90** estérifié par un acide hexadécanoïque, ces trois molécules étant acylées par l'acide tétraméthylé **45** sur la position 3 du tréhalose. De plus, l'analogue **118** ne se charge pas, ce qui indique que le canal C' ne peut pas accommoder des chaînes aussi longues. Il serait donc fermé, conformément à la structure cristalline de CD1b native en complexe avec la phosphatidylcholine⁵⁷ et contrairement à la structure de la protéine renaturée qui révèle la présence d'une ouverture à l'extrémité de C'.⁵⁶

L'étude du composé **124**, acylé par un acide méthylé (C₂₂) en position 2 et par un acide linéaire (C₁₆) en position 3 est chargé par 80 % des protéines CD1b mais n'active pas les lymphocytes T. Etant donnée sa longueur, l'acide méthylé ne peut pas se positionner dans la poche C', c'est par conséquent l'acide linéaire qui y est inséré bien qu'il soit situé sur la position 3 du tréhalose, entraînant ainsi une rotation de 180° de la tête polaire, qui empêche la reconnaissance par le TCR (Figure 74, p.96).

On peut alors conclure que les longueurs et structures des chaînes lipidiques des sulfoglycolipides déterminent le positionnement de l'antigène dans le site de liaison de CD1b. Mais une question reste encore en suspens, comment CD1b peut-elle présenter le GMM, dont les deux chaînes sont de longueur supérieure à 24 atomes de carbone ?⁹⁰

Pour conclure, ces résultats soulignent le rôle crucial des éléments structuraux de la partie lipidique des sulfoglycolipides, à savoir la longueur, la présence des substituants méthyles et la chiralité, sur la stimulation des lymphocytes T spécifiques. Les campagnes d'immunisation des cochons d'Inde permettront d'étudier l'influence des modifications structurales sur l'immunogénicité des composés et leur pouvoir protecteur.



CONCLUSION -
PERSPECTIVES

CONCLUSION - PERSPECTIVES

Dans le cadre du programme européen TB-VAC de développement de nouvelles stratégies vaccinales contre la tuberculose, notre projet s'inscrit dans la mise au point d'un vaccin sous-unitaire qui pourrait être utilisé comme rappel du BCG pour l'adulte.

Une nouvelle famille d'antigènes spécifiques de *M. tuberculosis*, agent étiologique de la tuberculose, a récemment été identifiée : ce sont les sulfoglycolipides diacylés (Ac₂SGL). Ils sont présentés par la protéine CD1b et stimulent des clones de lymphocytes T CD8⁺ *ex vivo*. Ces cellules spécifiques des Ac₂SGL sont présentes chez les sujets atteints de tuberculose active ou latente ce qui confirme l'implication particulière de ces composés dans la réponse immunitaire contre cette maladie.⁶⁸ Leur rôle protecteur sur l'hôte mérite par conséquent d'être étudié.

Ces antigènes ont une structure complexe. Notamment, l'acide hydroxyphthiocéranolique, qui estérifie la position 3 du tréhalose, est un acide dextrogyre ramifié par huit groupements méthyles pour sa forme majoritaire, et un hydroxyle. L'objectif de cette thèse était de synthétiser des analogues de ces sulfoglycolipides, estérifiés par un acide gras de structure plus simple.

Pour cela, nous avons tout d'abord mis au point une synthèse générale des sulfoglycolipides diacylés. Puis, après avoir montré l'importance des substituants méthyles de l'acide hydroxyphthiocéranolique sur l'antigénicité des Ac₂SGL, nous avons synthétisé des acides gras chiraux polyméthylés. Pour cette synthèse, la stratégie utilisée met en jeu une alkylation stéréospécifique d'un énolate qui permet d'introduire dans la configuration *S* les carbones asymétriques porteurs des groupements méthyles. Ainsi, des acides gras saturés et α,β -insaturés ont été synthétisés : contenant de un à quatre groupements méthyles pour les saturés et de un à cinq pour les insaturés. Ceux-ci nous ont permis d'obtenir une série de sulfoglycolipides différant les uns des autres par la structure de la partie lipidique.

Le chargement de ces composés dans la protéine CD1b a été ensuite évalué qualitativement par électrophorèse sur gel et quantitativement par électrophorèse capillaire. Le pouvoir antigénique des analogues a été étudié par mesure de l'IFN- γ produit lors de tests d'activation *in vitro* et *ex vivo* sur une lignée cellulaire de lymphocytes T spécifique des Ac₂SGL. Ces expériences ont permis de déterminer des éléments structuraux de l'antigène nécessaires au déclenchement de la réponse immunitaire.

Nous avons pu constater que, d'après les expériences *ex vivo*, la quantité d'IFN- γ produite augmente avec le nombre de groupements méthyles présents sur la chaîne située en position 3 du tréhalose, atteignant un palier à quatre ramifications dans le cas des analogues estérifiés par un acide insaturé. Et, de façon surprenante, alors que l'acide hydroxyphthiocéranolique est saturé, les sulfoglycolipides estérifiés par un acide α,β -insaturé sont plus actifs que ceux contenant une chaîne saturée avec le même nombre de ramifications. Cependant, estérifié par un acide contenant deux doubles liaisons, le sulfoglycolipide perd son activité.

De plus, la configuration absolue des atomes de carbone asymétriques et la longueur des chaînes lipidiques sont des éléments importants pour la présentation des antigènes et la reconnaissance par les lymphocytes T. En effet, un acide lévogyre empêche la reconnaissance du sulfoglycolipide par le TCR, les analogues avec des chaînes courtes ne se chargent pas bien dans la protéine.

Cette étude nous a permis d'établir un premier modèle de présentation, dans lequel le positionnement de l'antigène dans la protéine CD1b est orienté par la structure des acides gras : si on inverse les deux chaînes, les acides gras semblent rester dans les mêmes poches et c'est par conséquent la tête polaire qui est tournée de 180° par rapport à l'orientation de l'antigène naturel.

Tous ces résultats nous ont conduits à sélectionner le sulfoglycolipide **90** comme l'analogue de synthèse le plus intéressant. De tous les composés étudiés, il est le plus actif, et l'ajout de groupements méthyles supplémentaires n'améliore pas significativement la réponse immunitaire. Le 2-*O*-hexadécanoyl-2'-*O*-sulfate-3-*O*-[(4*S*,6*S*,8*S*)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose **90** (Figure 75) a alors été synthétisé en quantité plus importante, de l'ordre de 20 mg, afin de lancer des campagnes d'immunisation *in vivo*. Dans un premier temps, les essais sont réalisés chez le cochon d'Inde qui s'est avéré être un bon modèle animal d'étude du rôle des protéines CD1.¹⁰⁶ Les souris, animaux plus communément utilisés et mieux connus, ne sont pas adaptées à ces essais puisqu'elles n'expriment pas de protéines CD1b.

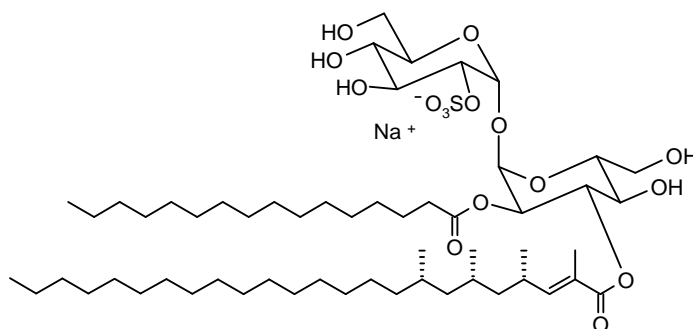


Figure 75 : Structure du composé **90**, sulfoglycolipide synthétique le plus actif *ex vivo*.

Cette expérience est réalisée en collaboration avec l'équipe de Peter Andersen aux Pays-Bas pour la formulation du vaccin et d'Anne Rawkins en Angleterre pour l'immunisation des cochons d'Inde.

Dix cochons d'Inde ont reçu trois injections d'une préparation contenant le sulfoglycolipide **90** en formulation avec des PIM et les adjuvants DDA (diméthyl dioctadécylammonium) et TDB (6,6'-dibehenoyltréhalose) à quatre semaines d'intervalle. Après un repos de six semaines, les animaux sont infectés par *M. tuberculosis*. La protection à l'infection est suivie chaque semaine par la pesée des animaux. Tous ceux qui perdent au moins 20 % de leur masse sont tués car considérés comme étant atteints de tuberculose sévère. A la fin de l'expérience, tous les cochons d'Inde seront sacrifiés afin d'examiner les éventuels foyers infectieux dans les poumons et la rate. Cette campagne a débuté en Novembre 2007 et dure environ un an.

Des immunisations par des extraits lipidiques ou par les Ac₂SGL ont déjà été réalisées sur le cochon d'Inde mais c'est la première fois qu'un lipide de synthèse est ainsi testé pour ses propriétés protectrices. Ceci implique que les conditions utilisées (formulation, quantité injectée, nombre de rappels...) devront certainement être optimisées.

Egalement, des essais de cristallisation sont en cours dans l'équipe, réalisés par Luis F. Garcia-Allès, afin de résoudre la structure du complexe CD1b:SGL. Cette structure déterminera la façon dont les sulfoglycolipides sont ancrés dans la protéine, et permettra peut-être de comprendre pourquoi la structure des acides gras joue un rôle si important dans la reconnaissance de l'antigène par le récepteur des lymphocytes T. A plus long terme, la résolution de la structure du complexe ternaire CD1b:SGL:TCR pourra être envisagée.

Une autre application envisageable pour ces sulfoglycolipides est leur utilisation pour le diagnostic de la tuberculose. Actuellement, pour dépister cette infection, il existe le test cutané à la tuberculine, qui est un moyen de diagnostiquer des sujets ayant une tuberculose latente. On injecte une solution de protéines purifiées du bacille tuberculeux sous la peau et la lecture se fait trois jours plus tard par la mesure de la réaction cutanée engendrée.¹⁴³ Cependant, ce test n'est pas significatif sur une personne ayant été vaccinée par le BCG ou, plus généralement, ayant déjà été en contact avec une mycobactérie, ce qui est le cas de la majorité de la population mondiale. Or, les sulfoglycolipides sont spécifiques de *M. tuberculosis*. Un diagnostic utilisant ce composé, permettrait de façon fiable, de différencier les sujets atteints de tuberculose latente, de ceux ayant reçu le BCG.

La tuberculose représente encore aujourd'hui un problème de santé publique dans le monde. La recherche de nouveaux vaccins et médicaments est indispensable pour espérer reprendre le contrôle sur cette maladie...



PARTIE
EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Remarques générales

Les manipulations anhydres sont effectuées dans de la verrerie séchée, avec des solvants distillés sous atmosphère inerte (argon). Les desséchants utilisés lors des distillations sont les suivants :

Solvant	Agent desséchant
Dichlorométhane	P ₂ O ₅
Toluène	P ₂ O ₅
Méthanol	Mg
Tétrahydrofurane	Na / Benzophénone

Le diméthylformamide et la pyridine sont séchés avec du tamis moléculaire 3Å.

Les réactifs commerciaux sont utilisés tels que reçus, sauf précisions. Les contrôles chromatographiques sur couches minces (CCM) sont réalisés sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice 60F₂₅₄ (épaisseur 0.2 mm) fournies par SDS (Peypin, France). Elles sont révélées à la lampe UV puis par immersion dans un mélange acide sulfurique / éthanol (5/95) et chauffage. Les séparations chromatographiques « flash » sont réalisées avec du gel de silice 60 (SDS, 35-70 µm).

Les réactions chauffées par micro-ondes ont été réalisées dans un four CEM Discover au Laboratoire de Synthèse et Physicochimie de Molécules d'Intérêt Biologique à l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire sont enregistrés à l'aide de spectromètres Bruker travaillant à 250 MHz, 300 MHz, 500 MHz et 600 MHz pour le proton, et à 63 MHz, 75 MHz, 126 MHz et 151 MHz pour le carbone. Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pour la RMN du proton et les spectres du carbone sont calibrés à 77 ppm sur le pic du chloroforme quelque soit le mélange utilisé. Les notations utilisées sont : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintuplet), dd (doublet de doublets), ddd (doublet de doublets de doublets), dt (doublet de triplets), m (massif ou multiplet).

Les pouvoirs rotatoires optiques sont déterminés à 25°C au moyen d'un polarimètre Perkin-Elmer (modèle 41).

Les analyses élémentaires ont été effectuées par le laboratoire de microanalyse du Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC) du CNRS de Toulouse.

Les analyses par spectrométrie de masse MALDI-Tof ont été réalisées en mode négatif sur un 4700 Proteomics Analyser (avec Tof-Tof Optics, Applied Biosystems) en mode réflectron. L'ionisation est réalisée grâce à un laser Nd:YAG (355 nm) qui opère par pulses de 500 ps à une fréquence de 200 Hz. L'échantillon est co-cristallisé avec la matrice HABA (acide 2-(4-hydroxyphénylazo)-benzoïque).

II. Modes opératoires

Protocole 1 : Monoacylation du tréhalose protégé 1

Le composé **1** (1 éq.) et la DMAP (1 éq.) sont dissous dans la pyridine anhydre (0.6 M), sous argon. Le chlorure d'acyle (1.1 éq.) est ensuite ajouté. La réaction dure environ 25 h.

Une fois terminée, le milieu est extrait avec un mélange acétate d'éthyle (AE) / eau. La phase organique est lavée deux fois avec une solution de HCl (1M), séchée avec MgSO₄, filtrée puis le solvant est évaporé.

Le produit monoacylé est ensuite purifié par chromatographie « flash » sur colonne de silice (éluant : AE/EP 2/3, 1/1 puis 2/1).

Protocole 2 : Silylation par TIPS du tréhalose

Le composé monoacylé (1 éq.) est dissous dans la pyridine (0.13 M) sous argon. La solution est refroidie à 0°C avant l'addition du TIPSCl₂ (1.2 éq.). Ce milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant environ 48 h.

Une fois la réaction terminée, le milieu est traité avec de l'acétate d'éthyle et de l'eau froide. La phase organique est lavée successivement avec de l'eau, une solution de HCl (1M), une solution de NaHCO₃ (5 %) et de l'eau. On basifie la phase aqueuse avec NaHCO₃ (5 %) et les produits organiques restants sont extraits avec l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont regroupées, séchées avec MgSO₄, filtrées et évaporées.

Le produit protégé est purifié par chromatographie « flash » (éluant : AE/EP 1/4).

Protocole 3 : Acylation de la position 3 du tréhalose (chauffage)

Le composé silylé monoacylé (1 éq.) et l'acide carboxylique (2 éq.) sont dissous sous atmosphère inerte d'argon dans le toluène (0.02 M en acide). Le DCC (2 éq.) et la DMAP (1 éq.) sont ajoutés à la solution. Le milieu est chauffé à reflux (100°C) pendant environ 48 h. Le toluène est évaporé et le mélange est séparé par chromatographie « flash » sur colonne de silice (éluant : AE/EP 1/8).

Protocole 4 : Acylation de la position 3 du tréhalose (micro-ondes)

Le composé silylé monoacylé (1.5 éq.) et l'acide carboxylique (1 éq.) sont dissous sous atmosphère inerte d'argon dans le toluène (0.1 M en acide). Le DCC (1 éq.) et la DMAP (1 éq.) sont ajoutés à la solution. Le milieu est chauffé aux micro-ondes 15 min à 800W.

Le toluène est évaporé et le mélange est séparé par chromatographie « flash » sur colonne de silice (éluant : AE/EP 1/8).

Protocole 5 : Acylation de la position 3 du tréhalose par le chlorure d'acyle

Le composé silylé monoacylé est dissous sous atmosphère inerte d'argon dans la pyridine (0.25 M). Le chlorure d'acyle et le DMAP (1 éq. par rapport au chlorure d'acyle) sont ajoutés à la solution. Le milieu est agité à température ambiante pendant environ 24 h.

Le milieu est extrait avec un mélange DCM/HCl 1M. La phase organique est séchée avec MgSO₄, filtrée et évaporée. Le mélange est séparé par chromatographie « flash » sur colonne de silice (éluant : AE/EP 1/8).

Protocole 6 : Désilylation

Le composé silylé (1 éq.) est mis à réagir à 40°C avec une solution de fluorure de tétrabutylammonium (NBu₄F) dans le THF (1M, 40 éq.) pendant environ 24 h. La solution commerciale de NBu₄F/THF étant légèrement basique, elle est acidifiée en ajoutant de l'acide trifluoroacétique CF₃COOH jusqu'à un pH plus acide (pH ≈ 6-6.5 mesuré au papier pH).

Une fois la réaction terminée, on dilue le milieu dans l'acétate d'éthyle, on lave à l'eau et la phase organique est séchée avec MgSO₄, filtrée et évaporée.

Le produit voulu est obtenu après purification par chromatographie « flash » sur colonne de silice (éluant : AE/EP 1/2 puis 2/3).

Protocole 7 : Sulfatation

Le composé diacylé (1 éq.) est dissous dans la pyridine (0.06 M). Une solution du complexe [SO₃ : pyridine] dans le DMF (0.5 M, 1.5 éq.) est ajoutée. La réaction s'effectue sous atmosphère inerte et à température ambiante pendant environ 24 h.

La réaction est arrêtée par ajout de 2 gouttes d'eau, le milieu est évaporé. Le produit sulfaté en position 2' est séparé de ses isomères par chromatographie « flash » sur colonne de silice (éluant : DCM/MeOH 10/1). Le produit de départ est élué en premier, puis le composé sulfaté en position 3'. Celui sulfaté en position 2' sort le troisième et enfin, le produit le plus polaire est celui disulfaté.

Protocole 8 : Déprotections finales

Le composé sulfaté est dissous dans un mélange CHCl₃/MeOH/1.7 % H₂SO₄ 60/40/8 (6 mM). Le milieu est agité à température ambiante pendant environ 48 h. Lorsque la réaction est terminée, le milieu est neutralisé par ajout d'une solution de NaHCO₃ à 5 %.

Les solvants sont évaporés et le produit est purifié par chromatographie « flash » sur colonne de silice (éluant : DCM/MeOH 10/1).

Protocole 9 : Réaction de Wittig

L'aldéhyde (1 éq.) est dissous dans le DCM anhydre (0.7 M) sous argon. Le CETP (1.2 éq.) est ensuite ajouté. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. Le solide jaune est repris dans un mélange AE/EP (2/98) afin d'être filtré sur silice pour obtenir l'ester conjugué.

Protocole 10 : Saponification d'un ester

L'ester (1 éq.) est dissous dans une solution de KOH dans un mélange H₂O/EtOH (2/3) (3 M, 12 éq.). Le mélange est porté à reflux (110°C). Après une nuit d'agitation, la réaction est arrêtée par acidification du milieu avec une solution aqueuse de HCl (6 M). L'acide est extrait avec le diéthyléther (DE) puis lavé avec de l'eau. La phase organique est séchée avec du sulfate de magnésium (MgSO₄) et le solvant est évaporé. L'acide est obtenu pur sans purification supplémentaire.

Protocole 11 : Synthèse du chlorure d'acyle à partir d'un acide

L'acide (1 éq.) est dissous dans le chlorure d'oxalyle (10 éq.) sous argon à température ambiante. Lorsque le dégagement gazeux est terminé, le milieu est agité à 40°C pendant 1 h. Le chlorure d'oxalyle résiduel est évaporé sous vide et le chlorure d'acyle est utilisé sans autre purification.

Protocole 12 : Iodation d'un alcool

L'alcool (1 éq.), mélangé à l'imidazole (3.1 éq.) et la triphénylphosphine (1.2 éq.) est dissous, sous argon, dans le toluène distillé (0.14 M). I₂ (1.3 éq.) est ajouté puis le milieu réactionnel est chauffé à 130°C pendant une heure.

Le milieu est dilué dans de l'acétate d'éthyle et lavé au thiosulfate de sodium, la phase organique est séchée avec du MgSO₄ puis concentrée.

Une purification sur colonne de silice (éluant : AE/EP 10/1) permet de récupérer le produit iodé.

Protocole 13 : Alkylation asymétrique

L'hydrazone **33** (2 éq.) est dissoute dans le THF anhydre (0.5 M) sous argon. Une solution de LDA (1.1 M, 2 éq.) dans le THF est ajoutée goutte à goutte à 0°C. Le milieu réactionnel est laissé à 0°C pendant 1 h. L'iodure (1 éq.), dissous dans le THF (0.3 M), est ensuite ajouté goutte à goutte au mélange précédent refroidi à -50°C. Ce milieu est agité à -50°C pendant 1 h puis le ballon est placé au congélateur, à -25°C, toute la nuit.

Le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait avec le DE. La phase organique est lavée à l'eau, séchée avec MgSO₄, puis évaporée.

Une purification par colonne chromatographique de silice (éluant : AE/EP 1/17) permet de recueillir le produit alkylé attendu avec un excès diastéréoisomérique d'environ 88 %.

Protocole 14 : Hydrolyse de l'hydrazone alkylée

L'hydrazone alkylée (1 éq.) est dissoute dans l'EP (0.1 M). Une solution de HCl (4 M, 30 éq.) est ajoutée à 0°C. Le mélange est agité pendant 3 h à température ambiante.

Le milieu est extrait avec le DE, puis la phase organique est lavée à l'eau. Celle-ci est ensuite séchée avec MgSO₄ puis le solvant est évaporé. L'aldéhyde est ainsi obtenu pur sans purification supplémentaire.

Protocole 15 : Réduction d'aldéhyde en alcool

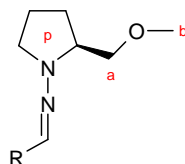
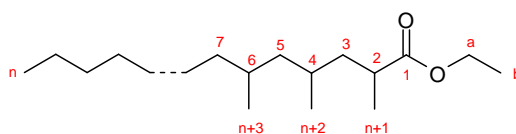
L'aldéhyde (1 éq.) est dissous, sous argon, à 0°C, dans une solution de BH₃ dans THF (1 M, 1.7 éq.) qui est ajoutée goutte à goutte. Le milieu est agité à température ambiante pendant une nuit.

La réaction est arrêtée par l'ajout d'une solution d'EtOH/AcOH 1/1. Puis le milieu est extrait au dichlorométhane. La phase organique est séchée avec MgSO₄ puis évaporée. L'alcool est obtenu pur sans purification supplémentaire.

III. Caractéristiques des composés synthétisés

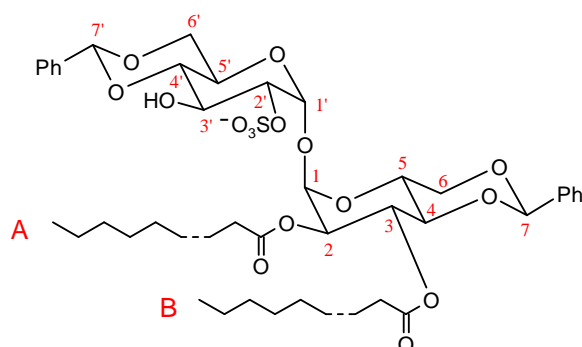
La numérotation utilisée pour décrire les molécules synthétisées les plus courantes est la suivante. Les autres sont détaillées au cas par cas.

- Pour les dérivés d'acides gras :



Les atomes d'hydrogène et de carbone de la pyrrolidine sont difficilement attribuables par RMN, ils seront tous notés de la même manière, H-p et C-p respectivement.

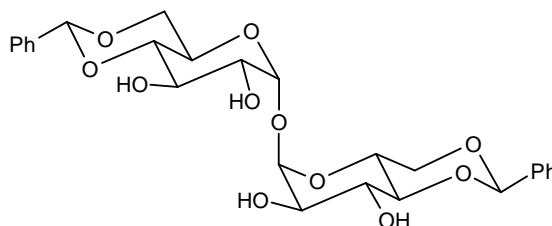
- Pour les dérivés de tréhalose :



Les protons des chaînes lipidiques sont numérotés comme pour les acides gras seuls, et sont indiqués par A ou B selon qu'ils appartiennent à l'acide estérifiant la position 2 ou à celui en position 3 respectivement.

Excepté pour le composé **7**, aucun intermédiaire de synthèse des sulfoglycolipides n'est dessiné.

Chaque molécule finale dessinée est suivie des caractéristiques de ses intermédiaires de synthèse, pour finir par ses propres caractéristiques.



1 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-α,α-D-tréhalose

L' α,α -tréhalose dihydraté commercial (20 g, 53 mmol) est chauffé à reflux pendant 30 min dans de l'éthanol absolu (120 mL) pour le déshydrater. L'alcool est ensuite totalement évaporé.

Le résidu sec est dissous dans du DMF anhydre (120 mL), le DMT (17 mL, 2 éq.) est ajouté avec le CSA (0.74 g, 0.06 éq.). Le mélange est mis à l'évaporateur rotatif et chauffé à 60°C (par réglage du vide, le méthanol formé est éliminé au fur et à mesure sans évaporer le DMF). Lorsque la neutralisation du milieu réactionnel est constatée, du DMT (2 mL, 0.25 éq.) et du CSA (0.12 g, 0.01 éq.) sont de nouveau additionnés.

Une fois la réaction terminée, le DMF est évaporé. Le milieu est ensuite neutralisé par ajout d'une solution de NaHCO₃ (5 %), il se forme un précipité blanc. Le milieu est agité toute la nuit, le produit cristallise. Les cristaux sont filtrés, lavés deux fois à l'eau et deux fois à l'EP, puis séchés.

Le solide est recristallisé dans un mélange d'éthanol bouillant (50 mL) et d'eau chaude. Les cristaux blancs sont filtrés, lavés deux fois à l'eau et deux fois à l'EP, puis séchés pour obtenir 22.93 g de 1 (cristaux blancs, 84 %).

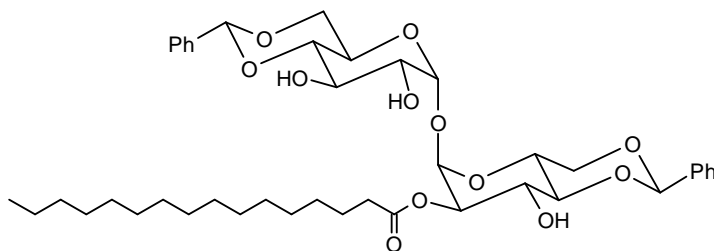
C₂₆ H₃₀ O₁₁ ; M = 518.5176 g/mol

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 3.51 (t, 2H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.66 (dd, 2H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 3.72 (t, 2H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 4.02 (t, 2H, ³J₃₋₂ = ³J₃₋₄ = 10 Hz, H-3), 4.06 (td, 2H, ³J_{5-6éq} = 4, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.28 (dd, 2H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 4 Hz, H-6_{éq}), 5.17 (d, 2H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.55 (s, 2H, H-7), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 62.6 (C-5), 68.6 (C-6), 70.0 (C-3), 72.1 (C-2), 81.1 (C-4), 94.2 (C-1), 101.6 (C-7), 126-129 (CH-Ar), 136.9 (C-Ar).



2 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **1** (5 g, 9.64 mmol) est acylé par du chlorure de palmitoyle selon le protocole général de monoacylation du tréhalose (Protocole 1). Le produit **2** est obtenu pur avec 27 % de rendement (1.96 g, solide blanc).

C₄₂ H₆₀ O₁₂ ; M = 756.9312 g/mol

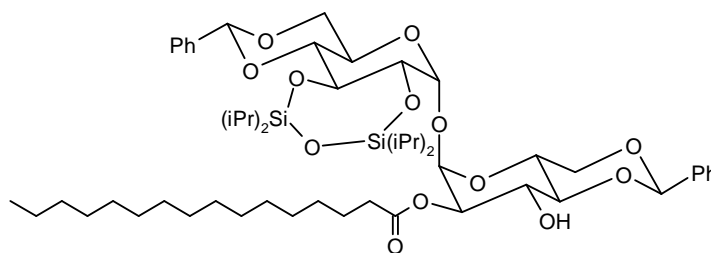
$[\alpha]_D^{25} = +87$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, ³J_{16A-15A} = 6.5 Hz, H-16A), 1.1-1.4 (m, 24H, H-(4-15)A), 1.62 (m, 2H, H-3A), 2.37, 2.44 (2 td, 2H, ³J_{2A-3A} = 8 Hz, ²J = 15.5 Hz, H-2A), 3.36 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.56 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 9.5 Hz, H-4), 3.6 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 3.5 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 3.7-4.2 (m, 5H, H-5, H-5', H-6_{éq}', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.91 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.23 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 9.5 Hz, H-3), 4.29 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5.5 Hz, H-6_{éq}), 4.85 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 9.5 Hz, H-2), 4.97 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1'), 5.31 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.39, 5.51 (2s, 2H, H-7, H-7'), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-16A), 22.6 (C-15A), 24.7 (C-3A), 29-30 (C-(4-13)A), 31.9 (C-14A), 33.9 (C-2A), 62.8, 63.2 (C-5, C-5'), 68.2, 68.5, 68.7 (C-3, C-6, C-6'), 70.9 (C-3'), 71.9 (C-2'), 72.9 (C-2), 80.7 (C-4'), 81.2 (C-4), 92.5 (C-1), 95.0 (C-1'), 101.7, 101.8 (C-7, C-7'), 126-130 (CH-Ar), 136.8, 137.0 (C-Ar), 173.4 (C-1A).



3 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **2** (250 mg, 0.33 mmol) est protégé sur ses positions 2' et 3' grâce au protocole de silylation par TIPS décrit précédemment (Protocole 2). Le produit protégé **3** est obtenu avec 58 % de rendement (190 mg, huile incolore).

$C_{54}H_{86}O_{13}Si_2$; $M = 999.4400$ g/mol

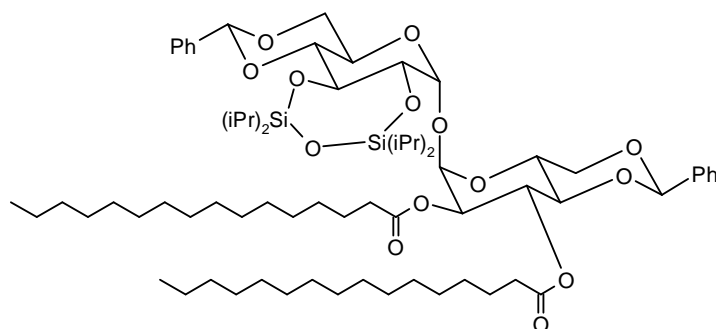
$[\alpha]_D^{25} = +43$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.92 (t, 3H, $^3J_{16A-15A} = 6.5$ Hz, H-16A), 1-1.4 (m, 52H, H-(4-15)A, H-*iPr*), 1.64 (m, 2H, H-3A), 2.42, 2.47 (2 quint, 2H, $^3J_{2A-3A} = 8$ Hz, $^2J = 16$ Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, OH-3), 3.55 (t, 1H, $^3J_{4'.5'} = ^3J_{4'.3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.61 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 9$ Hz, H-4), 3.73, 3.77 (2 t, 2H, $^2J_{6ax-6\acute{e}q} = ^3J_{6ax-5} = 10$ Hz, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.88 (td, 1H, $^3J_{5'-6\acute{e}q'} = 4$, $^3J_{5'-6ax'} = ^3J_{5'-4'} = 10$ Hz, H-5'), 3.93 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9$ Hz, H-2'), 4.1-4.4 (m, 5H, H-3, H-3', H-5, H-6_{éq}, H-6_{éq'}}), 4.91 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.15 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.41 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.57 (s, 2H, H-7, H-7'), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 11.7-13 (CH-*iPr*), 14.1 (C-16A), 17-17.4 (CH₃-*iPr*), 22.7 (C-15A), 24.7 (C-3A), 29-30 (C-(4-13)A), 31.9 (C-14A), 34.0 (C-2A), 62.3, 62.8 (C-5, C-5'), 68.6 (C-3), 68.7, 68.8 (C-6, C-6'), 73.0 (C-2), 73.5 (C-3'), 75.1 (C-2'), 81.0 (C-4'), 81.4 (C-4), 91.8 (C-1), 94.4 (C-1'), 101.0, 102.3 (C-7, C-7'), 125-130 (CH-Ar), 137.0, 137.7 (C-Ar), 173.5 (C-1A).



4 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2,3-di-O-hexadécanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **3** (248 mg, 0.25 mmol) est acylé par le chlorure de palmitoyle (150 μ L, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 5) pour donner le composé diacylé **4** (223 mg, huile incolore, 74 %).

C₇₀ H₁₁₆ O₁₄ Si₂ ; M = 1237.8326 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +31$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

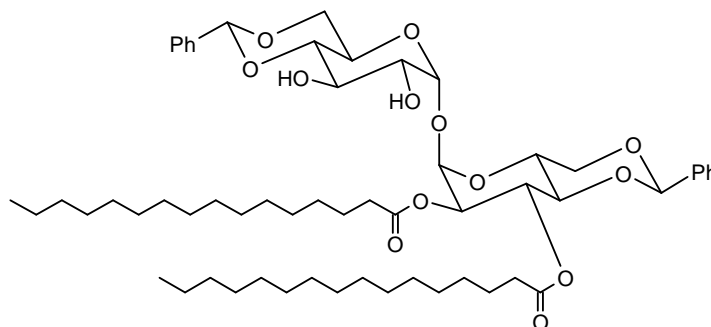
δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, $^3J_{16-15} = 6.5$ Hz, H-16A, H-16B), 1-1.4 (m, 76H, H-(4-15)A, H-(4-15)B, H-*i*Pr), 1.5-1.7 ppm (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.15-2.4 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.51 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.66 (t, 1H, $^2J_{6ax'-6\acute{e}q'} = ^3J_{6ax'-5'} = 9$ Hz, H-6_{ax'}), 3.68 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.73 (t, 1H, $^2J_{6ax-6\acute{e}q} = ^3J_{6ax-5} = 10$ Hz, H-6_{ax}), 3.83 (td, 1H, $^3J_{5'-6ax'} = ^3J_{5'-4'} = 9$ Hz, $^3J_{5'-6\acute{e}q'} = 4.5$ Hz, H-5'), 3.91 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9$ Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q'-6ax'} = 9$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q'-5'} = 4.5$ Hz, H-6_{\acute{e}q'}}), 4.22 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9$ Hz, H-3'), 4.22 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, H-6_{\acute{e}q}}), 4.32 (td, 1H, $^3J_{5-6ax} = ^3J_{5-4} = 10$ Hz, $^3J_{5-6\acute{e}q} = 5$ Hz, H-5), 4.99 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.48, 5.53 (s, 2H, H-7, H-7'), 5.67 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.7-13 (CH-*i*Pr), 14.1 (C-16A, C-16B), 17-17.4 (CH₃-*i*Pr), 22.7 (C-15A, C-15B), 24.7 (C-3A), 25.0 (C-3B), 29-30 (C-(4-13)A, C-(4-13)B), 31.9 (C-14A, C-14B), 34.0 (C-2A), 34.2 (C-2B), 62.5 (C-5), 62.7 (C-5'), 68.6, 68.7 (C-3, C-6, C-6'), 71.0 (C-2), 73.4 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.2 (C-4), 81.0 (C-4'), 91.9 (C-1), 94.4 (C-1'), 101.1, 101.7 (C-7, C-7'), 125-130 (CH-Ar), 137.0, 137.6 (C-Ar), 172.3 (C-1B), 173.2 (C-1A).

Analyse élémentaire

Calc. (%)	C 67.92	H 9.45
Exp. (%)	C 68.27	H 9.78



5 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2,3-di-O-hexadécanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **4** (206 mg, 167 μ mol) est déprotégé selon le protocole de désilylation décrit (Protocole 6) pour donner le diol **5** (134 mg, solide blanc, 81 %).

C₅₈ H₉₀ O₁₃ ; M = 995.32.74 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 57$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, 25°C)

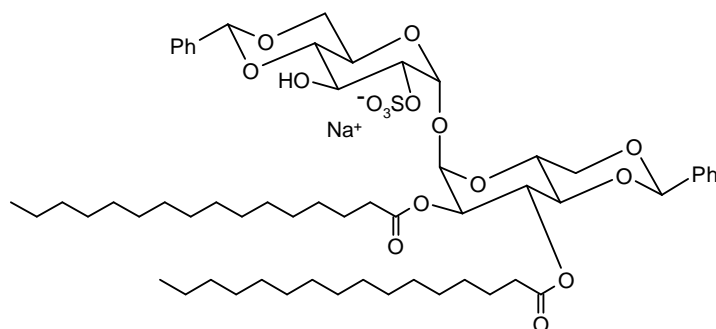
δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-16B), 1.1-1.4 (m, 48H, H-(4-15)A, H-(4-15)B), 1.58 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.26, 2.3 (2 quint, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz, H-2A), 2.37 (t, 2H, ³J_{2B-3B} = 7.5 Hz, H-2B), 3.45 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.63 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 9 Hz, H-6_{ax'}), 3.64 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 3.67 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 9.5 Hz, H-4), 3.74 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.77 (td, 1H, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, ³J_{5'-6ax'} = ³J_{5'-4'} = 9 Hz, H-5'), 4.0 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.08 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (td, 1H, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.32 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.01 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.06 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.34 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.45, 5.51 (2s, 2H, H-7, H-7'), 5.67 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-16A, C-16B), 22.7 (C-15A, C-15B), 24.8, 25.1 (C-3A, C-3B), 29-30 (C-(4-13)A, C-(4-13)B), 31.9 (C-14A, C-14B), 34.0, 34.3 (C-2A, C-2B), 63.0 (C-5), 63.2 (C-5'), 68.6, 68.7 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.0 (C-3'), 72.0 (C-2'), 79.2 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.3 (C-1), 94.9 (C-1'), 101.4, 101.9 (C-7, C-7'), 126-130 (CH-Ar), 136.8, 137.0 (C-Ar), 172.7 (C-1B), 173.0 (C-1A).

Analyse élémentaire

Calc. (%)	C 69.99	H 9.11
Exp. (%)	C 69.89	H 9.16



6 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2,3-di-O-hexadécanoïl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **5** (129 mg, 0.13 mmol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **6** (64 mg, solide blanc, 45 %).

C₅₈ H₈₉ O₁₆ S Na ; M = 1097.3724 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +57$ ($c = 1.0$, MeOH/DCM 1/4)

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

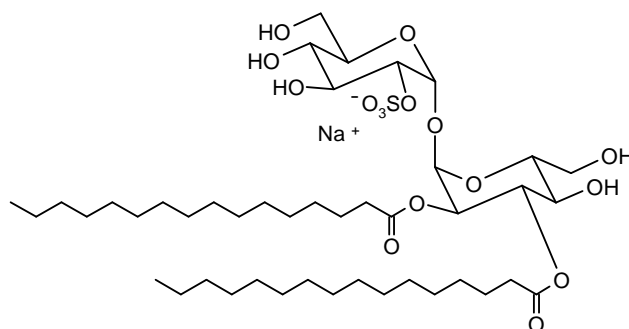
δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-16B), 1.1-1.4 (m, 48H, H-(4-15)A, H-(4-15)B), 1.6 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.29, 2.34 (2 quint, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz, H-2A), 2.38 (t, 2H, ³J_{2B-3B} = 7.5 Hz, H-2B), 3.64 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 10 Hz, H-4'), 3.66 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.69 (t, 1H, ²J_{6ax-6eq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.74 (t, 1H, ²J_{6ax'-6eq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.91 (td, 1H, ³J_{5'-6eq'} = 5, ³J_{5'-6ax'} = ³J_{5'-4'} = 10 Hz, H-5'), 4.11 (dd, 1H, ²J_{6eq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6eq'-5'} = 5 Hz, H-6_{eq'}), 4.14 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 10 Hz, H-3'), 4.36 (td, 1H, ³J_{5-6eq} = 5 Hz, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.39 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 10 Hz, H-2'), 4.51 (dd, 1H, ²J_{6eq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6eq-5} = 5 Hz, H-6_{eq}), 5.02 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.32 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.48, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.58 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 13.7 (C-16A, C-16B), 22.4 (C-15A, C-15B), 24.6 (C-3A), 24.9 (C-3B), 29-30 (C-(4-13)A, C-(4-13)B), 31.7 (C-14A, C-14B), 33.7 (C-2A), 34.1 (C-2B), 62.5 (C-5), 63.0 (C-5'), 68.3, 68.4 (C-3', C-6, C-6'), 68.8 (C-3), 70.7 (C-2), 76.5 (C-2'), 78.8 (C-4), 80.7 (C-4'), 93.0 (C-1), 94.2 (C-1'), 101.2, 101.8 (C-7, C-7'), 125-129 (CH-Ar), 136.7, 136.9 (C-Ar), 172.9 (C-1B), 172.9 (C-1A).

MALDI-Tof-MS (mode négatif) :

Calc. : m/z = 1073.59 Exp. : m/z = 1073.58



7 : 2,3-Di-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **6** (37 mg, 33.7 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement le sulfoglycolipide attendu **7** (21 mg, solide blanc).

$C_{44}H_{81}O_{16}SNa$; $M = 921.1591$ g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +58$ ($c = 1.0$, MeOH/DCM/ 1/4)

RMN 1H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 3/2, 25°C)

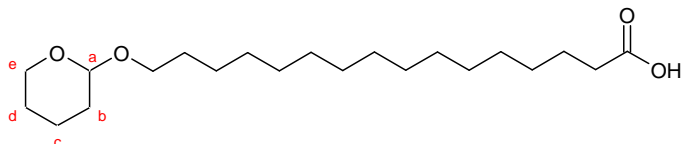
δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, $^3J = 7$ Hz, H-16A, H-16B), 1.2-1.4 (m, 48H, H-(4-15)A, H-(4-15)B), 1.6 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.35 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.48 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.57 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.65-3.75 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.9 (m, 2H, H-3', H-6), 4.22 (m, 2H, H-2', H-5), 4.88 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.29 (d, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.44 (t, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 5.48 (d, $^3J_{1'-2'} = 3.5$ Hz, H-1').

RMN ^{13}C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 3/2, 25°C)

δ (ppm) = 12.8 (C-16A, C-16B), 21.8 (C-15A, C-15B), 24.0, 24.2 (C-3A, C-3B), 28-29 (C-(4-13)A, C-(4-13)B), 31.1 (C-14A, C-14B), 33.1, 33.4 (C-2A, C-2B), 60.3 (C-6, C-6'), 68.3 (C-4), 69.4 (C-4'), 70.2 (C-2), 70.7 (C-3'), 71.2 (C-5), 71.8 (C-3), 71.9 (C-5'), 76.1 (C-2'), 91.4 (C-1), 92.3 (C-1'), 172.6 (C-1B), 173.0 (C-1A).

MALDI-Tof-MS (mode négatif) :

Calc. : $m/z = 897.52$ Exp. : $m/z = 897.52$



8 : Acide 16-tétrahydropyranoxyhexadécanoïque

L'acide 16-hydroxyhexadécanoïque (200 mg, 0.72 mmol) est dissous dans du DCM anhydre (4 mL). Le DHP (0.2 mL, 1.5 éq.) et une pointe de spatule de CSA sont ajoutés sous atmosphère d'argon. Le milieu est agité à température ambiante pendant une nuit. Le mélange est purifié par chromatographie « flash » (éluant : AE/EP 1/2). On obtient l'acide **8** (254 mg, solide blanc, 99 %).

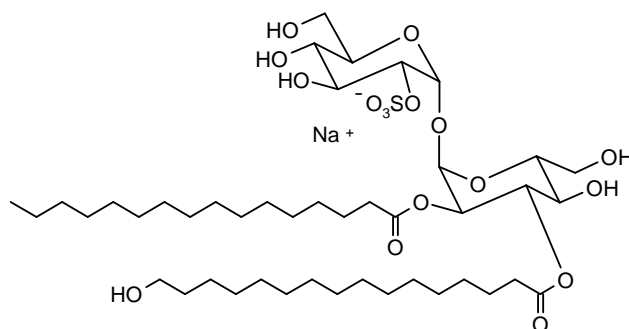
$C_{21} H_{40} O_4$; $M = 240.4295$ g/mol

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 1.1-2 (m, 32H, H-(3-15), H-b, H-c, H-d), 2.34 (t, 2H, $^3J_{2-3} = 7.5$ Hz, H-2), 3.38, 3.73 (2 dt, 2H, $^3J_{16-15} = 6.5$ Hz, $^2J = 9.5$ Hz, H-16), 3.5, 3.86 (2 m, 2H, H-e), 4.57 (dd, 1H, $^3J_{a-b} = 2.5$ et 4 Hz, H-a).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 19.7, 24.7, 25.5, 26.2, 29-30, 30.8, 33.9 (C-2), 62.3 (C-15), 67.7 (C-e), 98.8 (C-a).

**12**

* * * * *

9 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-(16-tétrahydropyranoxyhexadéca-noyl)-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **3** (35 mg, 35 μ mol) est acylé par l'acide **8** (25 mg, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **9** (27 mg, huile incolore, 58 %).

C₇₅ H₁₂₄ O₁₆ Si₂ ; M = 1337.9710 g/mol

*RMN*¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.9 (t, 3H, ³J_{16A-15A} = 7 Hz, H-16A), 1-1.4 (m, 82H, H-(4-15)A, H-(4-15)B, H-*i*Pr, H-bB, H-cB, H-dB), 1.5-1.6 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.25-2.45 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.38, 3.73 (2 td, 2H, ³J_{16B-15B} = 6.5 Hz, ²J = 9.5 Hz, H-16B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.5, 3.9 (2 m, 2H, H-eB), 3.66 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 9 Hz, H-6_{ax'}), 3.68 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.73 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.8 (m, 1H, H-5'), 3.9 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.19 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.2-4.4 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}), 4.57 (dd, 1H, ³J_{aB-aB} = 3 et 4 Hz, H-aB), 4.98 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.12 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.48, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.66 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

10 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-(16-tétrahydropyranoxyhexadéca-noyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **9** (27.1 mg, 20.2 μ mol) est déprotégé selon le protocole général de désilylation (Protocole 6) pour donner le diol **10** (20 mg, solide blanc, 90 %).

C₆₃ H₉₈ O₁₅ ; M = 1095.4621 g/mol

*RMN*¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.9 (t, 3H, ³J_{16A-15A} = 7 Hz, H-16A), 1-2 (m, 58H, H-(3-15)A, H-(3-15)B, H-bB, H-cB, H-dB), 2.25-2.45 (m, 4H, H-2A, H-2B), 2.54, 2.92 (2 m, 2H, (OH)-2', (OH)-3'), 3.38, 3.73 (2 dt, 2H, ³J_{16B-15B} = 6.5 Hz, ²J = 9.5 Hz, H-16B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.48, 3.86 (m, 1H, H-eB), 3.6-3.95 (m, 5H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 4.07 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.0-4.25 (m, 2H, H-5, H-6_{éq'}), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 4.57 (dd, 1H, ³J_{aB-aB} = 3 et 4 Hz, H-aB), 5.02 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.16 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.38 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.49, 5.52 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

11 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-(16-tétrahydropyranoxyhexadéca-noyl)-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **10** (9 mg, 7.66 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **11** (1.4 mg, solide blanc, 15 %).

C₆₃ H₉₇ O₁₈ S Na ; M = 1197.5074 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.9 (t, 3H, ³J_{16A-15A} = 7 Hz, H-16A), 1-1.8 (m, 58H, H-(3-15)A, H-(3-15)B, H-bB, H-cB, H-dB), 2.3-2.5 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.6 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.4, 3.73 (2 dt, 2H, ³J_{16B-15B} = 6.5 Hz, ²J = 9.5 Hz, H-16B), 3.65-3.8 (m, 3H, H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.53, 3.9 (m, 2H, H-5'B), 4.1-4.5 (m, 5H, H-2', H-3', H-5, H-5', H-6_{éq}'), 4.53 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 4.59 (dd, 1H, ³J_{aB-aB} = 3 et 4 Hz, H-aB), 5.03 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.35 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.52, 5.56 (2 s, 2H, H-7', H-7), 5.6 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

12 : 2-O-Hexadécanoyl-3-O-(16-hydroxyhexadécanoyl)-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **11** (1.4 mg, 1.19 μ mol) est déprotégé (Protocole 8) pour donner quantitativement (0.8 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **12**.

C₄₄ H₈₁ O₁₇ S Na ; M = 937.1719 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +43$ (c = 0.15, MeOH/CHCl₃ 1/1)

RMN ¹H (600 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

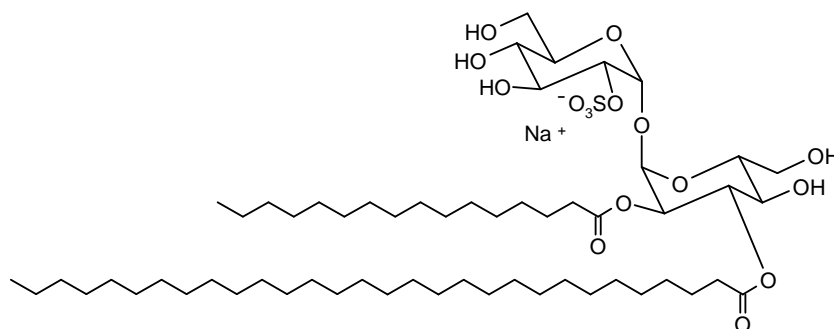
δ (ppm) = 0.89 (t, 3H, ³J_{16A-15A} = 7 Hz, H-16A), 1.0-1.7 (m, 48H, H-(3-15)A, H-(3-15)B), 2.3-2.4 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.5 (m, 2H, H-4, H-4'), 3.57 (t, 2H, ³J_{16B-15B} = 7 Hz, H-16B), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.2 (m, 1H, H-5), 4.23 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 3.5 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.88 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.28 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.43 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.47 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1').

RMN ¹³C DEPT135 (151 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 14.0 (C-16A), 19.9, 22.9, 24.0, 25.1, 25.2 (C-3A, C-3B), 26.0, 29-30 (C-(4-15)A, C-(4-15)B), 32.1, 32.7, 34.2, 34.6 (C-2A, C-2B), 61.4 (C-6'), 61.7 (C-6), 62.4 (C-16B), 69.7 (C-4), 70.4 (C-4'), 71.2 (C-2), 71.8 (C-3'), 72.2 (C-5), 72.7 (C-3, C-5'), 77.1 (C-2'), 92.3 (C-1), 93.2 (C-1').

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 913.52 Exp. : m/z = 913.61

**16**

* * * * *

13 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-3-O-triacontanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **3** (266 mg, 0.27 mmol) est acylé par l'acide triacontanoïque (241 mg, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **13** (311 mg, huile incolore, 81 %).

$C_{84} H_{144} O_{14} Si_2$; $M = 1434.2048$ g/mol

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-16A, H-30B), 1-1.6 (m, 108H, H-(3-15)A, H-(3-29)B, H-*i*Pr), 2.3 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.51 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.65 (t, 1H, $^2J_{6ax'-6\acute{e}q'} = ^3J_{6ax'-5'} = 9$ Hz, H-6_{ax'}), 3.69 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.74 (t, 1H, $^2J_{6ax-6\acute{e}q} = ^3J_{6ax-5} = 10$ Hz, H-6_{ax}), 3.83 (td, 1H, $^3J_{5'-6ax'} = ^3J_{5'-4'} = 9$ Hz, $^3J_{5'-6\acute{e}q'} = 4.5$ Hz, H-5'), 3.91 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9$ Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q'-6ax'} = 9$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q'-5'} = 4.5$ Hz, H-6_{éq'}), 4.20 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9$ Hz, H-3'), 4.22 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, H-6_{éq}), 4.30 (td, 1H, $^3J_{5-6ax} = ^3J_{5-4} = 10$ Hz, $^3J_{5-6\acute{e}q} = 5$ Hz, H-5), 4.98 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.12 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.47, 5.53 (s, 2H, H-7, H-7'), 5.66 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

14 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-triacontanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **13** (101 mg, 71 μ mol) est déprotégé selon le protocole de désilylation décrit (Protocole 6) pour donner le diol **14** (37 mg, solide blanc, 44 %).

$C_{72} H_{118} O_{13}$; $M = 1191.6995$ g/mol

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, $^3J = 7$ Hz, H-16A, H-30B), 1.1-1.7 (m, 80H, H-(3-15)A, H-(3-29)B), 2.35 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.52 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.69 (t, 1H, $^2J_{6ax'-6\acute{e}q'} = ^3J_{6ax'-5'} = 9$ Hz, H-6_{ax'}), 3.7-3.9 (m, 4H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}), 4.0-4.2 (m, 3H, H-3', H-5, H-6_{éq'}), 4.33 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, H-6_{éq}), 5.03 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.39 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.51 (s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.0 (C-16A, C-30B), 22.6 (C-15A, C-29B), 24.7, 25.0 (C-3A, C-3B), 29-30 (C-(4-13)A, C-(4-13)B), 31.8 (C-14A, C-14B), 33.9, 34.2 (C-2A, C-2B), 62.8 (C-5), 63.2 (C-5'), 68.6, (C-3, C-6, C-6'), 70.5 (C-2), 70.8 (C-3'), 72.1 (C-2'), 79.1 (C-4), 80.9 (C-4'), 92.1 (C-1), 95.0 (C-1'), 101.4, 101.8 (C-7, C-7'), 126-130 (CH-Ar), 136.7, 137.0 (C-Ar), 173.0 (C-1B), 173.2 (C-1A).

* * * * *

15 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2,3-di-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-triacontanoyl-α,α-D-tréhalose

Le composé **14** (18.2 mg, 15.3 μmol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **15** (7 mg, solide blanc, 36 %).

C₇₂ H₁₁₇ O₁₆ S Na ; M = 1293.7446 g/mol

[α]_D²⁵ = + 48 (c = 0.72, MeOH/DCM)

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-30B), 1.1-1.4 (m, 76H, H-(4-15)A, H-(4-29)B), 1.6 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.29, 2.34 (2 quint, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz, H-2A), 2.38 (t, 2H, ³J_{2B-3B} = 7.5 Hz, H-2B), 3.64 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 10 Hz, H-4'), 3.66 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.69 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.74 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.91 (td, 1H, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, ³J_{5'-6ax'} = ³J_{5'-4'} = 10 Hz, H-5'), 4.11 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.14 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 10 Hz, H-3'), 4.36 (td, 1H, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.39 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 10 Hz, H-2'), 4.51 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.02 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.32 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.48, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.58 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

16 : 2-O-Hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-triacontanoyl-α,α-D-tréhalose

Le composé **15** (7 mg, 5.41 μmol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (3 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **16**.

C₅₈ H₁₀₉ O₁₆ S Na ; M = 1117.5312 g/mol

RMN ¹H (600 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-30B), 1.0-1.4 (m, 76H, H-(4-15)A, H-(4-29)B), 1.6 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.35 (m, 4H, H-2A, H-2B), 3.50 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.53 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.65-3.75 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.9 (m, 2H, H-3', H-6), 4.23 (m, 2H, H-2', H-5), 4.88 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.29 (d, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.45 (t, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.48 (d, ³J_{1'-2'} = 3 Hz, H-1').

RMN ¹³C HSQC (151 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 13.0 (C-16A, C-30B), 21.8 (C-15A, C-15B), 24.0 (C-3A, C-3B), 28-30 (C-(4-13)A, C-(4-27)B), 31.0 (C-14A, C-28B), 33.3 (C-2A, C-2B), 60.5 (C-6, C-6'), 68.7 (C-4), 69.4 (C-4'), 70.2 (C-2), 70.9 (C-3'), 71.1 (C-5), 71.8 (C-3, C-5'), 76.3 (C-2'), 91.1 (C-1), 92.2 (C-1').

MALDI-Tof-MS (mode négatif) :

Calc. : m/z = 1093.74 Exp. : m/z = 1093.53

Préparation des acides naturels

La culture de *M. tuberculosis*, la préparation de l'extrait lipidique, les différentes partitions ainsi que la précipitation à l'acétone avait été effectuées au préalable dans le laboratoire.

Purification de la fraction acétone soluble

La purification se fait par chromatographie sur colonne de silice. L'élution se fait avec une proportion croissante de méthanol dans le chloroforme. Pour 1 g de fraction acétone soluble :

CHCl ₃	200 mL
CHCl ₃ /MeOH 9/1	100 mL
CHCl ₃ /MeOH 8/2	100 mL
CHCl ₃ /MeOH 7/3	200 mL
CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O 6/4/0.4	300 mL

On réalise des fractions de 50 mL. Les contenus de toutes les fractions sont analysés en MALDI-Tof MS. Les sulfolipides tétra et triacylés sortent dans les fractions 7, 8 et 9. Elles sont regroupées (540 mg) afin d'être éthanolysées.

Ethanolyse

Le mélange de glycolipides obtenu (127 mg) est éthanolysé dans une solution d'éthanolate de sodium dans l'éthanol (0,2 M, 1 mL) avec l'éther de pétrole (2 mL).

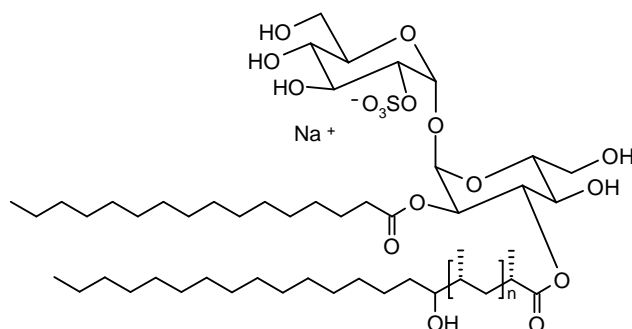
Le milieu est agité pendant 24 heures à température ambiante sous atmosphère d'argon. La réaction est arrêtée par ajout d'une solution de HCl (1M) pour neutraliser le milieu.

Les esters sont extraits par un mélange AE/EP.

La purification s'effectue par chromatographie « flash » (éluant : EP / DE / AcOH 90/10/1). On distingue trois familles de produits ayant des migrations différentes sur CCM. Goren a attribué ces trois taches à (dans l'ordre de polarité croissante)¹⁰⁴ :

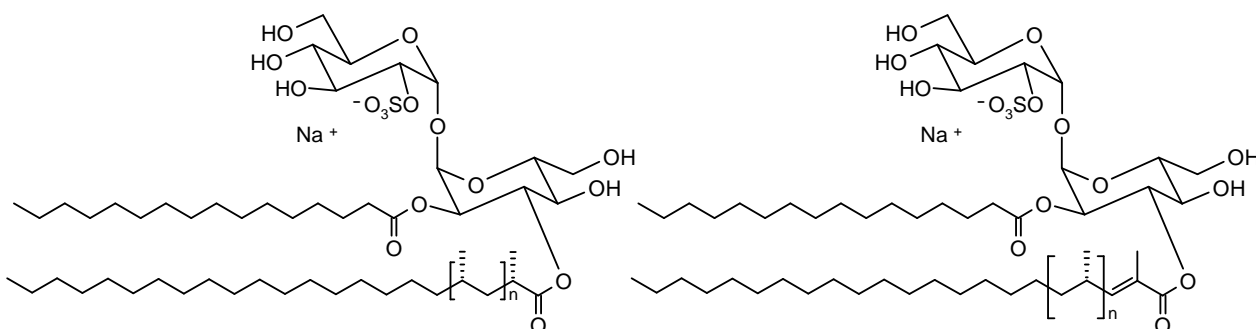
- A. Les esters polyméthylés, non hydroxylés.
- B. Les esters linéaires.
- C. Les esters polyméthylés, hydroxylés.

La chromatographie réalisée ne permet pas de bien séparer les deux premières familles. Les fractions enrichies en A sont regroupées (6 mg) et celles contenant les esters C représentent 3 mg.

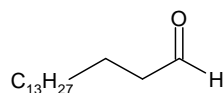
Les sulfoglycolipides hémisynthétiques :**17 : 2-O-Hexadécanyol-3-O-hydroxyphthiocéranoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose**

Le mélange C contient des esters hydroxylés, leur fonction alcool est d'abord protégée avant qu'ils soient hydrolysés en milieu basique pour obtenir le mélange d'acides correspondant.

Puis ce mélange d'acides est estérifié sur le tréhalose pour obtenir au final le sulfoglycolipide hémisynthétique **17**.

**18 : 2-O-Hexadécanyol-3-O-mycosanoyl/mycolipénoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose**

Le mélange A des esters les moins polaires est saponifié afin d'obtenir les acides correspondant. Puis ces acides carboxyliques sont utilisés pour acylés le composé **3** selon le même protocole de synthèse que tous les autres sulfoglycolipides de synthèse. Le mélange de sulfoglycolipides hémisynthétiques obtenu est noté **18**.

**19 : Hexadécanal**

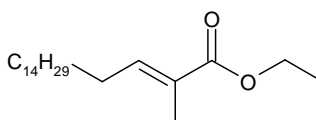
Le PCC (20.2 g, 1.5 éq.) est dissous dans le dichlorométhane anhydre (150 mL) avec 20 g de célite. Ce mélange est agité sous argon à température ambiante pendant 30 min, puis l'hexadécanol (15 g, 61.9 mmol) est ajouté.

Après 2 h d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur silice élué avec le diéthyléther. Le solvant est évaporé, l'aldéhyde **19** obtenu (14 g, solide blanc) n'est pas purifié et utilisé tel quel pour la réaction suivante.

$C_{16} H_{32} O$; $M = 240.4295$ g/mol

RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{16-15} = 6.5$ Hz, H-16), 1.2-1.4 (m, 24H, H-(4-15)), 1.63 (m, 2H, H-3), 2.42 (td, 2H, $^3J_{2-3} = 7$ Hz, H-2), 9.76 (t, 1H, $^3J_{1-2} = 2.5$ Hz, H-1).

**20 : 2-Méthyl-octadéc-2-énoate d'éthyle**

Synthétisé à partir de l'aldéhyde **19** (14 g, 58.2 mmol), l'ester conjugué **20** (18 g, huile incolore, 90 % sur les deux étapes) est obtenu grâce à la réaction de Wittig décrite précédemment (Protocole 9).

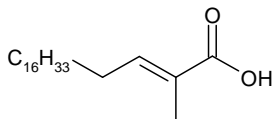
$C_{21} H_{40} O_2$; $M = 324.5411$ g/mol

RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{18-17} = 6.5$ Hz, H-18), 1.1-1.5 (m, 26H, H-(5-17)), 1.29 (t, 3H, $^3J_{b-a} = 7$ Hz, H-b), 1.82 (d, 3H, $^4J_{19-3} = 1.5$ Hz, H-19), 2.16 (q, 2H, $^3J_{4-3} = ^3J_{4-5} = 7$ Hz, H-4), 4.19 (q, 2H, $^3J_{a-b} = 7$ Hz, H-a), 6.76 (tq, 1H, $^3J_{3-4} = 7$ Hz, $^4J_{3-19} = 1.5$ Hz, H-3).

$RMN^{13}C$ (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 12.3 (C-19), 14.1 (C-18), 14.3 (C-b), 22.7 (C-17), 28-30 (C-(4-15)), 31.9 (C-16), 60.3 (C-a), 127.6 (C-2), 142.5 (C-3), 168.3 (C-1).

**21 : Acide 2-méthylcos-2-énoïque**

L'ester analogue de **20** (146 mg, 0.41 mmol) est saponifié selon le protocole général décrit (Protocole 10), et permet d'obtenir 132 mg d'acide **21** (solide blanc, rendement quantitatif).

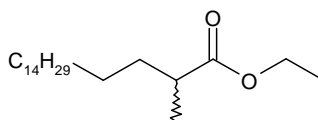
$C_{21} H_{40} O_2$; $M = 324.5411$ g/mol

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{20-19} = 6.5$ Hz, H-20), 1-1.7 (m, 30H, H-(5-19)), 1.84 (d, 3H, $^4J_{21-3} = 1.5$ Hz, H-21), 2.19 (q, 2H, $^3J_{4-3} = ^3J_{4-5} = 7$ Hz, H-4), 6.9 (tq, 1H, $^3J_{3-4} = 7$ Hz, $^4J_{3-21} = 1.5$ Hz, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 11.9 (C-21), 14.1 (C-20), 22.7 (C-19), 28-32, 126.9 (C-2), 145.5 (C-3), 173.8 (C-1).



22 : 2-Méthyloctadécanoate d'éthyle

L'ester conjugué **20** (18 g, 55.5 mmol) est dissous dans l'AE (80 mL) sous argon. Une spatule de palladium sur charbon actif 10 % est ajoutée. Après 4 h d'agitation sous atmosphère de dihydrogène, le milieu réactionnel est filtré sur célite. Une purification par colonne chromatographique de gel de silice (éluant : AE/EP 2/98) permet d'obtenir l'ester **22** (12.8 g, solide blanc, 71 %).

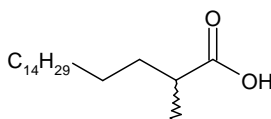
$C_{21} H_{42} O_2$; $M = 326.5570$ g/mol

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{18-17} = 6.5$ Hz, H-18), 1.14 (d, 3H, $^3J_{19-2} = 7$ Hz, H-19), 1.2-1.7 (m, 33H, H-(3-17), H-b), 2.16 (sext, 1H, $^3J_{2-3} = ^3J_{2-19} = 7$ Hz, H-2), 4.12 (q, 2H, $^3J_{a-b} = 7$ Hz, H-a).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-18), 14.3 (C-b), 17.1 (C-19), 22.7 (C-17), 27.2, 29-30, 31.9 (C-16), 33.8, 39.6, 60.0 (C-a), 177.0 (C-1).



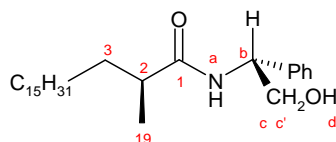
23 : Acide 2-méthyloctadécanoïque

L'ester **22** (12.8 g, 39.5 mmol) est saponifié selon le protocole général décrit (Protocole 10), et permet d'obtenir 10.6 g d'acide en mélange racémique **23** (solide blanc, 91 %).

$C_{19} H_{38} O_2$; $M = 298.5038$ g/mol

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{18-17} = 6.5$ Hz, H-18), 1.18 (d, 3H, $^3J_{19-2} = 7$ Hz, H-19), 1.2-1.7 (m, 30H, H-(3-17)), 2.47 (sext, 1H, $^3J_{2-3} = ^3J_{2-19} = 7$ Hz, H-2).



24 : (S)-N-[(R)-1-Hydroxy-2-phényl]-éthyl-2-méthyl-octadécaneamide

L'acide **23** (10.6 g, 35.6 mmol) est activé par le chlorure d'oxalyle selon le Protocole 11.

Le chlorure d'acyle ainsi obtenu est dissous dans le dichlorométhane anhydre (70 mL) sous argon. Le (R)-phénylglycinol (5.37 g, 1.1 éq.) et la DMAP (5 g, 1.2 éq.) sont ajoutés au milieu réactionnel à 0°C. Le mélange est agité une nuit à température ambiante.

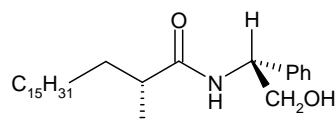
Le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait avec le DCM. La phase organique est séchée avec MgSO₄ puis évaporée.

Une purification par colonne chromatographique (éluant : AE/DCM 1/8) permet de séparer les deux diastéréoisomère (R,S) **24** (5.5 g, solide blanc, 37 %) et (R,R) **25**.

C₂₇ H₄₇ O₂ N ; M = 417.6676 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

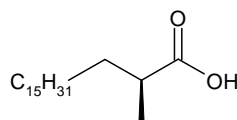
δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, ³J₁₈₋₁₇ = 6.5 Hz, H-18), 1.18 (d, 3H, ³J₁₉₋₂ = 7 Hz, H-19), 1.1-1.7 (m, 30H, H-(3-17)), 2.25 (sext, 1H, ³J₂₋₃ = ³J₂₋₁₉ = 7 Hz, H-2), 2.65 (dd, 1H, ³J_{d-c} = 5 Hz, ³J_{d-c'} = 7 Hz, H-d), 3.91 (m, 2H, H-c, H-c'), 5.08 (dt, 1H, ³J_{b-c} = 5.5 Hz, ³J_{b-a} = 6 Hz, H-b), 6.0 (d, 1H, ³J_{a-b} = 6 Hz, H-a), 7.3-7.5 (m, 5H, H-Ar).



25 : (R)-N-[(R)-1-Hydroxy-2-phényl]-éthyl-2-méthyl-octadécaneamide

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, ³J₁₈₋₁₇ = 6.5 Hz, H-18), 1.14 (d, 3H, ³J₁₉₋₂ = 7 Hz, H-19), 1.1-1.7 (m, 30H, H-(3-17)), 2.25 (sext, 1H, ³J₂₋₃ = ³J₂₋₁₉ = 7 Hz, H-2), 2.75 (dd, 1H, ³J_{d-c} = 5 Hz, ³J_{d-c'} = 7 Hz, H-d), 3.91 (m, 2H, H-c, H-c'), 5.08 (dt, 1H, ³J_{b-c} = 5.5 Hz, ³J_{b-a} = 6 Hz, H-b), 6.05 (d, 1H, ³J_{a-b} = 6 Hz, H-a), 7.3-7.5 (m, 5H, H-Ar).



26 : Acide (S)-2-méthylodécadécanoïque

L'amide **24** (5.5 g, 13.2 mmol) est dissous dans une solution d'acide sulfurique 3 N dans un mélange dioxanne / eau (1/1) (250 mL). Le mélange, porté à reflux (110°C), est agité pendant une nuit. La réaction est arrêtée par ajout d'eau. La phase aqueuse est extraite trois fois avec le DCM et la phase organique est lavée à l'eau puis avec une solution saturée de chlorure de sodium, avant d'être séchée avec MgSO₄, puis évaporée. Une filtration sur silice (éluant : AE/DCM 1/8) permet d'obtenir quantitativement l'acide **26** diastéréisomériquement pur (3.9 g, huile incolore).

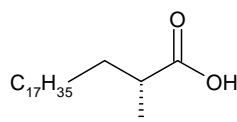
C₁₉ H₃₈ O₂ ; M = 298.5038 g/mol

[α]_D²⁵ = + 9.5 (c = 1.0, CHCl₃)

(littérature : [α]_D²⁵ = + 9.7 (c = 9.0, CHCl₃)¹⁴⁴)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, ³J₁₈₋₁₇ = 7 Hz, H-18), 1.18 (d, 3H, ³J₁₉₋₂ = 7 Hz, H-19), 1.2-1.5 (m, 29H, H-(4-17)), 1.7 (m, 1H, H-3), 2.46 (sext, 1H, ³J₂₋₁₉ = ³J₂₋₃ = 7 Hz, H-2).



27 : Acide (R)-2-méthyllicosanoïque

L'amide analogue en C₁₈ de **25** (365 mg, 0.82 mmol) est hydrolysée selon le même protocole que **24** pour obtenir quantitativement l'acide **27** diastéréisomériquement pur (266 mg, huile incolore).

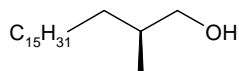
C₂₁ H₄₂ O₂ ; M = 326.5570 g/mol

[α]_D²⁵ = - 8.7 (c = 1.0, CHCl₃)

(littérature : [α]_D²¹ = - 8.8 (c = 1.0, CHCl₃)¹¹⁸)

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, ³J₂₀₋₁₉ = 6.5 Hz, H-20), 1.18 (d, 3H, ³J₂₁₋₂ = 7 Hz, H-21), 1.0-1.5 (m, 33H, H-(4-19)), 1.7 (m, 1H, H-3), 2.47 (sext, 1H, ³J₂₋₂₁ = ³J₂₋₃ = 7 Hz, H-2).

**28 : (S)-2-Méthyloctadécan-1-ol**

L'acide **26** (3.9 g, 13.1 mmol) est mis sous argon, puis une solution de BH_3 1 M dans THF (26 mL, 2 éq.) est versée goutte à goutte dans le ballon contenant le produit, à 0°C . La réaction, suivie par CCM, est laissée sous agitation à température ambiante toute la nuit.

La réaction est arrêtée par l'ajout d'EtOH/AcOH 1 :1. Le milieu réactionnel est extrait trois fois avec le DCM. La phase organique est ensuite séchée avec MgSO_4 et le solvant est évaporé afin d'obtenir l'alcool **28** (3.6 g, huile incolore, 98 %).

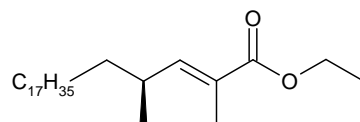
$\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{O}$; $M = 284.5203$ g/mol

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -5.9$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

(littérature : $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -5.5$ ($c = 5.0$, benzène)¹⁴⁴)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 0.87 (t, 3H, $^3J_{18-17} = 7$ Hz, H-18), 0.90 (d, 3H, $^3J_{19-2} = 7$ Hz, H-19), 1-1.5 (m, 30H, H-(3-17)), 1.6 (m, 1H, H-2), 3.40 (dd, 1H, $^3J_{1-2} = 6.5$ Hz, $^2J_{1-1'} = 10.5$ Hz, H-1), 3.49 (dd, 1H, $^3J_{1'-2} = 6$ Hz, $^2J_{1'-1} = 10.5$ Hz, H-1').



29 : (S)-2,4-Diméthylidoscos-2-énoate d'éthyle

L'alcool (analogue en C₁₈ de **28**) (1.57 g, 5.02 mmol), est d'abord oxydé par PCC selon le même protocole que pour obtenir l'aldéhyde **19**. Puis l'ester **29** est synthétisé selon le protocole général de la réaction de Wittig décrit (Protocole 9), et est obtenu avec un rendement de 86 % sur les deux étapes (1.72 g, huile incolore).

C₂₆ H₅₀ O₂ ; M = 394.6818 g/mol

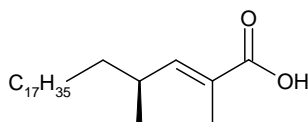
[α]_D²⁵ = + 17 (c = 1.0, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.9 (t, 3H, ³J₂₂₋₂₁ = 6.5 Hz, H-22), 1.0 (d, 3H, ³J₂₄₋₄ = 6.5 Hz, H-24), 1.2-1.5 (m, 37H, H-(5-21), H-b), 1.85 (d, 3H, ⁴J₂₃₋₃ = 1 Hz, H-23), 2.5 (m, 1H, H-4), 4.2 (q, 2H, ³J_{a-b} = 7 Hz, H-a), 6.55 (dq, 1H, ³J₃₋₄ = 10 Hz, ⁴J₃₋₂₃ = 1 Hz, H-3).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 12.5 (C-23), 14.1 (C-22), 14.3 (C-b), 20.0 (C-24), 22.7 (C-21), 27.5, 29-30, 31.9 (C-20), 33.2, 36.9 (C-4), 60.4 (C-a), 126.2 (C-2), 148.2 (C-3), 168.5 (C-1).



30 : Acide (S)-2,4-diméthyl-docos-2-énoïque

L'ester 29 (118 mg, 0.3 mmol) est hydrolysé selon le protocole de saponification décrit précédemment pour fournir quantitativement l'acide 30 (83.2 mg, solide blanc).

$C_{24}H_{46}O_2$; $M = 366.6280$ g/mol

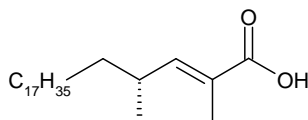
$[\alpha]_D^{25} = +18$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.87 (t, 3H, $^3J_{22-21} = 6.5$ Hz, H-22), 1.0 (d, 3H, $^3J_{24-4} = 6.5$ Hz, H-24), 1.1-1.6 (m, 34H, H-(5-21)), 1.84 (d, 3H, d, $^4J_{23-3} = 1.5$ Hz, H-23), 2.5 (m, 1H, H-4), 6.65 (dq, 1H, $^3J_{3-4} = 10$ Hz, $^4J_{3-23} = 1.5$ Hz, H-3)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 12.1 (C-23), 14.1 (C-22), 19.8 (C-24), 22.7 (C-21), 27.5, 29-30, 31.9 (C-20), 33.5, 36.8 (C-4), 125.5 (C-2), 151.1 (C-3), 174.0 (C-1).



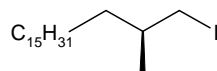
31 : Acide (R)-2,4-diméthyl-docos-2-énoïque

L'acide 31 est obtenu à partir de 27 de la même façon que l'acide 30.

$C_{24}H_{46}O_2$; $M = 366.6280$ g/mol

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{22-21} = 6.5$ Hz, H-22), 1.01 (d, 3H, $^3J_{24-4} = 6.5$ Hz, H-24), 1.1-1.5 (m, 34H, H-(5-21)), 1.85 (d, 3H, $^4J_{23-3} = 1.5$ Hz, H-23), 2.5 (m, 1H, H-4), 6.67 (dq, 1H, $^3J_{3-4} = 10$ Hz, $^4J_{3-23} = 1.5$ Hz, H-3).

**32 : (S)-1-Iodo-2-méthyloctadécane**

L'alcool **28** (2 g, 7.04 mmol) est iodé selon le Protocole 12, et permet d'obtenir 2.57 g d'iodure **32** (huile incolore, 93 %).

$C_{19}H_{39}I$; $M = 394.4174$ g/mol

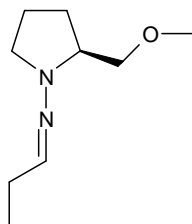
$[\alpha]_D^{25} = -4.9$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{18-17} = 7$ Hz, H-18), 0.97 (d, 3H, $^3J_{19-2} = 6.5$ Hz, H-19), 1.15-1.5 (m, 31H, H-(2-17)), 3.15 (dd, 1H, $^3J_{1-2} = 6$ Hz, $^2J_{1-1'} = 10$ Hz, H-1), 3.23 (dd, 1H, $^3J_{1'-2} = 5$ Hz, $^2J_{1'-1} = 10$ Hz, H-1').

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-18), 18.0, 20.6, 22.7 (C-17), 26.9, 29-30, 31.9 (C-16), 34.8, 36.5.



33 : N-[(S)-2-Méthoxyméthylpyrrolidin-1-yl]-propan-1-imine

La (S)-aminométhoxyméthylpyrrolidine (SAMP) (500 μ L, 3.72 mmol) est agitée sous argon avec du propanal (270 μ L, 1 éq.) à 0°C pendant 2 h. Le mélange est ensuite dilué dans du dichlorométhane et séché avec du MgSO_4 . L'hydrazone **33** est obtenue pure (580 mg, huile incolore, 92 %).

$\text{C}_9 \text{H}_{18} \text{O N}_2$; $M = 170.2548 \text{ g/mol}$

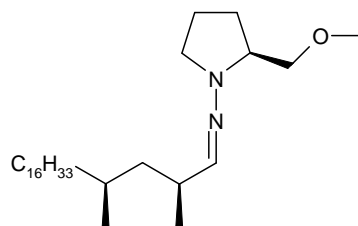
$[\alpha]_D^{25} = -153$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 1.05 (t, 3H, $^3J_{3-2} = 7.5 \text{ Hz}$, H-3), 1.7-2 (m, 4H, H-p), 2.23 (qd, 2H, $^3J_{2-3} = 7.5 \text{ Hz}$, $^3J_{2-1} = 5.5 \text{ Hz}$, H-2), 2.71 (q, 1H, H-p), 3.38 (s, 3H, H-b), 3.3-3.5 (m, 3H, H-p, H-a), 3.57 (dd, 1H, $^3J_{a'-p} = 3.5 \text{ Hz}$, $^2J_{a'-a} = 8.5 \text{ Hz}$, H-a'), 6.66 (t, 1H, $^3J_{1-2} = 5.5 \text{ Hz}$, H-1).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 12.1 (C-3), 22.1 (C-2), 26.4, 26.6, 50.4, 59.2 (C-p), 63.5 (C-b), 74.9 (C-a), 140.5 (C-1).



34 : (2*S*,4*S*)-*N*-[(*S*)-2-Méthoxyméthylpyrrolidin-1-yl]-2,4-diméthylicosan-1-imine

L'hydrazone **33** (643 mg, 2 éq.) est alkylée par l'iodure **32** (1 g, 2.53 mmol) selon le protocole général d'alkylation stéréospécifique (Protocole 13). Le composé **34** est obtenu avec 72 % de rendement (800 mg, huile incolore).

C₂₈ H₅₆ O N₂ ; M = 436.7571 g/mol

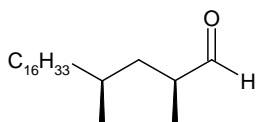
[α]_D²⁵ = - 40 (*c* = 1.27, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.85 (d, 3H, ³J₂₂₋₄ = 6.5 Hz, H-22), 0.88 (t, 3H, ³J₂₀₋₁₉ = 7 Hz, H-20), 1.01 (d, 3H, ³J₂₁₋₂ = 7 Hz, H-21), 1-1.5 (m, 33H, H-(3-19)), 1.7-2 (m, 4H, H-p), 2.4 (m, 1H, H-2), 2.68 (q, 1H, H-p), 3.38 (s, 3H, H-b), 3.3-3.4 (m, 2H, H-p), 3.43 (dd, 1H, ³J_{a-p} = 7 Hz, ²J_{a-a'} = 9 Hz, H-a), 3.58 (dd, 1H, ³J_{a'-p} = 4 Hz, ²J_{a'-a} = 9 Hz, H-a'), 6.46 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 6.5 Hz, H-1).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-20), 19.7, 19.9 (C-21, C-22), 22.1, 22.7 (C-19), 29-30, 31.9 (C-18), 34.8, 37.4, 43.1 (C-3), 26.5, 27.0, 50.6, 59.1 (C-p), 63.6 (C-b), 74.8 (C-a), 144.9 (C-1).

**35 : (2S,4S)-2,4-Diméthylicosanal**

L'aldéhyde **35** est obtenu quantitativement (588 mg, huile incolore) par hydrolyse de l'hydrazone alkylée **34** (795 mg, 1.82 mmol) selon le Protocole 14.

$C_{22}H_{44}O$; $M = 324.5842$ g/mol

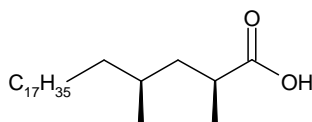
$[\alpha]_D^{25} = +4.3$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{20-19} = 6.5$ Hz, H-20), 0.89 (d, 3H, $^3J_{22-4} = 6.5$ Hz, H-22), 1.08 (d, 3H, $^3J_{21-2} = 7$ Hz, H-21), 1.1-1.6 (m, 32H, H-(3-19)), 1.71 (ddd, 1H, $^2J_{3-3} = 14$ Hz, $^3J = 8$ Hz, $^3J = 6$ Hz, H-3), 2.43 (m, 1H, H-2), 9.57 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 2.5$ Hz, H-1).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-20), 14.1, 19.8 (C-21, C-22), 22.7 (C-19), 26.8, 29-30, 31.9 (C-18), 36.7, 38.3 (C-2, C-4), 44.1 (C-3), 205.4 (C-1).

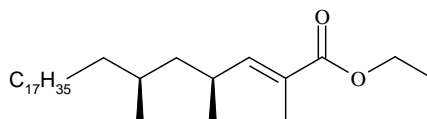
**36 : Acide (2S,4S)-2,4-diméthyl-docosanoïque**

$C_{24}H_{48}O_2$; $M = 368.6439$ g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +4.4$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{22-21} = 6.5$ Hz, H-22), 0.89 (d, 3H, $^3J_{24-4} = 6.5$ Hz, H-24), 1.18 (d, 3H, $^3J_{23-2} = 7$ Hz, H-23), 1.1-1.6 (m, 36H, H-(3-21)), 1.73 (ddd, 1H, $^3J_{3-4} = 5.5$ Hz, $^3J_{3-2} = 9$ Hz, $^2J = 14$ Hz, H-3), 2.58 (m, 1H, H-2).



37 : (4S,6S)-2,4,6-Triméthyltétracos-2-ène-1-oate d'éthyle

L'ester **37** (248 mg, solide blanc, 67 %) est synthétisé par réaction de Wittig sur l'aldéhyde **35** (297 mg, 0.84 mmol) selon le protocole décrit précédemment (Protocole 9).

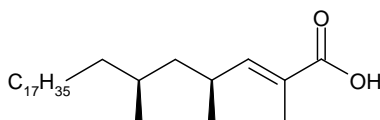
$C_{29}H_{56}O_2$; $M = 436.7624$ g/mol

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 0.82 (d, 3H, $^3J_{27-6} = 6.5$ Hz, H-27), 0.88 (t, 3H, $^3J_{24-23} = 7$ Hz, H-24), 0.98 (d, 3H, $^3J_{26-4} = 6.5$ Hz, H-26), 1-1.4 (m, 37H, H-(5-23)), 1.13 (ddd, 1H, $^2J_{5,5'} = 13$ Hz, $^3J_{5,4} = 5$ Hz, $^3J_{5,6} = 9$ Hz, H-5), 1.3 (t, 3H, $^3J_{b-a} = 7$ Hz, H-b), 1.34 (ddd, 1H, $^2J_{5',5} = 13$ Hz, $^3J_{5',4} = 9.5$ Hz, $^3J_{5',6} = 5$ Hz, H-5'), 1.84 (d, 3H, $^4J_{25-3} = 1.5$ Hz, H-25), 2.6 (m, 1H, $^3J_{4-26} = 6.5$ Hz, $^3J_{4,5} = 9.5$ Hz, $^3J_{4,5'} = 5$ Hz, $^3J_{4,3} = 10$ Hz, H-4), 4.2 (q, 2H, $^3J_{a-b} = 7$ Hz, H-a), 6.5 (dq, 1H, $^3J_{3-4} = 10$ Hz, $^4J_{3-25} = 1.5$ Hz, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 12.5 (C-25), 14.1 (C-24), 14.3 (C-b), 19.6, 20.5 (C-26, C-27), 22.7 (C-23), 26.9, 29-30, 30.7, 30.9, 31.9 (C-22), 37.6 (C-4), 44.5 (C-5), 60.4 (C-a), 126.1 (C-2), 148.3 (C-3), 168.5 (C-1).



38 : Acide (4S,6S)-2,4,6-triméthyltétracos-2-ène-1-oïque

L'ester **37** (79 mg, 0.18 mmol) est hydrolysé selon le protocole de saponification décrit précédemment pour fournir quantitativement l'acide **38** (72 mg, solide blanc).

$C_{27}H_{52}O_2$; $M = 408.7087$ g/mol

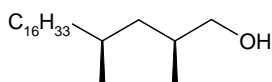
$[\alpha]_D^{25} = +14$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 0.82 (d, 3H, $^3J_{27-6} = 6.5$ Hz, H-27), 0.88 (t, 3H, $^3J_{24-23} = 7$ Hz, H-24), 0.99 (d, 3H, $^3J_{26-4} = 6.5$ Hz, H-26), 1.05-1.4 (m, 37H, H-(5-23)), 1.85 (d, 3H, $^4J_{25-2} = 1.5$ Hz, H-25), 2.6 (m, 1H, H-4), 6.66 (d, 1H, $^3J_{3-4} = 10$ Hz, $^4J_{3-25} = 1.5$ Hz, H-3).

RMN ^{13}C (63 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 12.1 (C-25), 14.1 (C-24), 19.5, 20.4 (C-26, C-27), 22.7 (C-23), 26.9, 29-30, 30.8, 31.1, 31.9 (C-22), 37.6 (C-4), 44.4 (C-5), 125 (C-2), 151.2 (C-3).

**39 : (2S,4S)-2,4-Diméthyl-icosan-1-ol**

L'aldéhyde **35** (390 mg, 1.20 mmol) est réduit selon le protocole de réduction décrit précédemment (Protocole 15) afin d'obtenir quantitativement l'alcool **39** (390 mg, solide blanc).

$C_{22}H_{46}O$; $M = 326.6000$ g/mol

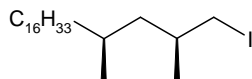
$[\alpha]_D^{25} = -6.8$ ($c = 0.7$, $CHCl_3$)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.87 (d, 3H, $^3J_{22,4} = 6.5$ Hz, H-22), 0.88 (t, 3H, $^3J_{20,19} = 6.5$ Hz, H-20), 0.92 (d, 3H, $^3J_{21,2} = 6.5$ Hz, H-21), 1.0-1.6 (m, 32H, H-(3-19)), 1.72 (m, 1H, H-2), 3.38 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 6.5$ Hz, $^2J_{1,1'} = 10$ Hz, H-1), 3.52 (dd, 1H, $^3J_{1',2} = 5$ Hz, $^2J_{1',1} = 10$ Hz, H-1').

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-20), 17.3, 20.4 (C-21, C-22), 22.7 (C-19), 26.9, 29-30, 31.9 (C-18), 33.1, 36.7 (C-2, C-4), 41.1 (C-3), 68.4 (C-1).

**40 : (2S,4S)-2,4-Diméthyl-1-iodoicosane**

L'alcool **39** (398 mg, 1.21 mmol) est iodé selon le Protocole 12, et permet d'obtenir 446 mg d'iodure **40** (huile incolore, 85 %).

$C_{22}H_{45}I$; $M = 436.4972$ g/mol

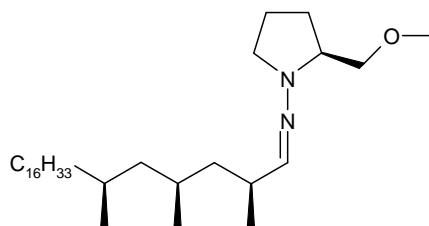
$[\alpha]_D^{25} = +2.8$ ($c = 1.7$, $CHCl_3$)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J = 6.5$ Hz, H-20), 0.86 (d, 3H, $^3J_{22,4} = 6.5$ Hz, H-22), 0.96 (d, 3H, $^3J_{21,2} = 5.5$ Hz, H-21), 1.0-1.6 (m, 33H, H-(3-19)), 3.13 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 6$ Hz, $^2J_{1,1'} = 9.5$ Hz, H-1), 3.25 (dd, 1H, $^3J_{1',2} = 4$ Hz, $^2J_{1',1} = 9.5$ Hz, H-1').

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 14.1 (C-20), 18.0, 19.9, 21.4 (C-21, C-22), 22.7 (C-19), 26.9, 29-30, 31.8, 31.9 (C-18), 36.9, 44.1 (C-3).



41 : (2*S*,4*S*,6*S*)-*N*-[(*S*)-2-Méthoxyméthylpyrrolidin-1-yl]-2,4,6-triméthyl-docosan-1-imine

L'hydrazone **33** (260 mg, 2 éq.) est alkylée par l'iodure **40** (333 mg, 0.76 mmol) selon le protocole général d'alkylation stéréospécifique (Protocole 13). Le composé **41** est obtenu avec 69 % de rendement (250 mg, huile incolore).

C₃₁ H₆₂ O N₂ ; M = 478.8369 g/mol

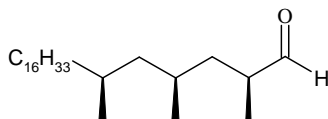
[α]_D²⁵ = - 10 (c = 0.45, CHCl₃)

*RMN*¹H (500 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.82 (d, 3H, ³J₂₅₋₆ = 6.5 Hz, H-25), 0.85 (d, 3H, ³J₂₄₋₄ = 6.5 Hz, H-24), 0.88 (t, 3H, ³J₂₂₋₂₁ = 7 Hz, H-22), 1.02 (d, 3H, ³J₂₃₋₂ = 7 Hz, H-23), 0.9-1.6 (m, 36H, H-(3-21)), 1.7-2 (m, 4H, H-p), 2.4 (m, 1H, H-2), 2.65 (q, 1H, H-p), 3.3-3.4 (m, 2H, H-p), 3.38 (s, 3H, H-b), 3.42 (dd, 1H, ³J_{a-p} = 7 Hz, ²J_{a-a'} = 9 Hz, H-a), 3.58 (dd, 1H, ³J_{a'-p} = 3.5 Hz, ²J_{a'-a} = 9 Hz, H-a'), 6.45 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 7 Hz, H-1).

*RMN*¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-22), 20.1, 20.2, 20.4 (C-(23-25)), 22.1, 22.7 (C-21), 27.7, 29-30, 31.9 (C-20), 34.7, 37.0, 42.9, 45.5 (C-3, C-5), 26.5, 26.9, 50.7, 59.2 (C-p), 63.6 (C-b), 74.9 (C-a), 144.8 (C-1).



42 : (2S,4S,6S)-2,4,6-Triméthylheptanal

L'aldéhyde **42** est obtenu quantitativement (221 mg) par hydrolyse de l'hydrazone alkylée **41** (290 mg, huile incolore, 0.61 mmol) selon le Protocole 14.

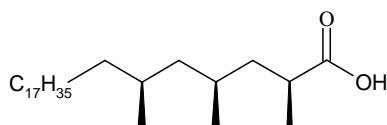
$C_{25}H_{50}O$; $M = 366.6639$ g/mol

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.84 (d, 3H, $^3J_{25-6} = 6.5$ Hz, H-25), 0.88 (t, 3H, $^3J_{22-21} = 7$ Hz, H-22), 0.88 (d, 3H, $^3J_{24-4} = 6.5$ Hz, H-24), 1.08 (d, 3H, H-23, $^3J_{23-2} = 7$ Hz), 1.0-1.6 (m, 35H, H-(3-21)), 1.71 (ddd, 1H, $^3J_{3-2} = 5.5$ Hz, $^3J_{3-4} = 8.5$ Hz, $^2J_{3-3'} = 14$ Hz, H-3), 2.45 (m, 1H, H-2), 9.58 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 2.5$ Hz, H-1).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 14.1 (C-22), 14.3, 20.3, 20.4 (C-(23-25)), 22.7 (C-21), 26.9, 27.9, 29-30, 31.9 (C-20), 36.6, 38.4, 44.1, 45.1 (C-3, C-5), 205.4 (C-1).



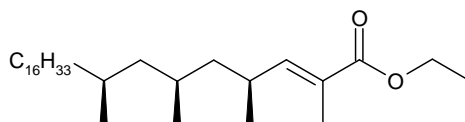
43 : Acide (2S,4S,6S)-2,4,6-triméthylheptanoïque

$C_{27}H_{54}O_2$; $M = 410.7246$ g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +7$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 0.81 (d, 3H, $^3J_{27-6} = 6.5$ Hz, H-27), 0.87 (t, 3H, $^3J_{24-23} = 6.5$ Hz, H-24), 0.88 (d, 3H, $^3J_{26-4} = 6.5$ Hz, H-26), 1.17 (d, 3H, $^3J_{25-2} = 7$ Hz, H-25), 1.0-1.6 (m, 39H, H-(3-23)), 1.73 (ddd, 1H, $^3J_{3-4} = 5$ Hz, $^3J_{3-2} = 9.5$ Hz, $^2J = 14$ Hz, H-3), 2.6 (m, 1H, H-2).



44 : (4S,6S,8S)-2,4,6,8-Tétraméthyltétracos-2-énoate d'éthyle

L'ester **44** (83 mg, huile incolore, 65 %) est synthétisé par réaction de Wittig sur l'aldéhyde **42** (103 mg, 0.28 mmol) selon le protocole décrit précédemment (Protocole 9).

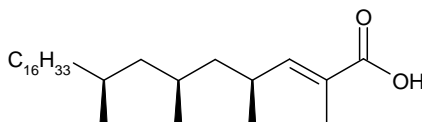
$C_{30}H_{58}O_2$; M = 450.7893 g/mol

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.80 (d, 3H, $^3J_{28-8} = 7$ Hz, H-28), 0.82 (d, 3H, $^3J_{27-6} = 7$ Hz, H-27), 0.88 (t, 3H, $^3J_{24-23} = 6.5$ Hz, H-24), 0.98 (d, 3H, $^3J_{26-4} =$ Hz, H-26), 1.29 (t, 3H, $^3J_{b-a} = 7$ Hz, H-b), 1.0-1.7 (m, 36H, H-(5-23)), 1.85 (s, 3H, H-25), 2.6 (m, 1H, H-4), 4.18 (m, 2H, H-a), 6.50 (d, 1H, $^3J_{3-4} = 10.5$ Hz, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 12.4 (C-25), 14.1 (C-24), 14.3 (C-b), 20.0, 20.5, 20.6 (C-(26-28)), 22.7 (C-23), 27.0, 28.1, 29-30, 30.7, 30.9, 31.9 (C-22), 37.0 (C-4), 44.3, 45.6 (C-5, C-7), 60.3 (C-a), 126.2 (C-2), 148.2 (C-3), 168.4 (C-1).



45 : Acide (4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoïque

L'ester **44** (83 mg, 0.18 mmol) est hydrolysé selon le protocole général de saponification décrit (Protocole 10) pour obtenir quantitativement l'acide **45** (73 mg, huile incolore).

$C_{28}H_{54}O_2$; M = 422.7356 g/mol

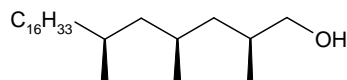
$[\alpha]_D^{25} = +15$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.81 (d, 3H, $^3J_{28-8} = 6.5$ Hz, H-28), 0.82 (d, 3H, $^3J_{27-6} = 6$ Hz, H-27), 0.88 (t, 3H, $^3J_{24-23} = 7$ Hz, H-24), 0.99 (d, 3H, $^3J_{26-4} =$ Hz, H-26), 0.9-1.5 (m, 36H, H-(5-23)), 1.86 (d, 3H, H-23), 2.6 (m, 1H, H-4), 6.65 (d, 1H, $^3J_{3-4} = 10$ Hz, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 12.1 (C-25), 14.1 (C-24), 20.0, 20.5, 20.5 (C-(26-28)), 22.7 (C-23), 27.0, 28.2, 29-30, 31.1, 31.9 (C-22), 37.0 (C-4), 44.2, 45.6 (C-5, C-7), 125.4 (C-2), 151.1 (C-3), 173.4 (C-1).



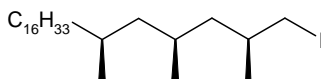
46 : (2S,4S,6S)-2,4,6-Triméthylheptan-1-ol

L'aldéhyde **42** (118 mg, 0.32 mmol) est réduit selon le protocole de réduction décrit précédemment (Protocole 15) afin d'obtenir quantitativement l'alcool **46** (116 mg, huile incolore).

$C_{25}H_{52}O$; $M = 368.6798$ g/mol

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.84 (d, 3H, $^3J_{25-6} = 6.5$ Hz, H-25), 0.87 (d, 3H, $^3J_{24-4} = 6.5$ Hz, H-24), 0.88 (t, 3H, $^3J_{22-21} = 7$ Hz, H-22), 0.93 (d, 3H, $^3J_{23-2} = 7$ Hz, H-23), 1.0-1.6 (m, 36H, H-(3-21)), 1.73 (m, 1H, H-2), 3.37 (dd, 1H, $^3J_{1-2} = 7$ Hz, $^2J_{1-1'} = 10.5$ Hz, H-1), 3.54 (dd, 1H, $^3J_{1'-2} = 5$ Hz, $^2J_{1'-1} = 10.5$ Hz, H-1').



47 : (2S,4S,6S)-1-Iodo-2,4,6-triméthylheptane

L'alcool **46** (73 mg, 0.20 mmol) est iodé selon le Protocole 12, et permet d'obtenir 92.6 mg d'iodure **47** (huile incolore, 98 %).

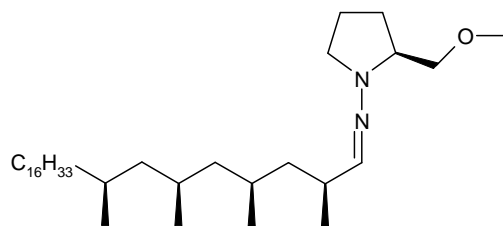
$C_{25}H_{51}I$; $M = 478.5769$ g/mol

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.86 (2 d, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-24, H-25), 0.88 (t, 3H, $^3J_{22-21} = 6.5$ Hz, H-22), 0.96 (d, 3H, $^3J_{23-2} = 6.5$ Hz, H-23), 1.1-1.6 (m, 37H, H-(2-21)), 3.15 (dd, 1H, $^3J_{1-2} = 6$ Hz, $^2J_{1-1'} = 9.5$ Hz, H-1), 3.26 (dd, 1H, $^3J_{1'-2} = 4$ Hz, $^2J_{1'-1} = 9.5$ Hz, H-1').

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-24), 18.2, 20.4, 20.4 (C-(25-27)), 21.7, 22.7 (C-21), 26.9, 27.4, 29-30, 31.6, 31.9 (C-20), 36.7, 44.1, 45.4 (C-3, C-5).



48 : (2S,4S,6S,8S)-N-[(S)-2-Méthoxyméthylpyrrolidin-1-yl]-2,4,6,8-tétraméthyltétracosan-1-imine

L'hydrazone **33** (110 mg, 2 éq.) est alkylée par l'iodure **47** (151 mg, 0.31 mmol) selon le protocole général d'alkylation stéréospécifique (Protocole 13). Le composé **48** est obtenu avec 51 % de rendement (84 mg, huile incolore).

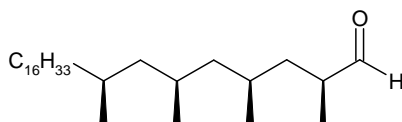
C₃₄ H₆₈ O N₂ ; M = 520.9166 g/mol

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.81 (d, 3H, ³J₂₈₋₈ = 7 Hz, H-28), 0.83 (d, 3H, ³J₂₇₋₆ = 7 Hz, H-27), 0.85 (d, 3H, ³J₂₆₋₄ = 6.5 Hz, H-26), 0.88 (t, 3H, ³J₂₄₋₂₃ = 6.5 Hz, H-24), 1.02 (d, 3H, ³J₂₅₋₂ = 7 Hz, H-25), 1.0-1.7 (m, 39H, H-(3-23)), 1.7-2 (m, 4H, H-p), 2.4 (m, 1H, H-2), 2.66 (q, 1H, H-p), 3.37 (s, 3H, H-b), 3.3-3.6 (m, 4H, H-p), 3.57 (dd, 1H, ³J_{a-p} = 3.5 Hz, ³J_{a-a'} = 9 Hz, H-a), 6.46 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 7 Hz, H-1).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-24), 20.2, 20.4, 20.6, 20.8 (C-(25-28)), 22.1, 22.7 (C-23), 26.5 (C-p), 26.9, 27.3, 27.6, 29-30, 31.9 (C-22), 34.7, 36.7, 42.7, 45.4, 45.7 (C-3, C-5, C-7), 50.7 (C-p), 59.2 (C-p), 63.6 (C-b), 74.9 (C-a).



49 : (2S,4S,6S,8S)-2,4,6,8-Tétraméthyltétracosanal

L'aldéhyde **49** est obtenu quantitativement (66 mg, huile incolore) par hydrolyse de l'hydrazone alkylée **48** (84 mg, 0.16 mmol) selon le Protocole 14.

C₂₈ H₅₆ O ; M = 408.7436 g/mol

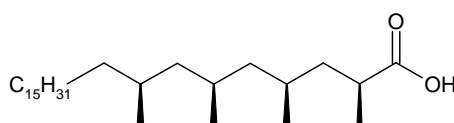
$[\alpha]_D^{25} = + 3$ (c = 1.0, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.84 (d, 3H, ³J₂₈₋₈ = 6.5 Hz, H-28), 0.84 (d, 3H, ³J₂₇₋₆ = 6.5 Hz, H-27), 0.88 ppm (t, 3H, ³J₂₄₋₂₃ = 6.5 Hz, H-24), 0.88 (d, 3H, ³J₂₆₋₄ = 6.5 Hz, H-26), 1.09 (d, 3H, ³J₂₅₋₂ = 7 Hz, H-25), 1-1.8 (m, 39H, H-(3-23)), 2.45 (m, 1H, H-2), 9.58 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 2.5 Hz, H-1).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-24), 14.4, 20.5, 20.6, 20.8 (C-(25-28)), 22.7 (C-23), 26.9, 27.4, 27.9, 29-30, 31.9 (C-22), 36.5 (C-2), 38.2, 44.1, 45.1, 45.4 (C-3, C-5, C-7), 205.4 (C-1).



50 : Acide (2S,4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracosanoïque

L'aldéhyde **49** (85 mg, 0.21 mmol) est dissous dans l'acétone (3 mL, 0.07 M). Le réactif de Jones (CrO₃/H₂SO₄, 1 M, 300 μL, 1.4 éq.) est ajouté à 0°C et le milieu est agité pendant 30 min à 0°C. La réaction est arrêtée par ajout d'isopropanol (1 mL) et d'une solution de NH₄Cl (5 %, 4 mL) puis le milieu est extrait 3 fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl puis séchées avec MgSO₄ et enfin le solvant est évaporé afin de récupérer quantitativement l'acide pur **50** (87 mg, huile incolore).

C₂₈ H₅₆ O₂ ; M = 424.7514 g/mol

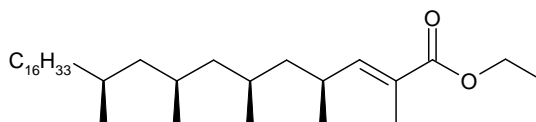
$[\alpha]_D^{25} = + 6.8$ (c = 0.95, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.82 (d, 3H, ³J₂₈₋₈ = 6.5 Hz, H-28), 0.84 (d, 3H, ³J₂₇₋₆ = 6.5 Hz, H-27), 0.88 (t, 3H, ³J₂₄₋₂₃ = 6.5 Hz, H-24), 0.89 (d, 3H, ³J₂₆₋₄ = 6.5 Hz, H-26), 1.19 (d, 3H, ³J₂₅₋₂ = 7 Hz, H-25), 1.0-1.6 (m, 38H, H-(3-23)), 1.77 (ddd, 1H, ³J₃₋₄ = 4.5 Hz, ³J₃₋₂ = 10 Hz, ²J₃₋₃ = 13.5 Hz, H-3), 2.6 (m, 1H, H-2).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-24), 18.1, 20.4, 20.5, 20.6 (C-(25-28)), 22.7 (C-23), 26.9, 27.2, 28.1, 29-30, 31.9 (C-22), 36.7 (C-2), 37.3, 40.9, 45.3 (C-3, C-5, C-7), 183.5 (C-1).



51 : (4S,6S,8S,10S)-2,4,6,8,10-Pentaméthylhexacos-2-énoate d'éthyle

L'ester **51** (19 mg, huile incolore, 55 %) est synthétisé par réaction de Wittig sur l'aldéhyde **49** (30 mg, 74.1 μmol) selon le Protocole 9 décrit précédemment.

$\text{C}_{33} \text{H}_{64} \text{O}_2$; $M = 492.8601 \text{ g/mol}$

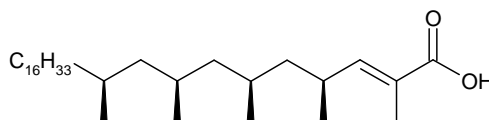
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = + 18$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 0.8 (d, 3H, $^3J_{31-10} = 6.5 \text{ Hz}$, H-31), 0.83 (d, 3H, $^3J_{30-8} = 6.5 \text{ Hz}$, H-30), 0.83 (d, 3H, $^3J_{29-6} = 6.5 \text{ Hz}$, H-29), 0.88 (t, 3H, $^3J_{26-25} = 7 \text{ Hz}$, H-26), 0.98 (d, 3H, $^3J_{28-4} = 6.5 \text{ Hz}$, H-28), 1.1-1.6 (m, 38H, H-(5-25)), 1.29 (t, 3H, $^3J_{\text{b-a}} = 7 \text{ Hz}$, H-b), 1.85 (d, 3H, $^4J_{27-3} = 1 \text{ Hz}$, H-27), 2.6 (m, 1H, H-4), 4.16, 4.2 (2 dq, 2H, $^3J_{\text{a-b}} = 7 \text{ Hz}$, $^2J = 14 \text{ Hz}$, H-a), 6.76 (dq, 1H, $^3J_{3-4} = 10 \text{ Hz}$, $^4J_{3-27} = 1 \text{ Hz}$, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 12.5 (C-27), 14.1 (C-26), 14.3 (C-b), 20.4, 20.6, 20.7, 20.7 (C-(28-31)), 22.7 (C-25), 26.9, 27.3, 28.1, 29-30, 30.9, 31.9 (C24), 36.7 (C-4), 44.1, 45.4, 45.6 (C-5, C-7, C-9), 60.3 (C-a), 126.2 (C-2), 148.2 (C-3), 168.4 (C-1).



52 : Acide (4S,6S,8S,10S)-2,4,6,8,10-pentaméthylhexacos-2-énoïque

L'ester **51** (19 mg, 38.6 μmol) est hydrolysé selon le protocole de saponification (Protocole 10) pour obtenir quantitativement l'acide **52** (16 mg, huile incolore).

$\text{C}_{31} \text{H}_{60} \text{O}_2$; $M = 464.8069 \text{ g/mol}$

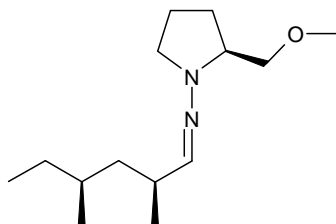
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = + 18$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 0.8 (d, 3H, $^3J_{31-10} = 6.5 \text{ Hz}$, H-31), 0.83 (d, 6H, $^3J_{29-6} = ^3J_{30-8} = 6.5 \text{ Hz}$, H-29, H-30), 0.88 (t, 3H, $^3J_{26-25} = 6.5 \text{ Hz}$, H-26), 1.0 (d, 3H, $^3J_{28-4} = 6.5 \text{ Hz}$, H-28), 1.0-1.7 (m, 38H, H-(5-25)), 1.86 (d, 3H, $^4J_{27-3} = 1 \text{ Hz}$, H-27), 2.6 (m, 1H, H-4), 6.66 (dq, 1H, $^3J_{3-4} = 10 \text{ Hz}$, $^4J_{3-27} = 1 \text{ Hz}$, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 12.1 (C-27), 14.1 (C-26), 20.4, 20.5, 20.6, 20.6 (C-(28-31)), 22.7 (C-25), 26.9, 27.3, 28.1, 29-30, 31.1, 31.9 (C24), 36.7 (C-4), 43.9, 45.4, 45.6 (C-5, C-7, C-9), 125.4 (C-2), 151.0 (C-3), 173.4 (C-1).



53 : (2S,4S) -N-[(S)-2-Méthoxyméthylpyrrolidin-1-yl]-2,4-diméthylhexan-1-imine

L'hydrazone **33** (472 mg, 2 éq.) est dissoute dans le THF anhydre (2 mL) sous argon. Une solution de lithium diisopropylamide (LDA) (1.8 M, 1.7 mL, 2.2 éq.) est ajoutée goutte à goutte à 0°C. Le milieu réactionnel est laissé à 0°C pendant 45 min. L'iodure (180 µL, 1.4 mmol), est ensuite ajouté goutte à goutte au mélange précédent refroidi à -78°C. Ce milieu est agité à -78°C pendant 3 h puis laissé réchauffer doucement jusqu'à température ambiante.

Le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait au diéthyléther. La phase organique est lavée à l'eau, séchée avec MgSO₄, puis évaporée.

Une purification par colonne chromatographique (éluant : AE/EP 10/1) permet de recueillir le produit alkylé **53** (220 mg, huile incolore, 66 %) avec un excès diastéréoisomérique d'environ 90 %.

C₁₄ H₂₈ O N₂ ; M = 240.3850 g/mol

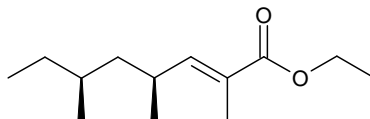
$[\alpha]_D^{25} = -72$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.85 (t, 3H, ³J₆₋₅ = 7 Hz, H-6), 0.85 (d, 3H, ³J₈₋₄ = 6.5 Hz, H-8), 1.02 (d, 3H, ³J₇₋₂ = 7 Hz, H-7), 1-1.6 (m, 5H, H-3, H-4, H-5), 1.7-2 (m, 4H, H-p), 2.4 (m, 1H, H-2), 2.67 (q, 1H, H-p), 3.38 (s, 3H, H-b), 3.3-3.4 (m, 2H, H-p), 3.42 (dd, 1H, ³J_{a-p} = 7 Hz, ³J_{a-a'} = 9 Hz, H-a), 3.58 (dd, 1H, ³J_{a'-p} = 3.5 Hz, ³J_{a'-a} = 9 Hz, H-a'), 6.47 (d, 1H, ³J₈₋₉ = 6.5 Hz, H-8).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.3 (C-6), 19.2, 19.9 (C-7, C-8), 22.1, 29.8, 31.9, 34.8, 42.6, 26.5, 50.6, 59.2 (C-p), 63.6 (C-b), 74.9 (C-a), 144.9 (C-1).



54 : (4S,6S)-2,4,6-Triméthyl-oct-2-énoate d'éthyle

L'hydrazone alkylée **53** (247 mg, 1.03 mmol), dissoute dans l'éther de pétrole (5 mL), est hydrolysée par une solution d'HCl (6 M, 5 mL, 30 éq.) à température ambiante. Après 90 min d'agitation, le milieu est extrait avec du dichlorométhane. La phase organique récupérée est lavée avec une solution aqueuse de NaHCO₃ 5 %, séchée avec MgSO₄, filtrée puis le solvant est partiellement évaporé, l'aldéhyde obtenu étant très volatile.

Dans ce mélange, quelques billes de tamis moléculaire et le carboéthoxyéthylidène-triphénylphosphorane (448 mg, 1.2 éq.) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante une nuit sous argon. Une filtration permet d'éliminer le tamis puis le solvant est évaporé. Une colonne chromatographique (éluant : AE/EP 1/10) permet d'obtenir l'ester **54** (108 mg, huile, 49 %).

C₁₃ H₂₄ O₂ ; M = 212.3324 g/mol

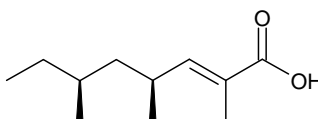
$[\alpha]_D^{25} = +39$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

*RMN*¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.82 (d, 3H, ³J₁₁₋₆ = 6 Hz, H-11), 0.84 (t, 3H, ³J₈₋₇ = 7 Hz, H-8), 0.98 (d, 3H, ³J₁₀₋₄ = 6.5 Hz, H-10), 1-1.4 (m, 5H, H-5, H-6, H-7), 1.29 (t, 3H, ³J_{b-a} = 7 Hz, H-b), 1.84 (d, 3H, ⁴J₉₋₃ = 1.5 Hz, H-9), 2.6 (m, 1H, H-4), 4.18 (q, 2H, H-a, ³J_{a-b} = 7 Hz), 6.50 (dq, 1H, ³J₃₋₄ = 10 Hz, ⁴J_{3-2'} = 1.5 Hz, H-3).

*RMN*¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.2 (C-8), 12.4 (C-9), 14.3 (C-b), 19.0 (C-11), 20.5 (C-10), 30.0 (C-7), 30.8 (C-4), 32.2 (C-6), 44.1 (C-5), 60.3 (C-a), 126.1 (C-2), 148.2 (C-3), 168.4 (C-1).



55 : Acide (4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-énoïque

L'ester **54** (108 mg, 0.51 éq.) est saponifié selon le Protocole 10 pour conduire à l'acide correspondant **55** (73 mg, huile incolore, 78 %).

C₁₁ H₂₀ O₂ ; M = 184.2786 g/mol

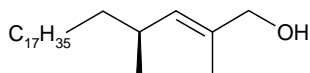
$[\alpha]_D^{25} = +47$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

*RMN*¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.84 (d, 3H, ³J₁₁₋₆ = 6 Hz, H-11), 0.86 (t, 3H, ³J₈₋₇ = 7 Hz, H-8), 1.0 (d, 3H, ³J₁₀₋₄ = 6.5 Hz, H-10), 1.1-1.5 (m, 5H, H-5, H-6, H-7), 1.86 (d, 3H, ⁴J₉₋₃ = 1.5 Hz, H-9), 2.6 (m, 1H, H-4), 6.68 (dq, 1H, ³J₃₋₄ = 10 Hz, ⁴J₃₋₉ = 1.5 Hz, H-3).

*RMN*¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.2 (C-8), 12.0 (C-9), 19.0 (C-11), 20.4 (C-10), 30.0 (C-7), 31.1 (C-4), 32.3 (C-6), 44.1 (C-5), 125.5 (C-2), 151.2 (C-3), 174.2 (C-1).



56 : (S)-2,4-Diméthyl-docos-2-èn-1-ol

L'ester **29** (73 mg, 0.18 mmol) est dissous dans THF distillé (0.7 mL). Une solution de DIBAL-H dans le toluène (1 M, 0.4 mL, 2.3 éq.) est ajoutée à -78°C. Le milieu est réchauffé doucement jusqu'à ce que l'ester se solubilise puis est agité pendant 3 h à cette température (environ -20°C). La réaction est arrêtée par ajout d'une goutte de méthanol et d'1 mL de tampon tartrate. Le milieu est extrait trois fois au dichlorométhane et ces phases organiques sont lavées à l'eau puis avec une solution saturée de NaCl, séchées avec MgSO₄, filtrées, et le solvant est évaporé. L'alcool est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : AE/EP 1/10) pour obtenir le composé pur **56** (64 mg, solide blanc, rendement quantitatif).

C₂₄ H₄₈ O ; M = 352.6445 g/mol

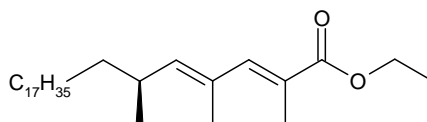
$[\alpha]_D^{25} = + 6$ (c = 1.0, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.90 (t, 3H, ³J₂₂₋₂₁ = 6.5 Hz, H-22), 0.94 (d, 3H, ³J₂₄₋₄ = 6.5 Hz, H-24), 1.1-1.5 (m, 34H, H-(5-21)), 1.68 (s, 3H, H-23), 2.37 (m, 1H, H-4), 4.01 (s, 2H, H-1), 5.19 (d, 1H, ³J₃₋₄ = 9.5 Hz, H-3).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 13.8 (C-23), 14.1 (C-22), 21.0 (C-24), 22.7 (C-21), 27.5, 29-30, 31.9 (C-20), 32.0, 37.6 (C-4), 69.1 (C-1), 133.3 (C-2).



57 : (S)-2,4,6-Triméthyltétracos-2,4-diénoate d'éthyle

Le PCC (77 mg, 2 éq.) est dissous dans le dichlorométhane anhydre (0.3 mL) avec de l'acétate de sodium déshydraté (73 mg, 5 éq.) et du tamis moléculaire 3 Å. Ce mélange est agité sous argon à température ambiante pendant 30 min, puis l'alcool 56 (63 mg, 0.18 mmol) dissous dans le dichlorométhane (0.3 mL) est ajouté.

Après 2 h d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué dans le diéthyloxy, agité pendant 20 min puis filtré sur silice. Le solvant est évaporé pour obtenir l'aldéhyde. Celui-ci est utilisé sans purification supplémentaire dans la réaction de Wittig selon le Protocole 9 décrit. La réaction dure 6 jours et l'ester 57 est obtenu avec un rendement de 82 % (64 mg, huile incolore).

$C_{29}H_{54}O_2$; M = 434.7466 g/mol

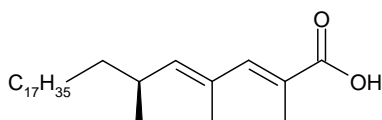
$[\alpha]_D^{25} = +34$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J = 6.5$ Hz, H-24), 0.97 (d, 3H, $^3J_{27-4} = 6.5$ Hz, H-27), 1.1-1.3 (m, 34H, H-(7-23)), 1.1 (t, 2H, $^3J_{a-b} = 7$ Hz, H-a), 1.84, 2.01 (2 s, 6H, H-25, H-26), 2.45 (m, 1H, H-6), 4.21 (q, 2H, $^3J_{b-a} = 7$ Hz, H-b), 5.38 (d, 1H, $^3J_{5-6} = 9.5$ Hz, H-5), 7.12 (s, 1H, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 14.0, 14.1 (C-24), 14.3 (C-b), 16.4, 20.7 (C-27), 22.7 (C-23), 27.6, 29-30, 31.9 (C-22), 32.8, 37.4 (C-6), 60.5 (C-a), 125.1, 130.5 (C-2, C-4), 143.1, 143.2 (C-3, C-5), 169.2 (C-1).



58 : Acide (S)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diénoïque

L'ester 57 (54 mg, 0.12 mmol) est hydrolysé selon le protocole de saponification décrit précédemment pour fournir quantitativement l'acide 58 (45 mg, solide blanc).

$C_{27}H_{50}O_2$; M = 406.6928 g/mol

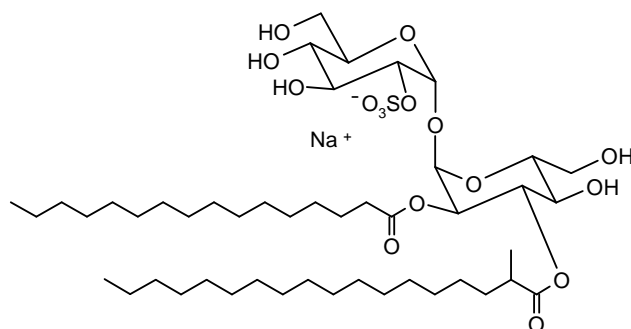
$[\alpha]_D^{25} = +39$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.89 (t, 3H, $^3J = 6.5$ Hz, H-24), 0.99 (d, 3H, $^3J_{4-4} = 6.5$ Hz, H-27), 1.2-1.5 (m, 34H, H-(7-23)), 1.87, 2.03 (2 s, 6H, H-25, H-26), 2.5 (m, 1H, H-6), 5.47 (d, 1H, $^3J_{5-6} = 10$ Hz, H-5), 7.27 (s, 1H, H-3).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 13.6, 14.1 (C-24), 16.3, 20.6 (C-27), 22.7 (C-23), 27.6, 29-30, 31.9 (C-22), 32.9, 37.3 (C-6), 123.9, 130.6 (C-2, C-4), 144.8, 145.7 (C-3, C-5), 174.8 (C-1).

**62**

* * * * *

59 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-3-*O*-(2-méthylodécadécanoyl)-2',3'-*O*-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **3** (84 mg, 84 μ mol) est acylé par l'acide **23** (50 mg, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **59** (73 mg, huile incolore, 68 %).

C₇₃ H₁₂₂ O₁₄ Si₂; M = 1279.9343 g/mol.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.9 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-18B), 1.1 (d, 3H, ³J_{19B-2B} = 7 Hz, H-19B), 1-2 (m, 84H, H-(3-15)A, H-(3-17)B, H-*i*Pr), 2.2-2.5 (m, 3H, H-2A, H-2B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.66 (t*, 1H, ²J_{6ax'-6éq'}} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}}), 3.69 (t, 1H, ³J_{4-5}} = ³J_{4-3}} = 10 Hz, H-4), 3.74 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq}} = ³J_{6ax-5}} = 10 Hz, H-6_{ax}}), 3.82 (m, 1H, H-5'), 3.9 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'}} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}}), 4.19 (t, 1H, ³J_{3'-4'}} = ³J_{3'-2'}} = 9 Hz, H-3'), 4.2-4.4 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}}), 5.0 (dd, 1H, ³J_{2-1}} = 4 Hz, ³J_{2-3}} = 10 Hz, H-2), 5.12 (d, 1H, ³J_{1'-2'}} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d*, 1H, ³J_{1-2}} = 4 Hz, H-1), 5.48, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.66 (t*, 1H, ³J_{3-4}} = ³J_{3-2}} = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* Dédoublément visible dû à la présence des deux diastéréoisomères.

* * * * *

60 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-3-*O*-(2-méthylodécadécanoyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **59** (67 mg, 52.3 μ mol) est désilylé (Protocole 6) pour donner le diol **60** (42 mg, solide blanc, 77 %).

C₆₁ H₉₆ O₁₃; M = 1037.4254 g/mol.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.9 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-18B), 1.1 (d, 3H, ³J_{19B-2B} = 7 Hz, H-19B), 1-1.4 (m, 52H, H-(4-15)A, H-(4-17)B), 1.5-1.7 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.27 (d, ³J = 7 Hz, (OH)-2'), 2.3-2.5 (m, 3H, H-2A, H-2B), 2.68 (d, 1H, ³J = 2.5 Hz, (OH)-3'), 3.52 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.65-3.9 (m, 5H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}}, H-6_{ax'}}), 4.1 (td, 1H, ³J_{3'-4'}} = ³J_{3'-2'}} = 9 Hz, ³J_{H-OH}} = 2.5 Hz, H-3'), 4.0-4.25 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}}), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax}} = 10 Hz, ³J_{6éq-5}} = 5 Hz, H-6_{éq}}), 5.06 (dd, 1H, ³J_{2-1}} = 4 Hz, ³J_{2-3}} = 10 Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, ³J_{1'-2'}} = 4 Hz, H-1'), 5.4 (d*, 1H, ³J_{1-2}} = 4 Hz, H-1), 5.52, 5.53 (2 s, H-7, H-7'), 5.65 (t*, 1H, ³J_{3-4}} = ³J_{3-2}} = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* Dédoubléments visible dû à la présence des deux diastéréoisomères.

* * * * *

61 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-(2-méthyl-octadécanoyl)-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **60** (10 mg, 9.64 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **61** (5.2 mg, solide blanc, 48 %).

C₆₁ H₉₅ O₁₆ S Na ; M = 1139.4707 g/mol.

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.9 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-18B), 1.1 (d, 3H, ³J_{19B-2B} = 7 Hz, H-19B), 1.1-1.4 (m, 52H, H-(4-15)A, H-(4-17)B), 1.5-1.8 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.3-2.5 (m, 3H, H-2A, H-2B), 3.6 (t, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.65-3.8 (m, 3H, H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 4.1-4.5 (m, 5H, H-2', H-3', H-5, H-5', H-6_{eq}'), 4.54 (dd, 1H, ²J_{6_{eq}-6_{ax}} = 10 Hz, ³J_{6_{eq}-5} = 5 Hz, H-6_{eq}), 5.06 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.35 (d*, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1'), 5.52, 5.56 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.6 (t*, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.8 (m, 10H, H-Ar).

* Dédoublément visible dû à la présence des deux diastéréoisomères.

* * * * *

62 : 2-O-Hexadécanoyl-3-O-(2-méthyl-octadécanoyl)-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **61** (5.2 mg, 4.6 μ mol) est déprotégé (Protocole 8) pour donner quantitativement (4 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **62**.

C₄₇ H₈₇ O₁₆ S Na ; M = 963.2532 g/mol

RMN ¹H (600 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-18B), 1.15* (d, 3H, ³J_{25B-2B} = 7 Hz, H-19B), 1.2-1.5 (m, 52H, H-(4-15)A, H-(4-17)B), 1.6 (m, 4H, H-3A, H-3B), 2.32 (m, 2H, H-2A), 2.46 (m, 1H, H-2B), 3.50 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.52 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.65-3.75 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.9 (m, 2H, H-3', H-6), 4.24 (m, 2H, H-2', H-5), 4.88* (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.29* (d, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.44* (t, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.48 (d, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1').

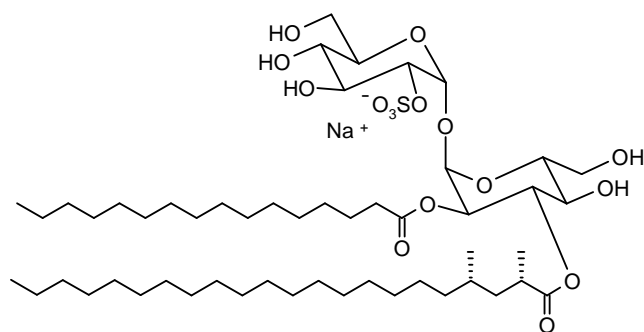
* Dédoublément visible dû à la présence des deux diastéréoisomères.

RMN ¹³C HSQC (151 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 12.9 (C-16A, C-18B), 15.9 (C-19B), 21.8 (C-15A, C-17B), 23.8 (C-3A, C-3B), 26.5, 28-30 (C-(4-13)A, C-(4-15)B), 31.0 (C-14A, C-16B), 33.0 (C-2A), 39.0 (C-2B), 60.5 (C-6, C-6'), 68.8 (C-4), 69.3 (C-4'), 70.1 (C-2), 70.7 (C-3'), 71.1 (C-5), 71.5 (C-3), 71.6 (C-5'), 76.1 (C-2'), 91.1 (C-1), 92.0 (C-1').

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 939.57 Exp. : m/z = 939.67

**66**

* * * * *

63 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-3-*O*-[(2*S*,4*S*)-2,4-diméthyl-docosanoyl]-2-*O*-hexadécanoyl-2',3'-*O*-
(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **3** (74 mg, 74 μ mol) est acylé par l'acide **36** (51 mg, 1.8 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **63** (49 mg, huile incolore, 49 %).

C₇₈ H₁₃₂ O₁₄ Si₂ ; M = 1350.0687 g/mol

*RMN*¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.78 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24B), 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-22B), 1.1 (d, 3H, ³J_{23B-2B} = 7 Hz, H-23B), 1.1-2 (m, 88H, H-(3-15)A, H-(3-21)B, H-*i*Pr), 2.32 (td, 2H, ³J_{2A-3A} = 3.5 Hz, ²J = 8 Hz, H-2A), 2.55 (m, 1H, H-2B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.65 (t, 1H, ³J_{4,5} = ³J_{4,3} = 9 Hz, H-4), 3.69, 3.74 (2 t, 2H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.8 (m, 1H, H-5'), 3.9 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 8.5 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.19 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.2-4.4 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}), 5.01 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.47, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

64 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-3-*O*-[(2*S*,4*S*)-2,4-diméthyl-docosanoyl]-2-*O*-hexadécanoyl- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **63** (49 mg, 37 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **64** (23 mg, solide blanc, 61 %).

C₆₆ H₁₀₆ O₁₃ ; M = 1107.5598 g/mol

*RMN*¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.78 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24B), 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-22B), 1.12 (d, 3H, ³J = 7 Hz, H-23B), 1.15-1.35 (m, 60H, H-(4-15)A, H-(4-21)B), 1.6 (m, 3H, H-3A, H-3B), 2.36, 2.37 (2 q, 2H, ³J _{α - β} = 7.5 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-2B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.65-3.9 (m, 5H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 4.07 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.09-4.25 (m, 2H, H-5, H-6_{éq'}), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.06 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.17 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.39 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.51, 5.52 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

65 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-3-O-[(2S,4S)-2,4-diméthyl docosanoyl]-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **64** (7.6 mg, 6.86 μ mol) est sulfaté selon le protocole décrit précédemment (Protocole 7) pour donner le produit **65** (4 mg, solide blanc, 49 %).

C₆₆ H₁₀₅ O₁₆ S Na ; M = 1209.6051 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.78 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24B), 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-22B), 1.12 (d, 3H, ³J_{23B-2B} = 7 Hz, H-23B), 1.15-1.5 (m, 60H, H-(4-15)A, H-(4-21)B), 1.5-1.8 (m, 3H, H-3A, H-3B), 2.3-2.7 (m, 3H, H-2A, H-2B), 3.6 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.7 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.73 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.75 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.95 (m, 1H, H-5'), 4.10 (m, 1H, H-6_{éq}'), 4.17 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.35 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 10 Hz, H-2'), 4.4 (m, 1H, H-5), 4.54 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.07 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.35 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.51, 5.56 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.59 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.2-7.8 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

66 : 3-O-[(2S,4S)-2,4-Diméthyl docosanoyl]-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **65** (4 mg, 3.31 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (2.4 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **66**.

C₅₂ H₉₇ O₁₆ S Na ; M = 1033.3876 g/mol

RMN ¹H (600 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

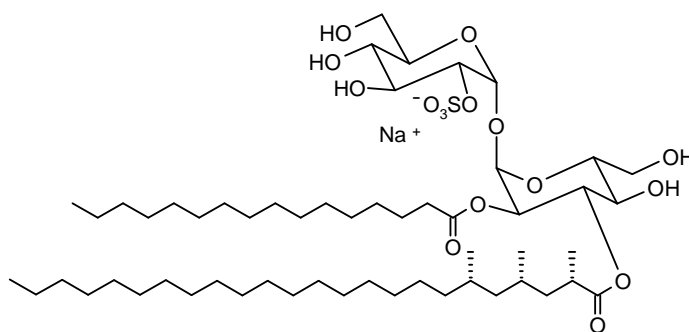
δ (ppm) = 0.87 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24B), 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-22B), 1.17 (d, 3H, ³J_{23B-2B} = 7 Hz, H-23B), 1.2-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(3-21)B), 2.3 (m, 2H, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-2B), 3.50 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.52 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.65-3.75 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.24 (m, 2H, H-2', H-5), 4.89 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.29 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.44 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.48 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1').

RMN ¹³C HSQC (151 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 13.0 (C-16A, C-22B), 17.0 (C-23B), 18.5 (C-24B), 21.8 (C-15A, C-21B), 23.9 (C-3A), 26.1, 28-30, 31.1 (C-14A, C-20B), 33.1 (C-2A), 36.3, 36.5 (C-2B), 40.6 (C-3B), 60.5, 60.6 (C-6, C-6'), 69.0 (C-4), 69.5 (C-4'), 70.3 (C-2), 70.8 (C-3'), 71.1 (C-5), 71.5 (C-3), 71.7 (C-5'), 76.1 (C-2'), 91.1 (C-1), 92.1 (C-1').

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 1009.65 Exp. : m/z = 1009.54

**70**

* * * * *

67 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-2',3'-*O*-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-3-*O*-[(2*S*,4*S*,6*S*)-2,4,6-triméthyltétracosanoyl]- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **3** (24 mg, 24 μ mol) est acylé par l'acide **43** (20 mg, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **67** (19 mg, huile incolore, 58 %).

C₈₁ H₁₃₈ O₁₄ Si₂ ; M = 1392.1493 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.77 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.79 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 1-2 (m, 94H, H-(3-15)A, H-(3-23)B, H-*i*Pr, H-25B), 2.31, 2.32 (2 t, 2H, ³J_{2A-3A} = 8 Hz, H-2A), 2.55 (m, 1H, H-2B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.65 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.69, 3.73 (2 t, 2H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.8 (m, 1H, H-5'), 3.9 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.13 (dd, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.2-4.4 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}), 5.02 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.12 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.46, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.66 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

68 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-3-*O*-[(2*S*,4*S*,6*S*)-2,4,6-triméthyltétracosanoyl]- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **67** (19 mg, 14 μ mol) est déprotégé sur les positions 2' et 3' du tréhalose selon le Protocole 6) pour donner le diol **68** (9 mg, solide blanc, 59 %).

C₆₉ H₁₁₂ O₁₃ ; M = 1149.6405 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.8 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.82 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 1.13 (d, 3H, ³J_{25B-2B} = 6.5 Hz, H-25B), 1.1-2 (m, 66H, H-(3-15)A, H-(3-23)B), 2.33, 2.4 (2 quint, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-2B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.7 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.6-3.9 (m, 4H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}), 4.0-4.3 (m, 3H, H-3', H-5, H-6_{éq'}), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.07 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.17 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.4 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.66 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

69 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoïl-2'-O-sulfate-3-O-[(2S,4S,6S)-2,4,6-triméthyltétracosanoïl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **68** (6.5 mg, 5.65 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **69** (1.4 mg, solide blanc, 20 %).

C₆₉ H₁₁₁ O₁₆ S Na ; M = 1251.6857 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.8 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.82 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 1.14 (d, 3H, ³J_{25B-2B} = 7 Hz, H-25B), 1.1-1.7 (m, 66H, H-(3-15)A, H-(3-23)B), 2.33, 2.4 (2 quint, 2H, ³J_{2A-2B} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-2B), 3.6 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.63 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 9 Hz, H-4), 3.6-4.2 (m, 4H, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}, H-6_{éq'}), 4.16 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.35 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 3.5 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.4 ppm (td, H-5, ³J_{5-6éq} = 5, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz), 4.54 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.07 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.36 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.5, 5.56 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.6 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.2-7.8 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

70 : 2-O-Hexadécanoïl-2'-O-sulfate-3-O-[(2S,4S,6S)-2,4,6-triméthyltétracosanoïl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **69** (2 mg, 1.6 μ mol) est déprotégé en milieu acide (Protocole 8) pour donner quantitativement (1.1 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **70**.

C₅₅ H₁₀₃ O₁₆ S Na ; M = 1075.4682 g/mol

RMN ¹H (600 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

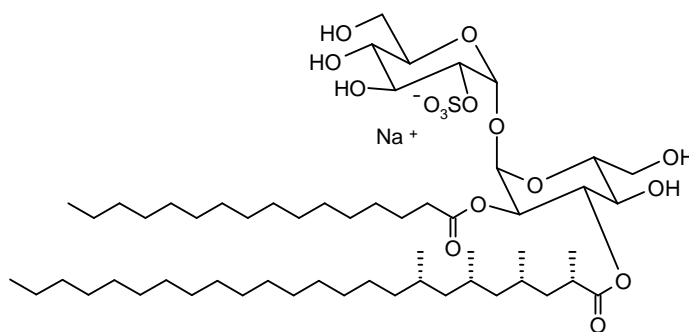
δ (ppm) = 0.86 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.87 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 1.17 (d, 3H, ³J_{25B-2B} = 7 Hz, H-25B), 1.2-1.7 (m, 66H, H-(3-15)A, H-(3-23)B), 2.3 (m, 3H, H-2A, H-2B), 3.50 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.52 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.65-3.75 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.20 (m, 2H, H-2', H-5), 4.90 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.30 (d, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.43 (t, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.48 (d, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1').

RMN ¹³C HSQC (151 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 13.0 (C-16A, C-24B), 17.0 (C-25B), 19.3 (C-(26-27)B), 21.8 (C-15A, C-23B), 23.9 (C-3A), 28-30, 31.1 (C-14A, C-22B), 33.1 (C-2A), 36.2 (C-2B), 40.0, 44.7 (C-3B, C-5B), 60.5, 60.7 (C-6, C-6'), 69.1 (C-4), 69.2 (C-4'), 70.1 (C-2), 70.8 (C-3'), 71.1 (C-5), 71.6 (C-3), 71.7 (C-5'), 76.3 (C-2'), 91.1 (C-1), 92.0 (C-1').

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 1051.70 Exp. : m/z = 1051.36

**71**

* * * * *

71 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-2',3'-*O*-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-3-*O*-[(2*S*,4*S*,6*S*,8*S*)-2,4,6,8-tétraméthyltétracosanoyl]- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **3** (141 mg, 1.5 éq.) est acylé par l'acide **50** (40 mg, 94 μ mol) selon le protocole d'acylation aux micro-ondes décrit (Protocole 4) pour donner le composé diacylé **71** (81 mg, huile incolore, 61 %).

C₈₂ H₁₄₀ O₁₄ Si₂ ; M = 1406.1762 g/mol

*RMN*¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.75-0.85 (m, 12H, H-25B, H-26B, H-27B, H-28B), 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 1-1.5 (m, 93H, H-(3-15)A, H-(3-23)B, H-*i*Pr), 2.3 (m, 2H, H-2A), 2.55 (m, 1H, H-2B), 3.53 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.6-3.8 (m, 4H, H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.92 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.1-4.4 (m, H-3', H-5, H-6_{éq}, H-6_{éq'}), 5.04 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 9.5 Hz, H-2), 5.14 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.39 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.48, 5.55 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.68 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

72 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-3-*O*-[(2*S*,4*S*,6*S*,8*S*)-2,4,6,8-tétraméthyltétracosanoyl]- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **71** (79 mg, 56.2 μ mol) est désilylé avec NBu₄F (Protocole 6) pour donner le diol **72** (56 mg, solide blanc, 86 %).

C₇₀ H₁₁₄ O₁₃ ; M = 1163.6674 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +49$ (*c* = 1.0, CHCl₃)

*RMN*¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.80 (d, 3H, ³J = 7 Hz, H-28B), 0.82 (d, 6H, ³J = 7 Hz, H-26B, H-27B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 1.14 (d, 3H, ³J = 7 Hz, H-25B), 1.1-1.9 (m, 65H, H-(3-15)A, H-(3-23)B), 2.4 (m, 3H, H-2A, H-2B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.6-3.9 (m, 5H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 4.05 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.12 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 4.5 Hz, H-6_{éq'}), 4.19 (td, 1H, ³J_{5-6éq} = 4.5 ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.07 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.15 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.39 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-16A, C-24B), 18.6, 20.3, 20.4 (C-(25-28)B), 22.7 (C-15A, C-23B), 24.6 (C-3A), 27.0, 27.8, 29-30, 31.9 (C-14A, C-22B)), 33.9 (C-2A), 36.8, 37.6, 39.9, 45.2, 45.6 (C-(3,5,7)B), 63.0 (C-5), 63.3 (C-5'), 68.4, 68.6 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.2 (C-3'), 72.2 (C-2'), 79.3 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.4 (C-1), 94.8 (C-1'), 101.2, 101.9 (C-7, C-7'), 125-130 (CH-Ar), 136.8, 136.9 (C-Ar), 173.0 (C-1B), 175.6 (C-1A).

* * * * *

73 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(2S,4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracosanoyl]-α,α-D-tréhalose

Le composé **72** (32 mg, 27.5 μmol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **73** (7 mg, solide blanc, 20 %).

C₇₀ H₁₁₃ O₁₆ S Na ; M = 1265.7126 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.64 (d, 3H, ³J_{28B-8B} = 6.5 Hz, H-28B), 0.67 (d, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-26B, H-27B), 0.73 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 1.0 (d, 3H, ³J_{25B-2B} = 7 Hz, H-25B), 1-1.7 (m, 65H, H-(3-15)A, H-(3-23)B), 2.19, 2.26 (2 quint, 2H, H-2A, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz), 2.5 (m, 1H, H-2B), 3.45 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.54 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.57 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.6 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.75 (m, 1H, H-5'), 3.98 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 4.5 Hz, H-6_{éq'}), 4.01 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.2 (dd, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 10 Hz, H-2'), 4.24 (m, 1H, H-5), 4.39 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 4.92 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.21 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.35 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.35, 5.41 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.44 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.2-7.8 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

74 : 2-O-Hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(2S,4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracosanoyl]-α,α-D-tréhalose

Le composé **73** (7 mg, 5.53 μmol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (4 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **74**.

C₅₆ H₁₀₅ O₁₆ S Na ; M = 1089.4951 g/mol

[α]_D²⁵ = + 62 (c = 0.33, MeOH/CHCl₃ 1/1)

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

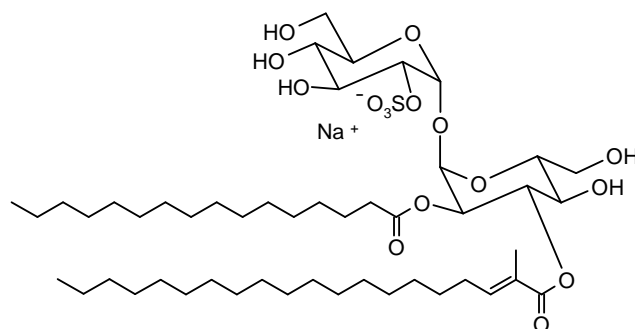
δ (ppm) = 0.86 (3 d, 9H, ³J = 6.5 Hz, H-26B, H-27B, H-28B), 0.89 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 1.18 (d, 3H, ³J_{25B-2B} = 6.5 Hz, H-25B), 1.0-1.7 (m, 65H, H-(3-15)A, H-(3-23)B), 2.3 (m, 2H, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-2B), 3.5 (m, 2H, H-4, H-4'), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.25 (m, 2H, H-2', H-5), 4.90 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.30 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.43 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.48 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1').

RMN ¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 13.1 (C-16A, C-24B), 17.3, 19.5, 19.7, 19.9 (C-(25-28)B), 22.0 (C-15A, C-23B), 24.0 (C-3A), 26.3, 26.6, 27.3, 28-30, 31.3 (C-14A, C-22B), 33.2 (C-2A), 36.1, 36.8 (C-2B), 40.0, 44.6, 44.8 (C-3B, C-5B, C-7B), 60.6, 60.9 (C-6, C-6'), 69.1 (C-4), 69.5 (C-4'), 70.3 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.4 (C-5), 71.7 (C-3), 71.9 (C-5'), 76.3 (C-2'), 91.4 (C-1), 92.3 (C-1'), 172.8 (C-1B), 176.5 (C-1A).

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 1065.71 Exp. : m/z = 1065.47

**78**

* * * * *

75 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-3-*O*-(2-méthylcos-2-ènol)-2',3'-*O*-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **3** (116 mg, 116 μ mol) est acylé par l'acide **21** (75 mg, 2 équ.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **75** (60 mg, huile incolore, 48 %).

C₇₅ H₁₂₄ O₁₄ Si₂ ; M = 1305.9422 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-20B), 1-2 (m, 84H, H-(3-15)A, H-(5-19)B, H-*i*Pr), 1.78 (d, 3H, ⁴J_{21B-3B} = 1 Hz, H-21B), 2-2.4 (m, 4H, H-2A, H-4B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.69 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.72 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.75 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.83 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} = ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 4.5 Hz, H-5'), 3.9 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 8.5 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 4.5 Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 8.5 Hz, H-3'), 4.22 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 4.34 (td, 1H, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 5.08 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.35 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.49, 5.52 (2s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.72 (tq, H-3B, ³J_{3B-4B} = 7.5 Hz, ⁴J_{3B-21B} = 1 Hz), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

76 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-3-*O*-(2-méthylcos-2-ènol)- α,α -D-tréhalose

Le composé **75** (60 mg, 56 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **76** (40 mg, solide blanc, 67 %).

C₆₃ H₉₈ O₁₃ ; M = 1063.4633 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-20B), 1-2 (m, 56H, H-(3-15)A, H-(5-19)B), 1.81 (d, 3H, ⁴J_{21B-3B} = 1 Hz, H-21B), 2-2.4 (m, 4H, H-2A, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.69 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.7-3.8 (m, 3H, H-2', H-4, H-6_{ax}), 3.86 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} = ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, H-5'), 4.09 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.12 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.21 (td, 1H, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.12 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5, 5.53 (2s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.77 (tq, H-3B, ³J_{3B-4B} = 7.5 Hz, ⁴J_{3B-21B} = 1 Hz), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

77 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-(2-méthylcos-2-énoyl)-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **76** (40 mg, 37.6 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **77** (25 mg, solide blanc, 57 %).

C₆₃ H₉₇ O₁₆ S Na ; M = 1165.5086 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-20B), 1.1-1.7 (m, 56H, H-(3-15)A, H-(5-19)B), 1.82 (d, 3H, ⁴J_{21B-3B} = 1 Hz, H-21B), 2.1-2.5 (m, 4H, H-2A, H-4B), 3.5-3.9 (m, 4H, H-4, H-4', H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.96 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} = ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, H-5'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 4.5 Hz, H-6_{éq'}), 4.16 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.36 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.41 (td, 1H, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 9.5 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 4.53 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.13 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.33 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.53, 5.55 (2s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.79 (tq, H-3B, ³J_{3B-4B} = 7.5 Hz, ⁴J_{3B-21B} = 1 Hz), 7.2-7.6 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

78 : 2-O-Hexadécanoyl-3-O-(2-méthylcos-2-énoyl)-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **77** (25 mg, 21.4 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (12 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **78**.

C₄₉ H₈₉ O₁₆ S Na ; M = 989.2911 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +80$ ($c = 0.57$, MeOH/CHCl₃ 1/1)

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

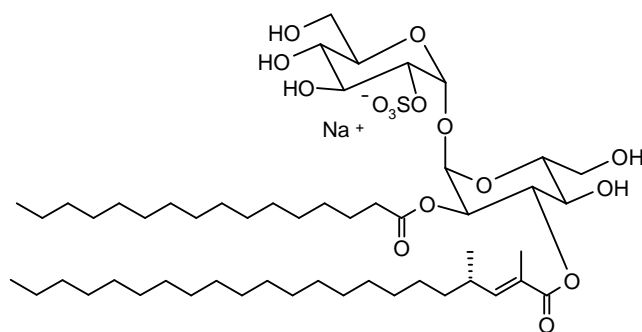
δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-20B), 1.1-1.6 (m, 56H, H-(3-15)A, H-(5-19)B), 1.83 (d, 3H, ⁴J_{21B-3B} = 1.5 Hz, H-21B), 2.19 (q, 2H, H-4B), 2.28 (q, 2H, H-2A), 3.50 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.60 (t, 1H, ²J = ³J_{6'-5} = 9.5 Hz, H-6'), 3.6-3.8 (m, 4H, H-4, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 10 Hz, H-3'), 3.97 (m, 1H, H-6), 4.98 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 3.5 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.25 (m, 1H, H-5), 4.99 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.28 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.49 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.8 (tq, ³J_{3B-4B} = 7 Hz, ⁴J_{3B-21B} = 1.5 Hz, H-3B).

RMN ¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 11.4 (C-21B), 13.1 (C-16A, C-20B), 22.0 (C-15A, C-19B), 24.3 (C-3A), 28-30, 31.3 (C-14A, C-18B), 33.4 (C-2A), 60.6 (C-6), 60.9 (C-6'), 68.9 (C-4), 69.6 (C-4'), 70.2 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 72.0 (C-5'), 72.3 (C-3), 76.3 (C-2'), 91.7 (C-1), 92.5 (C-1'), 126.47.0 (C-2B), 143.2 (C-3B), 167.6 (C-1B), 172.9 (C-1A).

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 965.59 Exp. : m/z = 965.75

**82**

* * * * *

79 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-3-*O*-[(*S*)-2,4-diméthyl-docos-2-énoyl]-2-*O*-hexadécanoyl-2',3'-*O*- (tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **3** (112 mg, 112 μ mol) est acylé par l'acide **30** (56 mg, 1.4 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **79** (62 mg, huile incolore, 41 %).

C₇₈ H₁₃₀ O₁₄ Si₂ ; M = 1348.0528 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16, H-22), 0.95 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24), 1-1.6 (m, 88H, H-(3-15)A, H-(5-21)B, H-*i*Pr), 1.79 (d, 3H, ⁴J_{23B-3B} = 1 Hz, H-23B), 2.3 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7 Hz, H-2A), 2.42 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, H-4', ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz), 3.69 (t, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.74 (t, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.75 (t, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.83 (td, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, H-5'), 3.91 (dd, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.13 (dd, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (t, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.23 (dd, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 4.34 (td, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 5.08 (dd, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.13 (d, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.35 (d, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.8 (dq, H-3B, ³J_{3B-23B} = 10 Hz, ⁴J = 1 Hz), 7.3-7.5 (m, H-Ar).

* * * * *

80 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-3-*O*-[(*S*)-2,4-diméthyl-docos-2-énoyl]-2-*O*-hexadécanoyl- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **79** (61 mg, 45.2 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **80** (43 mg, solide blanc, 87 %).

C₆₆ H₁₀₄ O₁₃ ; M = 1105.5440 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ = 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-22B), 0.98 (d, 3H, ³J = 7 Hz, H-24B), 1.1-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(5-21)B), 1.81 (d, 3H, ⁴J_{23B-3B} = 1.5 Hz, H-23B), 2.34 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.46 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.7 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.75 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 3.77 (t, 2H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-4, H-6_{ax}), 3.86 (td, ³J_{5'-6éq'} = 5, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, H-5'), 4.1 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.21 (td, 1H, ³J_{5-6éq} = 5, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.13 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.19 (d, 1H,

$^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.39 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.5, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.54 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-23B} = 1.5$ Hz, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

81 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-3-O-[(S)-2,4-diméthyl-docos-2-énoyl]-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **80** (43 mg, 39.2 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **81** (18 mg, solide blanc, 37 %).

C₆₆ H₁₀₃ O₁₆ S Na ; M = 1207.5892 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

$\delta = 0.89$ (t, 6H, $^3J = 7$ Hz, H-16A, H-22B), 0.99 (d, 3H, $^3J = 6.5$ Hz, H-24B), 1.1-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(5-21)B), 1.82 (d, 3H, $^4J_{23B-3B} = 1.5$ Hz, H-23B), 2.35 (t, 2H, $^3J_{2A-3A} = 7.5$ Hz, H-2A), 2.48 (m, 1H, H-4B), 3.6 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.6-4 (m, 4H, H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6'_{ax}), 4.12 (dd, 1H, $^2J_{6'eq-6ax'} = 10$ Hz, $^3J_{6'eq-5'} = 4$ Hz, H-6'_{eq}), 4.15 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 10$ Hz, H-3'), 4.38 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 10$ Hz, H-2'), 4.4 (td, 1H, $^3J_{5-6'eq} = 5$, $^3J_{5-6ax} = ^3J_{5-4} = 10$ Hz, H-5), 4.53 (dd, 1H, $^2J_{6'eq-6ax} = 10$ Hz, $^3J_{6'eq-5} = 5$ Hz, H-6'_{eq}), 5.13 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.32 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.51, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.63 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.57 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-23B} = 1.5$ Hz, H-3B), 7.2-7.6 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

82 : 3-O-[(S)-2,4-Diméthyl-docos-2-énoyl]-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **81** (18 mg, 14.7 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (9.9 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **82**.

C₅₂ H₉₅ O₁₆ S Na ; M = 1031.3717 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 89$ ($c = 1.0$, MeOH/CHCl₃ 1/1)

RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

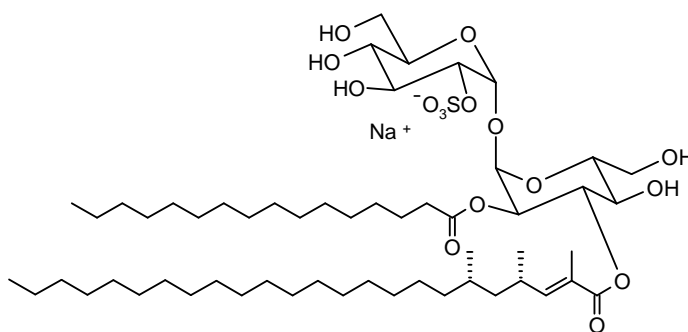
δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-16A, H-22B), 1.0 (d, 3H, $^3J_{24B-4B} = 6.5$ Hz, H-24B), 1.1-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(5-21)B), 1.84 (d, 3H, $^4J_{23B-3B} = 1$ Hz, H-23B), 2.28 (t, 2H, $^3J_{2A-3A} = 7.5$ Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-4B), 3.50 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.61 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.25 (m, 2H, H-2', H-5), 4.99 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.28 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.50 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.57 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-23B} = 1$ Hz, H-3B).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 11.7 (C-23B), 13.2 (C-16A, C-22B), 19.0 (C-24B), 22.1 (C-15A, C-21B), 24.3 (C-3A), 26.9, 28-30, 31.3 (C-14A, C-20B), 32.7, 33.4 (C-2A), 36.2 (C-4B), 60.7 (C-6), 60.9 (C-6'), 68.9 (C-4), 69.6 (C-4'), 70.2 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 71.9 (C-5'), 72.4 (C-3), 76.4 (C-2'), 91.7 (C-1), 92.5 (C-1'), 125.1 (C-2B), 149.0 (C-3B), 167.8 (C-1B), 172.9 (C-1A).

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 1007.63 Exp. : m/z = 1007.59

**86**

* * * * *

83 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-2',3'-*O*-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-3-*O*-[(4*S*,6*S*)-2,4,6-triméthyltétracos-2-èneoyl]- α,α -*D*-tréhalose

Le composé **3** (274 mg, 1.5 éq.) est acylé par l'acide **38** (72 mg, 177 μ mol) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **83** (62 mg, huile incolore, 41 %).

C₈₁ H₁₃₆ O₁₄ Si₂ ; M = 1390.1334 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.78 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 0.94 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1-1.6 (m, 91H, H-(3-15)A, H-(5-23)B, H-*i*Pr), 1.8 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1.5 Hz, H-25B), 2.3 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.69 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.73 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.75 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.83 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 4.5 Hz, H-5'), 3.9 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 4.5 Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.23 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 4.34 (td, 1H, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 5.08 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.49, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.48 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-25B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.6-13 (CH-*i*Pr, C-25B), 14.1 (C-16A, C-24B), 17-17.5 (CH₃-*i*Pr), 19.6, 20.4 (C-26B, C-27B), 22.7 (C-15A, C-23B), 24.8 (C-3A), 25.4, 26.9, 29-30, 31.9 (C-14A, C-22B), 34.0 (C-2A), 37.5 (C-4B), 44.3 (C-5B), 62.7 (C-5, C-5'), 68.8, 69.0 (C-3, C-6, C-6'), 71.0 (C-2), 73.4 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.4 (C-4), 81.1 (C-4'), 92.2 (C-1), 94.6 (C-1'), 101.2, 101.7 (C-7, C-7'), 125.4 (C-2B), 125-129 (CH-Ar), 137.1, 137.6 (C-Ar), 149.1 (C-3B), 167.0 (C-1B), 173.3 (C-1A).

* * * * *

84 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **83** (102 mg, 73.2 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **84** (45 mg, solide blanc, 53 %).

C₆₉ H₁₁₀ O₁₃ ; M = 1147.6246 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.8 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 0.96 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1.1-1.6 (m, 63H, H-(3-15)A, H-(5-23)B), 1.83 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1.5 Hz, H-25B), 2.34 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.7 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.7-3.8 (m, 3H, H-2', H-4, H-6_{ax}), 3.87 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, H-5'), 4.09 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.21 (td, 1H, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 4.34 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.13 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.52 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-25B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

85 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **84** (25 mg, 21.8 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **85** (10 mg, solide blanc, 38 %).

C₆₉ H₁₀₉ O₁₆ S Na ; M = 1249.6699 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.81 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 0.98 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1.1-1.7 (m, 63H, H-(3-15)A, H-(5-23)B), 1.84 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1.5 Hz, H-25B), 2.34 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.63 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.5-3.8 (m, 3H, H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.95 (td, 1H, ³J_{5'-6ax} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, H-5'), 4.11 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.14 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.4 (td, 1H, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 4.39 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.13 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.32 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.51, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.63 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.53 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-25B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

86 : 2-*O*-Hexadécanoyl-2'-*O*-sulfate-3-*O*-[(4*S*,6*S*)-2,4,6-triméthyltétracos-2-èneyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **85** (10 mg, 8.1 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (6.6 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **86**.

C₅₅ H₁₀₁ O₁₆ S Na ; M = 1073.4523 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 80$ ($c = 0.46$, MeOH/CHCl₃ 1/1)

*RMN*¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 35°C)

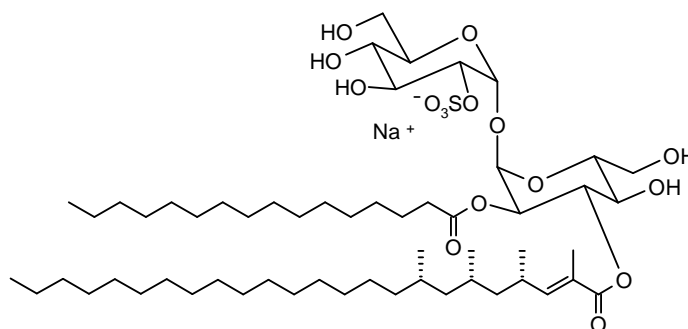
δ (ppm) = 0.86 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.88 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 0.97 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1-1.6 (m, 64H, H-(3-15)A, H-(5-23)B), 1.82 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1.5 Hz, H-25B), 2.22, 2.26 (2 quint, 2H, ³J_{2A-3A} = 8 Hz, ²J = 16 Hz, H-2A), 2.62 (m, 1H, H-4B), 3.52 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.53 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 9.5 Hz, H-4), 3.5-3.8 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.94 (t, 1H, ³J_{3'-2'} = ³J_{3'-4'} = 10 Hz, H-3'), 3.97 (dd, 1H, ²J = 12 Hz, ³J₆₋₅ = 3 Hz, H-6), 4.23 (m, 2H, H-2', H-5), 4.97 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.25 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.43 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.46 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1'), 6.54 (tq, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-25B} = 1.5 Hz, H-3B).

*RMN*¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 11.6 (C-25B), 13.2 (C-16A, C-24B), 18.8, 19.5 (C-26B, C-27B), 22.0 (C-15A, C-23B), 24.3 (C-3A), 26.3, 28-30, 30.2 (C-6B), 31.3 (C-14A, C-22B), 33.4 (C-2A), 36.9 (C-4B), 43.8 (C-5B), 60.6 (C-6), 60.9 (C-6'), 69.0 (C-4), 69.6 (C-4'), 70.2 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 72.0 (C-5'), 72.4 (C-3), 76.3 (C-2'), 91.7 (C-1), 92.5 (C-1'), 125.0 (C-2B), 149.1 (C-3B), 167.8 (C-1B), 172.8 (C-1A).

MALDI-Tof (mode négatif)

Calc. : m/z = 1049.68 Exp. : m/z = 1049.47

**90**

* * * * *

87 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-hexadécanoyl-2',3'-*O*-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-3-*O*-[(4*S*,6*S*,8*S*)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-èneyl]- α,α -D-tréhalose

L'acide **45** (120 mg, 0.28 mmol) est activé par le chlorure d'oxalyle selon le Protocole 11. Le chlorure d'acyle ainsi obtenu est mis à réagir avec le composé **3** (491 mg, 1.7 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 5) pour donner le composé diacylé **87** (111 mg, huile incolore, 28 %).

C₈₂ H₁₃₈ O₁₄ Si₂ ; M = 1404.1603 g/mol

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ = 0.7-1 (m, 9H, H-26B, H-27B, H-28), 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 1-1.6 (m, 90H, H-(3-15)A, H-(5-23)B, H-*i*Pr), 1.81 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1 Hz, H-25B), 2.29 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 8 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-3'} \approx ³J_{4'-5'} = 10 Hz, H-4'), 3.68 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.7 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.74 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.85 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} = ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 4.5 Hz, H-5'), 3.91 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.12 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 4.5 Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.23 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 4.33 (td, 1H, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, H-5), 5.07 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.35 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.46, 5.52 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.48 (d, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J = 1 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.7-13 (CH-*i*Pr), 12.6 (C-25B), 14.1 (C-16A, C-24B), 17-17.4 (CH₃-*i*Pr), 19.8, 20.4, 20.8 (C-26-28)B), 22.7 (C-15A, C-23B), 24.8 (C-3A), 27.0, 28.0, 29-30, 30.8, 31.9 (C-14A, C-22B), 34.0 (C-2A), 37.3, 43.8, 45.3 (C-5B, C-7B), 62.6 (C-5), 62.7 (C-5'), 68.8, 69.0 (C-3, C-6, C-6'), 71.0 (C-2), 73.5 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.5 (C-4), 81.1 (C-4'), 92.2 (C-1), 94.6 (C-1'), 101.2, 101.7 (C-7, C-7'), 125.5 (C-2B), 126-130 (CH-Ar), 137.2, 137.6 (C-Ar), 149.0 (C-3B), 166.9 (C-1B), 173.2 (C-1A).

* * * * *

88 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **87** (136 mg, 74.4 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **88** (79 mg, solide blanc, 92 %).

C₇₀ H₁₁₂ O₁₃ ; M = 1161.6515 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +56$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.75 (d, 3H, ³J_{28B-8B} = 6.5 Hz, H-28B), 0.81 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6 Hz, H-27B), 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 0.97 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1.1-1.7 (m, 62H, H-(3-15)A, H-(5-23)B), 1.83 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1 Hz, H-25B), 2.34 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 8 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.68 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax}'), 3.72 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 3.72 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.75 (t, 1H, ²J_{6ax-6éq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.85 (td, 1H, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, H-5'), 4.08 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.12 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq}'), 4.21 (td, 1H, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.12 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.17 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.49 (s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.51 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-25B} = 1 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 12.6 (C-25B), 14.1 (C-16A, C-24B), 19.8, 20.4, 20.8 (C-(26-28)B), 22.7 (C-15A, C-23B), 24.8 (C-3A), 27.0, 28.0, 29-30, 30.8, 31.9 (C-14A, C-22B), 34.0 (C-2A), 37.3 (C-4B), 43.7, 45.2 (C-5B, C-7B), 63.2 (C-5), 63.3 (C-5'), 68.6, 68.7, 68.9 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.2 (C-3'), 72.2 (C-2'), 79.4 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.6 (C-1), 94.9 (C-1'), 101.5, 102.0 (C-7, C-7'), 125.5 (C-2B), 126-130 (CH-Ar), 136.9, 137.0 (C-Ar), 149.0 (C-3B), 167.1 (C-1B), 173.0 (C-1A).

* * * * *

89 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **88** (85 mg, 66 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **89** (30 mg, solide blanc, 36 %).

C₇₀ H₁₁₁ O₁₆ S Na ; M = 1263.6967 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +46$ ($c = 1.0$, DCM/MeOH 4/1)

RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.75 (d, 3H, ³J_{28B-8B} = 6.5 Hz, H-28B), 0.81 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6 Hz, H-27B), 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 0.98 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1-1.7 (m, 68H, H-(3-15)A, H-(5-23)B), 1.84 (s, 3H, H-25B), 2.34 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.59 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.6-4 (m, 4H, H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 4.12 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq}'), 4.15 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.3-4.5 (m, 2H, H-2', H-5), 4.51 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.12 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.33 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.51 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.48, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.64 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.53 (d, 1H, ³J_{3B-4B} = 9.5 Hz, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 12.2 (C-25B), 13.8 (C-16A, C-24B), 19.5, 20.1, 20.5 (C-(26-28)B), 22.4 (C-15A, C-23B), 24.6 (C-3A), 26.7, 27.8, 28-30, 30.7, 31.7 (C-14A, C-22B), 33.8 (C-2A), 37.0 (C-4B), 43.5, 45.0 (C-5B, C-7B), 62.7 (C-5), 63.0 (C-5'), 68.4 (C-3', C-6, C-6'), 69.2 (C-3), 70.7 (C-2), 76.6 (C-2'), 79.0 (C-4), 80.8 (C-4'), 93.2 (C-1), 94.1 (C-1'), 101.2, 101.8 (C-7, C-7'), 125.1 (C-2B), 125.9-129 (CH-Ar), 136.8 (C-Ar), 149.6 (C-3B), 167.3 (C-1B), 172.9 (C-1A).

* * * * *

90 : 2-O-Hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoyl]-α,α-D-tréhalose

Le composé **89** (30 mg, 23.7 μmol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (23 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **90**.

C₅₆ H₁₀₃ O₁₆ S Na ; M = 1087.4792 g/mol

[α]_D²⁵ = + 76 (c = 0.66, MeOH/DCM 1/2)

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

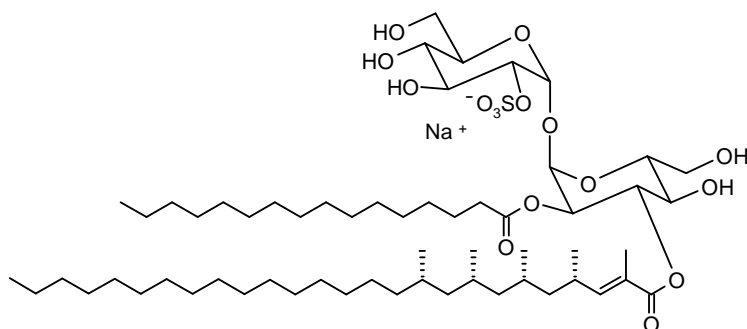
δ (ppm) = 0.84 (d, 3H, ³J_{28B-8B} = 6.5 Hz, H-28B), 0.85 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 0.99 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1.0-1.6 (m, 64H, H-(3-15)A, H-(5-23)B), 1.86 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1.5 Hz, H-25B), 2.26, 2.29 (2 td, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz, H-2A), 2.65 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.59 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.25 (m, 2H, H-2', H-5), 4.99 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.29 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.49 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 6.55 (dq, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-25B} = 1.5 Hz, H-3B).

RMN ¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 11.6 (C-25B), 13.1 (C-16A, C-24B), 19.2, 19.5, 19.9 (C-(25-27)B), 22.0 (C-15A, C-23B), 24.3 (C-3A), 26.3, 27.5, 28-30, 31.3 (C-14A, C-22B), 33.3 (C-2A), 36.6 (C-4B), 43.3, 44.7 (C-5B, C-7B), 60.6 (C-6), 60.9 (C-6'), 69.0 (C-4), 69.5 (C-4'), 70.2 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 72.0 (C-5'), 72.4 (C-3), 76.3 (C-2'), 91.7 (C-1), 92.5 (C-1'), 125.0 (C-2B), 149.1 (C-3B), 167.8 (C-1B), 172.8 (C-1A).

MALDI-Tof (mode négatif)

Calc. : m/z = 1063.70 Exp. : m/z = 1063.67

**94**

* * * * *

91 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-3-O-[(4S,6S,8S,10S)-2,4,6,8,10-pentaméthylhexacos-2-ènol]-2-O-hexadécanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diy)- α,α -D-tréhalose

Le composé **3** (31 mg, 1.4 μ mol) est acylé par l'acide **52** (10 mg, 21 μ mol) selon le protocole d'acylation aux micro-ondes décrit (Protocole 4) pour donner le composé diacylé **91** (9 mg, huile incolore, 30 %).

C₈₅ H₁₄₄ O₁₄ Si₂ ; M = 1446.2155 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +31$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

$\delta = 0.7-1$ (4 d, 12H, H-28, H-29B, H-30B, H-31B), 0.88 (t, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-16A, H-26B), 1-1.6 (m, 93H, H-(3-15)A, H-(5-25)B, H-*i*Pr), 1.81 (d, 3H, $^4J_{25B-3B} = 1$ Hz, H-27B), 2.29 (t, 2H, $^3J_{2A-3A} = 7.5$ Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, $^3J_{4'-3'} \approx ^3J_{4'-5'} = 10$ Hz, H-4'), 3.68 (t, 1H, $^2J_{6ax'-6\acute{e}q'} = ^3J_{6ax'-5'} = 10$ Hz, H-6_{ax'}), 3.7 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.74 (t, 1H, $^2J_{6ax-6\acute{e}q} = ^3J_{6ax-5} = 10$ Hz, H-6_{ax}), 3.85 (td, 1H, $^3J_{5'-6ax'} = ^3J_{5'-4'} = 10$ Hz, $^3J_{5'-6\acute{e}q'} = 5$ Hz, H-5'), 3.91 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9$ Hz, H-2'), 4.12 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q'-6ax'} = 10$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q'-5'} = 5$ Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9$ Hz, H-3'), 4.23 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, H-6_{éq}), 4.33 (td, 1H, $^3J_{5-6ax} = ^3J_{5-4} = 10$ Hz, $^3J_{5-6\acute{e}q} = 5$ Hz, H-5), 5.07 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.35 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.46, 5.52 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.48 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J = 1$ Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.7, 12.2, 12.6, 12.9 (CH-*i*Pr), 12.6 (C-27B), 14.1 (C-16A, C-26B), 17-17.5 (CH₃-*i*Pr), 20.3, 20.4, 20.5, 20.9 (C-(28-31)B), 22.7 (C-15A, C-25B), 24.7, 24.8 (C-3A), 25.4, 27.0, 27.1, 27.9, 29-30, 30.8, 31.9 (C-14A, C-24B), 34.0 (C-2A), 36.8 (C-4B), 43.5, 45.2, 45.6 (C-5B, C-7B, C-9B), 62.6 (C-5), 62.7 (C-5'), 68.8, 69.0 (C-3, C-6, C-6'), 71.1 (C-2), 73.5 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.5 (C-4), 81.1 (C-4'), 92.2 (C-1), 94.6 (C-1'), 101.2, 101.7 (C-7, C-7'), 125.5 (C-2B), 126-129 (CH-Ar), 137.2, 137.6 (C-Ar), 149.0 (C-3B), 166.9 (C-1B), 173.3 (C-1A).

* * * * *

92 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-3-O-[(4S,6S,8S,10S)-2,4,6,8,10-pentaméthylhexacos-2-ènol]-2-O-hexadécanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **91** (9 mg, 6.2 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **92** (6 mg, solide blanc, 80 %).

C₇₃ H₁₁₈ O₁₃ ; M = 1203.7102 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 52$ ($c = 0.67$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.74 (d, 3H, ³J_{31B-10B} = 6.5 Hz, H-31B), 0.81 (d, 3H, ³J_{30B-8B} = 6.5 Hz, H-30B), 0.82 (d, 3H, ³J_{29B-6B} = 6.5 Hz, H-29B), 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-26B), 0.97 (d, 3H, ³J_{28B-4B} = 6.5 Hz, H-28B), 1.0-1.7 (m, 65H, H-(3-15)A, H-(5-25)B), 1.84 (d, 3H, ⁴J_{27B-3B} = 1.5 Hz, H-27B), 2.33 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.70 (t, 1H, ²J_{6ax'-6eq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.74 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 3.73 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.76 (t, 1H, ²J_{6ax-6eq} = ³J_{6ax-5} = 10 Hz, H-6_{ax}), 3.86 (td, 1H, ³J_{5'-6eq'} = 5 Hz, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, H-5'), 4.09 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6eq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6eq'-5'} = 5 Hz, H-6_{eq'}), 4.21 (td, 1H, ³J_{5-6eq} = 5 Hz, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6eq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6eq-5} = 5 Hz, H-6_{eq}), 5.12 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.38 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.49, 5.50 (s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.51 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-27B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 12.6 (C-27B), 14.1 (C-16A, C-26B), 20.3, 20.4, 20.5, 20.9 (C-(28-31)B), 22.7 (C-15A, C-25B), 24.8 (C-3A), 27.0, 27.1, 28.0, 29-30, 30.9, 31.9 (C-14A, C-24B), 34.0 (C-2A), 36.8 (C-4B), 43.5, 45.2, 45.5 (C-5B, C-7B, C-9B), 63.2 (C-5), 63.3 (C-5'), 68.7, 68.8, 68.9 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.3 (C-3'), 72.3 (C-2'), 79.4 (C-4), 80.9 (C-4'), 92.6 (C-1), 94.9 (C-1'), 101.5, 102.0 (C-7, C-7'), 125.4 (C-2B), 126-130 (CH-Ar), 136.9, 137.0 (C-Ar), 149.5 (C-3B), 167.1 (C-1B), 173.0 (C-1A).

* * * * *

93 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(4S,6S,8S,10S)-2,4,6,8,10-pentaméthylhexacos-2-ènol]- α,α -D-tréhalose

Le composé **92** (6 mg, 5 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **93** (1 mg, solide blanc, 15 %).

C₇₃ H₁₁₇ O₁₆ S Na ; M = 1305.7553 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 75$ ($c = 0.12$, MeOH/DCM 1/4)

RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.74(d, 3H, ³J_{31B-10B} = 6.5 Hz, H-31B), 0.82 (d, 6H, ³J = 6 Hz, H-29B, H-30B), 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-26B), 0.99 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-27B), 1-1.7 (m, 68H, H-(3-15)A, H-(5-25)B), 1.85 (d, 3H, ⁴J_{27B-3B} = 1 Hz, H-27B), 2.35 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.60 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.6-3.8 (m, 3H, H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.96 (td, 1H, ³J_{5'-6eq'} = 5 Hz, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, H-5'), 4.1 (m, 1H, H-6_{eq'}), 4.17 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.37 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.4 (m, 1H, H-5), 4.53 (dd, 1H, ²J_{6eq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6eq-5} = 5 Hz, H-6_{eq}), 5.13 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.34 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.51 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.5, 5.56 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.54 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 9.5 Hz, ⁴J_{3B-27B} = 1 Hz, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

MALDI-Tof (mode négatif)

Calc. : m/z = 1281.81 Exp. : m/z = 1281.58

* * * * *

94 : 2-O-Hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(4S,6S,8S,10S)-2,4,6,8,10-pentaméthylhexacos-2-èneoyl]- α,α -D-tréhalose

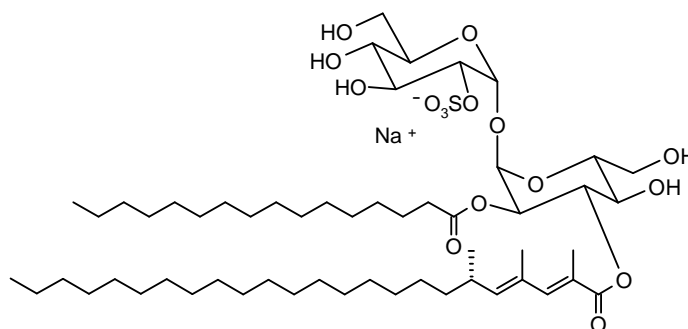
Le composé **93** (1 mg, 0.76 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement le sulfoglycolipide attendu **94**, (0.5 mg, solide blanc).

C₅₉ H₁₀₉ O₁₆ S Na ; M = 1129.5419 g/mol[α]_D²⁵ = + 150 (c = 0.06, MeOH/CHCl₃/ 1/1)RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CDCl₃, 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 0.83 (d, 3H, ³J_{31B-10B} = 6.5 Hz, H-31B), 0.85 (d, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-29B, H-30B), 0.89 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-26B), 1.0 (d, 3H, ³J_{28B-4B} = 6.5 Hz, H-28B), 1.0-1.7 (m, 65H, H-(3-15)A, H-(5-25)B), 1.86 (d, 3H, ⁴J_{27B-3B} = 1 Hz, H-27B), 2.28 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7 Hz, H-2A), 2.65 (m, 1H, H-4B), 3.49 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.58 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 1H, H-6), 3.96 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.25 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.25 (m, 1H, H-5), 4.99 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.29 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.50 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.55 (dq, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-27B} = 1 Hz, H-3B).

MALDI-Tof (mode négatif)

Calc. : m/z = 1105.74 Exp. : m/z = 1105.53

**98**

* * * * *

95 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-3-O-[(S)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diénoyl]- α,α -D-tréhalose

L'acide **58** (31 mg, 76.2 μ mol) est activé par le chlorure d'oxalyle selon le Protocole 11.

Le chlorure d'acyle ainsi obtenu est mis à réagir avec le composé **3** (152 mg, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 5) pour donner le composé diacylé **95** (26 mg, huile incolore, 25 %).

C₈₁ H₁₃₄ O₁₄ Si₂ ; M = 1388.0933 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +48$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

$\delta = 0.89$ (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 0.96 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H-27B), 1-1.6 (m, 88H, H-(3-15)A, H-(7-23)B, H-*i*Pr), 1.81, 1.98 (2 s, 6H, H-25B, H-26B), 2.32 (m, 2H, H-2A), 2.45 (m, 1H, H-6B), 3.52 (t, 1H, ³J_{4'-3'}} = ³J_{4'-5'}} = 9 Hz, H-4'), 3.7 (t, 1H, ³J_{4-3}} = ³J_{4-5}} = 10 Hz, H-4), 3.7-4 (m, 3H, H-5', H-6_{ax}', H-6_{ax}}'), 3.93 (dd, 1H, ³J_{2'-1'}} = 4 Hz, ³J_{2'-3'}} = 9 Hz, H-2'), 4.14 (dd, 1H, ³J_{6_{éq}'-5'}} = 5 Hz, ²J_{6_{éq}'-6_{ax}}'} = 10 Hz, H-6_{éq}'), 4.2-4.3 (m, 2H, H-3', H-6_{éq}'), 4.36 (td, 1H, ³J_{5-6_{éq}}} = 5 Hz, ³J_{5-6_{ax}}}} = 10 Hz, H-5), 5.10 (dd, 1H, ³J_{2-1}} = 4 Hz, ³J_{2-3}} = 10 Hz, H-2), 5.15 (d, 1H, ³J_{1'-2'}} = 4 Hz, H-1'), 5.38 (m, 2H, H-1, H-5B), 5.51, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.75 (t, 1H, ³J_{3-4}} = ³J_{3-2}} = 10 Hz, H-3), 7.07 (s, 1H, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).}

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11-13 (CH-*i*Pr), 14.1 (C-16A, C-24B), 17-17.5 (CH₃-*i*Pr), 16.4, 20.6, 22.7 (C-15A, C-23B), 24.8 (C-3B), 27.6, 29-30, 31.9 (C-14A, C-22B), 32.8, 34.0 (C-2A), 37.3 (C-6B), 62.7 (C-5, C-5'), 68.8, 69.2 (C-3, C-6, C-6'), 71.1 (C-2), 73.5 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.5 (C-4), 81.1 (C-4'), 92.2 (C-1), 94.7 (C-1'), 101.2, 101.8 (C-7, C-7'), 124.3 (C-2B), 125-129 (CH-Ar), 130.4 (C-4B), 137.2, 137.6 (C-Ar), 143.7, 144.0 (C-3B, C-5B), 167.8 (C-1B), 173.3 (C-1A).

* * * * *

96 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-[(S)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diènoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **95** (18 mg, 13 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **96** (14 mg, solide blanc, 93 %).

C₆₉ H₁₀₈ O₁₃ ; M = 1145.5880 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 62$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

$\delta = 0.89$ (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 0.98 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H-27B), 1.0-1.7 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(7-23)B), 1.83, 1.99 (2 s, 6H, H-25B, H-26B), 2.36 (m, 2H, H-2A), 2.45 (m, 1H, H-6B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-3'} = ³J_{4'-5'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.6-4 (m, 5H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 4.10 (t, 1H, ³J_{3'-2'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.1-4.3 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}'), 4.34 (dd, 1H, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, ³J_{6éq-6ax} = 10 Hz, H-6_{éq}'), 5.14 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.39 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.41 (d, 1H, ³J_{5B-6B} = 10 Hz, H-5B), 5.50, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.75 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.11 (s, 1H, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 14.1 (C-16A, C-24B), 16.4, 20.6, 22.7 (C-15A, C-23B), 24.9 (C-3B), 27.6, 29-30, 31.9 (C-14A, C-22B), 32.9, 34.0 (C-2A), 37.3 (C-6B), 63.2 (C-5, C-5'), 68.6 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.2 (C-3'), 72.2 (C-2'), 79.3 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.0 (C-1), 94.9 (C-1'), 101.5, 102.0 (C-7, C-7'), 124.1 (C-2B), 126-130 (CH-Ar), 130.4 (C-4B), 136.9, 137.0 (C-Ar), 144.0, 144.3 (C-3B, C-5B), 173.1 (C-1A).

* * * * *

97 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(S)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diènoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **96** (13 mg, 11.8 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **97** (4 mg, solide blanc, 31 %).

C₆₉ H₁₀₇ O₁₆ S Na ; M = 1247.6331 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 73$ ($c = 0.56$, MeOH/DCM 1/4)

RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CDCl₃, 1/4, 25°C)

$\delta = 0.82$ (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-24B), 0.91 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H-27B), 1.0-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(7-23)B), 1.78, 1.93 (2 s, 6H, H-25B, H-26B), 2.3 (m, 2H, H-2A), 2.4 (m, 1H, H-6B), 3.54 (t, 1H, ³J_{4'-3'} = ³J_{4'-5'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.6-3.8 (m, 3H, H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.8-4.5 (m, 5H, H-2', H-3', H-5, H-5', H-6_{éq}'), 4.47 (dd, 1H, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, ³J_{6éq-6ax} = 10 Hz, H-6_{éq}'), 5.08 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.27 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, ³J_{5B-6B} = 10 Hz, H-5B), 5.45 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.47, 5.49 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.61 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.05 (s, 1H, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

98 : 2-O-Hexadécanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(S)-2,4,6-triméthyltétracos-2,4-diénoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **97** (4 mg, 3.61 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (2.8 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **98**.

C₅₅ H₉₉ O₁₆ S Na ; M = 1071.4197 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +97$ (c = 0.35, MeOH/DCM 1/4)

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C) :

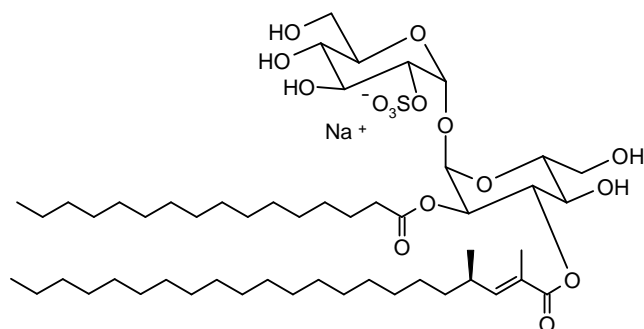
δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-24B), 0.99 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 1.1-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(7-23)B), 1.85, 2.0 (2 d, 6H, ⁴J = 1 Hz, H-25, H-26), 2.28, 2.31 (2 td, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, ²J = 15 Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-6B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-3'} = ³J_{4'-5'} = 9 Hz, H-4'), 3.62 (t, 1H, ³J₄₋₃ = ³J₄₋₅ = 10 Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.24 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2'), 4.25 (m, 1H, H-5), 5.0 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.29 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.4 (bd, 1H, ³J_{5B-6B} = 10 Hz, H-5B), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1'), 5.51 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 7.13 (b, 1H, H-3B).

RMN ¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 13.1 (C-16A, C-24B), 19.8 (C-27B), 22.0 (C-15A, C-23B), 24.3 (C-3A), 27.0, 28-30, 31.3 (C-14A, C-22B), 32.3, 33.4 (C-2A), 36.8 (C-6B), 60.6 (C-6), 60.9 (C-6'), 69.0 (C-4), 69.6 (C-4'), 70.3 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 72.0 (C-5'), 72.5 (C-3), 76.4 (C-2'), 91.7 (C-1), 92.5 (C-1'), 123.7, 130.0 (C-2B, C-4B), 143.2, 143.9 (C-3B, C-5B), 168.6 (C-1B), 173.0 (C-1A).

MALDI-Tof (mode négatif) :

Calc. : m/z = 1047.67 Exp. : m/z = 1047.49

**102**

* * * * *

99 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-3-O-[(R)-2,4-diméthyl-docos-2-énoyl]-2-O-hexadécanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **3** (120 mg, 120 μ mol) est acylé par l'acide **31** (88 mg, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 3) pour donner le composé diacylé **99** (23 mg, huile incolore, 14 %).

C₇₈ H₁₃₀ O₁₄ Si₂ ; M = 1348.0528 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-22B), 0.99 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24B), 1-1.6 (m, 88H, H-(3-15)A, H-(5-21)B, H-*i*Pr), 1.84 (d, 3H, ⁴J_{23B-3B} = 1.5 Hz, H-23B), 2.3 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7 Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.5-3.8 (m, 3H, H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.82 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, H-5'), 3.91 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.2 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.2-4.4 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}), 5.09 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.35 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.73 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.55 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-23B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

100 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-3-O-[(R)-2,4-diméthyl-docos-2-énoyl]-2-O-hexadécanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **99** (23 mg, 17 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **100** (16 mg, solide blanc, 85 %).

C₆₆ H₁₀₄ O₁₃ ; M = 1105.5440 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-22B), 0.98 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24B), 1-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(5-21)B), 1.81 (d, 3H, ⁴J_{23B-3B} = 1.5 Hz, H-23B), 2.34 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.46 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.7 (t, 1H, ²J_{6ax'-6éq'} = ³J_{6ax'-5'} = 10 Hz, H-6_{ax'}), 3.75 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 3.5-3.8 (m, 2H, H-4, H-6_{ax}), 3.87 (td, 1H, ³J_{5'-6ax'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, ³J_{5'-6éq'} = 5 Hz, H-5'), 4.09 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.12 (dd, 1H, ²J_{6éq'-6ax'} = 10 Hz, ³J_{6éq'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq'}), 4.21 (td, 1H, ³J_{5'-6éq'} = 5, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, H-6_{éq}), 5.14 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.18 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.54 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-23B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

101 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-3-O-[(R)-2,4-diméthyl-docos-2-ènol]-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **100** (16 mg, 14.5 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **101** (7 mg, solide blanc, 43 %).

C₆₆ H₁₀₃ O₁₆ S Na ; M = 1207.5892 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-16A, H-22B), 1.0 (d, 3H, ³J_{24B-4B} = 6.5 Hz, H-24B), 1-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(5-21)B), 1.83 (d, 3H, ⁴J_{23B-3B} = 1.5 Hz, H-23B), 2.35 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.48 (m, 1H, H-4B), 3.6 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9 Hz, H-4'), 3.6-4 (m, 4H, H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 4.12 (dd, 1H, ²J_{6_{eq}'-6_{ax}'} = 10 Hz, ³J_{6_{eq}'-5'} = 4 Hz, H-6_{eq}'), 4.17 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 10 Hz, H-3'), 4.36 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 10 Hz, H-2'), 4.42 (td, 1H, ³J_{5-6_{eq}} = 5, ³J_{5-6_{ax}} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.54 (dd, 1H, ²J_{6_{eq}-6_{ax}} = 10 Hz, ³J_{6_{eq}-5} = 5 Hz, H-6_{eq}), 5.15 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.32 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.5 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.54, 5.55 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.65 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.56 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-23B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.2-7.6 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

102 : 3-O-[(R)-2,4-Diméthyl-docos-2-ènol]-2-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **101** (7 mg, 6.21 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (5 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **102**.

C₅₂ H₉₅ O₁₆ S Na ; M = 1031.3717 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +68$ (c = 0.45, MeOH/CHCl₃ 1/1)

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

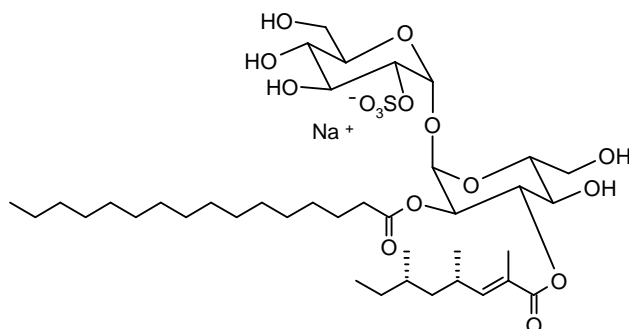
δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 6.5 Hz, H-16A, H-22B), 1.0 (d, 3H, ³J = 7 Hz, H-24B), 1.1-1.6 (m, 60H, H-(3-15)A, H-(5-21)B), 1.84 (d, 3H, ⁴J_{23B-3B} = 1.5 Hz, H-23B), 2.27 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-4B), 3.50 (t, 1H, ³J_{4'-3'} = ³J_{4'-5'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.61 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 9.75 Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.96 (t, 1H, ³J_{3'-2'} = ³J_{3'-4'} = 9.5 Hz, H-3'), 3.97 (dd, 1H, ²J = 12.5 Hz, ³J₆₋₅ = 2.5 Hz, H-6), 4.24 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 3.5 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.26 (m, 1H, H-5), 5.0 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.28 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1'), 5.50 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.57 (dq, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-23B} = 1.5 Hz, H-3B).

RMN ¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 11.5 (C-23B), 13.1 (C-16A, C-24B), 19.0 (C-24B), 22.0 (C-15A, C-21B), 24.3 (C-3A), 26.9, 28-30, 31.3 (C-14A, C-20B), 32.8, 33.4 (C-2A), 36.2 (C-4B), 60.6 (C-6), 60.9 (C-6'), 68.9 (C-4), 69.6 (C-4'), 70.2 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 71.9 (C-5'), 72.3 (C-3), 76.3 (C-2'), 91.7 (C-1), 92.5 (C-1'), 125.0 (C-2B), 148.8 (C-3B), 167.7 (C-1B), 172.7 (C-1A).

MALDI-Tof (mode négatif)

Calc. : m/z = 1007.63 Exp. : m/z = 1007.49

**106**

* * * * *

103 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-ènol]-2',3'-O-(tétraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

L'acide **55** (53 mg, 0.29 mmol) est activé par le chlorure d'oxalyle selon le Protocole 11.

Le chlorure d'acyle ainsi obtenu est mis à réagir avec le composé **3** (576 mg, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 5) pour donner le composé diacylé **103** (107 mg, huile incolore, 32 %).

C₆₅ H₁₀₄ O₁₄ Si₂ ; M = 1165.6839 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +47$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

$\delta = 0.78$ (d, 3H, $^3J_{11B-6B} = 6.5$ Hz, H-11B), 0.79 (t, 3H, $^3J_{8B-7B} = 6.5$ Hz, H-8B), 0.88 (t, 3H, $^3J_{8A-7A} = 6.5$ Hz, H-8), 0.94 (d, 3H, $^3J_{10B-4B} = 6.5$ Hz, H-10B), 1.0-1.6 (m, 59H, H-(3-16)A, H-(5-7)B, H-*i*Pr), 1.80 (d, 3H, $^4J_{9B-3B} = 1.5$ Hz, H-9B), 2.3 (t, 2H, $^3J_{2A-3A} = 8$ Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.68 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.7-3.9 (m, 3H, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.91 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9$ Hz, H-2'), 4.12 (dd, 1H, $^3J_{6\acute{e}q'-5'} = 4.5$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q'-6ax'} = 10$ Hz, H-6_{éq}'), 4.2 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9$ Hz, H-3'), 4.23 (dd, 1H, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, H-6_{éq}), 4.34 (td, 1H, $^3J_{5-6\acute{e}q} = 5$ Hz, $^3J_{5-6ax} = ^3J_{5-4} = 10$ Hz, H-5), 5.08 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.35 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.49, 5.52 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.48 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-23B} = 1.5$ Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11-14 (CH-*i*Pr, C-16A, C-8B, C-9B), 17-17.5 (CH₃-*i*Pr), 19.1 (C-11B), 20.4 (C-10B), 22.7 (C-15A), 24.8 (C-3A), 29-30, 31.9 (C-14)A), 30.9 (C-4B), 32.2 (C-6B), 34.0 (C-2A), 44.0 (C-5B), 62.7 (C-5, C-5'), 68.8, 69.1 (C-3, C-6, C-6'), 71.0 (C-2), 73.5 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.4 (C-4), 81.1 (C-4'), 92.2 (C-1), 94.6 (C-1'), 101.2, 101.7 (C-7, C-7'), 125.5 (C-2B), 126-129 (CH-Ar), 149.2 (C-3B), 167.0 (C-1B), 173.3 (C-1A).

* * * * *

104 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **103** (43 mg, 36.9 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **104** (32 mg, solide blanc, 94 %).

C₅₃ H₇₈ O₁₃ ; M = 923.1786 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 67$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.81 (t, 3H, ³J_{8B-7B} = 7 Hz, H-8B), 0.81 (d, 3H, ³J_{11B-6B} = 6 Hz, H-11B), 0.88 (t, 3H, ³J_{16A-15A} = 6.5 Hz, H-16A), 0.97 (d, 3H, ³J_{10B-4B} = 6.5 Hz, H-10B), 1.0-1.6 (m, 31H, H-(3-15)A, H-(5-7)B), 1.83 (d, 3H, ⁴J_{9B-3B} = 1.5 Hz, H-9B), 2.34 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.6 (m, 2H, H-4B, OH), 3.0 (b, 1H, OH), 3.49 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.67 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.6-3.9 (m, 4H, H-2', H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 4.07 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.1 (m, 1H, H-6_{éq}'), 4.23 (td, 1H, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, ³J_{6éq-5} = 5 Hz ; ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, H-6_{éq}), 5.12 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.15 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 5 Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.48, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.52 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-9B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.2 (C-8B), 12.5 (C-9B), 14.1 (C-16A), 19.1, 20.4 (C-10B, C-11B), 22.7 (C-15A), 24.8 (C-3A), 29-30, 30.9, 31.9 (C-14A), 32.2, 34.0 (C-2A), 43.9 (C-5B), 63.2, 63.3 (C-5, C-5'), 68.6, 68.7, 69.0 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.2 (C-3'), 72.2 (C-2'), 79.3 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.6 (C-1), 95.0 (C-1'), 101.4, 102.0 (C-7, C-7'), 125.4 (C-2B), 126-129 (CH-Ar), 136.9, 137.0 (C-Ar), 149.5 (C-3B), 167.2 (C-1B), 173.0 (C-1A).

* * * * *

105 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-hexadécanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-énoyl]-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **104** (23 mg, 24.9 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **105** (16 mg, solide blanc, 63 %).

C₅₃ H₇₇ O₁₆ S Na ; M = 1025.2237 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 67$ ($c = 1.0$, MeOH/DCM 1/4)

RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.75 (t, 3H, ³J_{8B-7B} = 7 Hz, H-8B), 0.77 (d, 3H, ³J_{11B-6B} = 6 Hz, H-11B), 0.82 (t, 3H, ³J_{16A-15A} = 6.5 Hz, H-16A), 0.92 (d, 3H, ³J_{10B-4B} = 6.5 Hz, H-10B), 1.0-1.6 (m, 31H, H-(3-15)A, H-(5-7)B), 1.78 (s, 3H, H-9B), 2.29 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.55 (m, 1H, H-4B), 3.5-3.8 (m, 4H, H-4, H-4', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.8-4.4 (m, 5H, H-2', H-3', H-5, H-5', H-6_{éq}'), 4.46 (dd, 1H, ³J_{6éq-5} = 5 Hz ; ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, H-6_{éq}), 5.07 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.26 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.44 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.45, 5.48 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.57 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.52 (d, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, H-3B), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 11.2 (C-8B), 12.6 (C-9B), 14.1 (C-16A), 19.2 (C-11B), 20.4 (C-10B), 22.8 (C-15A), 25.0 (C-3A), 29-30, 31.1 (C-14A), 32.0, 32.4 (C-4B), 34.2 (C-2A), 44.1 (C-5B), 63.1, 63.4 (C-5, C-5'), 68.7, 69.7 (C-3', C-6, C-6'), 71.1 (C-2), 79.3 (C-4), 81.1 (C-4'), 93.6 (C-1), 94.7 (C-1'), 101.6, 102.2 (C-7, C-7'), 125.5 (C-2B), 126-129 (CH-Ar), 137.2, 137.3 (C-Ar), 150.0 (C-3B), 167.8 (C-1B), 173.3 (C-1A).

* * * * *

106 : 2-O-Hexadécanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-énoyl]-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **105** (16 mg, 15.6 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (10 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **106**.

$C_{39}H_{69}O_{16}SNaM = 849.0103$ g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +107$ ($c = 1.0$, MeOH/DCM 1/4)

RMN 1H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C) :

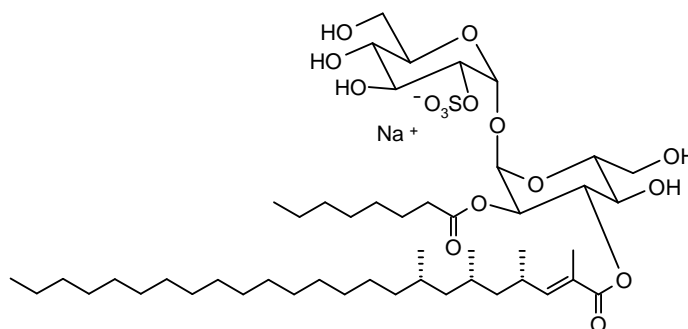
δ (ppm) = 0.85 (d, 3H, $^3J_{11B-6B} = 6$ Hz, H-11B), 0.87 (t, 3H, $^3J_{8B-7B} = 7$ Hz, H-8B), 0.89 (t, 3H, $^3J_{8A-7A} = 7$ Hz, H-16A), 0.99 (d, 3H, $^3J_{10B-4B} = 6.5$ Hz, H-10B), 1.1-1.6 (m, 31H, H-(3-15)A, H-(5-7)B), 1.86 (d, 3H, $^4J_{9B-3B} = 1$ Hz, H-9B), 2.26, 2.29 (2 td, 2H, $^3J_{2A-3A} = 7.5$ Hz, $^2J = 15$ Hz, H-2A), 2.65 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, $^3J_{4'-3'} = ^3J_{4'-5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.61 (t, 1H, $^3J_{4-3} = ^3J_{4-5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (t, 1H, $^3J_{3'-2'} = ^3J_{3'-4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.97 (dd, 1H, $^2J = 12.5$ Hz, $^3J_{6-5} = 3$ Hz, H-6), 4.24 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 3.5$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9.5$ Hz, H-2'), 4.25 (m, 1H, H-5), 5.0 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 3.5$ Hz, $^3J_{2-3} = 9.5$ Hz, H-2), 5.28 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 3.5$ Hz, H-1'), 5.51 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 9.5$ Hz, H-3), 6.55 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-9B} = 1$ Hz, H-3B).

RMN ^{13}C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 10.3 (C-8B), 11.6 (C-9B), 13.1 (C-16A), 18.2 (C-11B), 19.5 (C-10B), 22.0 (C-15A), 24.3 (C-3A), 26.9, 28-30, 31.3 (C-14A), 31.7 (C-4B), 33.4 (C-2A), 43.4 (C-5B), 60.6 (C-6), 60.9 (C-6'), 68.9 (C-4), 69.6 (C-4'), 70.2 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 71.9 (C-5'), 72.4 (C-3), 76.3 (C-2'), 91.7 (C-1), 92.5 (C-1'), 125.0 (C-2B), 149.1 (C-3B), 167.8 (C-1B), 172.8 (C-1A).

MALDI-Tof (mode négatif) :

Calc. : $m/z = 825.43$ Exp. : $m/z = 825.33$

**112**

* * * * *

107 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-octanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **1** (3 g, 5.79 mmol) est acylé par du chlorure d'octanoyle selon le protocole général de monoacylation du tréhalose (Protocole 1). Le produit **107** est obtenu pur avec 39 % de rendement (1.45 g solide blanc).

$C_{34}H_{44}O_{12}$; M = 644.7162 g/mol

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ = 0.84 (t, 3H, $^3J_{8-7}$ = 7 Hz, H-8A), 1.1-1.6 (m, 10H, H-(3-7)A), 2.4, 2.48 (2 quint, 2H, $^3J_{2A-3A}$ = 8 Hz, 2J = 16 Hz, H-2A), 3.44 (t, 1H, $^3J_{4'-5'}$ = $^3J_{4'-3'}$ = 10 Hz, H-4'), 3.59 (t, 1H, $^3J_{4-5}$ = $^3J_{4-3}$ = 10 Hz, H-4), 3.97 (t, 1H, $^3J_{3'-4'}$ = $^3J_{3'-2'}$ = 10 Hz, H-3'), 4.24 (t, 1H, $^3J_{3-4}$ = $^3J_{3-2}$ = 10 Hz, H-3), 4.31 (dd, 1H, $^2J_{6_{\text{éq}},6_{\text{ax}}}$ = 10 Hz, $^3J_{6_{\text{éq}},5}$ = 5 Hz, H-6_{éq}), 3.6-4.4 (m, 6H, H-2', H-5, H-5', H-6_{ax}', H-6_{ax}}'), 4.89 (dd, 1H, $^3J_{2-1}$ = 4 Hz, $^3J_{2-3}$ = 10 Hz, H-2), 5.07 (d, 1H, $^3J_{1'-2'}$ = 4 Hz, H-1'), 5.35 (d, 1H, $^3J_{1-2}$ = 4 Hz, H-1), 5.46, 5.55 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

108 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-octanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **107** (1.37 g, 1.54 mmol) est silylé par TIPS selon le Protocole 2 décrit précédemment. Le produit protégé **108** est obtenu avec 59 % de rendement (807 mg, huile incolore).

$C_{46}H_{70}O_{13}Si_2$ M = 887.2250 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +36$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ = 0.83 (t, 3H, $^3J_{8-7}$ = 6.5 Hz, H-8A), 0.9-1.6 (m, 38H, H-(3-7)A, H-*i*Pr), 2.39, 2.44 (2 quint, 2H, $^3J_{2A-3A}$ = 8 Hz, 2J = 16 Hz, H-2A), 2.5 (d, 1H, $^3J_{OH-3}$ = 3 Hz, OH), 3.52 (t, 1H, $^3J_{4'-5'}$ = $^3J_{4'-3'}$ = 9 Hz, H-4'), 3.59 (t, 1H, $^3J_{4-5}$ = $^3J_{4-3}$ = 10 Hz, H-4), 3.7, 3.74 (2 t, 2H, $^2J_{6_{\text{ax}},6_{\text{éq}}}$ = $^3J_{6_{\text{ax}},5}$ = 10 Hz, H-6_{ax}, H-6_{ax}'}), 3.84 (td, 1H, $^3J_{5'-6_{\text{éq}}}$ = 4, $^3J_{5'-6_{\text{ax}}}$ \approx $^3J_{5'-4'}$ = 10 Hz, H-5'), 3.89 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'}$ = 4 Hz, $^3J_{2'-3'}$ = 9 Hz, H-2'), 4.15 (t, 1H, $^3J_{3'-4'}$ = $^3J_{3'-2'}$ = 9 Hz, H-3'), 4.1-4.3 (m, 4H, H-3, H-5, H-6_{éq}}, H-6_{éq}'}), 4.87 (dd, 1H, $^3J_{2-1}$ = 4 Hz, $^3J_{2-3}$ = 10 Hz, H-2), 5.12 (d, 1H, $^3J_{1'-2'}$ = 4 Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, $^3J_{1-2}$ = 4 Hz, H-1), 5.54 (s, 2H, H-7, H-7'), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11-14 (CH-*i*Pr, C-8A, C-8B, C-9B), 17-17.4 (CH₃-*i*Pr), 19.1 (C-11B), 22.5 (C-7A), 24.6 (C-3A), 28.7, 28.9, 31.6 (C-(4-6)A), 34.0 (C-2A), 62.3, 62.8 (C-5, C-5'), 68.6 (C-3), 68.7, 68.8 (C-6, C-6'), 72.9 (C-2), 73.4 (C-3'), 75.1 (C-2'), 81.0 (C-4'), 81.5 (C-4), 91.8 (C-1), 94.4 (C-1'), 101.0, 102.2 (C-7, C-7'), 125-129 (CH-Ar), 137.0, 137.6 (C-Ar), 173.6 (C-1A).

* * * * *

109 : 4,6;4',6'-Di-*O*-benzylidène-2-*O*-octanoyl-2',3'-*O*-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-3-*O*-[(4*S*,6*S*,8*S*)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-ènol]-α,α-D-tréhalose

Le composé **108** (135 mg, 1.5 éq.) est acylé par l'acide **45** (43 mg, 0.10 mmol) selon le protocole d'acylation aux micro-ondes décrit (Protocole 4) pour donner le composé diacylé **109** (34 mg, huile incolore, 26 %).

C₇₄ H₁₂₂ O₁₄ Si₂ ; M = 1291.9453 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ = 0.75 (d, 3H, ³J_{28B-8B} = 6.5 Hz, H-28B), 0.79 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6 Hz, H-27B), 0.83 (t, 3H, ³J_{24B-23B} = 6.5 Hz, H-24B), 0.89 (t, 3H, ³J_{8A-7A} = 6.5 Hz, H-8A), 0.94 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6 Hz, H-26B), 1-1.6 (m, 74H, H-(3-7)A, H-(5-23)B, H-*i*Pr), 1.81 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1 Hz, H-25B), 2.3 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-3'} = ³J_{4'-5'} = 9 Hz, H-4'), 3.6-3.9 (m, 4H, H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.91 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ²J_{6_{éq}'-6_{ax}'} = 10 Hz, ³J_{6_{éq}'-5'} = 4 Hz, H-6_{éq}'), 4.2 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9 Hz, H-3'), 4.2-4.4 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}), 5.08 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.13 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.47, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.48 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-25B} = 1 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11-14 (CH-*i*Pr), 12.6 (C-25B), 14.0 (C-8A), 14.1 (C-24B), 16.9-17.4 (CH₃-*i*Pr), 19.8, 20.4, 20.8 (C-(26-28)B), 22.5 (C-7A), 22.7 (C-23B), 24.8 (C-3A), 27.0, 28-30, 30.8, 31.6, 31.9 (C-22B), 34.0 (C-2A), 37.3 (C-4B), 43.7, 45.2 (C-5B, C-7B), 62.6 (C-5), 62.7 (C-5'), 68-69 (C-3, C-6, C-6'), 71.0 (C-2), 73.4 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.5 (C-4), 81.1 (C-4'), 92.2 (C-1), 94.6 (C-1'), 101.2, 101.7 (C-7, C-7'), 125.5 (C-2B), 125-129 (CH-Ar), 137.1, 137.6 (C-Ar), 149.1 (C-3B), 166.9 (C-1B), 173.3 (C-1A).

* * * * *

110 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-octanoyl-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-ènoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **109** (34 mg, 26.3 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **110** (26 mg, solide blanc, 92 %).

C₆₂ H₉₆ O₁₃ ; M = 1049.4364 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.75 (d, 3H, $^3J_{28B-8B} = 6.5$ Hz, H-28B), 0.8 (d, 3H, $^3J_{27B-6B} = 6.5$ Hz, H-27B), 0.83 (t, 3H, $^3J_{24B-23B} = 7$ Hz, H-24B), 0.88 (t, 3H, $^3J_{8A-7A} = 7$ Hz, H-8A), 0.97 (d, 3H, $^3J_{26B-4B} = 6.5$ Hz, H-26B), 1.0-1.6 (m, 68H, H-(3-7)A, H-(5-23)B), 1.83 (d, 3H, $^4J_{25B-3B} = 1.5$ Hz, H-25B), 2.33 (t, 2H, $^3J_{2A-3A} = 8$ Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.49 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.68 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.6-3.9 (m, 3H, H-2', H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.84 (td, 1H, $^3J_{5'-6\acute{e}q'} = 5$ Hz, $^3J_{5'-6ax'} = ^3J_{5'-4'} = 9.5$ Hz, H-5'), 4.07 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.11 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q'-6ax'} = 10$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q'-5'} = 5$ Hz, H-6_{éq'}), 4.21 (td, 1H, $^3J_{5-6\acute{e}q} = 5$ Hz, $^3J_{5-6ax} = ^3J_{5-4} = 10$ Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, H-6_{éq}), 5.12 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.15 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.48, 5.5 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.51 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-25B} = 1.5$ Hz, H-3B), 7.2-7.8 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 12.6 (C-25B), 14.1 (C-8A, C-24B), 19.8, 20.4, 20.8 (C-(26-28)B), 22.5 (C-15A), 22.7 (C-23B), 24.8 (C-3A), 27.0, 28.0, 29-30, 30.8, 31.6 (C-6A), 31.9 (C-22B), 34.0 (C-2A), 37.3 (C-4B), 43.7, 45.2 (C-5B, C-7B), 63.2 (C-5, C-5'), 68.6 (C-3, C-6, C-6'), 70.7 (C-2), 71.2 (C-3'), 72.2 (C-2'), 79.4 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.6 (C-1), 94.9 (C-1'), 101.5, 102.0 (C-7, C-7'), 125.4 (C-2B), 126-130 (CH-Ar), 137.0 (C-Ar), 149.5 C-3B), 171.0 (C-1B), 173.0 (C-1A).

* * * * *

111 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-octanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-ènoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **110** (26 mg, 24.8 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **111** (11 mg, solide blanc, 40 %).

C₆₂ H₉₅ O₁₆ S Na ; M = 1151.4817 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.61 (d, 3H, $^3J_{28B-8B} = 6.5$ Hz, H-28B), 0.68 (d, 3H, $^3J_{27B-6B} = 6.5$ Hz, H-27B), 0.71, 0.75 (2 t, 6H, $^3J = 7$ Hz, H-8A, H-24B), 0.84 (d, 3H, $^3J_{26B-4B} = 6.5$ Hz, H-26B), 1.1-1.5 (m, 46H, H-(3-7)A, H-(5-23)B), 1.71 (d, 3H, $^4J_{25B-3B} = 1.5$ Hz, H-25B), 2.21 (t, 2H, $^3J_{2A-3A} = 8$ Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-4B), 3.49 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 10$ Hz, H-4'), 3.5-4.4 (m, 7H, H-2', H-4, H-5, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}, H-6_{éq'}), 4.01 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 10$ Hz, H-3'), 4.4 (dd, 1H, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, H-6_{éq}), 5.0 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.37 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 3.5$ Hz, H-1'), 5.35, 5.41 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.51 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.4 (dq, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-25B} = 1$ Hz, H-3B), 7.2-7.8 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

112 : 2-O-Octanoyl-2'-O-sulfate-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **111** (11 mg, 9.55 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (8 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **112**.

$C_{48}H_{87}O_{16}SNaM = 975.2642$ g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +96$ ($c = 0.9$, MeOH/ $CHCl_3$ 1/1)

RMN 1H (500 MHz, MeOD/ $CDCl_3$ 1/1, 25°C)

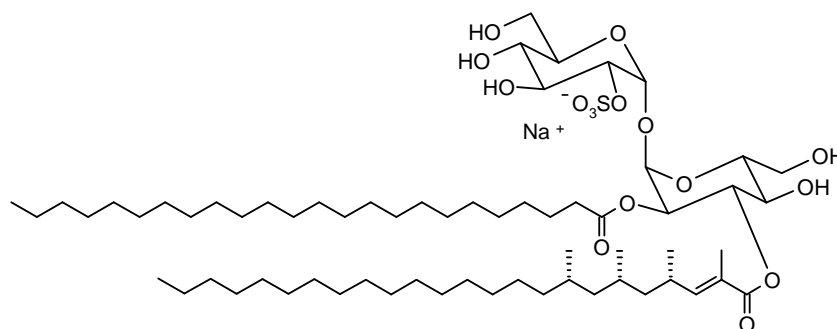
δ (ppm) = 0.84 (d, 3H, $^3J_{28B-8B} = 6.5$ Hz, H-28B), 0.85 (d, 3H, $^3J_{27B-6B} = 6.5$ Hz, H-27B), 0.89 (t, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-8A, H-24B), 0.99 (d, 3H, $^3J_{26B-4B} = 6.5$ Hz, H-26B), 1.0-1.6 (m, 46H, H-(3-7)A, H-(5-23)B), 1.86 (d, 3H, $^4J_{25B-3B} = 1$ Hz, H-25B), 2.26, 2.29 (2 td, 2H, $^2J = 15$ Hz, $^3J_{2A-3A} = 7.5$ Hz, H-2A), 2.65 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.58 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 9.5$ Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.25 (m, 1H, H-5), 4.24 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9.5$ Hz, H-2'), 4.99 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 3.5$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.28 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.49 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 9.5$ Hz, H-3), 5.49 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 3.5$ Hz, H-1'), 6.54 (dq, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-25B} = 1$ Hz, H-3B).

RMN ^{13}C (126 MHz, MeOD/ $CDCl_3$ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 13.1 (C-8A, C-24B), 19.1, 19.5, 19.9 (C-(26-28)B), 22.0 (C-7A, C23B), 24.2 (C-3A), 26.3, 28-30, 31.0 (C-6A), 31.3 (C-22B), 33.3 (C-2A), 36.6 (C-4B), 43.3, 44.7 (C-5B, C-7B), 60.7 (C-6), 60.9 (C-6'), 69.0 (C-4), 69.6 (C-4'), 70.2 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.6 (C-5), 71.9 (C-5'), 72.4 (C-3), 76.4 (C-2'), 91.6 (C-1), 92.4 (C-1'), 125.1 (C-2B), 149.0 (C-3B), 167.7 (C-1B), 172.8 (C-1A).

MALDI-Tof (mode négatif)

Calc. : $m/z = 951.57$ Exp. : $m/z = 951.43$

**118**

* * * * *

113 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-tétracosanoyle- α,α -D-tréhalose

L'acide tétracosanoïque (532 mg, 1.44 mmol) est activé par le chlorure d'oxalyle selon le Protocole 11. Le composé **1** (747 mg, 1 éq.) est acylé par le chlorure de tétracosanoyle ainsi obtenu selon le protocole général de monoacylation du tréhalose décrit (Protocole 1). Le produit **113** est obtenu pur avec 15 % de rendement (186 mg, solide blanc).

$C_{50}H_{76}O_{12}$; M = 869.1462 g/mol

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J_{24A-23A} = 6.5$ Hz, H-24A), 1.1-1.4 (m, 40H, H-(4-23)A), 1.65 (m, 2H, H-3A), 2.41, 2.49 (2 td, 2H, $^3J_{2A-3A} = 7.5$ Hz, $^2J = 15$ Hz, H-2A), 3.47 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 10$ Hz, H-4'), 3.56 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.7-4.2 (m, 7H, H-2', H-3, H-5, H-5', H-6_{éq}', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.99 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.31 (dd, 1H, $^2J_{6éq-6ax} = 10$ Hz, $^3J_{6éq-5} = 5$ Hz, H-6_{éq}), 4.9 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.1 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.48, 5.55 (2s, 2H, H-7, H-7'), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

114 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-2-O-tétracosanoyle- α,α -D-tréhalose

Le composé **113** (182 mg, 0.21 mmol) est silylé par $TIPSCl_2$ selon le protocole décrit précédemment (Protocole 2). Le produit protégé **114** est obtenu avec 43 % de rendement (100 mg, huile incolore).

$C_{62}H_{102}O_{13}Si_2$; M = 1111.6551 g/mol

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, $^3J = 6.5$ Hz, H-24A), 1-1.6 (m, 78H, H-(3-23)A, H-*i*Pr), 2.38, 2.45 (2 quint, 2H, $^3J_{2A-3A} = 8$ Hz, $^2J = 16$ Hz, H-2A), 3.52 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.59 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.7, 3.74 (2 t, 2H, $^2J_{6ax-6éq} = ^3J_{6ax-5} = 10$ Hz, H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.8 (td, 1H, $^3J_{5'-6éq'} = 4$, $^3J_{5'-6ax'} \approx ^3J_{5'-4'} = 10$ Hz, H-5'), 3.89 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9$ Hz, H-2'), 4.14 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9$ Hz, H-3'), 4.24 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 4.1-4.3 (m, 3H, H-5, H-6_{éq}, H-6_{éq}'), 4.87 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.12 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.37 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.53 (s, 2H, H-7, H-7'), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

115 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)-2-O-tétracosanoyl-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **114** (103 mg, 1.4 μmol) est acylé par l'acide **45** (29 mg, 69 μmol) selon le protocole d'acylation aux micro-ondes décrit (Protocole 4) pour donner le composé diacylé **115** (33 mg, huile incolore, 32 %).

$\text{C}_{90} \text{H}_{154} \text{O}_{14} \text{Si}_2$; M = 1516.3754 g/mol

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 0.73 (d, 3H, $^3J_{28\text{B}-8\text{B}} = 6.5$ Hz, H-28B), 0.77 (d, 3H, $^3J_{27\text{B}-6\text{B}} = 6$ Hz, H-27B), 0.87 (t, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-24A, H-24B), 0.93 (d, 3H, $^3J_{26\text{B}-4\text{B}} = 6.5$ Hz, H-26B), 1-1.6 (m, 106H, H-(3-23)A, H-(5-23)B, H-*i*Pr), 1.8 (d, 3H, $^4J_{25\text{B}-3\text{B}} = 1.5$ Hz, H-25B), 2.28 (t, 2H, $^3J_{2\text{A}-3\text{A}} = 7.5$ Hz, H-2A), 2.55 (m, 1H, H-4B), 3.5 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.6-3.9 (m, 4H, H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'}), 3.9 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 8.5$ Hz, H-2'), 4.05-4.4 (m, 4H, H-3', H-5, H-6_{éq}, H-6_{éq}'}), 5.06 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.12 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.34 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.45 (s, 2H, H-7, H-7'), 5.70 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.48 (dq, 1H, $^4J_{3\text{B}-25\text{B}} = 1.5$ Hz, $^3J_{3\text{B}-4\text{B}} = 10$ Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

116 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-tétracosanoyl-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **115** (7 mg, 5.53 μmol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **116** (4 mg, solide blanc, 66 %).

$\text{C}_{78} \text{H}_{128} \text{O}_{13}$ M = 1273.8665 g/mol

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +51$ ($c = 0.10$, CHCl_3)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 0.75 (d, 3H, $^3J_{28\text{B}-8\text{B}} = 6.5$ Hz, H-28B), 0.81 (d, 3H, $^3J_{27\text{B}-6\text{B}} = 6$ Hz, H-27B), 0.88 (t, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-24A, H-24B), 0.97 (d, 3H, $^3J_{26\text{B}-4\text{B}} = 6.5$ Hz, H-26B), 1.1-1.7 (m, 78H, H-(3-23)A, H-(5-23)B), 1.78 (b, 3H, H-25B), 2.34 (t, 2H, $^3J_{2\text{A}-3\text{A}} = 8$ Hz, H-2A), 2.6 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.70 (t, 1H, $^2J_{6\text{ax}'-6\text{éq}'} \approx ^3J_{6\text{ax}'-5'} = 10$ Hz, H-6_{ax}'}), 3.75 (m, 1H, H-2'), 3.73 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.72 (t, 1H, $^2J_{6\text{ax}-6\text{éq}} = ^3J_{6\text{ax}-5} = 10$ Hz, H-6_{ax}}), 3.86 (td, 1H, $^3J_{5'-6\text{éq}'} = 4.5$ Hz, $^3J_{5'-6\text{ax}'} = ^3J_{5'-4'} = 9.5$ Hz, H-5'), 4.09 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.13 (dd, 1H, $^2J_{6\text{éq}'-6\text{ax}'} = 10$ Hz, $^3J_{6\text{éq}'-5'} = 4.5$ Hz, H-6_{éq}'}), 4.21 (td, 1H, $^3J_{5-6\text{éq}} = 4.5$ Hz, $^3J_{5-6\text{ax}} = ^3J_{5-4} = 10$ Hz, H-5), 4.33 (dd, 1H, $^2J_{6\text{éq}-6\text{ax}} = 10$ Hz, $^3J_{6\text{éq}-5} = 4.5$ Hz, H-6_{éq}}), 5.12 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.18 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.38 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.50 (s, 2H, H-7, H-7'), 5.71 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.51 (bd, 1H, $^3J_{3\text{B}-4\text{B}} = 10$ Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) = 12.6, 14.1 (C-24A, C-24B), 19.8, 20.4, 20.8, 22.7 (C-23A, C-23B), 24.9 (C-3A), 27.0, 28.0, 29-30, 30.9, 31.9 (C-22A, C-22B), 34.0 (C-2A), 37.3 (C-4B), 43.7, 45.2 (C-5B, C-7B), 63.3 (C-5, C-5'), 68.7, 68.9 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.3 (C-3'), 72.3 (C-2'), 79.4 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.7 (C-1), 95.0 (C-1'), 101.5, 102.0 (C-7, C-7'), 125.4 (C-2B), 126-130 (CH-Ar), 136.9 (C-Ar), 149.4 (C-3B), 167.0 (C-1B), 173.0 (C-1A).

* * * * *

117 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2'-O-sulfate-2-O-tétracosanoyl-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-èneoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **116** (11 mg, 8.64 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **117** (1 mg, solide blanc, 8 %).

C₇₈ H₁₂₇ O₁₆ S Na ; M = 1375.9118 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.6 (d, 3H, ³J_{28B-8B} = 6.5 Hz, H-28B), 0.67 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.74 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-24A, H-24B), 0.83 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 0.9-1.5 (m, 78H, H-(3-23)A, H-(5-23)B), 1.7 (d, 3H, ⁴J_{25B-3B} = 1.5 Hz, H-25B), 2.2 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-4B), 3.45 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 10 Hz, H-4'), 3.54 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.6 (2 t, 2H, ³J_{6ax-5} = ²J_{6ax-6éq} = 10 Hz, H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.8-4.0 (m, 2H, H-5', H-6_{éq'}), 4.02 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 10 Hz, H-3'), 4.2 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 10 Hz, H-2'), 4.27 (td, 1H, ³J_{5-6éq} = 5 Hz, ³J_{5-6ax} = ³J₅₋₄ = 10 Hz, H-5), 4.4 (dd, 1H, ³J_{6éq-5} = 5 Hz, ²J_{6éq-6ax} = 10 Hz, H-6_{éq}), 4.98 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.19 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.36 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.35, 5.4 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.5 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.4 (dq, 1H, ⁴J_{3B-25B} = 1.5 Hz, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, H-3B), 7.1-7.4 (m, 10H, H-Ar).

* * * * *

118 : 2'-O-Sulfate-2-O-tétracosanoyl-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tétraméthyltétracos-2-èneoyl]- α,α -D-tréhalose

Le composé **117** (2 mg, 1.45 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (0.3 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **118**.

C₆₄ H₁₁₉ O₁₆ S Na ; M = 1199.6943 g/mol

RMN ¹H (600 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

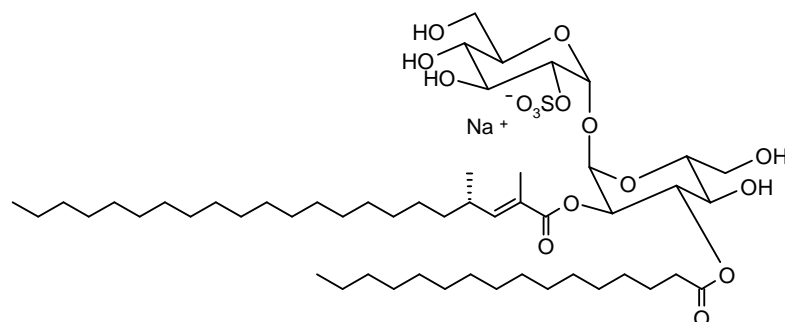
δ (ppm) = 0.84 (d, 3H, ³J_{28B-8B} = 6.5 Hz, H-28B), 0.85 (d, 3H, ³J_{27B-6B} = 6.5 Hz, H-27B), 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-24A, H-24B), 0.99 (d, 3H, ³J_{26B-4B} = 6.5 Hz, H-26B), 1.0-1.6 (m, 78H, H-(3-23)A, H-(5-23)B), 1.86 (s, 3H, H-25B), 2.3 (m, 3H, H-2A, H-4B), 3.50 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.56 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.7 (m, 4H, H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.25 (m, 2H, H-2', H-5), 4.99 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 3.5 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.28 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.50 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.55 (d, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, H-3B).

RMN ¹³C HSQC (151 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 11.4 (C-25B), 13.0 (C-24A, C-24B), 18.8, 19.3, 19.7 (C-(25-27)B), 21.8 (C-23A, C-23B), 24.0 (C-3A), 25.9, 26.3, 28-30, 31.0 (C-22A, C-22B), 33.1, 33.3 (C-2A, C-4B), 43.2, 44.5 (C-5B, C-7B), 60.6 (C-6), 60.7 (C-6'), 68.9 (C-4), 69.5 (C-4'), 70.0 (C-2), 71.0 (C-3'), 71.3 (C-5), 71.7 (C-5'), 72.3 (C-3), 76.3 (C-2'), 91.4 (C-1), 92.2 (C-1').

MALDI-Tof-MS (mode négatif)

Calc. : m/z = 1175.82 Exp. : m/z = 1175.57

**124**

* * * * *

119 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-[(S)-2,4-diméthyldocos-2-énoyl]- α,α -D-tréhalose

L'acide **30** (254 mg, 0.69 mmol) est activé par le chlorure d'oxalyle selon le Protocole 11.

Le composé **1** (360 mg, 1 éq.) est acylé par le chlorure d'acyle ainsi obtenu selon le protocole général de monoacylation du tréhalose (Protocole 1). Le produit **119** est obtenu pur avec 11 % de rendement (70 mg, solide blanc).

C₅₀ H₇₄ O₁₂ ; M = 867.1304 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +87$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.91 (t, 3H, ³J_{22A-21A} = 7 Hz, H-22A), 0.94 (d, 3H, ³J_{24A-4A} = 7 Hz, H-24A), 1.1-1.4 (m, 34H, H-(5-21)A), 1.94 (s, 3H, H-23A), 2.45 (m, 1H, H-4A), 3.39 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.57 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.6-3.85 (m, 4H, H-2', H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.94 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.04 (dd, 1H, ²J_{6_{éq}'-6_{ax}'} = 10 Hz, ³J_{6_{éq}'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq}'), 4.15 (td, 1H, ³J_{5-6_{éq}} = 5, ³J_{5-6_{ax}} = 10 Hz, H-5), 4.3 (m, 2H, H-3, H-6_{éq}), 4.92 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.07 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 3.5 Hz, H-1), 5.42, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 6.75 (d, 1H, ³J_{3A-4A} = 10 Hz, H-3A), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 12.5 (C-23A), 14.1 (C-22A), 19.3 (C-24A), 22.7 (C-21A), 27.4, 29-30, 31.9 (C-20A), 33.3, 36.5 (C-4A), 62.8, 63.1 (C-5, C-5'), 68-69 (C-3, C-6, C-6'), 71.2 (C-3'), 72.0 (C-2'), 73.4 (C-2), 80.7 (C-4'), 81.1 (C-4), 92.8 (C-1), 95.1 (C-1'), 101.7, 101.8 (C-7, C-7'), 124.8 (C-2A), 126-130 (CH-Ar), 136.9, 137.1 (C-Ar), 151.5 (C-3A), 167.9 (C-1A).

* * * * *

120 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-[(S)-2,4-diméthyldocos-2-énoyl]-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **119** (126 mg, 0.14 mmol) est silylé par TIPS selon le Protocole 2. Le produit protégé **120** est obtenu avec 68 % de rendement (110 mg, huile incolore).

$C_{62}H_{100}O_{13}Si_2$ M = 1109.6392 g/mol

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 0.91 (t, 3H, $^3J_{22A-21A} = 7$ Hz, H-22A), 0.94 (d, 3H, $^3J_{24A-4A} = 7$ Hz, H-24A), 1-1.5 (m, 62H, H-(5-21)A, H-*iPr*), 1.87 (s, 3H, H-23A), 2.3 (m, 1H, H-4A), 3.5 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9$ Hz, H-4'), 3.64 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 9.5$ Hz, H-4), 3.6-3.85 (m, 3H, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax'}), 3.91 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 8.5$ Hz, H-2'), 4.0-4.4 (m, 5H, H-3, H-3', H-5, H-6_{éq}, H-6_{éq'}), 4.95 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 3.5$ Hz, $^3J_{2-3} = 9.5$ Hz, H-2), 5.15 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.45 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.51, 5.57 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 6.71 (d, 1H, $^3J_{3A-4A} = 10$ Hz, H-3A), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C)

δ (ppm) = 11-14 (CH-*iPr*, C-23A), 14.1 (C-22A), 17-18 (CH₃-*iPr*), 19.1 (C-24A), 22.7 (C-21A), 27.2, 29-30, 31.9 (C-20), 33.1, 36.3 (C-4A), 62.3, 62.8 (C-5, C-5'), 68.6, 68.8 (C-3, C-6, C-6'), 73.3 (C-2), 73.4 (C-3'), 75.1 (C-2'), 81.0 (C-4'), 81.4 (C-4), 91.7 (C-1), 94.2 (C-1'), 100.9, 102.3 (C-7, C-7'), 124.8 (C-2A), 125-130 (CH-Ar), 137.1, 137.8 (C-Ar), 151.5 (C-3A), 168.0 (C-1A).

* * * * *

121 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-[(S)-2,4-diméthyldocos-2-énoyl]-3-O-hexadécanoyl-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **120** (95 mg, 856 μ mol) est acylé par le chlorure de palmitoyle (52 μ L, 2 éq.) selon le protocole d'acylation décrit (Protocole 5) pour donner le composé diacylé **121** (62 mg, huile incolore, 54 %).

$C_{78}H_{130}O_{14}Si_2$; M = 1348.0528 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +44$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, 25°C) :

δ (ppm) = 0.85 (d, 3H, $^3J_{24A-4A} = 6.5$ Hz, H-24A), 0.91 (t, 6H, $^3J = 6.5$ Hz, H-22A, H-16B), 1.0-1.6 (m, 88H, H-(5-21)A, H-(3-15)B, H-*iPr*), 1.81 (d, 3H, $^4J_{23A-3A} = 1.5$ Hz, H-23A), 2.3 (m, 3H, H-4A, H-2B), 3.49 (t, 1H, $^3J_{4'-3'} = ^3J_{4'-5'} = 9$ Hz, H-4'), 3.67 (t, 1H, $^3J_{4-3} = ^3J_{4-5} = 10$ Hz, H-4), 3.70 (t, 1H, $^2J_{6ax'-6éq'} = ^3J_{6ax'-5'} = 9$ Hz, H-6_{ax'}), 3.78 (t, 1H, $^2J_{6ax-6éq} = ^3J_{6ax-5} = 10$ Hz, H-6_{ax}), 3.72 (td, 1H, $^3J_{5'-6éq'} = 4$ Hz, $^3J_{5'-4'} = ^3J_{5'-6ax'} = 9$ Hz, H-5'), 3.92 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9$ Hz, H-2'), 4.08 (dd, 1H, $^3J_{6éq'-5'} = 4$ Hz, $^2J_{6éq'-6ax'} = 9$ Hz, H-6_{éq'}), 4.22 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9$ Hz, H-3'), 4.28 (td, 1H, $^3J_{5-6éq} = 5.5$ Hz, $^3J_{5-6ax} = 10$ Hz, H-5), 4.37 (dd, 1H, $^3J_{6éq-5} = 5.5$ Hz, $^2J_{6éq-6ax} = 10$ Hz, H-6_{éq}), 5.0 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 3.5$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.15 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.48 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.5, 5.52 (2s, 2H, H-7, H-7'), 5.77 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.67 (dq, $^3J_{3A-4A} = 10$ Hz, $^4J_{3A-23A} = 1.5$ Hz, H-3A), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, 25°C) :

δ (ppm) = 11-13 (CH-*iPr*), 12.3 (C-23A), 14.1 (C-22A, C-16B), 17-17.5 (CH₃-*iPr*), 19.0 (C-24A), 22.7 (C-21A, C-15B), 25.1 (C-3B), 27.2, 28-29, 31.9 (C-20A, C-14B), 33.1, 34.3 (C-2B), 36.2 (C-4A), 62.7, 62.8 (C-5, C-5'), 68.5, 68.8 (C-3, C-6, C-6'), 71.6 (C-2), 73.4 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.2 (C-4'), 81.0 (C-4), 92.0 (C-1), 94.5 (C-1'), 101.0, 101.8 (C-7, C-7'), 124.6 (C-2A), 125-129 (CH-Ar), 137.1, 137.8 (C-Ar), 151.6 (C-3A), 167.7 (C-1A), 172.3 (C-1B).

* * * * *

122 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-[(S)-2,4-diméthyldocos-2-ènol]-3-O-hexadécanoyl- α,α -D-tréhalose

Le composé **121** (53 mg, 39.3 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **122** (42 mg, solide blanc, 97 %).

C₆₆ H₁₀₄ O₁₃ ; M = 1105.5440 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 63$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 0.91 (t, 6H, $^3J = 7$ Hz, H-22A, H-16B), 0.92 (d, 3H, $^3J_{24A-4A} = 7$ Hz, H-24A), 1.0-1.7 (m, 60H, H-(5-21)A, H-(3-15)B), 1.88 (s, 3H, H-23B), 2.3 (m, 3H, H-4A, H-2B), 3.46 (t, 1H, $^3J_{4'-3} = ^3J_{4'-5} = 9$ Hz, H-4'), 3.6-3.85 (m, 5H, H-2', H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 4.03 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9$ Hz, H-3'), 4.05 (dd, 1H, $^3J_{6\acute{e}q'-5'} = 4$ Hz, $^2J_{6\acute{e}q'-6ax'} = 9$ Hz, H-6_{éq}'), 4.23 (td, 1H, $^3J_{5-6\acute{e}q} = 5$ Hz, $^3J_{5-6ax} = 10$ Hz, H-5), 4.36 (dd, 1H, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 10$ Hz, H-6_{éq}'), 5.0 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.16 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.50 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.45, 5.55 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.76 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.71 (d, $^3J_{3A-4A} = 10$ Hz, H-3A), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 12.3 (C-23A), 14.1 (C-22A, C-16B), 19.2 (C-24A), 22.7 (C-21A, C-15B), 25.1 (C-3B), 27.3, 29-30, 31.9 (C-20A, C-14B), 33.3, 34.3 (C-2B), 36.3 (C-4A), 63.1 (C-5, C-5'), 68.4, 68.7 (C-3, C-6, C-6'), 71.3 (C-2), 71.5 (C-3'), 72.2 (C-2'), 79.0 (C-4'), 80.7 (C-4), 92.6 (C-1), 95.0 (C-1'), 101.5, 101.8 (C-7, C-7'), 124.6 (C-2A), 126-129 (CH-Ar), 136.9, 137.1 (C-Ar), 151.7 (C-3A), 167.6 (C-1A), 172.7 (C-1B).

* * * * *

123 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-[(S)-2,4-diméthyldocos-2-ènol]-3-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **122** (13 mg, 11.8 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **123** (7 mg, solide blanc, 49 %).

C₆₆ H₁₀₃ O₁₆ S Na ; M = 1207.5892 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = + 61$ ($c = 0.87$, MeOH/DCM 1/4)

RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 0.82 (t, 6H, $^3J = 7$ Hz, H-22A, H-16B), 0.86 (d, $^3J_{24A-4A} = 7$ Hz, H-24A), 1.0-1.6 (m, 60H, H-(5-21)A, H-(3-15)B), 1.81 (s, 3H, H-23A), 2.25 (t, 2H, $^3J_{2B-3B} = 7$ Hz, H-2B), 2.37 (m, 1H, H-4A), 3.50 (t, 1H, $^3J_{4'-5'} = ^3J_{4'-3'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.55-3.85 (m, 4H, H-4, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.95 (dd, 1H, $^3J_{6\acute{e}q'-5'} = 4.5$ Hz, $^3J_{6\acute{e}q'-6ax'} = 9.5$ Hz, H-6_{éq}'), 4.06 (t, 1H, $^3J_{3'-4'} = ^3J_{3'-2'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.29 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 4$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9.5$ Hz, H-2'), 4.36 (td, 1H, $^3J_{5-6\acute{e}q} = 5$ Hz, $^3J_{5-6ax} = 9.5$ Hz, H-5), 4.49 (dd, 1H, $^3J_{6\acute{e}q-5} = 5$ Hz, $^2J_{6\acute{e}q-6ax} = 9.5$ Hz, H-6_{éq}'), 4.92 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 4$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.38 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 4$ Hz, H-1), 5.4 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz, H-1'), 5.44, 5.46 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.62 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.63 (d, 1H, $^3J_{3A-4A} = 10$ Hz, H-3A), 7.2-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 11.9 (C-23A), 13.7 (C-22A, C-16B), 18.9 (C-24A), 22.4 (C-21A, C-15B), 24.9 (C-3B), 27.0, 29-30, 31.6 (C-20A, C-14B), 33.0, 34.1 (C-2B), 36.1 (C-4A), 62.6 (C-5), 62.8 (C-5'), 68.2, 68.4 (C-3', C-6, C-6'), 68.6 (C-3'), 71.5 (C-2), 76.5 (C-2'), 78.7 (C-4), 80.7 (C-4'), 93.5 (C-1), 94.6 (C-1'), 101.3, 101.7 (C-7, C-7'), 124.3 (C-2A), 126-129 (CH-Ar), 136.8, 137.0 (C-Ar), 151.6 (C-3A), 167.5 (C-1A), 173.0 (C-1B).

* * * * *

124 : 2-O-[(S)-2,4-Diméthyl-docos-2-énoyl]-3-O-hexadécanoyl-2'-O-sulfate-α,α-D-tréhalose

Le composé **123** (4 mg, 3.31 μmol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (2.5 mg, solide blanc) le sulfoglycolipide attendu **124**.

C₅₂ H₉₅ O₁₆ S Na ; M = 1031.3717 g/mol

[α]_D²⁵ = + 93 (c = 0.31, MeOH/DCM 1/4)

RMN ¹H (500 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C) :

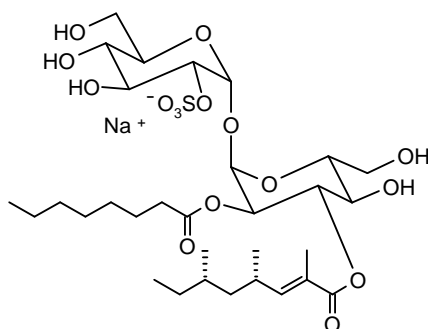
δ (ppm) = 0.89 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H-22A, H-16B), 1.0 (d, 3H, ³J_{24A-4A} = 6.5 Hz, H-24A), 1.0-1.6 (m, 60H, H-(5-21)A, H-(3-15)B), 1.81 (d, 3H, H-23A), 2.33 (m, 2H, H-2B), 2.5 (m, 1H, H-4A), 3.4-3.8 (m, 6H, H-4, H-4', H-5', H-6, H-6'), 3.95 (m, 2H, H-3', H-6), 4.25 (m, 2H, H-2', H-5), 4.86 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.37 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 3.5 Hz, H-1'), 5.48 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.52 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.60 (dq, ³J_{3A-4A} = 10 Hz, ⁴J_{3A-23A} = 1.5 Hz, H-3A).

RMN ¹³C (126 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/1, 25°C)

δ (ppm) = 11.5 (C-23A), 13.1 (C-24A, C-16B), 18.8 (C-24A), 22.0 (C-21A, C-15B), 24.5 (C-3B), 26.9, 28-30, 31.3 (C-20A, C-14B), 32.7, 33.7 (C-2B), 35.9 (C-4A), 60.1 (C-6), 60.9 (C-6'), 68.6 (C-4), 69.0 (C-4'), 71.0 (C-2, C-3'), 71.6 (C-5), 71.7 (C-5'), 71.9 (C-3), 76.3 (C-2'), 91.4 (C-1), 92.5 (C-1'), 124.5 (C-2A), 150.3 (C-3A), 167.2 (C-1A), 173.3 (C-1B).

MALDI-Tof (mode négatif) :

Calc. : m/z = 1007.63 Exp. : m/z = 1007.74

**128**

* * * * *

125 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-octanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-énoyl]-2',3'-O-(tétraisopropyldisiloxane-1,3-diyl)- α,α -D-tréhalose

Le composé **108** (181 mg, 1.9 éq.) est acylé par l'acide **55** (20 mg, 0.11 mmol) selon le protocole d'acylation aux micro-ondes décrit (Protocole 4) pour donner le composé diacylé **125** (28 mg, huile incolore, 25 %).

C₅₇ H₈₈ O₁₄ Si₂ ; M = 1053.4883 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ = 0.81 (d, 3H, ³J_{11B-6B} = 7 Hz, H-11B), 0.83 (t, 6H, ³J₈₋₇ = 7 Hz, H-8A, H-8B), 0.9-1.4 (m, 46H, H-(3-7)A, H-(5-7)B, H-10B, H-*i*Pr), 1.81 (d, 3H, ⁴J_{9B-3B} = 1.5 Hz, H-9B), 2.3 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 8.5 Hz, H-4'), 3.69 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.7-3.9 (m, 3H, H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.92 (dd, 1H, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 8.5 Hz, H-2'), 4.13 (dd, 1H, ³J_{6_{eq}'-5'} = 4 Hz, ³J_{6_{eq}'-6_{ax}'} = 10 Hz, H-6_{eq}'), 4.09 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 8.5 Hz, H-3'), 4.1-4.4 (m, 2H, H-5, H-6_{eq}), 5.09 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.14 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.50, 5.53 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.49 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-23B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.3-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11-14 (CH-*i*Pr, C-8A, C-8B, C-9B), 16.9-17.5 (CH₃-*i*Pr), 19.1 (C-11B), 20.4 (C-10B), 22.5 (C-7A), 24.8 (C-3A), 28.7, 28.9, 31.6 (C-(4-6)A), 29.8 (C-7B), 30.9 (C-4B), 32.2 (C-6B), 34.0 (C-2A), 43.9 (C-5B), 62.7 (C-5, C-5'), 68-69 (C-3, C-6, C-6'), 71.0 (C-2), 73.5 (C-3'), 75.3 (C-2'), 79.4 (C-4), 81.1 (C-4'), 92.2 (C-1), 94.6 (C-1'), 101.2, 101.7 (C-7, C-7'), 125-129 (C-2B, CH-Ar), 149.2 (C-3B).

* * * * *

126 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-octanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-ènol]- α,α -D-tréhalose

Le composé **125** (28 mg, 26.6 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 6 pour donner le diol **126** (13 mg, huile incolore, 60 %).

C₄₅ H₆₂ O₁₃ ; M = 810.9795 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ = 0.83 (d, 3H, ³J_{11B-6B} = 7.5 Hz, H-11B), 0.83, 0.93 (2 t, 6H, ³J = 7 Hz, H-8A, H-8B), 0.98 (d, 3H, ³J = 7 Hz, H-10B), 1.0-1.7 (m, 15H, H-(3-7)A, H-(5-7)B), 1.83 (d, 3H, ⁴J_{9B-3B} = 1 Hz, H-9B), 2.35 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 7.5 Hz, H-2A), 2.65 (m, 1H, H-4B), 3.51 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.7 (t, 1H, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz, H-4), 3.65-4 (m, 4H, H-2', H-5', H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 4.09 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.1-4.3 (m, 2H, H-5, H-6_{éq}'), 4.34 (dd, 1H, ²J_{6_{éq}-6_{ax}} = 10 Hz, ³J_{6_{éq}-5} = 5 Hz, H-6_{éq}'), 5.13 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.18 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.38 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.50, 5.54 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.72 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.53 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-23B} = 1 Hz, H-3B), 7.1-7.5 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) = 11.1 (C-8B), 12.5 (C-9B), 13.9 (C-8A), 19.1 (C-11B), 20.4 (C-10B), 22.5 (C-7A), 24.8 (C-3A), 28.8, 29.0, 31.6 (C-(4-6)A), 29.8 (C-7B), 30.9 (C-4B), 32.2 (C-6B), 34.0 (C-2A), 43.9 (C-5B), 63.2 (C-5), 63.3 (C-5'), 68.7, 69.0 (C-3, C-6, C-6'), 70.8 (C-2), 71.2 (C-3'), 72.3 (C-2'), 79.3 (C-4), 80.8 (C-4'), 92.6 (C-1), 95.0 (C-1'), 101.5, 102.0 (C-7, C-7'), 125.3 (C-2B), 126-129 (CH-Ar), 149.6 (C-3B), 173.0 (C-1B), 175.2 (C-1A).

* * * * *

127 : 4,6;4',6'-Di-O-benzylidène-2-O-octanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-ènol]-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **126** (13 mg, 16 μ mol) est sulfaté selon le Protocole 7 pour donner le produit **127** (9 mg, solide blanc, 62 %).

C₄₅ H₆₁ O₁₆ S Na ; M = 913.0247 g/mol

RMN ¹H (250 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ = 0.7 (d, 3H, ³J_{11B-6B} = 6.5 Hz, H-11B), 0.68, 0.72 (2 t, 6H, ³J = 7 Hz, H-8A, H-8B), 0.85 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H-10B), 0.9-1.5 (m, 15H, H-(3-7)A, H-(5-7)B), 1.71 (d, 3H, ⁴J_{9B-3B} = 1.5 Hz, H-9B), 2.22 (t, 2H, ³J_{2A-3A} = 8 Hz, H-2A), 2.5 (m, 1H, H-4B), 3.49 (t, 1H, ³J_{4'-5'} = ³J_{4'-3'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.4-4.4 (m, 3H, H-4, H-6_{ax}, H-6_{ax}'), 3.83 (td, 1H, ³J_{5'-6_{éq}'} = 5, ³J_{5'-6_{ax}'} \approx ³J_{5'-4'} = 10 Hz, H-5'), 4.0 (dd, 1H, ²J_{6_{éq}'-6_{ax}'} = 10 Hz, ³J_{6_{éq}'-5'} = 5 Hz, H-6_{éq}'), 4.03 (t, 1H, ³J_{3'-4'} = ³J_{3'-2'} = 9.5 Hz, H-3'), 4.25 (dd, ³J_{2'-1'} = 4 Hz, ³J_{2'-3'} = 9.5 Hz, H-2'), 4.27 (td, 1H, ³J_{5-6_{éq}} = 5, ³J_{5-6_{ax}} = ³J₅₋₄ = 9.5 Hz, H-5), 4.4 (dd, 1H, ²J_{6_{éq}-6_{ax}} = 10 Hz, ³J_{6_{éq}-5} = 5 Hz, H-6_{éq}'), 5.01 (dd, 1H, ³J₂₋₁ = 4 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz, H-2), 5.2 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 4 Hz, H-1), 5.37 (d, 1H, ³J_{1'-2'} = 4 Hz, H-1'), 5.4, 5.42 (2 s, 2H, H-7, H-7'), 5.51 (t, 1H, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz, H-3), 6.4 (dq, 1H, ³J_{3B-4B} = 10 Hz, ⁴J_{3B-23B} = 1.5 Hz, H-3B), 7.2-7.8 (m, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (63 MHz, MeOD/CDCl₃ 1/4, 25°C)

δ (ppm) = 10.8 (C-8B), 12.2 (C-9B), 13.7 (C-8A), 18.8 (C-11B), 20.0 (C-10B), 22.3 (C-7A), 24.6 (C-3A), 28.5, 28.7, 31.3 (C-(4-6)A), 29.6 (C-7B), 30.7 (C-4B), 32.0 (C-6B), 33.8 (C-2A), 43.7 (C-5B), 62.7 (C-5), 62.9 (C-5'), 68.4, 68.5 (C-3', C-6, C-6'), 69.3 (C-3), 70.7 (C-2), 76.6 (C-2'), 78.9 (C-4), 80.8 (C-4'), 93.1 (C-1), 94.3 (C-1'), 101.1, 101.8 (C-7, C-7'), 125.1 (C-2B), 125-129 (CH-Ar), 136.8, 136.9 (C-Ar), 149.6 (C-3B), 167.4 (C-1B), 172.9 (C-1A).

* * * * *

128 : 2-O-Octanoyl-3-O-[(4S,6S)-2,4,6-triméthyl-oct-2-èneoyl]-2'-O-sulfate- α,α -D-tréhalose

Le composé **127** (9 mg, 9.86 μ mol) est déprotégé selon le Protocole 8 pour donner quantitativement (5 mg, huile incolore) le sulfoglycolipide attendu **128**.

C₃₁ H₅₃ O₁₆ S Na ; M = 736.8072 g/mol

$[\alpha]_D^{25} = +100$ ($c = 0.5$, MeOH/CHCl₃ 1/1)

RMN ¹H (600 MHz, cryosonde, MeOD, 25°C)

δ (ppm) = 0.86 (d, 3H, $^3J_{11B-6B} = 6.5$ Hz, H-11B), 0.88 (t, 3H, $^3J_{8B-7B} = 7$ Hz, H-8B), 0.9 (t, 3H, $^3J_{8A-7A} = 7$ Hz, H-8A), 0.99 (d, 3H, $^3J_{10B-4B} = 7$ Hz, H-10B), 1.1-1.6 (m, 15H, H-(3-7)A, H-(5-7)B), 1.85 (d, 3H, $^4J_{9B-3B} = 1.5$ Hz, H-9B), 2.27, 2.3 (2 td, 2H, $^3J_{2A-3A} = 7$ Hz, $^2J = 14.5$ Hz, H-2A), 2.66 (m, 1H, H-4B), 3.41 (t, 1H, $^3J_{4'-3'} = ^3J_{4'-5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.66 (dd, 1H, $^3J_{6'-5'} = 5.5$, $^2J = 11.5$ Hz, H-6'), 3.68 (t, 1H, $^3J_{4-5} = ^3J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 3.75 (m, 3H, H-5', H-6, H-6'), 3.91 (dd, 1H, $^2J = 12$ Hz, $^3J_{6-5} = 2.5$ Hz, H-6), 3.92 (t, 1H, $^3J_{3'-2'} = ^3J_{3'-4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.19 (dd, 1H, $^3J_{2'-1'} = 3.5$ Hz, $^3J_{2'-3'} = 9.5$ Hz, H-2'), 4.24 (ddd, 1H, $^3J_{5-6} = 2.5$ Hz, $^3J_{5-6} = 4$ Hz, $^3J_{5-4} = 10$ Hz, H-5), 4.98 (dd, 1H, $^3J_{2-1} = 3.5$ Hz, $^3J_{2-3} = 10$ Hz, H-2), 5.27 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.50 (d, 1H, $^3J_{1'-2'} = 3.5$ Hz, H-1'), 5.51 (t, 1H, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz, H-3), 6.52 (dq, 1H, $^3J_{3B-4B} = 10$ Hz, $^4J_{3B-9B} = 1.5$ Hz, H-3B).

RMN ¹³C (151 MHz, cryosonde, MeOD, 25°C)

δ (ppm) = 11.6 (C-8B), 12.8 (C-9B), 14.4 (C-8A), 19.5 (C-11B), 20.8 (C-10B), 23.7 (C-7A), 26.0 (C-3A), 30, 30.1, 32.8 (C-(4-6)A), 31.1 (C-7B), 32.1 (C-4B), 33.6 (C-6B), 35.0 (C-2A), 45.3 (C-5B), 61.8 (C-6), 62.5 (C-6'), 69.9 (C-4), 71.6 (C-4'), 72.0 (C-2), 72.8 (C-3'), 73.4 (C-5), 74.1 (C-5'), 74.4 (C-3), 78.4 (C-2'), 93.5 (C-1), 94.3 (C-1'), 127.2 (C-2B), 150.2 (C-3B), 169.3 (C-1B), 174.3 (C-1A).

MALDI-Tof (mode négatif)

Calc. : m/z = 713.31

Exp. : m/z = 713.15

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1. www.who.int/tb/publications/global_report/2007/download_centre/en/index.html
2. G. M. Taylor, E. Murphy, R. Hopkins, P. Rutland, Y. Chistov, *Microbiol.* **2007**, *153*, 1243-1249.
3. www.invs.sante.fr/recherche/index2.asp?txtQuery=tuberculose
4. D. Che, D. Bitar, J.-C. Desenclos, *Presse Méd.* **2006**, *35*, 1725-1732.
5. C. Dye, *Lancet* **2006**, *367*, 938-940.
6. www.who.int/tb/publications/2006/stoptb_strategy_fr.pdf
7. A. Calmette, C. Guérin, *Ann. Inst. Pasteur* **1920**, *34*, 553-560.
8. P. E. Fine, L. C. Rodrigues, *Lancet* **1990**, *335*, 1016-1020.
9. L. C. Rodrigues, V. K. Diwan, J. G. Wheeler, *Int. J. Epidemiol.* **1993**, *22*, 1154-1158.
10. M. Datta, R. S. Vallishayee, A. M. Diwakara, *Ind. J. Med. Res.* **1999**, *110*, 56-69.
11. *Bull. World Health Organ.* **1979**, *57*, 819-827.
12. T. Oettinger, M. Jorgensen, A. Ladefoged, K. Haslov, P. Andersen, *Tuber. Lung. Dis.* **1999**, *79*, 243-250.
13. M. A. Behr, *Scand. J. Infect. Dis.* **2001**, *33*, 249-252.
14. M. Harboe, T. Oettinger, H. G. Wiker, I. Rosenkrands, P. Andersen, *Infect. Immun.* **1996**, *64*, 16-22.
15. J. Hess, S. H. Kaufmann, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **1999**, *23*, 165-173.
16. G. G. Mahairas, P. J. Sabo, M. J. Hickey, D. C. Singh, C. K. Stover, *J. Bacteriol.* **1996**, *178*, 1274-1282.
17. L. Brandt, J. F. Cunha, A. W. Olsen, B. Chilima, P. Hirsh, R. Appelberg, P. Anderson, *Infect. Immun.* **2002**, *70*, 672-678.
18. P. Andersen, *Nat. Rev. Microbiol.* **2007**, *5*, 484-487.
19. A. O. Whelan, D. C. Wright, M. A. Chambers, M. Singh, R. G. Hewinson, H. M. Vordermeier, *Vaccine* **2007**, *In Press, Corrected Proof*,
20. A. T. Kamath, U. Fruth, M. J. Brennan, R. Dobbelaer, P. Hubrechts, M. M. Ho, R. E. Mayner, J. Thole, K. B. Walker, M. Liu, P. H. Lambert, *Vaccine* **2005**, *23*, 3753-3761.
21. P. Andersen, T. M. Doherty, *Nat. Rev. Microbio.* **2005**, *3*, 656-662.
22. M. A. Horwitz, G. Harth, *Infect. Immun.* **2003**, *71*, 1672-1679.
23. L. Grode, P. Seiler, S. Baumann, J. Hess, V. Brinkmann, A. Nasser Eddine, P. Mann, C. Goosmann, S. Bandermann, D. Smith, G. J. Bancroft, J. M. Reyrat, D. van Soolingen, B. Raupach, S. H. Kaufmann, *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 2472-2479.

24. F. Winau, S. Weber, S. Sad, J. de Diego, S. L. Hoops, B. Breiden, K. Sandhoff, V. Brinkmann, S. H. Kaufmann, U. E. Schaible, *Immunity* **2006**, *24*, 105-117.
25. H. McShane, A. A. Pathan, C. R. Sander, S. M. Keating, S. C. Gilbert, K. Huygen, H. A. Fletcher, A. V. Hill, *Nat. Med.* **2004**, *10*, 1240-1244.
26. E. M. Agger, I. Rosenkrands, A. W. Olsen, G. Hatch, A. Williams, C. Kritsch, K. Lingnau, A. von Gabain, C. S. Andersen, K. S. Korsholm, P. Andersen, *Vaccine* **2006**, *24*, 5452-5460.
27. J. Dietrich, C. Andersen, R. Rappuoli, T. M. Doherty, C. G. Jensen, P. Andersen, *J. Immunol.* **2006**, *177*, 6353-6360.
28. Y. A. Skeiky, M. R. Alderson, P. J. Owendale, J. A. Guderian, L. Brandt, D. C. Dillon, A. Campos-Neto, Y. Lobet, W. Dalemans, I. M. Orme, S. G. Reed, *J. Immunol.* **2004**, *172*, 7618-7628.
29. E. M. Beckman, S. A. Porcelli, C. T. Morita, S. M. Behar, S. T. Furlong, M. B. Brenner, *Nature* **1994**, *372*, 691-694.
30. P. A. Sieling, D. Chatterjee, S. A. Porcelli, T. I. Prigozy, R. J. Mazzaccaro, T. Soriano, B. R. Bloom, M. B. Brenner, M. Kronenberg, P. J. Brennan, R. L. Modlin, *Science* **1995**, *269*, 227-230.
31. C. C. Dascher, K. Hiromatsu, X. Xiong, C. Morehouse, G. Watts, G. Liu, D. N. McMurray, K. P. LeClair, S. A. Porcelli, M. B. Brenner, *Int. Immunol.* **2003**, *15*, 915-925.
32. J. Cox, A. Coulter, *BioDrugs* **1999**, *12*, 439-453.
33. B. M. Saunders, A. M. Cooper, *Immunol. Cell. Biol.* **2000**, *78*, 334-341.
34. N. M. Parrish, J. D. Dick, W. R. Bishai, *Trends Microbiol.* **1998**, *6*, 107-112.
35. U. E. Schaible, H. L. Collins, S. H. Kaufmann, *Adv. Immunol.* **1999**, *71*, 267-377.
36. S. H. Kaufmann, *Nat. Rev. Immunol.* **2001**, *1*, 20-30.
37. S. Porcelli, C. T. Morita, M. B. Brenner, *Nature* **1992**, *360*, 593-597.
38. S. A. Porcelli, R. L. Modlin, *Annu. Rev. Immunol.* **1999**, *17*, 297-329.
39. S. A. Porcelli, *Adv. Immunol.* **1995**, *59*, 1-98.
40. U. E. Schaible, K. Hagens, K. Fischer, H. L. Collins, S. H. Kaufmann, *J. Immunol.* **2000**, *164*, 4843-4852.
41. W. L. Beatty, E. R. Rhoades, H. J. Ullrich, D. Chatterjee, J. E. Heuser, D. G. Russell, *Traffic* **2000**, *1*, 235-247.
42. U. E. Schaible, S. H. E. Kaufmann, *Trends Microbiol.* **2000**, *8*, 419-425.
43. T. Ulrichs, D. B. Moody, E. Grant, S. H. Kaufmann, S. A. Porcelli, *Infect. Immun.* **2003**, *71*, 3076-3087.
44. T. Kawashima, Y. Norose, Y. Watanabe, Y. Enomoto, H. Narazaki, E. Watari, S. Tanaka, H. Takahashi, I. Yano, M. B. Brenner, M. Sugita, *J. Immunol.* **2003**, *170*, 5345-5348.

45. J. L. Flynn, M. M. Goldstein, K. J. Triebold, B. Koller, B. R. Bloom, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 12013-12017.
46. A. Lalvani, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2002**, *166*, 789-790.
47. F. Calabi, J. M. Jarvis, L. Martin, C. Milstein, *Eur. J. Immunol.* **1989**, *19*, 285-292.
48. C. Angenieux, J. Salamero, D. Fricker, J. P. Cazenave, B. Goud, D. Hanau, H. de La Salle, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 37757-37764.
49. H. de la Salle, S. Mariotti, C. Angenieux, M. Gilleron, L. F. Garcia-Alles, D. Malm, T. Berg, S. Paoletti, B. Maitre, L. Mourey, J. Salamero, J. P. Cazenave, D. Hanau, L. Mori, G. Puzo, G. De Libero, *Science* **2005**, *310*, 1321-1324.
50. M. Brigl, M. B. Brenner, *Annu. Rev. Immunol.* **2004**, *22*, 817-890.
51. S. H. Park, A. Bendelac, *Nature* **2000**, *406*, 788-792.
52. T. Ulrichs, S. A. Porcelli, *Rev. Immunogenet.* **2000**, *2*, 416-432.
53. D. B. Moody, D. M. Zajonc, I. A. Wilson, *Nat. Rev. Immunol.* **2005**, *5*, 387-399.
54. T. Batuwangala, D. Shepherd, S. D. Gadola, K. J. Gibson, N. R. Zaccai, A. R. Fersht, G. S. Besra, V. Cerundolo, E. Y. Jones, *J. Immunol.* **2004**, *172*, 2382-2388.
55. D. M. Zajonc, M. A. Elsliger, L. Teyton, I. A. Wilson, *Nat. Immunol.* **2003**, *4*, 808-815.
56. S. D. Gadola, N. R. Zaccai, K. Harlos, D. Shepherd, J. C. Castro-Palomino, G. Ritter, R. R. Schmidt, E. Y. Jones, V. Cerundolo, *Nat. Immunol.* **2002**, *3*, 721-726.
57. L. F. Garcia-Alles, K. Versluis, L. Maveyraud, A. T. Vallina, S. Sansano, N. F. Bello, H. J. Gober, V. Guillet, H. de la Salle, G. Puzo, L. Mori, A. J. Heck, G. De Libero, L. Mourey, *EMBO J.* **2006**, *25*, 3684-3692.
58. Z. Zeng, A. R. Castano, B. W. Segelke, E. A. Stura, P. A. Peterson, I. A. Wilson, *Science* **1997**, *277*, 339-345.
59. M. Koch, V. S. Stronge, D. Shepherd, S. D. Gadola, B. Mathew, G. Ritter, A. R. Fersht, G. S. Besra, R. R. Schmidt, E. Y. Jones, V. Cerundolo, *Nat. Immunol.* **2005**, *6*, 819-826.
60. N. A. Borg, K. S. Wun, L. Kjer-Nielsen, M. C. Wilce, D. G. Pellicci, R. Koh, G. S. Besra, M. Bharadwaj, D. I. Godfrey, J. McCluskey, J. Rossjohn, *Nature* **2007**, *448*, 44-49.
61. D. Wu, D. M. Zajonc, M. Fujio, B. A. Sullivan, Y. Kinjo, M. Kronenberg, I. A. Wilson, C. H. Wong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 3972-3977.
62. S. A. Porcelli, M. B. Brenner, *Curr. Biol.* **1997**, *7*, R508-511.
63. E. P. Grant, E. M. Beckman, S. M. Behar, M. Degano, D. Frederique, G. S. Besra, I. A. Wilson, S. A. Porcelli, S. T. Furlong, M. B. Brenner, *J. Immunol.* **2002**, *168*, 3933-3940.
64. A. Melian, G. F. Watts, A. Shamshiev, G. De Libero, A. Clatworthy, M. Vincent, M. B. Brenner, S. Behar, K. Niazi, R. L. Modlin, S. Almo, D. Ostrov, S. G. Nathenson, S. A. Porcelli, *J. Immunol.* **2000**, *165*, 4494-4504.
65. D. B. Moody, D. C. Young, T. Y. Cheng, J. P. Rosat, C. Roura-Mir, P. B. O'Connor, D. M. Zajonc, A. Walz, M. J. Miller, S. B. Levery, I. A. Wilson, C. E. Costello, M. B. Brenner, *Science* **2004**, *303*, 527-531.

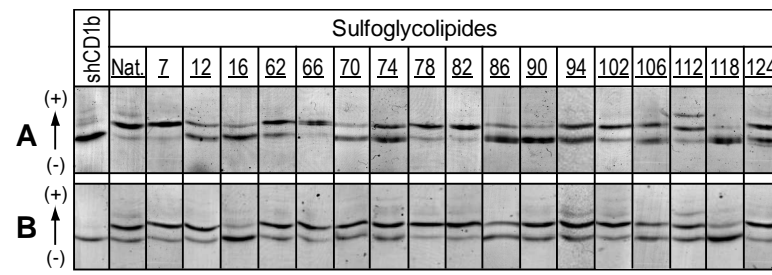
66. I. Van Rhijn, D. M. Zajonc, I. A. Wilson, D. B. Moody, *Curr. Opin. Immunol.* **2005**, *17*, 222-229.
67. D. B. Moody, B. B. Reinhold, M. R. Guy, E. M. Beckman, D. E. Frederique, S. T. Furlong, S. Ye, V. N. Reinhold, P. A. Sieling, R. L. Modlin, G. S. Besra, S. A. Porcelli, *Science* **1997**, *278*, 283-286.
68. M. Gilleron, S. Stenger, Z. Mazon, F. Wittke, S. Mariotti, G. Bohmer, J. Prandi, L. Mori, G. Puzo, G. De Libero, *J. Exp. Med.* **2004**, *199*, 649-659.
69. E. Agea, A. Russano, O. Bistoni, R. Mannucci, I. Nicoletti, L. Corazzi, A. D. Postle, G. De Libero, S. A. Porcelli, F. Spinazzi, *J. Exp. Med.* **2005**, *202*, 295-308.
70. J. Rauch, J. Gumperz, C. Robinson, M. Skold, C. Roy, D. C. Young, M. Lafleur, D. B. Moody, M. B. Brenner, C. E. Costello, S. M. Behar, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 47508-47515.
71. J. E. Gumperz, C. Roy, A. Makowska, D. Lum, M. Sugita, T. Podrebarac, Y. Koezuka, S. A. Porcelli, S. Cardell, M. B. Brenner, S. M. Behar, *Immunity* **2000**, *12*, 211-221.
72. W. A. Ernst, J. Maher, S. Cho, K. R. Niazi, D. Chatterjee, D. B. Moody, G. S. Besra, Y. Watanabe, P. E. Jensen, S. A. Porcelli, M. Kronenberg, R. L. Modlin, *Immunity* **1998**, *8*, 331-340.
73. K. Fischer, E. Scotet, M. Niemeyer, H. Koebernick, J. Zerrahn, S. Maillet, R. Hurwitz, M. Kursar, M. Bonneville, S. H. Kaufmann, U. E. Schaible, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 10685-10690.
74. D. B. Moody, T. Ulrichs, W. Muhlecker, D. C. Young, S. S. Gurcha, E. Grant, J. P. Rosat, M. B. Brenner, C. E. Costello, G. S. Besra, S. A. Porcelli, *Nature* **2000**, *404*, 884-888.
75. I. Matsunaga, A. Bhatt, D. C. Young, T. Y. Cheng, S. J. Eyles, G. S. Besra, V. Briken, S. A. Porcelli, C. E. Costello, W. R. Jacobs, Jr., D. B. Moody, *J. Exp. Med.* **2004**, *200*, 1559-1569.
76. T. Kawano, J. Cui, Y. Koezuka, I. Toura, Y. Kaneko, K. Motoki, H. Ueno, R. Nakagawa, H. Sato, E. Kondo, H. Koseki, M. Taniguchi, *Science* **1997**, *278*, 1626-1629.
77. K. Miyamoto, S. Miyake, T. Yamamura, *Nature* **2001**, *413*, 531-534.
78. D. Y. Wu, N. H. Segal, S. Sidobre, M. Kronenberg, P. B. Chapman, *J. Exp. Med.* **2003**, *198*, 173-181.
79. D. Zhou, J. Mattner, C. Cantu, 3rd, N. Schrantz, N. Yin, Y. Gao, Y. Sagiv, K. Hudspeth, Y. P. Wu, T. Yamashita, S. Teneberg, D. Wang, R. L. Proia, S. B. Lavery, P. B. Savage, L. Teyton, A. Bendelac, *Science* **2004**, *306*, 1786-1789.
80. I. Van Rhijn, D. C. Young, J. S. Im, S. B. Lavery, P. A. Illarionov, G. S. Besra, S. A. Porcelli, J. Gumperz, T. Y. Cheng, D. B. Moody, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 13578-13583.
81. A. D. De Silva, J. J. Park, N. Matsuki, A. K. Stanic, R. R. Brutkiewicz, M. E. Medof, S. Joyce, *J. Immunol.* **2002**, *168*, 723-733.
82. V. Briken, R. M. Jackman, S. Dasgupta, S. Hoening, S. A. Porcelli, *EMBO J.* **2002**, *21*, 825-834.

83. M. Sugita, M. Cernadas, M. B. Brenner, *Curr. Opin. Immunol.* **2004**, *16*, 90-95.
84. D. B. Moody, S. A. Porcelli, *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, *3*, 11-22.
85. D. B. Moody, V. Briken, T. Y. Cheng, C. Roura-Mir, M. R. Guy, D. H. Geho, M. L. Tykocinski, G. S. Besra, S. A. Porcelli, *Nat. Immunol.* **2002**, *3*, 435-442.
86. S. Mukherjee, F. R. Maxfield, *Traffic* **2000**, *1*, 203-211.
87. S. Mukherjee, T. T. Soe, F. R. Maxfield, *J. Cell. Biol.* **1999**, *144*, 1271-1284.
88. M. Sugita, E. P. Grant, E. van Donselaar, V. W. Hsu, R. A. Rogers, P. J. Peters, M. B. Brenner, *Immunity* **1999**, *11*, 743-752.
89. D. M. Zajonc, C. Cantu, 3rd, J. Mattner, D. Zhou, P. B. Savage, A. Bendelac, I. A. Wilson, L. Teyton, *Nat. Immunol.* **2005**, *6*, 810-818.
90. T. Y. Cheng, M. Relloso, I. Van Rhijn, D. C. Young, G. S. Besra, V. Briken, D. M. Zajonc, I. A. Wilson, S. Porcelli, D. B. Moody, *EMBO J.* **2006**, *25*, 2989-2999.
91. T. I. Prigozy, O. Naidenko, P. Qasba, D. Elewaut, L. Brossay, A. Khurana, T. Natori, Y. Koezuka, A. Kulkarni, M. Kronenberg, *Science* **2001**, *291*, 664-667.
92. D. B. Moody, M. R. Guy, E. Grant, T. Y. Cheng, M. B. Brenner, G. S. Besra, S. A. Porcelli, *J. Exp. Med.* **2000**, *192*, 965-976.
93. T. Natori, Y. Koezuka, T. Higa, *Tet. Lett.* **1993**, *34*, 5591-5592.
94. M. Morita, K. Motoki, K. Akimoto, T. Natori, T. Sakai, E. Sawa, K. Yamaji, Y. Koezuka, E. Kobayashi, H. Fukushima, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2176-2187.
95. S. Sidobre, K. J. Hammond, L. Benazet-Sidobre, S. D. Maltsev, S. K. Richardson, R. M. Ndonge, A. R. Howell, T. Sakai, G. S. Besra, S. A. Porcelli, M. Kronenberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 12254-12259.
96. R. M. Ndonge, D. P. Izmirian, M. F. Dunn, K. O. A. Yu, S. A. Porcelli, A. Khurana, M. Kronenberg, S. K. Richardson, A. R. Howell, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10260-10270.
97. R. D. Goff, Y. Gao, J. Mattner, D. Zhou, N. Yin, C. Cantu, L. Teyton, A. Bendelac, P. B. Savage, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13602-13603.
98. K. O. Yu, J. S. Im, A. Molano, Y. Dutronc, P. A. Illarionov, C. Forestier, N. Fujiwara, I. Arias, S. Miyake, T. Yamamura, Y. T. Chang, G. S. Besra, S. A. Porcelli, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3383-3388.
99. C. McCarthy, D. Shepherd, S. Fleire, V. S. Stronge, M. Koch, P. A. Illarionov, G. Bossi, M. Salio, G. Denzberg, F. Reddington, A. Tarlton, B. G. Reddy, R. R. Schmidt, Y. Reiter, G. M. Griffiths, P. A. van der Merwe, G. S. Besra, E. Y. Jones, F. D. Batista, V. Cerundolo, *J. Exp. Med.* **2007**, *204*, 1131-1144.
100. S. D. Gadola, M. Koch, J. Marles-Wright, N. M. Lissin, D. Shepherd, G. Matulis, K. Harlos, P. M. Villiger, D. I. Stuart, B. K. Jakobsen, V. Cerundolo, E. Y. Jones, *J. Exp. Med.* **2006**, *203*, 699-710.
101. L. Kjer-Nielsen, N. A. Borg, D. G. Pellicci, T. Beddoe, L. Kostenko, C. S. Clements, N. A. Williamson, M. J. Smyth, G. S. Besra, H. H. Reid, M. Bharadwaj, D. I. Godfrey, J. Rossjohn, J. McCluskey, *J. Exp. Med.* **2006**, *203*, 661-673.
102. D. B. Moody, *Nature* **2007**, *448*, 36-37.

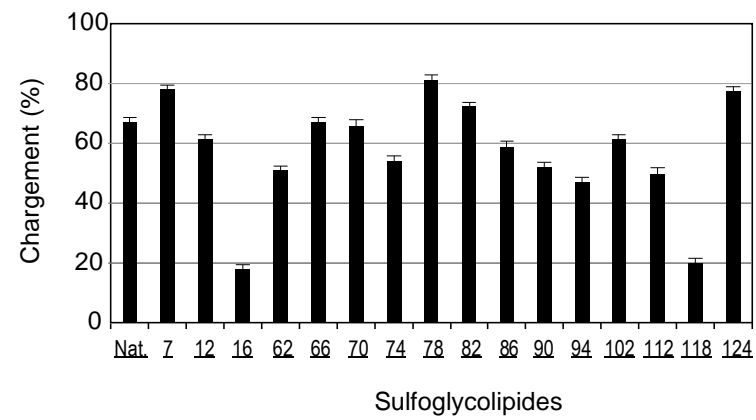
103. M. B. Goren, in *The Mycobacteria: A Sourcebook, Part A* (Ed.: G. P. Kubica and L. G. Wayne) Dekker, New York, **1984**, 379-415.
104. M. B. Goren, O. Brokl, B. C. Das, E. Lederer, *Biochem.* **1971**, *10*, 72-81.
105. J. E. Grotzke, D. M. Lewinsohn, *Microbes Infect.* **2005**, *7*, 776-788.
106. K. Hiromatsu, C. C. Dascher, M. Sugita, C. Gingrich-Baker, S. M. Behar, K. P. LeClair, M. B. Brenner, S. A. Porcelli, *Immunology* **2002**, *106*, 159-172.
107. H. H. Baer, X. Wu, *Carbohydr. Res.* **1993**, *238*, 215-230.
108. A. Liav, M. B. Goren, *Carbohydr. Res.* **1984**, *127*, 211-216.
109. H. H. Baer, B. Radatus, *Carbohydr. Res.* **1984**, *128*, 165-174.
110. J. Gelas, D. Horton, *Carbohydr. Res.* **1978**, *64*, 323-326.
111. L. Hough, P. A. Munroe, A. C. Richardson, *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 1090-1094.
112. M. B. Goren, *Biochim. Biophys. Acta* **1970**, *210*, 116-126.
113. D. E. Minnikin, L. Kremer, L. G. Dover, G. S. Besra, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 545-553.
114. M. B. Goren, *Biochim. Biophys. Acta* **1970**, *210*, 127-138.
115. L. Katz, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2557-2576.
116. C. Khosla, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2577-2590.
117. S. Hanessian, S. Giroux, V. Mascitti, *Synthesis* **2006**, *7*, 1057-1076.
118. G. S. Besra, D. E. Minnikin, P. R. Wheeler, C. Ratledge, *Chem. Phys. Lipids* **1993**, *66*, 23-34.
119. D. A. Evans, *Aldrichimica Acta* **1982**, *15*, 23-32.
120. D. A. Evans, R. L. Dow, T. L. Shih, J. M. Takacs, R. Zahler, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5290-5313.
121. D. A. Evans, J. V. Nelson, E. Vogel, T. R. Taber, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3099-3111.
122. D. A. Evans, D. L. Rieger, M. T. Bilodeau, F. Urpi, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1047-1049.
123. M. Norte, J. J. Fernandez, A. Padilla, *Tet. Lett.* **1994**, *35*, 3413-3416.
124. D. A. Evans, J. S. Clark, R. Metternich, V. J. Novack, G. S. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 866-868.
125. D. A. Evans, M. D. Ennis, D. J. Mathre, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1737-1739.
126. A. Abiko, S. Masamune, *Tet. Lett.* **1996**, *37*, 1081-1084.
127. A. G. Myers, B. H. Yang, H. Chen, L. McKinstry, D. J. Kopecky, J. L. Gleason, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6496-6511.
128. M. O. Duffey, A. LeTiran, J. P. Morken, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1458-1459.
129. A. Job, C. F. Janeck, W. Bettray, R. Peters, D. Enders, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2253-2329.
130. A. A. Birkbeck, D. Enders, *Tet. Lett.* **1998**, *39*, 7823-7826.

-
131. C. Spino, C. Beaulieu, J. Lafreniere, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7091-7097.
 132. C. Spino, M. Allan, *Can. J. Chem.* **2004**, *82*, 177-184.
 133. D. R. Williams, A. L. Nold, R. J. Mullins, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5374-5382.
 134. R. DesMazery, M. Pullez, F. Lopez, S. R. Harutyunyan, A. J. Minnaard, B. L. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9966-9967.
 135. B. terHorst, B. L. Feringa, A. J. Minnaard, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3013-3015.
 136. R. U. Lemieux, D. R. Bundle, D. A. Baker, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4076-4083.
 137. P. J. Garegg, B. Samuelson, *Chem. Commun.* **1979**, *22*, 978-980.
 138. D. Enders, H. Eichenauer, *Tet. Lett.* **1977**, *18*, 191-194.
 139. K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, B. C. L. Weedon, *J. Chem. Soc.* **1946**, 39-45.
 140. H. Niwa, Y. Miyachi, Y. Uosaki, K. Yamada, *Tet. Lett.* **1986**, *27*, 4601-4604.
 141. L. Alcaraz, G. Macdonald, J. Ragot, N. J. Lewis, R. J. K. Taylor, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 3707-3716.
 142. A. de Jong, E. C. Arce, T.-Y. Cheng, R. P. van Summeren, B. L. Feringa, V. Dudkin, D. Crich, I. Matsunaga, A. J. Minnaard, D. B. Moody, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 1232-1242.
 143. Groupe de travail du conseil supérieur d'hygiène publique, *Méd. Mal. Infect.* **2004**, *34*, 358-363.
 144. E. Ade, G. Helmchen, G. Heiligenmann, *Tet. Lett.* **1980**, *21*, 1137-1140.

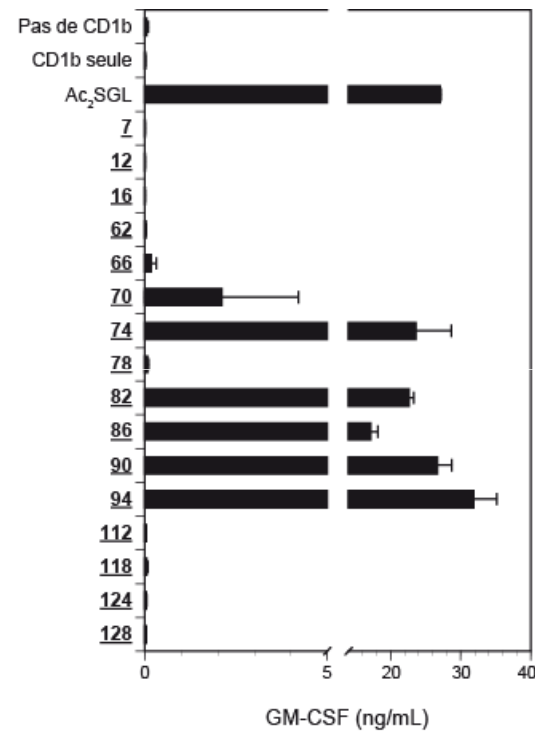
ANNEXES



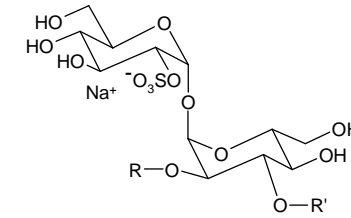
Annexe 2 : Analyse par IEF sur gel des analogues chargés par la protéine shCD1b. **A.** Incubation pendant 6 h à 37°C, pH 4.0 ; **B.** Incubation pendant 1 h à 37°C, pH 5.0, en présence de 10 mM de taurocholate.



Annexe 3 : Pourcentage de protéine shCD1b chargée avec chacun des analogues en présence de taurocholate.



Annexe 4 : Antigénicité des complexes shCD1b:SGL formés *in vitro* sur les lymphocytes T spécifiques des Ac₂SGL.



	R	R'
<u>7</u>		
<u>12</u>		
<u>16</u>		
<u>17</u>		
<u>18</u>		
<u>62</u>		
<u>66</u>		
<u>70</u>		
<u>74</u>		
<u>78</u>		
<u>82</u>		
<u>86</u>		
<u>90</u>		
<u>94</u>		
<u>98</u>		
<u>102</u>		
<u>106</u>		
<u>112</u>		
<u>118</u>		
<u>124</u>		
<u>128</u>		

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des structures de tous les analogues synthétisés