

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE NOUVEAUX PHOSPHOLIPIDES
FLUORESCENTS ET ÉLECTROACTIFS

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR
AHLAM FARZI

NOVEMBRE 2012

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

La connaissance s'acquiert par l'expérience, tout le reste n'est que de l'information.

Albert Einstein

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens à remercier mes deux directeurs, le Prof. Daniel Chapdelaine et le Dr. Janine Mauzeroll pour m'avoir accueilli dans leurs équipes de recherche, pour leur aide et leur supervision lors de ce projet.

Mes remerciements s'adressent également à toutes les personnes ayant contribué à l'élaboration de ce mémoire. D'abord, à mes collègues du laboratoire, pour leur aide. Également, un grand merci à Dr. Rabindra Rej pour sa générosité et la grande patience dont il a su faire preuve malgré ses charges professionnelles.

J'exprime ma gratitude au Dr. Sylvain Canesi, Dr. Livain Breau, Mme Sana Mesbahi et M. Sébastien Arseneau pour son aide durant ma maîtrise. Je remercie le Dr. Hoa le Than de m'avoir aidé durant l'utilisation de l'appareil de résonance magnétique nucléaire (RMN) ainsi qu'aux techniciennes Mme Isabelle Reault et Mme Leanne Ohlund pour leur collaboration au projet en spectrométrie de masse (SM). Je n'oublie pas mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Et je tiens à remercier mon mari Mohamed Elshamy pour son soutien moral et ses encouragements.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	iii
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES SCHÉMAS	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	xi
LISTE DES SYMBOLES.....	xiv
RÉSUMÉ	xv
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
LES COMPOSANTES DE LA MEMBRANE CELLULAIRE ET LES MARQUEURS FLUORESCENTS ET ÉLECTROACTIFS	4
1.1 La membrane cellulaire.....	4
1.2 Les liposomes.....	5
1.3.1 Définition des liposomes.....	5
1.3.2 Préparation des liposomes.....	6
1.3 Les lipides	6
1.3.1 Les acides gras.....	7
1.3.1.1 Longueur de la chaîne	7
1.3.1.2 Degré d'insaturation	8
1.3.1.3 Configuration des acides gras	9
1.3.2 Les phospholipides	11
1.3.2.1 Définition des phospholipides	11
1.3.2.2 Le rôle biologique des phospholipides.....	12
1.3.2.3 La structure des phospholipides	12
1.3.2.4 Les phosphatides	12
1.3.2.5 Synthèse des phospholipides	13
1.3.3 Le glycérol.....	14
1.3.4 Les glycérides.....	15

1.4	Autoassemblages de phospholipides.....	15
1.5	Intérêt des phospholipides marqués	16
1.6	Le Bio-SECM: un appareil qui combine le microscope électrochimique et le microscope à fluorescence	18
1.7	La fluorescence, la phosphorescence et les fluorophores	20
1.8	Molécules électroactives et ultra-microélectrode	23
1.9	Les objectifs et le plan de synthèse d'un phospholipide bifonctionnalisé ...	24

CHAPITRE II

SYNTHÈSE D'UN PHOSPHOLIPIDE COMPORTANT UN APPENDICE

	FLUORESCENT ET UN APPENDICE ÉLECTROACTIF	26
2.1	Préparation du 1,2-dioléolylglycérol 6.....	26
2.1.1	Approche de synthèse du 1,2-dioléolylglycérol 6 à partir du glycérol en cinq étapes	26
2.1.2	Approche de synthèse du 1,2-dioléolylglycérol 6 à partir du glycérol en trois étapes	29
2.1.3	Approche de synthèse du 1,2-dioléolylglycérol 6 à partir du glycérol 1 en deux étapes.....	30
2.2	Préparation du N-dansylaminoéthanol.....	31
2.3	Phosphorylation du 1,2-dioléolylglycérol 6.....	32
2.3.1	Phosphorylation utilisant du trichlorure de phosphoryle	33
2.3.2	Phosphorylation utilisant du chlorophosphate diphényle	35
2.4	Phosphorylation du (rac.)-1,2-di-O-isopropylidène glycérol 2.....	36
2.4.1	Phosphorylation utilisant du trichlorure de phosphoryle	36
2.4.2	Phosphorylation avec du 2-cyanoéthyl-diisopropylchlorophosphoramidite	37
2.5	Synthèse d'un phospholipide marqué avec un groupement fluorescent à partir du 1,2-dioléoyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine (DOPE) 17	38
2.6	Tentative de couplage avec le ferrocèneéthanol 10	39
2.7	Formation de phosphates trialkylés modèles à partir du 2-phényléthanol 27 et du trichlorure de phosphoryle	42
2.8	Tentative de greffage des deux groupements marqueurs sur l'amine terminale du DOPE	44

2.8.1	Tentative de couplage du ferrocèneéthanol tosylé avec le phospholipide fluorescent 18.....	45
2.8.2	Tentative de couplage du ferrocèneéthanol tosylé avec le DOPE 17	46
2.8.3	Tentative de couplage du ferrocènealdéhyde avec le DOPE 17 par amination réductrice.....	47
	CONCLUSION.....	50
	ANNEXE: PARTIE EXPÉRIMENTALE	
	Généralités	52
	Modes opératoires et caractérisations	54
	RÉFÉRENCES	87

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Modèle de mosaïque fluide pour décrire les structures membranaires.....	4
1.2 Structure générale d'un liposome bi-lamellaire	5
1.3 L'acide oléique, un acide gras cis.	9
1.4 L'acide élaïdique, un acide gras trans.....	10
1.5 Structure d'un phospholipide, ici la choline.	11
1.6 Les principaux glycérophospholipides	13
1.7 Structure des différentes formes de rassemblement des phospholipides	16
1.8 Structure de composés fluorescents utilisés en microscopie	17
1.9 Microscope Bio-SECM.....	18
1.10 Schéma sommaire d'un microscope Bio-SECM	19
1.11 Le diagramme de Jablonski	21
1.12 Différentes classes de naphthalène contenant des fluorophores.....	21
1.13 Graphique montrant l'excitation et l'émission du dansyl-DPPE.....	23
1.14 A la surface d'une ultra-microélectrode, l'activité du ferrocène est stimulée par l'établissement d'un potentiel rédox.....	24
1.15 Membrane biologique marquée	25

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma	Page
1.1 Synthèse d'un phospholipide selon la méthode de Eibl.....	14
2.1 Synthèse du 1,2-dioléoylglycérol 6 via le 1,2-diisopropylidèneglycérol 2	27
2.2 Mécanisme d'estérification entre un alcool et un acide carboxylique favorisée par DCC.....	28
2.3 Synthèse du dioléoylglycérol via le glycérol monoprotégé avec un éther de p-méthoxybenzyle.....	29
2.4 Synthèse du dioléoylglycérol par estérification formant avec le glycérol les triglycérides.....	30
2.5 Synthèse du <i>N</i> -dansylaminoéthanol	32
2.6 Synthèse du phospholipide 11	32
2.7 Synthèse du ferrocèneéthanol 10.....	33
2.8 Préparation du composé 11 via la triestérification du trichlorure de phosphoryle avec intermédiaire isolable.....	34
2.9 Préparation du composé 11 via une triestérification successive du trichlorure de phosphoryle sans intermédiaire isolable.....	35
2.10 Trialkylation du phosphore via le chlorophosphate diphenylique.....	36
2.11 Préparation du phosphate trialkylé 14 via phosphorylation du 1,2-di- <i>O</i> -isopropylidèneglycérol 2.....	37
2.12 Phosphorylation du 1,2-di- <i>O</i> -isopropylidèneglycérol 2 en utilisant le 2-cyanoéthyl-diisopropylchlorophosphoramidite en milieu basique.....	38
2.13 Synthèse d'un phospholipide marqué avec un groupement fluorescent 18.....	39
2.14 Synthèse de 11 par couplage du phospholipide 18 avec le ferrocèneéthanol 10.....	39
2.15 Mécanisme de la réaction d'estérification via formation de trichloroacédimidate.....	41
2.16 Mécanisme de la réaction de Mitsunobu	42
2.17 Synthèse du phosphate trialkylé symétrique 23 à partir du 2-phényléthanol 27.....	43
2.18 Synthèse du phosphate trialkylé non symétrique 24 à partir du 2-phényléthanol 27.....	44

2.19 Tosylation du ferrocèneéthanol 10.....	45
2.20 Synthèse du phospholipide marqué 28 via la <i>N</i> -alkylation de la sulfonamide 18 avec ferrocèneéthanol tosylé.....	46
2.21 Synthèse du phospholipide électroactif 29 via le DOPE 17	47
2.22 Synthèse du phospholipide électroactif 31 via le DOPE 17 et le ferrocènealdéhyde 32.....	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 Longueur des chaînes des acides gras naturels	8
2.1 Résultats de la réaction de formation du dioléoylglycérol 6 via monohydrolyse du triglycéride 19.....	31
2.2 Couplage du phosphate 18 électrophile avec le ferrocèneéthanol 10 nucléophile.....	40
2.3 Résultats de la réaction de couplage du DOPE 17 avec le ferrocènealdhyde 32.....	48

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

Ac	Acétyle
Ac ₂ O	Anhydride acétique
AcOEt	Acétate d'éthyle
aq.	Aqueux
APTS	Acide paratoluènesulfonique
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butyllithium
C _{aro}	Carbone aromatique
CaH ₂	Hydruure de calcium
CAM	Molybdate d'ammonium et de cérium (IV)
cat.	Catalytique
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
CH ₃ CN	Acétonitrile
COSY	« <i>Correlated spectroscopy</i> »
DMSO	Sulfoxyde de diméthyle
éq.	Équivalent
Et	Éthyle
Et ₂ O	Oxyde de diéthyle, éther éthylique
Et ₃ N	Triéthylamine
H _{aro}	Hydrogène aromatique
HETCOR	« <i>Heteronuclear correlated spectroscopy</i> »
Hex	Hexane
Hz	Hertz
HCl	Chlorure d'hydrogène
HF	Fluorure d'hydrogène
IRTF	Infrarouge à transformée de Fourier
DEAD	Azodicarboxylate de diéthyle

DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
K ₂ CO ₃	Carbonate de potassium
KMNO ₄	Permanganate de potassium
<i>m</i>	Méta
Me	Méthyle
MeOH	Méthanol
MgSO ₄	Sulfate de magnésium
N ₂	Azote gazeux
nOe	<i>Nuclear Overhauser effect</i> , anglais, effet nucléaire Overhauser
NH ₄ Cl	Chlorure d'ammonium
NaBH ₄	Borohydrure de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NaH	Hydrure de sodium
NaHCO ₃	Hydrogénocarbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
<i>o</i>	Ortho
<i>p</i>	Para
pf	Point de fusion (°C)
Ph	Phényle
ppm	Partie par million
Rdt	Rendement
RMN	Résonance magnétique nucléaire
SM(IES)	Spectrométrie de masse en ionisation par électrospray
<i>t</i>	Tert, tertiaire
THF	Tétrahydrofurane
t.p.	Température de la pièce
UICPA	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée

En RMN :

δ	Déplacement chimique (ppm)
b	Broad, anglais, large
d	Doublet
dd	Doublet de doublet
dt	Doublet de triplet
q	Quartet
J	Constante de couplage (Hz)
m	Multiplet
s	Singulet
t	Triplet

LISTE DES SYMBOLES

°C	Degré Celsius
cm	Centimètre
%	Pourcentage
g	Gramme
L	Litre
M	Molaire, concentration (mol/L)
M+	Ion moléculaire (en SM)
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz
min	Minute
mL	Millilitre
mmol	Millimole
mol	Mole
m/z	Rapport masse/charge

RÉSUMÉ

Les phospholipides sont des constituants importants de la membrane cellulaire. Ce sont des lipides qui regroupent deux acides gras, du glycérol et du phosphate, liés de façon covalente. Ce projet de recherche vise à synthétiser de nouveaux composés phospholipides avec deux appendices greffés sur la tête phosphate : un groupe ferrocène (sonde électrochimique) ainsi qu'un groupe dansyle (unité fluorescente). Ces biomolécules modifiées pourraient être incorporées dans des liposomes et des membranes biologiques, permettant d'étudier ces superstructures par microscopie de fluorescence et électrochimique, cette dernière utilisant des ultra-microélectrodes. Le microscope pourrait servir à la détection des cellules particulières sécrétant des espèces électroactives à un potentiel donné. Donc, ces molécules ont un intérêt tant en électrochimie, en biochimie qu'en chimie organique. Le défi dans cette recherche est qu'il n'y a aucun phospholipide dans la littérature comportant à la fois les deux fonctions de visualisation : fluorescence et potentiel redox.

La première étape du projet, qui consiste en la production du composé 1,2-dioléoylglycérol, a bien été réalisée en trois étapes seulement et avec un rendement global de 34 % via une mono-protection du glycérol. Le choix de la sonde fluorescente a été porté sur le groupe dansyle pour des raisons de stabilité, de facilité de couplage et de disponibilité. Le chlorure de dansyle a réagi avec l'éthanolamine pour fabriquer l'alcool à coupler, soit le *N*-dansyl-2-aminoéthanol, le phospholipide marqué avec le dansyle a été préparé avec succès avec un bon rendement de 85%. Pour le dernier groupe, soit la sonde électrochimique de cette synthèse, le ferrocène a été choisi selon les prérogatives des collègues électrochimistes, pour son potentiel redox compatible avec les milieux biologiques. Le composé ferrocèneéthanol, préparé par le groupe de Prof. Mauzeroll, a été utilisé comme alcool de couplage. Ensuite, en vue d'obtenir un phospholipide fluorescent et électroactif, deux types de structures ont été visées. Le premier type est un phosphate trisubstitué combinant le 1,2-dioléoylglycérol et les deux alcools sondes, soit le *N*-dansyl-2-aminoéthanol et le ferrocèneéthanol. Malheureusement cette synthèse, tentée via divers protocoles connus, n'a pas fonctionné, particulièrement lors du couplage du partenaire ferrocène. Un deuxième type de composé comprend un phosphate dialkylé cette fois, combinant toujours le 1,2-dioléoylglycérol avec un autre alcool comportant à la fois le groupe dansyle et le ferrocène, en l'occurrence le (*N*-dansyl, *N*-ferrocényléthyl)-2-aminoéthanol. Malheureusement encore, cet alcool bifonctionnalisé n'a pas pu être obtenu par des méthodes usuelles.

Mots clés : Phospholipides, sonde électrochimique, unité fluorescente, ultra-microélectrodes, 1,2-dioléoylglycérol, ferrocèneéthanol, dansyle.

INTRODUCTION

La chimie, science expérimentale, a pour but d'essayer de répondre à des questions, en faisant appel à des modèles expérimentaux crédibles et applicables dans la pratique. La connaissance des rôles joués par les différents types des phospholipides ainsi que des mécanismes permettant d'accomplir toutes les fonctions de la membrane cellulaire constitue un des enjeux majeurs de la biochimie des membranes. À ce propos, l'approche visée dans ce mémoire contribue au développement de nouvelles méthodes de détection par microscopie pour l'étude de la morphologie cellulaire, ce qui peut avoir des implications importantes en médecine, en sciences des matériaux, etc.

D'abord, il y a eu de nombreuses avancées technologiques qui ont permis au microscope de devenir ce qu'il est à présent. Par exemple, en plus de la microscopie optique qui utilise la lumière du spectre visible et qui est encore aujourd'hui largement utilisée, l'avènement de la microscopie à fluorescence, qui est aujourd'hui couramment utilisée en recherche en biologie et dans le milieu médical, a permis d'observer la localisation des molécules particulières qui ont été modifiées par le greffage d'une partie fluorescente. Cette technique permet de visualiser la fluorescence émise par les marqueurs fluorescents introduits dans l'échantillon, particulièrement adaptée pour l'étude d'échantillons qui requièrent une grande sensibilité et sélectivité de détection, dans les cellules vivantes par exemple.¹

Les recherches pour d'autres méthodes de microscopie sélective sont en cours en utilisant différents principes de détection. Entre autre, le nouveau concept du microscope électrochimique, dont la sonde est constituée par une ultramicroélectrode, nous permettrait de détecter sélectivement, en temps réel des analytes électroactifs et même de les quantifier. C'est ce qu'on appelle la microscopie électrochimique à balayage, SECM (pour Scanning ElectroChemical Microscopy).

Une nouvelle génération de microscopes pourrait résulter d'un amalgame de la microscopie à fluorescence et de la microscopie électrochimique, donc, un microscope qui couple deux fonctions pour une double détection. Ce nouveau concept est présentement à l'étude dans le groupe de Mauzeroll, sous l'appellation Bio-SECM.

La préparation de biomolécules marquées est indispensable pour la détection avec le Bio-SECM. En outre, l'étude de la morphologie des membranes cellulaires serait possible grâce au marquage de phospholipides qui vont s'y insérer.

Il existe de nombreux marqueurs cellulaires : teintures, composés radioactifs, fluorescents, etc. Tous présentent des avantages et des inconvénients; le choix du marqueur le plus approprié est en fonction de l'étude menée. Afin de pouvoir suivre avec fiabilité les marqueurs greffés, il apparaît indispensable que le marqueur sélectionné présente un certain nombre de caractéristiques, comme l'affinité pour une (ou des) organelles ainsi que la sélectivité et la sensibilité de détection.

Le premier chapitre présente quelques généralités concernant l'étude de la morphologie des membranes afin de mieux comprendre les intérêts en jeu, puis nous montrerons la nécessité de l'utilisation des marqueurs membranaires. Parmi les

différents types de marqueurs connus, on arrêtera notre choix sur le dansyle comme unité fluorescente et le ferrocène comme sonde électroactive.

Les résultats de notre recherche seront décrits dans le deuxième chapitre de ce mémoire. Le premier volet du travail porte sur la préparation du 1,2-dioléoylglycérol. Le second volet porte sur le marquage des phospholipides dérivés de ce glycérol. Les résultats obtenus ainsi que les défis rencontrés pour chacun des deux volets seront présentés et analysés.

CHAPITRE I

LES COMPOSANTES DE LA MEMBRANE CELLULAIRE ET LES MARQUEURS FLUORESCENTS ET ÉLECTROACTIFS

1.1 La membrane cellulaire

La membrane cellulaire est composée d'un ensemble de molécules telles que les protéines et les phospholipides pour former le modèle en mosaïque fluide. Elle protège la cellule de son environnement, aide à sa croissance, à son développement et finalement à l'organisation et la compartimentation intracellulaire. La membrane est formée d'un ensemble complexe de lipides regroupés en domaines.² (Figure 1.1)

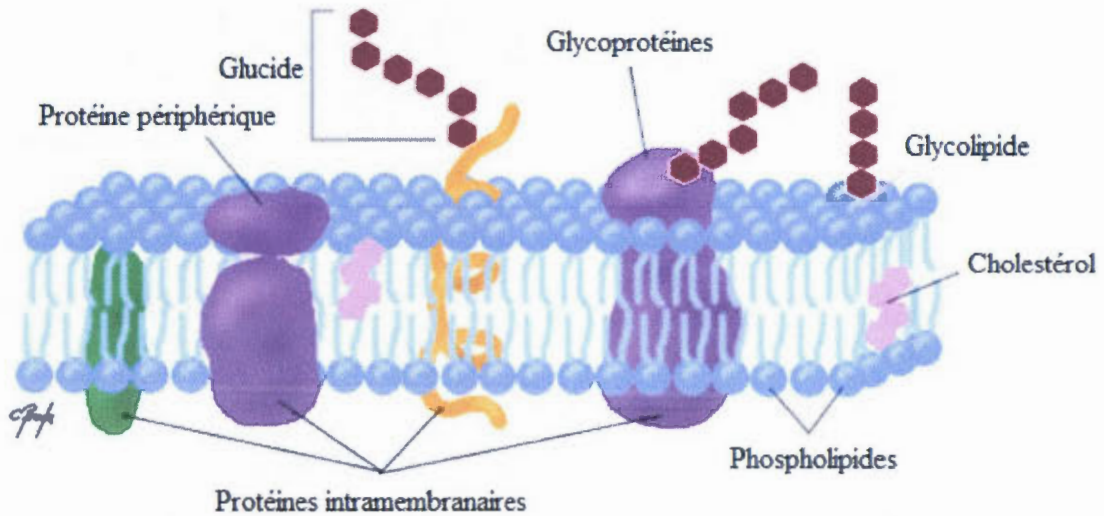


Figure 1.1 Modèle de mosaïque fluide pour décrire les structures membranaires³

1.2 Les liposomes

1.3.1 Définition des liposomes

Liposome est un mot qui provient du grecs: "Lipos" désigne graisse et "Soma" qui désigne le corps. Les liposomes ont été décrits pour la première fois par Bangham et Horne en 1961. Ils ont la forme d'une petite sphère, constituée de phospholipides rassemblés en une couche unique (uni-lamellaires) ou en deux couches (bi-lamellaires). Ils constituent de bons modèles membranaires car ils reproduisent artificiellement des propriétés essentielles des membranes biologiques. En effet, l'étude des liposomes représente un volet important convoité dans l'industrie pharmaceutique, soit d'augmenter la biodisponibilité des médicaments en diminuant leurs toxicités en permettant une livraison ciblée des médicaments au niveau des sites affectés. Par ailleurs, ils sont de plus en plus utilisés en cosmétologie pour atténuer le caractère irritant de certaines crèmes pour la peau. (Figure 1.2)⁴

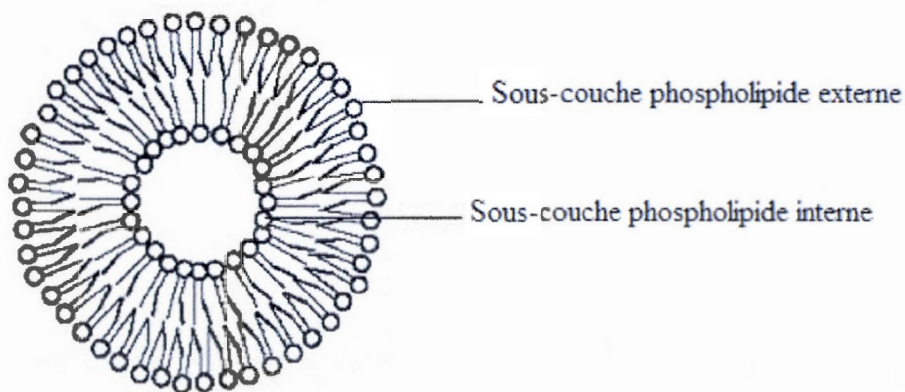


Figure 1.2 Structure générale d'un liposome bi-lamellaire⁵

Pour étudier ce qui se déroule au niveau membranaire, les liposomes représentent une matrice lipidique modèle s'approchant de celle des membranes biologiques.

Les liposomes marqués pourraient être introduits dans la membrane cellulaire biologique grâce à une protéine d'échange de phospholipides.² Cette protéine effectuerait un échange entre les phospholipides de la membrane externe et ceux des liposomes. Par la suite, les phospholipides marqués migreraient de la membrane externe vers la membrane interne. Ce marquage permettrait d'observer le fonctionnement de la membrane par technique de microscopie sélective au marqueur en question : fluorescence, radioactivité, potentiel redox, etc.

1.3.2 Préparation des liposomes

Les liposomes sont préparés avec de phospholipides naturels ou synthétiques. Les phospholipides s'organisent de manière à exposer la tête polaire en contact avec le milieu extérieur ou le cytoplasme et les queues apolaires à l'intérieur de la bicouche. Ainsi, ils peuvent former des micelles uni-lamellaires ou bi-lamellaires.

1.3 Les lipides

Les lipides sont des macromolécules qu'on retrouve aussi bien dans le règne végétal qu'animal. Ils sont peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques. Les cellules vivantes produisent un grand nombre de ces composés, dont la plupart contiennent des acides gras ou des dérivés d'acides gras. Les lipides remplissent des rôles très importants. D'abord, ils entrent dans la composition de la membrane cellulaire sous forme de phospholipides ou de cholestérol, par exemple. Ils constituent également une source d'énergie importante stockée sous forme de triglycérides dans les cellules adipeuses. Enfin, ils ont un rôle

dans la signalisation cellulaire parce qu'ils sont considérés comme un des constituants principaux des hormones.⁶

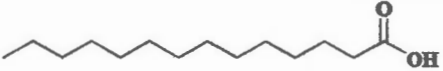
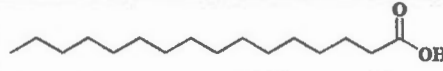
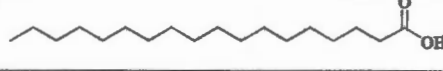
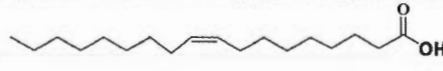

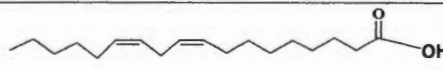
1.3.1 Les acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques et sont les constituants de nombreux types de lipides dont, les triglycérides et les phospholipides. On les retrouve dans les graisses animales, les huiles végétales et dans la composition des membranes. Il existe différents acides gras qui se différencient par la longueur de leur chaîne hydrocarbonée, leur degré d'insaturation, la localisation de celle-ci et finalement par la conformation des doubles liaisons carbone-carbone (cis, trans).⁷

1.3.1.1 Longueur de la chaîne

La longueur d'une chaîne d'acides gras naturels est de 4 à 36 atomes de carbones. On les subdivise souvent en deux classes : Les acides gras à longues chaînes sont constitués de 14 à 24 carbones et les acides gras à très longue chaînes sont constitués de plus de 24 carbones. Le tableau 1.1 montre la longueur de chaînes des acides gras naturels.

Tableau 1.1 Longueur des chaînes des acides gras naturels

<i>Acide Gras</i>		<i>Structure</i>	
Saturés	C4-C14		
	C16 (Acide palmitique)		
	C18 (Acide stéarique)		
Insaturés	Monoinsaturés	Oméga-9 (Acide oléique)	
	Polyinsaturés	Oméga-3 (Acide alpha – linoléique)	
		Oméga-6 (Acide linoléique)	

1.3.1.2 Degré d'insaturation

Acides gras saturés

Un acide gras saturé est constitué d'une chaîne d'atomes de carbones saturés en hydrogène. Donc, toutes les liaisons dans la molécule sont simples, aucun lien double ou triple dans la chaîne de carbones. Les acides gras saturés proviennent :

- Des graisses animales (beurre, crème, graisse de bœuf, etc.)
- Des graisses végétales (huile de noix de coco, huile de palme, etc.)

Ils sont généralement moins fragiles que les acides gras insaturés, supportent mieux la chaleur.

Acides gras insaturés

Un acide gras insaturé est constitué d'une ou de plusieurs doubles liaisons carbone-carbone. Ces acides gras se divisent en deux groupes :

- Monoinsaturés (par exemple les Oméga-9) : proviennent de l'huile d'olive, d'arachides et d'avocat. Ils ne comportent qu'une liaison double C-C par chaîne.
- Polyinsaturés (par exemple les Oméga-6 et Oméga-3) : proviennent de l'huile de soya, de maïs, de tournesol, de lin et de chanvre. Ils comportent deux liaisons double C-C ou plus.

1.3.1.3 Configuration des acides gras

Configuration Cis (Z)

La notation cis ou Z indique que les hydrogènes sur une liaison double carbone-carbone d'une molécule sont du même côté. La double liaison cis crée un coude dans la chaîne carbonée. Les gras naturels insaturés sont tous de configuration cis.

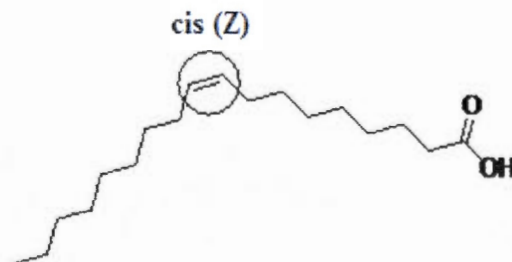


Figure 1.3 L'acide oléique, un acide gras cis.

Configuration Trans (E)

La notation trans ou E indique que les hydrogènes sur une liaison double carbone-carbone de la molécule sont de part et d'autre. La double liaison trans a une structure étendue. La configuration géométrique trans de la double liaison conserve la linéarité des acides gras saturés, provoque une chaîne plus rigide, augmente le point de fusion des acides gras insaturés et change la polarité globale et les propriétés spectrométriques. Les gras trans proviennent surtout des produits industriels d'hydrogénation partielle des acides polyinsaturés (margarines, shortenings).

Une alimentation riche en acides gras trans augmente le taux de mauvais cholestérol et diminue le taux de bon cholestérol dans le sang. Car les acides gras trans sont stables, moins bien métabolisés dans l'organisme, s'accumulent et causent des obstructions d'artères et de veines, causant ainsi les troubles cardiovasculaires.⁸

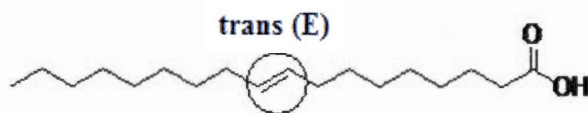


Figure 1.4 L'acide élaïdique, un acide gras trans.

1.3.2 Les phospholipides

1.3.2.1 Définition des phospholipides

Les phospholipides sont les composants principaux de la membrane cellulaire. Ils s'auto-organisent en un double feuillet, ils possèdent une tête polaire hydrophile dirigée vers le milieu extérieur aqueux. Aussi, les phospholipides sont dotés d'une queue constituée de deux chaînes hydrocarbonées hydrophobes, pointant à l'intérieur de la membrane. La bicouche membranaire est organisée principalement sous l'effet des forces hydrophobes. (Figure 1.5)

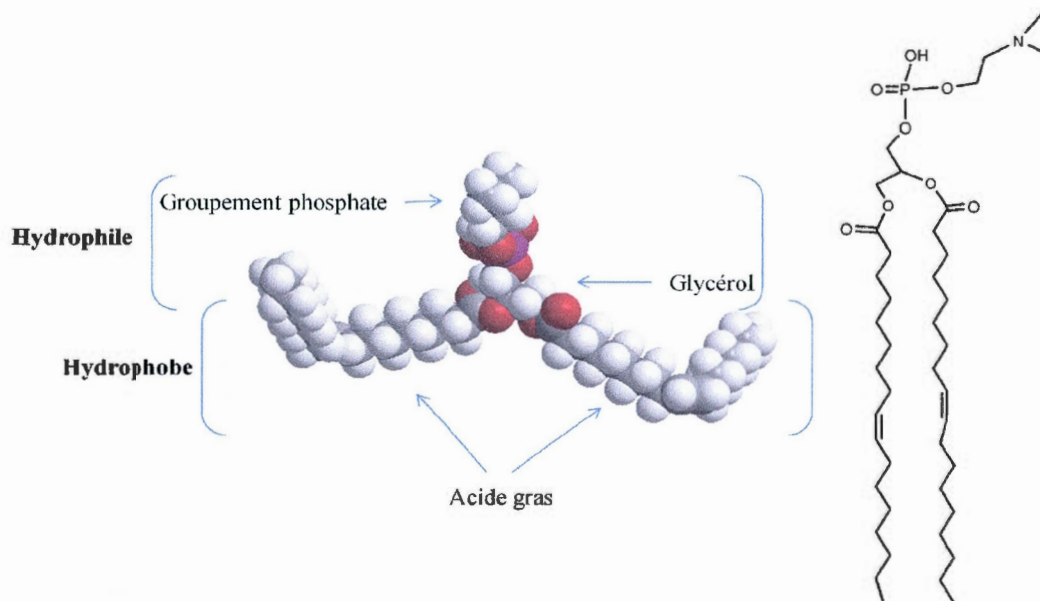


Figure 1.5 Structure d'un phospholipide, ici la choline.

1.3.2.2 Le rôle biologique des phospholipides

Les phospholipides jouent un rôle très important au sein de la cellule.

Ils constituent une interface ou une barrière entre les milieux intra et extracellulaires.

Ils aident la cellule à conserver son intégrité lors des changements morphologiques.

1.3.2.3 La structure des phospholipides

Les phospholipides sont composés d'un glycérol possédant trois fonctions alcools. Les deux de ces fonctions alcools du glycérol sont estérifiées avec des acides gras à longues chaînes (14 à 24 carbones). La troisième fonction alcool primaire est phosphorylée avec une chaîne possédant une fonction amine comme l'éthanolamine ou la choline, par exemple.⁹

1.3.2.4 Les phosphatides

L'acide phosphorique du phospholipide est couplé à un composé azoté. Ce dernier peut être soit une éthanolamine, une sérine ou alors une choline. La partie aminée joue un rôle essentiel dans la signalisation intracellulaire. Elle sert de site de reconnaissance et de fixation pour certaines enzymes et protéines transmembranaires. (**Figure 1.6**)¹⁰

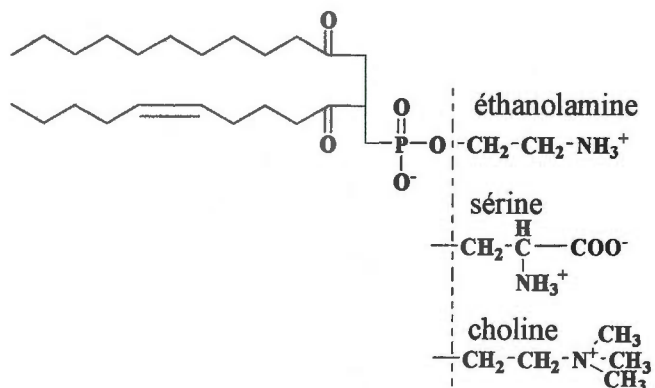


Figure 1.6 Les principaux glycérophospholipides

1.3.2.5 Synthèse des phospholipides

La synthèse d'un phospholipide en laboratoire s'effectue principalement en trois étapes. Dans un premier temps, il s'agit de faire la synthèse des acides gras. En deuxième lieu, il s'agit de phosphoryler l'une des fonctions hydroxyle primaires. Finalement, le couplage de la fonction amino alcool représente la dernière étape de la synthèse. La méthode la plus couramment utilisée fait usage de POCl_3 comme source de phosphate activé. (**Schéma 1.1**)

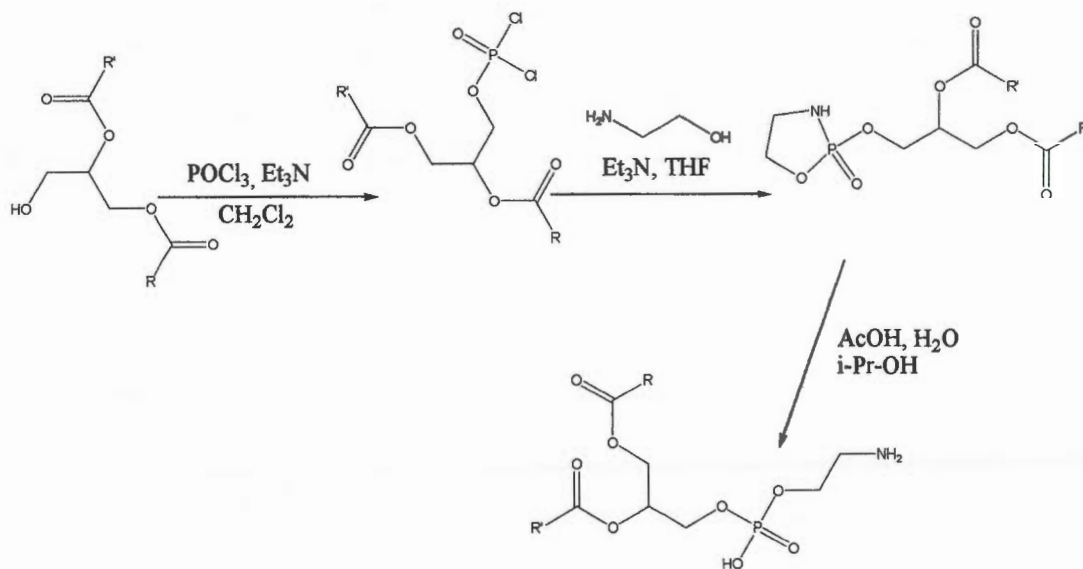


Schéma 1.1 Synthèse d'un phospholipide selon la méthode de Eibl³⁰

1.3.3 Le glycérol

On doit la découverte du glycérol au chimiste suédois, Carl W. Scheele (1779). Le glycérol est un triol dénommé propane-1,2,3-triol selon IUPAC. Il entre de manière principale dans la composition des graisses et huiles sous la forme d'esters appelés glycérides.¹¹

Actuellement, le glycérol (aussi appelé glycérine) est largement utilisé dans l'environnement domestique et industriel : savons, dentifrices, lubrifiants, etc.

1.3.4 Les glycérides

Une mono-estérification sur une fonction alcool du glycérol donne un monoglycéride. Un diglycéride est obtenu par l'estérification de deux des fonctions alcools. De même, un triglycéride est le résultat d'une triestérification sur les trois fonctions hydroxyles.

1.4 Autoassemblages de phospholipides

Les phospholipides se rassemblent en sphères minuscules naturellement lors de leur perturbation. Deux formes sont possibles lors de ce réassemblage, une monocouche qu'on appelle micelles ou une bicouche appelée liposomes. (Figure 1.7)

- Les **monocouches** sont des couches mono-moléculaires avec une tête hydrophile dirigée vers le milieu extérieur aqueux et une queue hydrophobe dirigée vers le milieu lipidique.
- Les **micelles** sont des petites sphères, où dans un milieu aqueux la partie hydrophile va venir au contact de l'eau, et la partie hydrophobe va la fuir.

Les **bicouches** se referment sur elles-mêmes pour former des vésicules sphériques appelées **liposomes**.¹²

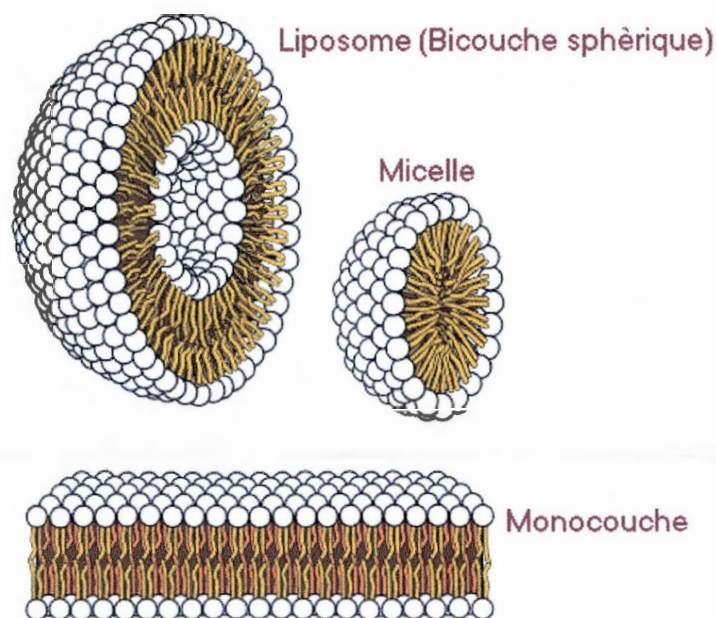


Figure 1.7 Structure des différentes formes de rassemblement des phospholipides¹³

1.5 Intérêt des phospholipides marqués

Les phospholipides marqués par une sonde (un marqueur chimique coloré, fluorescent ou radioactif), peuvent être transformés en liposomes qui peuvent être ensuite intégrés dans la membrane biologique pour l'étude de celle-ci. Les composés fluorescents, comme le dansyle, sont des traceurs hydrosolubles de l'espace aqueux du liposome et permettent l'étude sur la perméabilité et le transport de composés hydrosolubles des liposomes. La figure 1.6 montre la structure de plusieurs composés fluorescents utilisés en microscopie. Dansyl-DPPE (N-(5-diméthylamino-1-naphthalènesulfonyl-1,2-dipalmitoyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine, sel de triéthylammonium); NBD-PE (N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)-1,2-dihexadécanyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine, sel de triéthylammonium)¹⁴; Biotin-DHPE (N-(biotinoyl)-1,2-dihexadécanyl-sn-glycéro-3-

phosphoéthanolamine, sel de triéthylammonium)¹⁵; Fluorescéine-DHPE (N-(fluorescéin-5-thiocarbamoyl)-1,2-dihexadécanoyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine, sel de triéthylammonium)¹⁶.

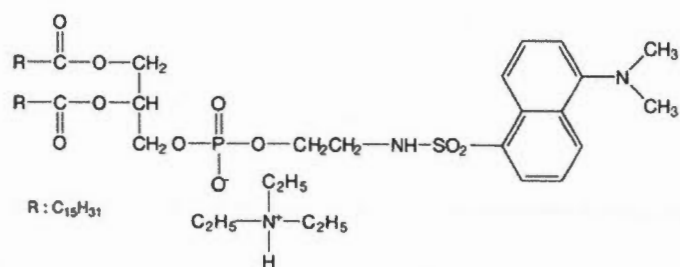
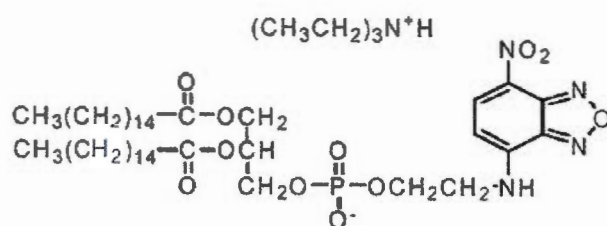
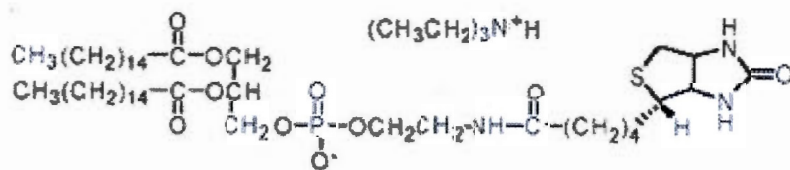
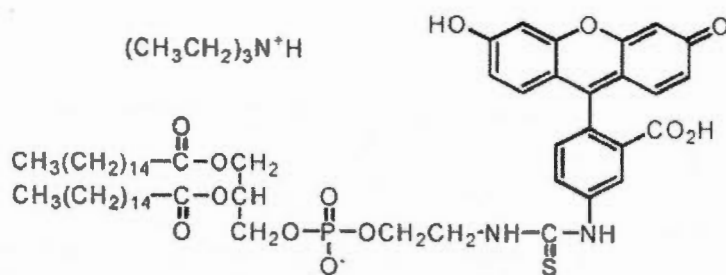
**Dansyl-DPPE****NBD-PE****Biotin-DHPE****Fluorescéine-DHPE**

Figure 1.8 Structure de composés fluorescents utilisés en microscopie

Les sondes chimiques utilisées correspondent essentiellement à des marqueurs de la fonction amine capables de réagir avec des phospholipides aminés, c'est à dire la phosphatidyléthanolamine (PE). La microscopie de fluorescence permet d'examiner les interactions entre les liposomes et les cellules, sans détruire l'échantillon ou avoir à fixer les cellules.

1.6 Le Bio-SECM: un appareil qui combine le microscope électrochimique et le microscope à fluorescence

Au sein du laboratoire du professeur Janine Mauzeroll, le couplage électrochimie-fluorescence sous microscope nous permettra d'étudier des membranes cellulaires selon le potentiel redox appliqué à l'ultra-microélectrode simultanément avec la fluorescence.¹⁷

Le Bio-SECM est un nouveau système apparu dans les années 2000¹⁸. Fabriqué par HEKA (Allemagne), cet appareil combine deux types de microscopes, soit la SECM (microscopie électrochimique) et le microscope inversé à fluorescence. Ce système utilise un microscope inversé comprenant une optique adaptée pour l'imagerie cellulaire qui permet d'observer les changements morphologiques de la cellule et identifier rapidement des cellules avant de faire les analyses électrochimiques. (Figure 1.9)¹⁹.

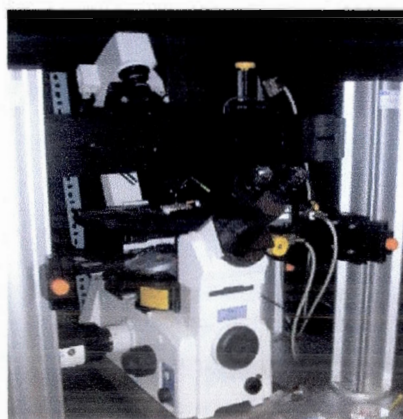
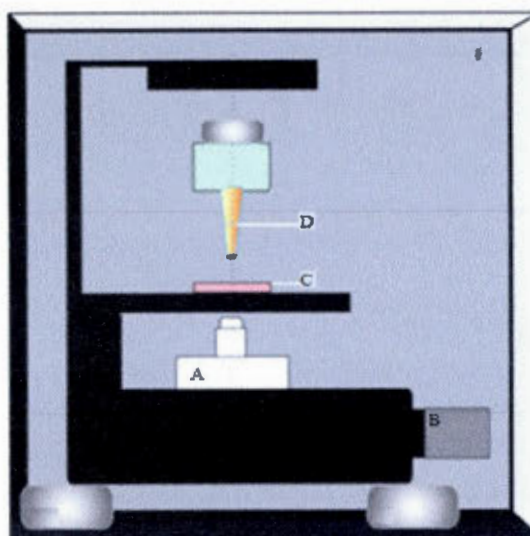


Figure 1.9 Microscope Bio-SECM

Le déplacement de l'électrode est contrôlé par un moteur qui permet la correction de la pente du substrat dans les axes x et y et un autre qui assure le mouvement dans l'axe des z. La distance constante est maintenue grâce à un mécanisme de rétroaction basé sur des forces de cisaillements (shear forces). Cette composante donne la possibilité de s'approcher d'une cellule vivante sans l'endommager. Ce nouveau mode d'analyse donne naissance à la Bio-SECM, qui combine la SECM avec un microscope inversé à fluorescence. (Figure 1.10)²⁰



A : Module de fluorescence

B : Caméra

C : Pile électrochimique

D : Ultramicroélectrode

Figure 1.10 Schéma sommaire d'un microscope Bio-SECM

1.7 La fluorescence, la phosphorescence et les fluorophores

La fluorescence permet l'étude de l'environnement proche des molécules fluorescentes. Elle permet l'analyse de la structure tridimensionnelle ou du mécanisme catalytique. La molécule fluorescente est excitée par une lumière incidente correspondant à la longueur d'onde où elle absorbe ce rayonnement. Cette molécule va émettre rapidement l'énergie absorbée sous forme d'émission de lumière. La longueur d'onde d'émission est toujours plus grande que la longueur d'onde d'absorption. L'une des nombreuses applications de la fluorescence et la phosphorescence est la fluorimétrie, elle constitue une méthode de dosage très couramment utilisé en biochimie.

Le diagramme énergétique de Jablonski décrit le phénomène de fluorescence et phosphorescence. La molécule est initialement excitée par l'absorption d'un photon, par la suite elle retourne à niveau d'énergie plus bas que celui de l'état excité par le phénomène de relaxation. La durée de vie de cette relaxation est très brève. La molécule revient à l'état fondamental par collision avec d'autres molécules ou par émission de lumière. Cette émission correspond à la fluorescence. Le phénomène de phosphorescence correspond au retournement de spin avec passage à un état triplet ou état excité. L'émission de photons et un nouveau retournement de spin permettent le retour à l'état fondamental. **(Figure 1.11)**²¹

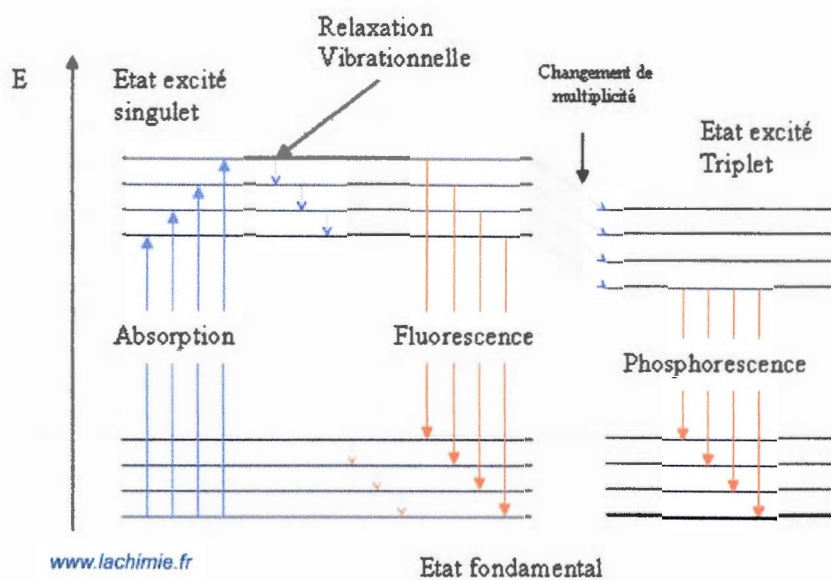
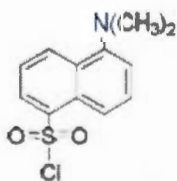
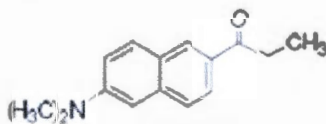


Figure 1.11 Le diagramme de Jablonski

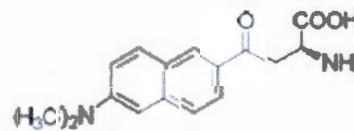
Il existe deux catégories de fluorophores organiques. La première catégorie comprend les molécules ayant une émission inférieure ou égale à 500 nm. Les molécules contenant de l'azote, du soufre, de l'oxygène et du naphthalène fluorophores en font partie. (Figure 1.12)²² La deuxième catégorie de molécules possède une émission plus grande que 500 nm.



Chlorure de dansyle



PRODAN



DANA

Figure 1.12 Différentes classes de naphthalène contenant des fluorophores

Le rendement quantique de fluorescence (ϕ) détermine l'efficacité de l'émission de lumière fluorescente pour une molécule donnée. Le rendement quantique (ϕ) s'exprime par le rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés par la molécule. Les fluorochromes ont des rendements quantiques normalement compris entre 0,1 et 1. Le dansyle possède un ϕ d'environ 0,5.

Le rendement quantique est influencé par les conditions environnementales des fluorochromes comme la force ionique, le pH, la concentration, etc. La valeur maximale du rendement quantique est de 1. La présence d'autres fluorochromes fait diminuer l'efficacité d'émission par le phénomène appelé quenching.

Il existe deux types de quenching, le quenching dynamique et le quenching statique. Le quenching dynamique survient lors des collisions intermoléculaires là où l'énergie électronique sera convertie en énergie cinétique et de vibrations. Le quenching statique est observé lorsque le fluorophore établit un complexe stable et non fluorescent avec une deuxième molécule. Dans les deux cas, la valeur du rendement quantique va décroître et la fluorescence sera faible, voire non détectable.²³

Le dérivé dansyl-DPPE est utilisé comme un marqueur fluorescent dans les méthodes d'immunofluorescence.

Le chlorure de dansyle est un réactif de détection fluorimétrique activé par la lumière UV sur des longueurs d'onde comprise entre 200-800 nm (excitation et émission). Plus précisément le λ_{max} en absorbance du dansyle est de 336 nm et celui-ci émet ensuite lors de sa relaxation du rayonnement à une longueur d'onde (λ) de 511 nm. (Figure 1.13)²⁴

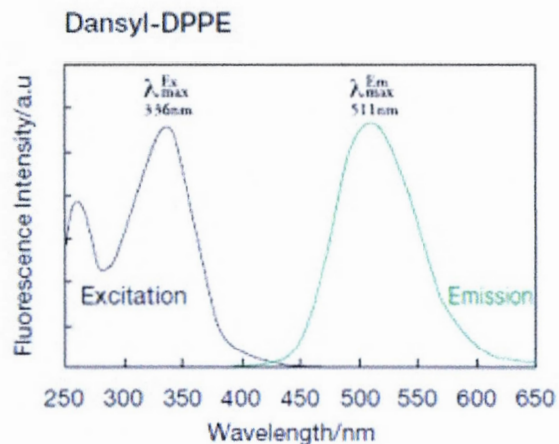


Figure 1.13 Graphique montrant l'excitation et l'émission du dansyl-DPPE

1.8 Molécules électroactives et ultra-microélectrode

Les complexes métalliques sont particulièrement sensibles électrochimiquement et possèdent donc un potentiel d'oxydoréduction. Ils sont facilement oxydés ou réduits dans les approches classiques électrochimiques.

Une attention particulière a été portée au ferrocène et à ses dérivés. Ils possèdent un grand potentiel d'utilisation dans la chimie organométallique et la science des matériaux. Cet intérêt provient du fait que le ferrocène est composé aromatique avec des particularités électroniques et géométriques.²⁵ Au-delà de ses propriétés rédox très attractives, le ferrocène peut être incorporé dans des molécules pour la détection électrochimique de cations, d'anions ou de molécules neutres.

Le ferrocène présente un atome de fer(II) complexé entre deux carbanions cyclopentadiényles (C_5H_5 noté Cp) qui tournent librement autour du centre métallique.²⁶ L'atome de fer dans le ferrocène est à l'état d'oxydation +2 [Fe (II)]. Par contre, l'ion ferrocénium $[Fe(\eta^5-Cp)_2]^+$ est un composé Fe(III). Les complexes qui

respectent la règle des 18 électrons (comme le ferrocène lui-même) sont les plus stables. La stabilité est suggérée par la longueur de la liaison et les réactions rédox du complexe.²⁷ Le ferrocène est utilisé pour introduire une activité électrochimique dans la fonctionnalité de la molécule phospholipide marquée qui est l'objet du mémoire. (Figure 1.14)²⁸

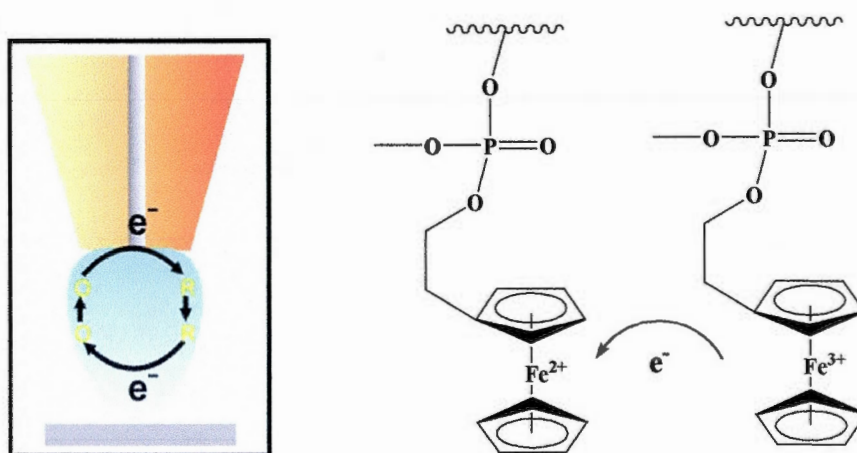


Figure 1.14 A la surface d'une ultra-microélectrode, l'activité du ferrocène est stimulée par l'établissement d'un potentiel rédox

1.9 Les objectifs et le plan de synthèse d'un phospholipide bifonctionnalisé

Ce projet de recherche vise à synthétiser de nouveaux composés phospholipides, avec deux appendices greffés sur la tête phosphate : un groupe ferrocène (sonde électrochimique), ainsi qu'un groupe dansyle (unité fluorescente). Si le temps le permet, ces biomolécules modifiées seront incorporées dans des liposomes et étudiées par microscopie de fluorescence et électrochimique (Bio-SECM) utilisant des ultra-microélectrodes. (Figure 1.15)²⁹

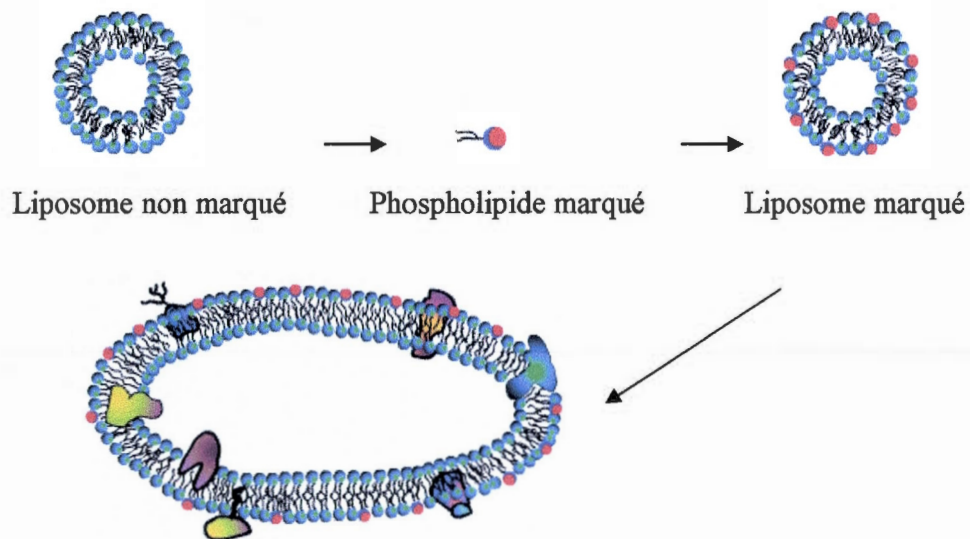
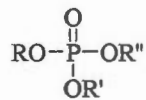


Figure 1.15 Membrane biologique marquée

La première étape de cet objectif est la préparation du substrat de départ, soit le 1,2-dioléolyglycérol qui sera ensuite phosphorylé et marqué par les deux groupements (sonde électrochimique et unité fluorescente). Le défi de cette synthèse est de préparer un trialkylphosphate avec trois groupements R différents sans isoler l'intermédiaire en une seule étape.



Trialkylphosphate

CHAPITRE II

SYNTHÈSE D'UN PHOSPHOLIPIDE COMPORTANT UN APPENDICE FLUORESCENT ET UN APPENDICE ÉLECTROACTIF

Ce chapitre consiste en la préparation du 1,2-dioléoylglycérol **6** afin de poursuivre la synthèse par phosphorylation et greffage des deux groupements marqueurs (l'un fluorescent et l'autre électroactif). Des voies alternatives seront présentées, par exemple en utilisant le DOPE commercialement disponible, qui est déjà phosphorylé et qu'on a tenté de coupler avec les groupes marqueurs.

2.1 Préparation du 1,2-dioléoylglycérol **6**

La première étape de la synthèse envisagée consiste dans la préparation du diglycéride 1,2-dioléoylglycérol. Trois approches ont été évaluées; comportent 5 étapes, 3 étapes et 2 étapes respectivement.

2.1.1 Approche de synthèse du 1,2-dioléoylglycérol **6** à partir du glycérol en cinq étapes

La première méthode tentée pour préparer le 1,2-dioléoylglycérol **6** débiterait avec le glycérol commercial **1**. Dans un premier temps, certaines fonctions hydroxyles du produit de départ, soit le glycérol **1**, ont été protégées par des groupements protecteurs spécifiques. La première protection a été réalisée avec le 2,2-diméthoxypropane, pour former l'acétonide **2** avec un rendement de 49%. Par la suite, l'hydroxyle primaire restant a été protégé à l'aide du chlorure de p-méthoxybenzyle (PMBCl) et de l'hydrure de sodium (NaH) afin d'obtenir l'acétal **3** avec un rendement de 84%. Ensuite, la déprotection de l'acétal **3** a été effectuée à l'aide de l'acide acétique en chauffant, pour former le diol **4** avec un rendement de 87%. Par la suite, l'étape de l'estérification a été effectuée dans des conditions douces (pour éviter la répartition des acides gras sur les différentes fonctions hydroxyles), ce qui a permis l'obtention de l'acide gras **5** avec un très bon

rendement de 94%. Finalement, la dernière réaction, soit la déprotection de l'alcool primaire, a été effectuée dans des conditions oxydantes avec le DDQ, pour obtenir le produit désiré, soit le 1,2-dioléoylglycérol **6**, avec un rendement 61%. (**Schéma 2.1**)

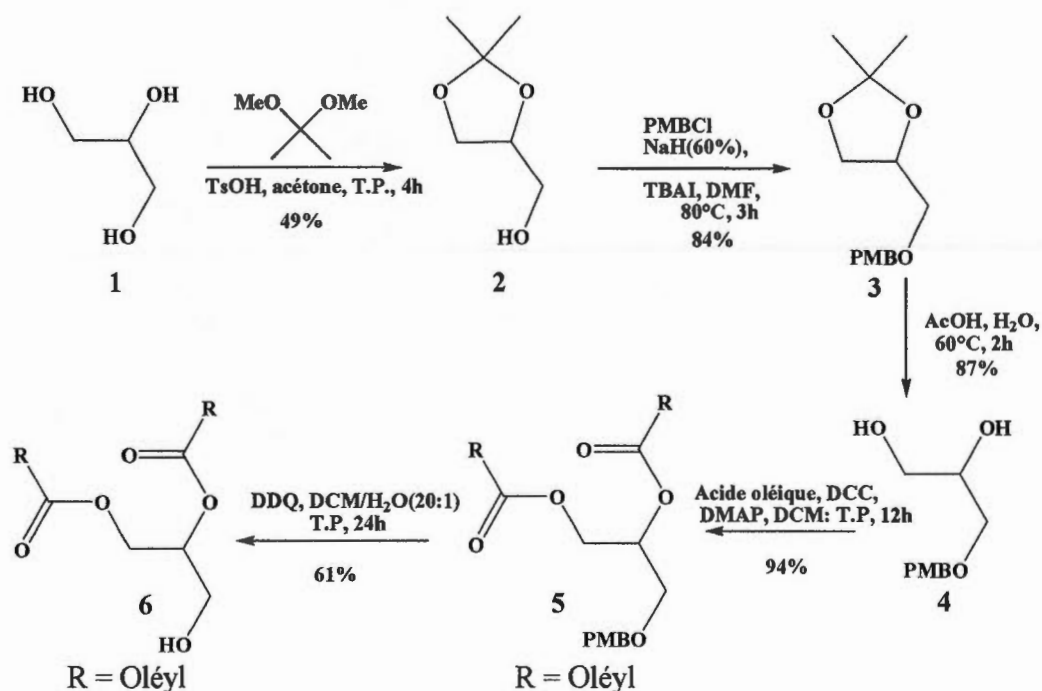


Schéma 2.1 Synthèse du 1,2-dioléoylglycérol **6** via le 1,2-diisopropylidène-glycérol **2**

La réaction utilisée pour cette synthèse est une estérification par couplage entre un acide carboxylique et un alcool. Le mécanisme proposé est décrit ci-dessous. La première étape de ce mécanisme propose la formation d'un intermédiaire actif appelé le *O*-acylisourée. Ce dernier résulte de la réaction entre le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et l'acide carboxylique. Par la suite, le *O*-acylisourée **1** va réagir avec l'alcool **2** pour former le dicyclohexylurée (DCU), ainsi que le produit final, à savoir, l'ester **3**. (**Schéma 2.2**)

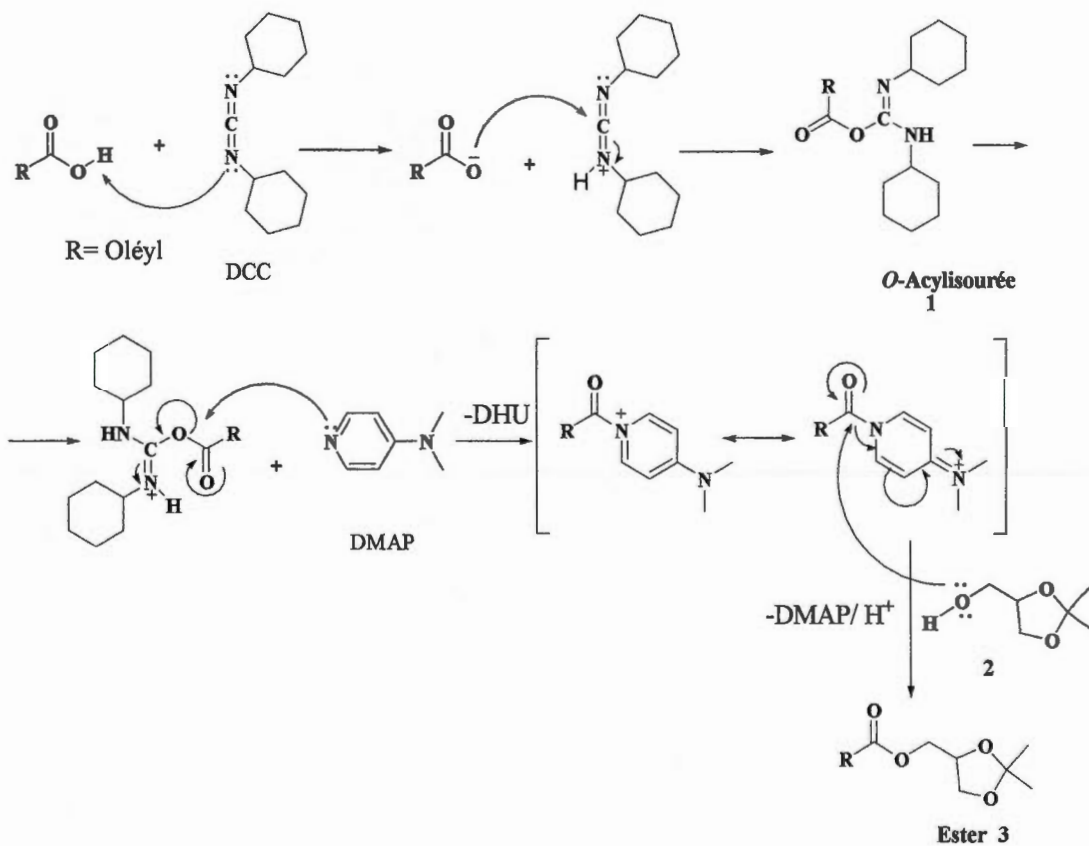


Schéma 2.2 Mécanisme d'estérification entre un alcool et un acide carboxylique favorisée par le DCC

Cette voie de synthèse du 1,2-dioléoylglycérol **6**, qui est assez longue (5 étapes) et pour laquelle le rendement global est plutôt faible (20%), n'a pas été choisie pour la préparation de grandes quantités de 1,2-dioléoylglycérol **6**. Nous avons cherché à mettre au point une méthode plus efficace qui comporterait moins d'étapes et un meilleur rendement global.

2.1.2 Approche de synthèse du 1,2-dioléoylglycérol **6** à partir du glycérol en trois étapes

Une deuxième approche proposée pour préparer le 1,2-dioléoylglycérol **6** débute toujours avec le glycérol **1**. Dans un premier temps, une réaction de monoprotection sélective a été effectuée sur l'une des fonctions hydroxyles primaire du glycérol **1** en utilisant du chlorure de p-méthoxybenzyle (PMBCl), qui a donné le diol **4** avec un rendement de 59%, suivie d'une bis-estérification en excellent rendement des hydroxyles restants avec l'acide oléique. Cette méthode a permis de réduire le nombre d'étapes ainsi que d'augmenter le rendement global de la préparation du 1,2-dioléoylglycérol **6** à 34%. La réaction de monoprotection du triol fonctionne bien puisqu'on a démarré la réaction avec 10 équivalents du glycérol, peu coûteux, et seulement un équivalent de PMBCl. (Schéma 2.3)

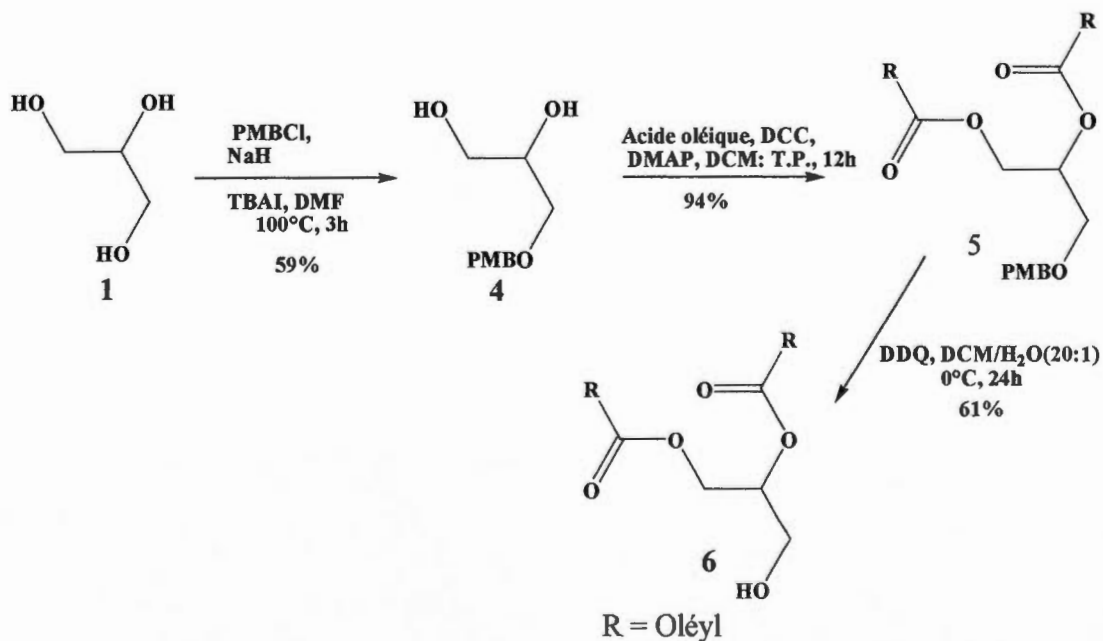


Schéma 2.3 Synthèse du dioléoylglycérol via le glycérol monoprotégé avec un éther de p-méthoxybenzyle

2.1.3 Approche de synthèse du 1,2-dioléoylglycérol **6** à partir du glycérol **1** en deux étapes

Une troisième approche pour préparer le 1,2-dioléoylglycérol **6** qui débiterait aussi avec le glycérol **1**, toujours avec l'objectif de diminuer le nombre d'étapes ainsi que d'augmenter le rendement global. Dans un premier temps, une réaction de tri-estérification des hydroxyles du glycérol **1**, avec l'acide oléique, a été effectuée. La méthode d'estérification par l'activation avec un agent de couplage carbodiimide, a donné le triglycéride **19** avec un bon rendement de 81%. (**Schéma 2.4**)

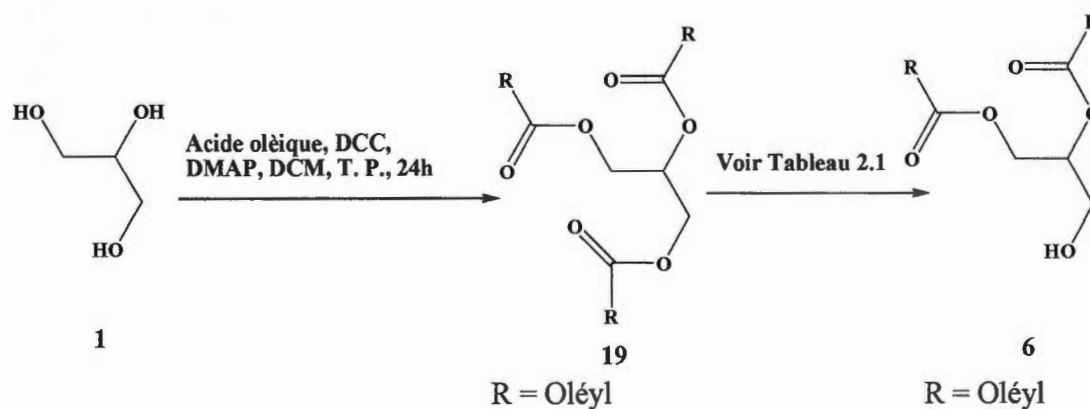


Schéma 2.4 Synthèse du dioléoylglycérol par estérification formant avec le glycérol les triglycérides

Dans un deuxième temps, une réaction de monohydrolyse sélective a été tentée pour libérer la position 1 du triglycéride à l'aide de différentes méthodes décrites dans le **tableau 2.1**. Malheureusement, les conditions de la littérature n'ont pas fonctionné avec notre composé, aucun produit désiré **6** n'a été obtenu et seulement des produits de dégradation ont pu être observés. (**Tableau 2.1**).

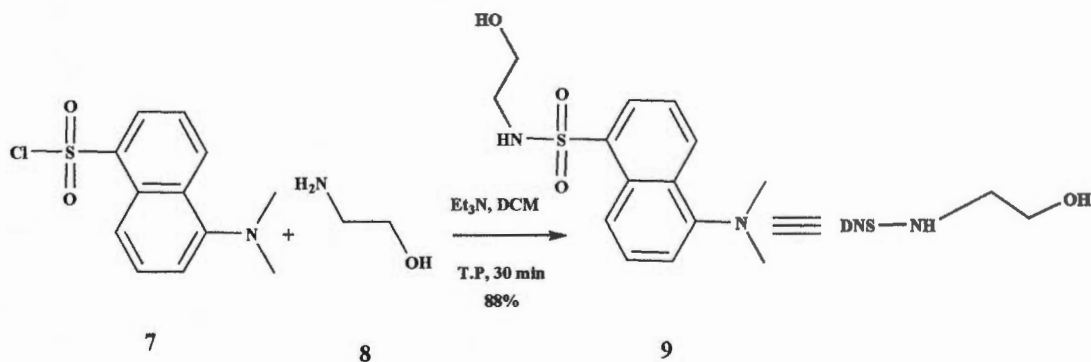
Tableau 2.1 Résultats de la réaction de formation du dioléoylglycérol 6 via monohydrolyse du triglycéride 19

Réaction	Réactifs	Solvant	Temps/ Température	Rendement 6 (%)
1	K ₂ CO ₃	MeOH	48 h / T.P.	0
2	NaOH	H ₂ O	24 h / T.P.	0
3	K ₂ CO ₃	MeOH	3 h / reflux	0
4	NaOH	H ₂ O/MeOH	48 h / T.P.	0
5	NaOH	H ₂ O/MeOH/THF	24 h / T.P.	0
6	H ₂ N-NH ₂ · CH ₃ CO ₂ H	EtOH/Tol	48 h / 60°C	0

En raison de la difficulté rencontrée pour hydrolyser l'oléoate excédentaire, la voie de synthèse en deux étapes du 1,2-dioléoylglycérol 6 via le glycérol a été abandonnée. La méthode en 3 étapes, consistant en la monoprotection avec PMB, a été utilisée pour préparer 6 en bonne quantité, de l'ordre de quelques grammes.

2.2 Préparation du *N*-dansylaminoéthanol

La préparation de la section fluorescente a été effectuée par une réaction de substitution nucléophile (S_N2), à partir du chlorure de dansyle 7 commercial et de l'éthanolamine 8 commercial dans un milieu basique³⁰, pour donner l'agent de dérivation fluorescent *N*-dansylaminoéthanol 9 avec un rendement de 88%. (Schéma 2.5)

Schéma 2.5 Synthèse du *N*-dansylaminoéthanol

2.3 Phosphorylation du 1,2-dioléoylglycérol 6

La phosphorylation consiste en l'assemblage autour d'un phosphate, des trois molécules suivantes : le 1,2-dioléoylglycérol 6, le dansylaminoéthanol 9 et le ferrocèneéthanol 10. Pour la réaction de phosphorylation, plusieurs approches tirées de la littérature ont été envisagées pour former le phospholipide marqué 11.

(Schéma 2.6)

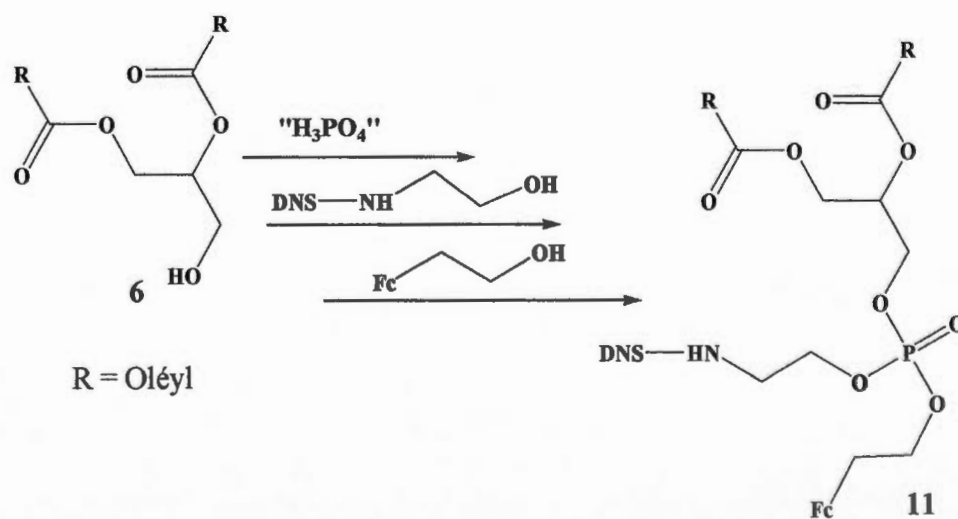


Schéma 2.6 Synthèse du phospholipide 11

Comme il vient d'être présenté, le 1,2-dioléoylglycérol **6** et le dansylaminoéthanol **9** ont été synthétisés au sein du laboratoire du Prof. Chapdelaine. Le ferrocèneéthanol **10**, quant à lui, a été préparé au laboratoire du Pr. Janine Mauzeroll à partir de l'acide ferrocèneacétique **33**, du borane (BH_3) et du THF. Le mélange a été porté à reflux pour donner le ferrocèneéthanol **10** avec un excellent rendement de 97%. (Schéma 2.7)

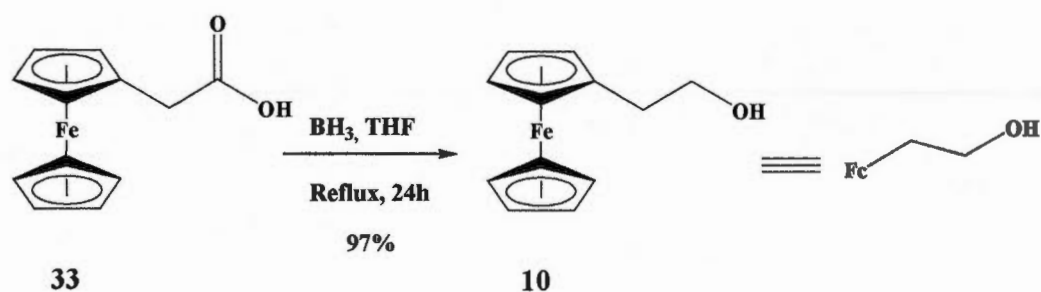


Schéma 2.7 Synthèse du ferrocèneéthanol **10**

2.3.1 Phosphorylation utilisant du trichlorure de phosphoryle

À partir du 1,2-dioléoylglycérol **6**, une phosphorylation avec le trichlorure de phosphoryle suivie de l'ajout d'éthanolamine **8** en milieu basique, a été envisagée pour obtenir l'intermédiaire cyclique **12**. Ensuite l'ajout du ferrocèneéthanol **10** et du chlorure de dansyle **7** pourrait former la molécule finale **11**³¹. Cette méthode a échoué mais il est ardu de savoir à quelle étape, vu que la séquence des réactions impliquées s'effectue sans que l'on puisse isoler l'intermédiaire réactionnel **34**. Il est certain en tout cas que le composé **12**, qui devrait être isolable (Eibl)³¹ n'a pas été formé. (Schéma 2.8)

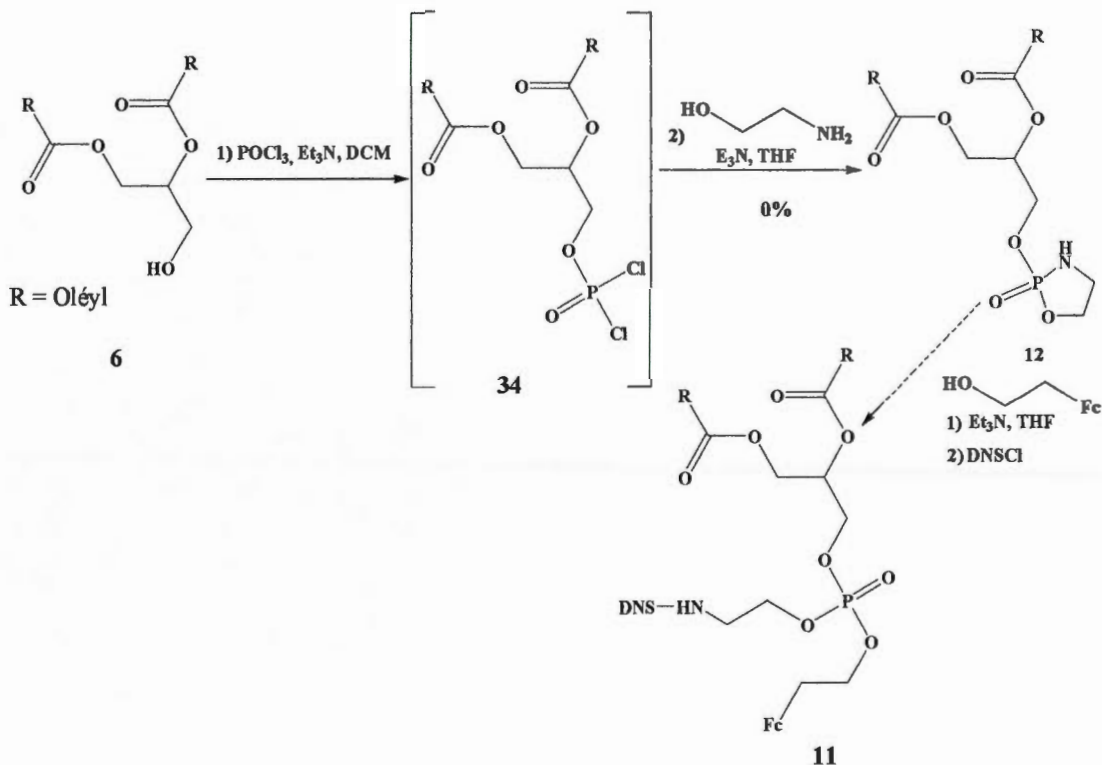


Schéma 2.8 Préparation du composé 11 via la triestérification du trichlorure de phosphoryle avec intermédiaire isolable

Une autre tentative de phosphorylation du 1,2-dioléoylglycérol **6** par le POCl_3 , suivie par la dialkylation successive du phosphate résultant (sans isolation d'intermédiaires), a été testée. À partir du trichlorure de phosphoryle en milieu basique, on piège l'intermédiaire **34** (présument formé) en passant directement à l'étape suivante en ajoutant le dansylaminoéthanol **9** suivi du ferrocèneéthanol **10**. L'intermédiaire **34** de cette étape serait sensible à l'hydrolyse et ne pourrait pas être isolé. La réaction n'a pas fonctionné car on n'a retrouvé aucune trace de **11**. Il était connu qu'il est difficile de préparer des phospholipides, particulièrement trialkylés, ce qui implique trois étapes comportant des intermédiaires non-isolables.³² (Schéma 2.9)

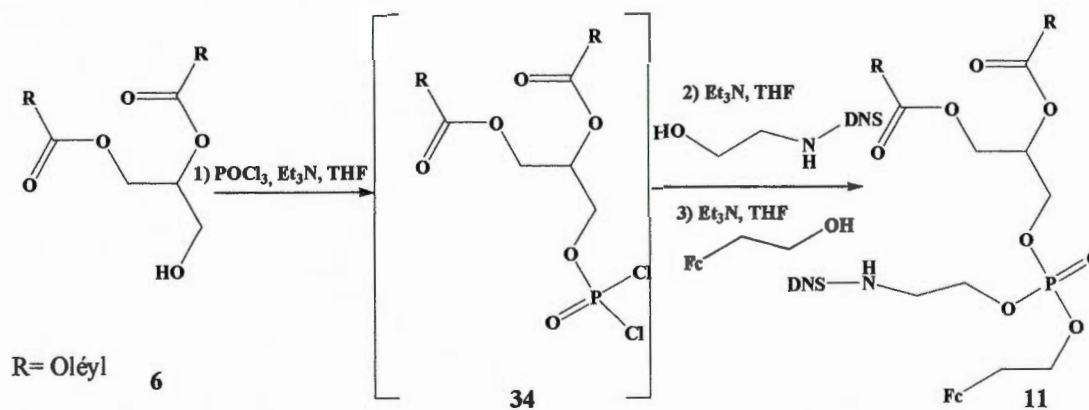


Schéma 2.9 Préparation du composé 11 via une triestérification successive du trichlorure de phosphore sans intermédiaire isolable

2.3.2 Phosphorylation utilisant du chlorophosphate diphenylique

Après avoir échoué avec la méthode précédente, on a procédé avec une nouvelle stratégie qui pouvait nous permettre d'isoler l'intermédiaire après phosphorylation. À cet effet, on a utilisé du chlorophosphate de diphenyle pour phosphoryler le 1,2-dioléoylglycérol **6**, ce qui nous a donné le phosphate **13** avec un très bon rendement de 91%.³³ Mais l'étape qui suit, qui consiste dans le remplacement des deux groupes phénoxyes par les deux groupements marqueurs (dansylaminoéthanol et ferrocèneéthanol) pour former le produit attendu, a échoué. En effet, substituer les groupements OPh était une autre problématique, puisque ce composé **13** est très stable. (Schéma 2.10)

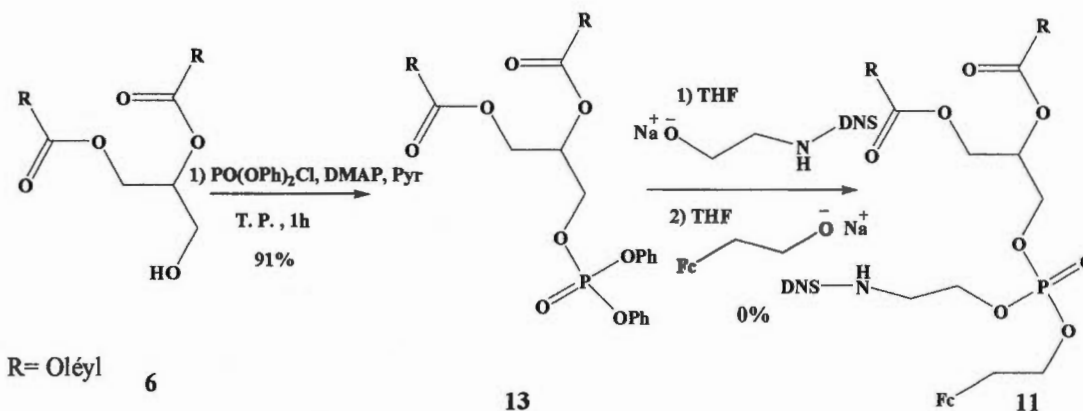


Schéma 2.10 Trialkylation du phosphore via le chlorophosphate diphenylique

2.4 Phosphorylation du (rac.)-1,2-di-*O*-isopropylidèneglycérol 2

2.4.1 Phosphorylation utilisant du trichlorure de phosphoryle

Préparer le trialkylphosphate 11 représente un défi de taille que l'on n'a pas pu relever, comme l'indiquent les plusieurs essais de phosphorylation de la section précédente. Il a été supposé que l'encombrement du groupement 1,2-dioléoylglycérol 6 pourrait être la cause de cet échec. C'est pour cette raison que la phosphorylation a été tentée plus tôt dans la synthèse, soit sur le 1,2-di-*O*-isopropylidèneglycérol 2, qui apparaît moins encombré comme substrat. Par la suite, le produit pourrait être transformé en phospholipide marqué en dernière étape par l'ajout des acides gras.

La méthode de phosphorylation avec le trichlorure de phosphoryle en milieu basique a été testée³⁴. Aucun produit désiré n'a été isolé, donc on ne peut conclure que l'explication de l'encombrement causé par les acides gras est juste puisque celle-ci n'a pas été prouvée avec cette méthode et qu'on n'a toujours pas d'explication juste pour laquelle aucune trialkylation sur le phosphore n'a été réussie jusqu'à maintenant

dans notre projet. La seule hypothèse envisagée est qu'il est difficile de préparer des phospholipides, particulièrement trialkylés, qui implique de nombreuses étapes comportant des intermédiaires non-isolables. (Schéma 2.11)

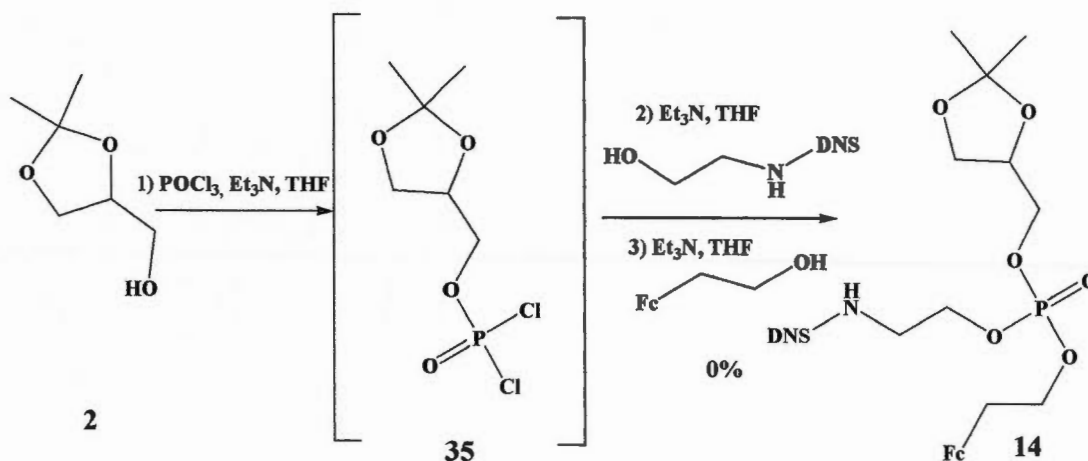


Schéma 2.11 Préparation du phosphate trialkylé 14 via phosphorylation du 1,2-di-*O*-isopropylidène-glycérol 2

2.4.2 Phosphorylation avec du 2-cyanoéthyl-diisopropylchlorophosphoramidite

On a ensuite tenté la phosphorylation avec le 2-cyanoéthyl-diisopropylchlorophosphoramidite en milieu basique³⁵ sur le 1,2-di-*O*-isopropylidène-glycérol 2, avec la même stratégie que la méthode ci-haut, la différence est qu'on est censé pouvoir isoler l'intermédiaire qui serait une molécule stable. Pourtant, aucune trace du produit désiré 15 n'a été détectée. (Schéma 2.12)

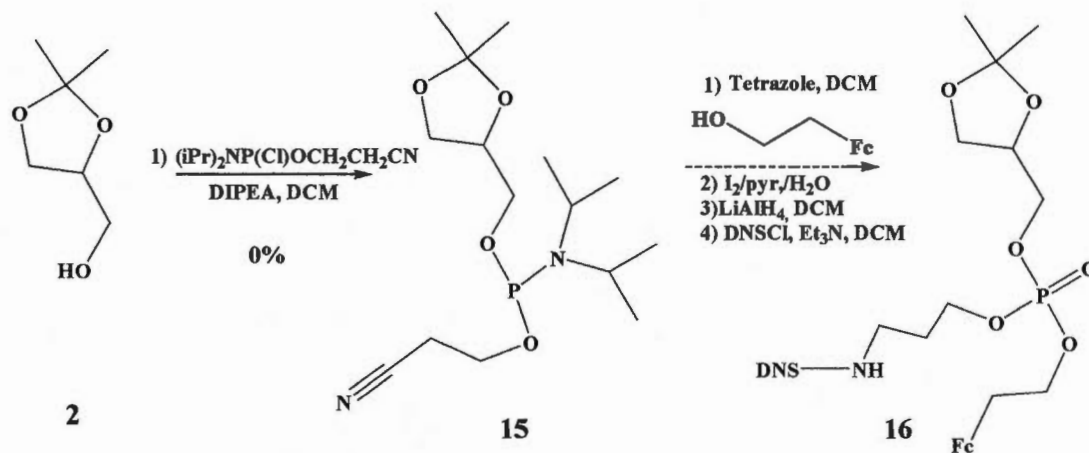


Schéma 2.12 Phosphorylation du 1,2-di-O-isopropylidène-glycérol 2 en utilisant le 2-cyanoéthyl-diisopropylchlorophosphoramidite en milieu basique

2.5 Synthèse d'un phospholipide marqué avec un groupement fluorescent à partir du 1,2-dioléoyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine (DOPE) 17

Ayant tenté sans succès la phosphorylation du 1,2-dioléoylglycérol 6, nous sommes passés à une autre stratégie, soit l'utilisation d'un produit disponible commercialement, le

DOPE 17. Ce composé étant déjà phosphorylé (c'est un phospholipide ayant un lien phosphate libre), nous évitons la problématique de la réaction de phosphorylation. Comme inconvénient avec cette stratégie, on note le prix élevé du DOPE et le fait qu'il était intéressant de développer notre propre synthèse de phospholipides pour avoir accès à une grande diversité de ceux-ci. Néanmoins, il est important à ce niveau-ci de tester le principe du double marquage sur un phospholipide, en l'occurrence le dioléoylglycérophosphate. Pour ce faire on a utilisé le chlorure de dansyle 7 pour réagir avec le groupement amino terminal du DOPE 17³⁶, ce qui a permis de marquer le phospholipide avec un groupement fluorescent 18 avec un rendement de 77%. Il est intéressant de noter que cette molécule pourrait déjà être utilisée dans la détection des membranes biologiques par microscopie à fluorescence. (Schéma 2.13)

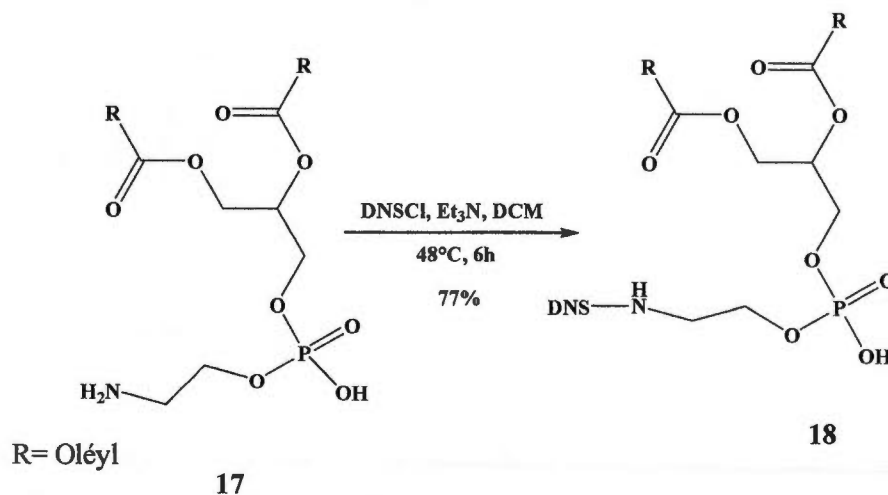


Schéma 2.13 Synthèse d'un phospholipide marqué avec un groupement fluorescent 18

2.6 Tentative de couplage avec le ferrocèneéthanol 10

La dernière étape de cette synthèse est le marquage du phospholipide fluorescent obtenu précédemment 18, avec le ferrocèneéthanol 10 comme unité électrochimique dans la molécule 11. (Schéma 2.14)

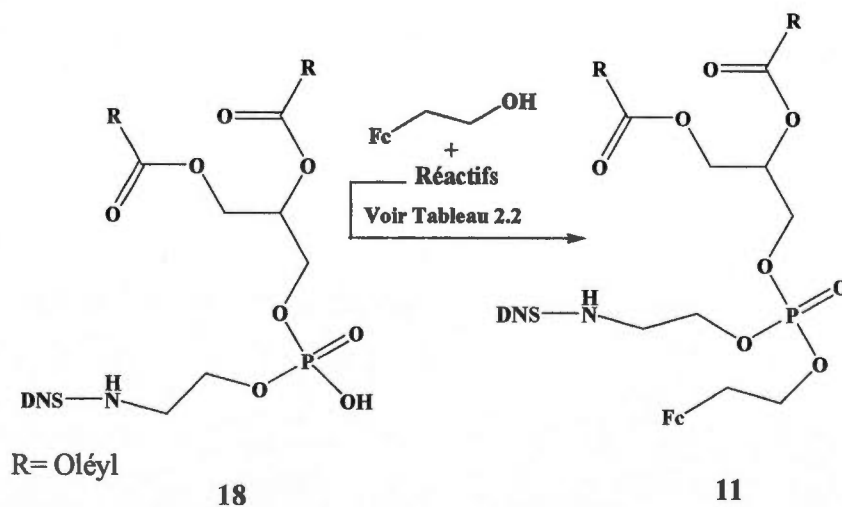


Schéma 2.14 Synthèse de 11 par couplage du phospholipide 18 avec le ferrocèneéthanol 10

Plusieurs méthodes d'estérification via une réaction de substitution nucléophile S_N2 , utilisant le ferrocèneéthanol activé comme un électrophile, ont été testées. (Tableau 2.2) L'activation de l'alcool **10** a été tentée aussi via tosylation (avec le chlorure de tosyloxy, ligne 1).³⁷ Le composé tosylate a été formé mais non isolé, le phosphate **18** a été ajouté pour agir en nucléophile. Malgré 3 jours de réaction, aucun produit de couplage **11** n'a été observé.

Tableau 2.2 Couplage du phosphate (**18**) électrophile avec le ferrocèneéthanol **10** nucléophile

Réaction	Réactifs		Solvant	Temps/T°	Rendement composé 11 (%)
1	p-TsCl	Pyr	1-méthylimidazole	3 jours / T.P.	0
2	Cl ₃ CCN	Pyr	DCE	4h / 100°C	0
3	Cl ₃ CCN	Tol	DMF	16h / 60°C	0
4	DEAD	PPh ₃	THF	3 jours / T.P.	0

Par la suite, du trichloroacétonitrile a été utilisé pour transformer l'hydroxyle libre du ferrocèneéthanol **10** en un acétimidate protoné (bon électrophile) pour qu'il soit substitué par l'hydroxyle libre de l'acide phosphorique **18**.^{37, 38} Malheureusement, le composé **11** n'a pas été observé, donc le couplage n'a pas fonctionné. (Lignes 2 et 3)

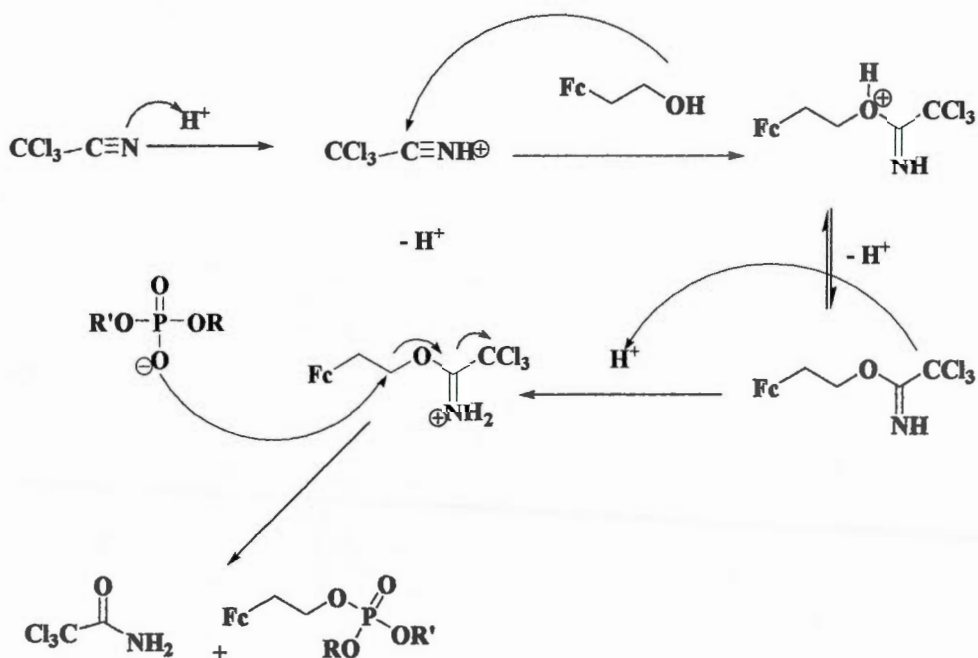


Schéma 2.15 Mécanisme de la réaction d'estérification via formation de trichloroacédimidate

Enfin, la réaction de Mitsunobu a été envisagée. Cette réaction permet de remplacer le groupement hydroxyle par divers nucléophiles, en utilisant l'azodicarboxylate de diéthyle (DEAD) et la triphénylphosphine (TPP). Les nucléophiles peuvent être, soit des acides carboxyliques, des phénols, des ions halogénures, etc.³⁹ Trois étapes décrivent le mécanisme de la réaction de Mitsunobu. La première étape consiste en l'activation du TPP par le DEAD pour former un adduit P-N zwitterionique, appelé la bétaine de Mitsunobu. Cette dernière est protonée en présence d'acide pour former un sel de phosphonium. En second lieu, l'alcool est activé pour former un sel d'oxyphosphonium et subit une substitution nucléophile par le phosphate **18** et. Finalement, il s'en suit une réaction S_N2 pour donner le produit final phosphate, l'oxyde de triphénylphosphine, et l'hydrazine réduite.⁴⁰ Là encore, avec des conditions usuelles de réaction de Mitsunobu, il n'a pas été permis d'observer la formation du composé **11**. (Ligne 4)⁴¹

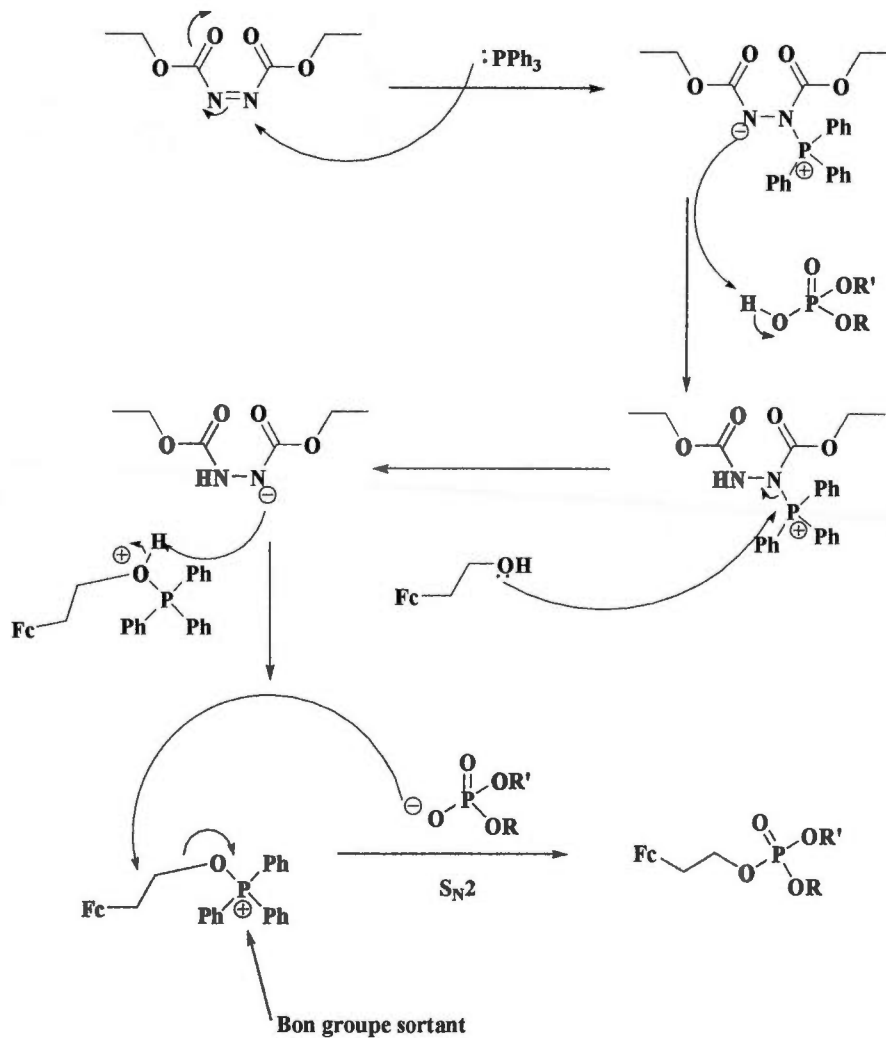


Schéma 2.16 Mécanisme de la réaction de Mitsunobu

2.7 Formation de phosphates trialkylés modèles à partir du 2-phényléthanol 27 et du trichlorure de phosphore

Étant donné la difficulté à synthétiser le phospholipide 11, qui est un phosphate trialkylé, il était nécessaire de valider notre méthode de phosphorylation. Pour ce faire on a utilisé des alcools beaucoup moins encombrés que le 1,2-dioléoylglycérol 6, cela permettrait aussi d'optimiser nos conditions de phosphorylation. En premier

lieu un phosphate trialkylé symétrique a été préparé à partir du 2-phényléthanol **27** en excès comme substrat de départ et du trichlorure de phosphoryle. (**Schéma 2.17**). Le produit trialkylé **23** a été obtenu avec un rendement de 32% après seulement 1h de réaction.

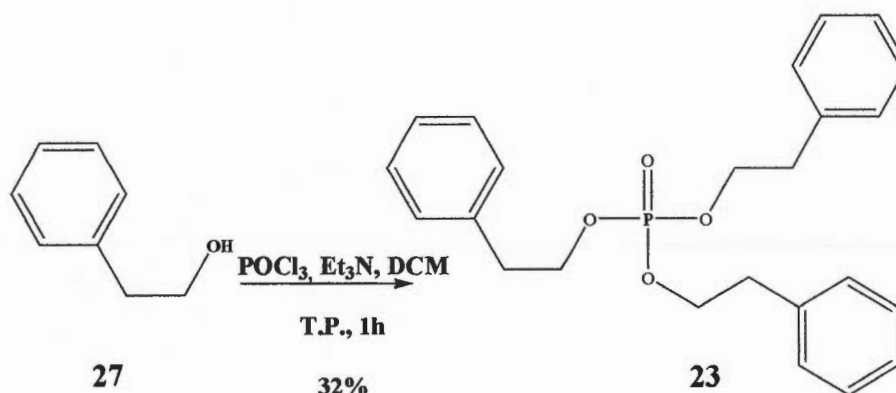


Schéma 2.17 Synthèse du phosphate trialkylé symétrique **23** à partir du 2-phényléthanol **27**

Par la suite, nous avons voulu vérifier si nos conditions permettraient la synthèse d'un phosphate trialkylé, mais comportant des groupes alcoyles différents par une réaction de phosphorylation avec le trichlorure de phosphoryle. La réaction a été effectuée à partir du 2-phényléthanol **27** pour donner un intermédiaire non isolable qui sera piégé par deux autres alcools. En utilisant l'éthylèneglycol, le composé **24** a été isolé, quoiqu'avec un très faible rendement de 13%. (**Schéma 2.18**) Noter que le composé cyclique, intégrant une seule molécule d'éthylèneglycol normalement favorisé par des facteurs entropiques, n'a pas été observé.

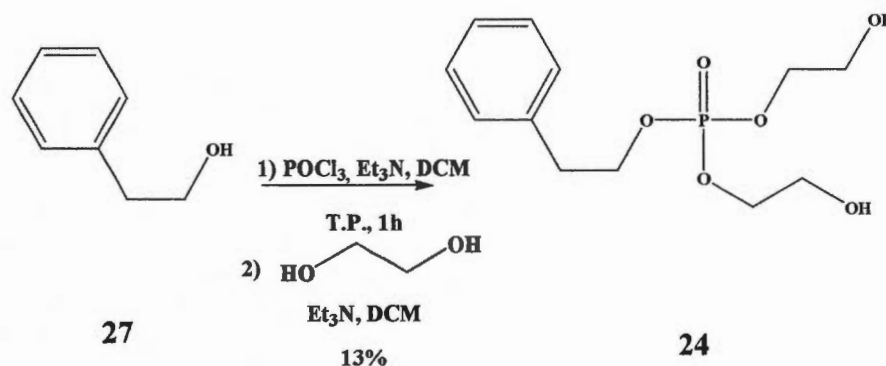


Schéma 2.18 Synthèse du phosphate trialkylé non symétrique 24 à partir du 2-phényléthanol 27

On peut conclure ici que les phosphates trialkylés peuvent être obtenus avec le $POCl_3$, mais en faible rendement. On peut penser que l'objectif de départ, qui était de préparer un phospholipide doublement marqué, sous forme de phosphate trialkylé, était peut-être trop ambitieux vu l'encombrement, mais peut-être aussi la stabilité inconnue, du dioléoylglycérol ainsi que des marqueurs utilisés dérivés du ferrocène et du dansyle. Il serait probablement plus facile de générer des phospholipides marqués, mais sous forme de phosphate dialkylés.

2.8 Tentative de greffage des deux groupements marqueurs sur l'amine terminale du DOPE

Comme les phosphates trialkylés dérivés du DOPE n'ont pas pu être préparés, il est intéressant d'envisager des phosphates dialkylés à la place, mais qui contiendraient quand même à la fois les marqueurs dansyle et ferrocène. Les phosphates dialkylés sont moins encombrés d'une part, mais d'autre part, le fait qu'un des oxygènes sur le phosphate reste libre et anionique ferait que ces dérivés auraient probablement mieux tendance à se comporter comme un phospholipide au point de vue biophysique, que des phosphates trialkylés. L'idée est de greffer les 2 groupes marqueurs sur l'azote terminal du DOPE.

Premièrement, on a activé le ferrocèneéthanol **10** en le tosylant pour le greffer sur le DOPE, modifié ou non. La réaction a été effectuée selon les conditions suivantes : le ferrocèneéthanol **10** a été mis en présence de chlorure p- toluènesulfonique et de DMAP pour donner le produit désiré **25** avec un rendement moyen de 63%. (Schéma 2.19)

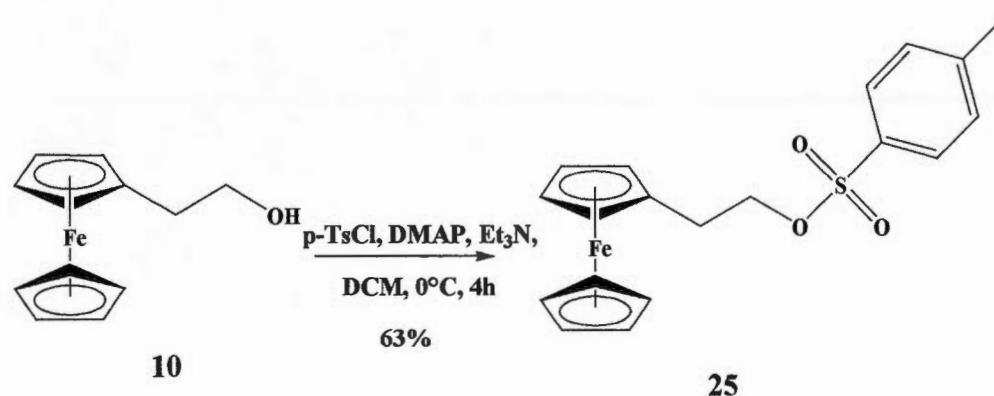


Schéma 2.19 Tosylation du ferrocèneéthanol **10**

2.8.1 Tentative de couplage du ferrocèneéthanol tosylé avec le phospholipide fluorescent **18**

On a essayé de faire réagir le composé **18** au niveau de l'amine secondaire, qui devrait être normalement un bon nucléophile, en ajoutant le ferrocèneéthanol tosylé **25** pour former le composé **28**. Malheureusement, aucun produit désiré n'a été récupéré, même que le produit de départ est demeuré intouché. (Schéma 2.20) Peut-être que la réaction ne s'est pas effectuée parce que l'atome d'azote n'est pas aussi nucléophile que prévu, étant donné qu'il est inclus dans un sulfonamide. En effet, dans la sulfonamide **18**, le doublet d'électrons libres de l'azote est délocalisé par résonance vers la sulfone, qui est un groupe électroattracteur.

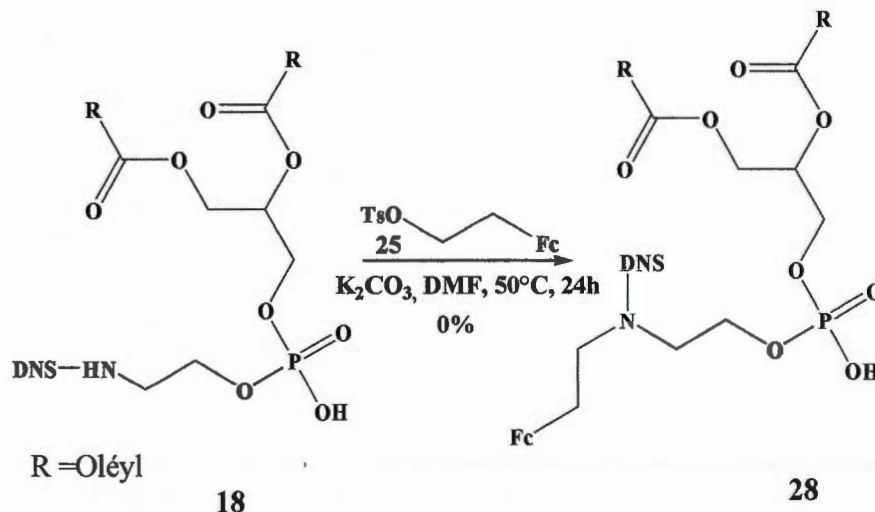


Schéma 2.20 Synthèse du phospholipide marqué 28 via la *N*-alkylation de la sulfonamide 18 avec le ferrocèneéthanol tosylé

2.8.2 Tentative de couplage du ferrocèneéthanol tosylé avec le DOPE 17

On a vu jusqu'ici que le couplage du ferrocèneéthanol, que ce soit au niveau du phosphate (section 2.6) ou au niveau de la sulfonamide **18** (sous-section précédente) s'est avéré problématique. Il fallait savoir dans ce dernier cas si le couplage du ferrocèneéthanol tosylé **25** à une amine libre, comme dans le DOPE, pouvait fonctionner. En effet l'amine primaire devrait être plus réactive que la sulfonamide correspondante. Dans un premier lieu, une réaction de substitution nucléophile a été effectuée pour former le phospholipide électroactif **29**, à partir du DOPE **17** et du composé tosylé **25**. Malheureusement, le produit désiré **29** n'a pas été obtenu. (Schéma 2.21)

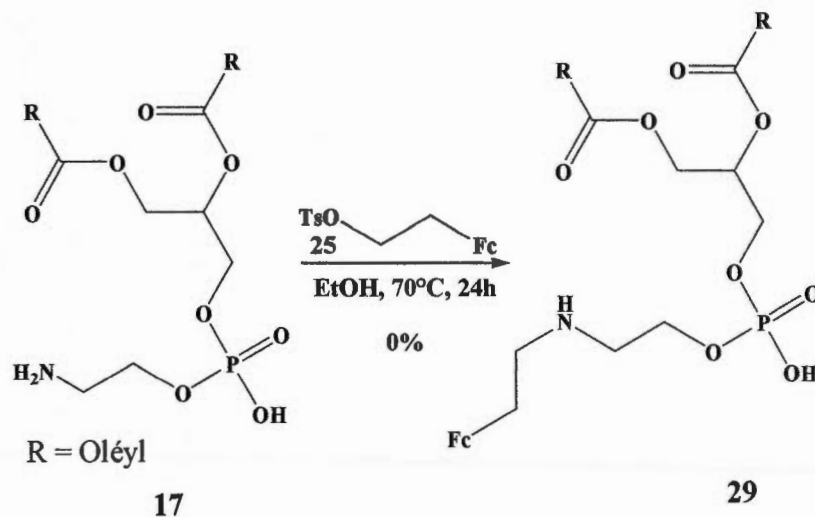


Schéma 2.21 Synthèse du phospholipide électroactif 29 via le DOPE 17

2.8.3 Tentative de couplage du ferrocènealdéhyde avec le DOPE 17 par amination réductrice

Ayant essayé des revers avec les réactions de couplage du ferrocèneéthanol par alkylation, un autre voie a été envisagée pour brancher le ferrocène au DOPE qui contient une amine libre : l'amination réductrice à partir du ferrocènealdéhyde. (Schéma 2.22) Premièrement, la réaction a été effectuée entre le ferrocènealdéhyde 32, le DOPE 17 et l'acide borique (H_3BO_3). Le mécanisme procède par l'attaque nucléophile de l'amine sur l'aldéhyde puis une réduction *in situ* de l'imine formé sera réalisée à l'aide du borohydrure de sodium (NaBH_4) qui est supposé donner le composé amine secondaire 31. Dans ces conditions, l'acide borique sert à protoner l'imine, le rendant ainsi plus réactif face au borohydrure. L'amine 31 n'a pas été obtenue. (Tableau 2.3, ligne 1) Vu que dans un phospholipide comme le DOPE 17, il y a déjà une fonction acide phosphorique, le proton, qui se loge principalement sur l'amine, rend celle-ci beaucoup moins nucléophile. On aurait donc intérêt à neutraliser le proton acide du DOPE pour réaliser l'amination réductrice. Un

deuxième essai a donc été tenté avec une base (K_2CO_3) à la place d'un acide. Malheureusement, le produit désiré **31** n'a toujours pas été obtenu. (Ligne 2)

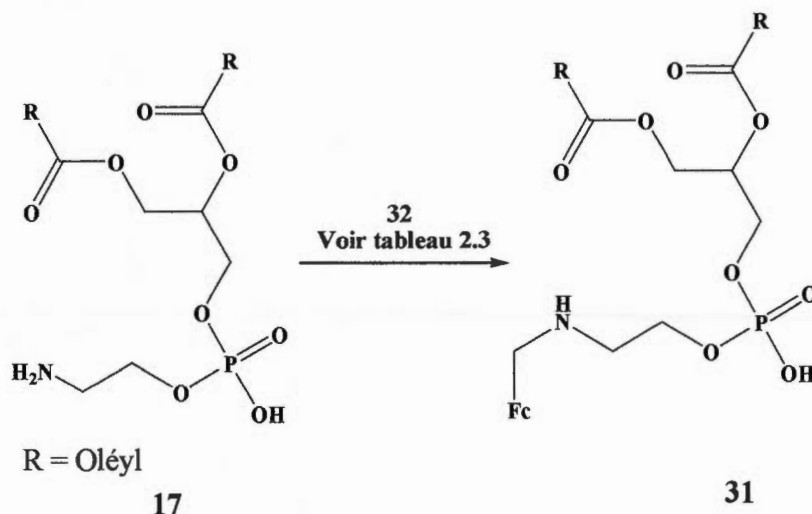


Schéma 2.22 Synthèse du phospholipide électroactif **31** via le DOPE **17** et le ferrocènealdéhyde **32**

Tableau 2.3 Résultats de la réaction de couplage du DOPE **17** avec le ferrocènealdéhyde **32**

Réaction	Réactifs	Solvant	Temps/T°	Rendement (%)
1	H_3BO_3 $NaBH_4$	THF	4h / T.P	0
2	K_2CO_3 $NaBH_4$	THF/ H_2O (glace)	24h / T.P	0

Ferrocénealdéhyde

Finalement, la formation de phosphates trialkylés à partir du trichlorure de phosphore (POCl_3) n'a pas donné les résultats escomptés. Tel que décrit dans la littérature⁴², il est relativement facile de préparer des phosphates mono- et dialkylés, mais les exemples de trialkylation sont bien plus rares. En conclusion partielle, il a été impossible de greffer le ferrocène à un phospholipide, en dépit des nombreux essais tentés.

CONCLUSION

Le présent projet a consisté en la synthèse de nouveaux phospholipides, marqués par deux groupements, soit une sonde électrochimique et une unité fluorescente, ce type de molécule pouvant s'avérer utile pour l'étude des membranes biologiques par microscopie.

La première partie de ce projet consistait dans la préparation du 1,2-dioléoylglycérol **6**, qui a été réalisée en seulement trois étapes avec un rendement de 34%. Cette synthèse peut être applicable à d'autres acides gras quoique, pour le moment, cela n'ait pas été effectué dans notre laboratoire.

En second lieu, la préparation de l'unité fluorescente (N-dansylaminoéthanol **9**) a été effectuée avec un bon rendement de 88%.

Troisièmement, le 1,2-dioléoylglycérol **6** a été phosphorylé avec le chlorophosphate de diphenyle avec un très bon rendement de 91%, mais la phosphorylation en utilisant soit le trichlorure de phosphoryle, soit le 2-cyanoéthyl-diisopropylchlorophosphoramidite, a échoué.

Une différente méthode a été envisagée pour éviter le problème de la phosphorylation. En procédant à partir du dioléoylphosphatidyléthanolamine (DOPE **17**) disponible commercialement comme substrat, on évitait l'étape de la phosphorylation et, en plus, un groupe amino primaire du dope peut réagir avec divers électrophiles. L'ajout du chlorure de dansyle sur l'amine terminale du DOPE **17** a fonctionné avec un rendement de 77% **18**, mais pour l'ajout du ferrocèneéthanol **10** après plusieurs méthodes (Mitsunobu, via tosylate, etc.), on n'a pas réussi à avoir la molécule d'intérêt. On suppose que le groupe phosphate du DOPE **17** modifié n'est pas assez nucléophile pour participer à une réaction de type S_N2 avec le ferrocèneéthanol **10** activé. L'intermédiaire obtenu **18**, phospholipide

fluorescent, pourrait être utile pour la détection des membranes biologiques par microscopie à fluorescence, même si cela n'a pas été testé dans notre laboratoire.

Comme travaux futurs, plusieurs idées pourraient être envisagées, par exemple d'autres réactifs phosphorés pourraient être utilisés, comme la formation de trialkylphosphites et ensuite leur transformation en trialkylphosphates, greffage des deux groupes marqueurs (fluorescent et électrochimique) à différents endroits sur la molécule de phospholipide et plus encore.

Finalement, l'objectif ultime de ce projet n'a pas été réalisé vu la préparation difficile des phospholipides, particulièrement trialkylés, qui implique de nombreuses étapes comportant des intermédiaires non isolables.

ANNEXE: PARTIE EXPÉRIMENTALE

Généralités

Les réactions se sont déroulées dans des ballons secs sous atmosphère d'azote (Liquid Carbonic, grade 4,8). Tous les réactifs chimiques et solvants employés lors des expériences étaient de grade ACS reagent ou HPLC. Les réactifs commerciaux ont été généralement achetés chez Sigma-Aldrich, Avanti Polar Lipids et chez Alfa Aesar.

Le tétrahydrofurane (THF) a été purifié par passage à travers une colonne d'alumine anhydre (système MB-SPS) tandis que l'acétonitrile (MeCN) a été séché avec du CaH₂ et ensuite distillé sous atmosphère d'azote.

Les réactions ont été suivies par chromatographie sur couche mince (CCM) utilisant des plaques de gel de silice sur aluminium (gel de silice 60 F₂₅₄, Merck KGaA, 0,25 mm d'épaisseur sur support d'aluminium). Les plaques de chromatographie ont été visualisées avec deux méthodes. La première est d'exposer la plaque sous une lampe ultraviolette de 254 nm (Modèle UVG-11, Mineralight). La deuxième méthode est l'utilisation d'un révélateur chimique adéquat suivi de chauffage avec un séchoir. Pour la plupart des molécules étudiées dans ce projet, le révélateur KMnO₄ alcalin, préparé en mélangeant 1,0 g de permanganate de potassium, 2,0 g carbonate de potassium et 100 ml d'eau, a été utilisé. Certaines molécules difficilement visibles avec le KMnO₄ ont plutôt été visualisées avec un révélateur de CAM préparé en mélangeant 2,6 g de molybdate d'ammonium, 1,0 g de sulfate cérique, 90 ml d'eau et 10 ml d'acide sulfurique concentré.

Les produits bruts ont été purifiés par chromatographie éclair sur colonne de gel de silice (gel de silice 60, granulométrie : 40-63 µm). Les solvants employés pour la chromatographie étaient de qualité ACS ou HPLC et n'ont pas été distillés avant leur utilisation. Ces solvants ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif Heidolph Laborota 4000 utilisé sous pression réduite, produite par une pompe.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire, RMN ^1H et RMN ^{13}C , ont été enregistrés avec un appareil Varian, modèle Gemini 300BB (ceux du proton ont été enregistrés à une fréquence de 300 MHz et ceux du carbone-13, à 75 MHz). Les déplacements chimiques des protons se réfèrent au signal résiduel (dû à la deutération incomplète) du solvant comme standard interne : le CHCl_3 résiduel à 7,27 ppm dans le chloroforme deutéré (CDCl_3) et à 2,49 ppm dans le diméthylsulfoxyde deutéré. Les déplacements chimiques des carbones se réfèrent au signal du solvant comme standard interne : le chloroforme deutéré (CDCl_3) à 77,0 ppm et du diméthylsulfoxyde deutéré à 39,52 ppm.

Les codes suivants ont été utilisés pour les données spectrales: en RMN ^1H : s = singulet, sl = singulet large, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, quin = quintuplet, sex = sextuplet, m = multiplet, dd = doublet de doublets, dq = doublet de quadruplet, dqd = doublet de quadruplets de doublets, dt = doublet de triplets, dtd = doublet de triplets de doublet, J = constante de couplage, δ = déplacement chimique (en ppm); en RMN ^{13}C : CH = groupement méthyne, CH_2 = groupement méthylène, CH_3 = groupement méthyle, C = carbone quaternaire;

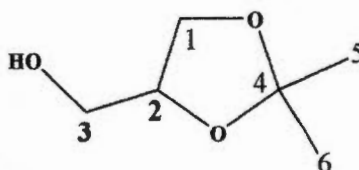
Les spectres de masse ont été obtenus sur un appareil ESI-TOF (Agilent) en mode d'ionisation positif avec l'acide trifluoroacétique comme agent de protonation.

Les spectres infrarouges à transformée de Fourier (IRTF) ont été enregistrés sur un appareil Raman Nicolet 6700 FTIR / NXR 967 FT Raman. En IRTF : (fo) = bande de forte intensité, (m) = bande de moyenne intensité et (f) = bande de faible intensité, (l) = bande large, (tl) = bande très large.

Les points de fusion ont été enregistrés avec un appareil Electrothermal (Barnstead International, model 12010).

Modes opératoires et caractérisations

Préparation du (Rac.)-1,2-di-*O*-isopropylidèneglycérol (**2**)



2

À T.P., sous azote, une solution de glycérol **1** (250 mg, 2,72 mmol) a été dissous dans de l'acétone (12,5 mL) suivi par l'ajout de l'acide paratoluènesulfonique (APTS) (20 mg, 0,12 mmol), une solution de 2,2-diméthoxypropane (0,60 mL, 4,9 mmol) a été ajoutée et le mélange a été agité pendant 4h.

Après, une solution d'hydrogénocarbonate de sodium NaHCO₃ saturée (1 mL) a été ajoutée et le mélange a été extrait avec AcOEt. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, MeOH : AcOEt (2 : 98) gradient à (10 : 90) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **2** (176,2 mg, 49 %) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₆H₁₂O₃

Masse moléculaire : 132,16 g/mole

R_f = 0,12 (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

Caractérisation du composé (rac.)-1,2-di-*O*-isopropylidène-glycérol

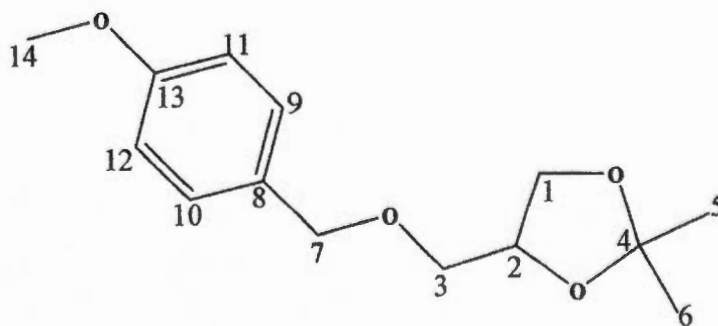
IRTF (cm^{-1}): 3450 (l, OH); 1050 (fo, C-O).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4,25 (m, 1H, H-2); 4,05–3,75 (dt, 2H, $J= 18,1$ Hz et $J= 6,7$ Hz, 2 H-1); 3,75–3,55 (dd, 2H, $J= 19,3$ Hz et $J= 7,2$ Hz, 2 H-3); 2,45 (s, 1H, OH); 1,41 (s, 3H, CH_3 -5); 1,33 (s, 3H, CH_3 -6).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 109,8 (C, C_4); 75,4 (CH, C_2); 67,5 (CH_2 , C_1); 64,5 (CH_2 , C_3); 27,2 (CH_3 , C_5); 25,8 (CH_3 , C_6).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_3^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 133,0820; trouvée: 133,0786 (déviaton: 0,951 ppm).

Préparation du (*R*)-(-)-2,2-Diméthyl-1,3-dioxolan-4-ylméthyl *p*-toluènesulfonate (3)



3

À T.P., sous azote, le rac.-1,2-di-*O*-isopropylidèneglycérol **2** (30 mg, 0,23 mmol) a été dissous dans du DMF distillé (1,15 mL) suivi par l'ajout du NaH 60% (11 mg, 0,46 mmol). Après 15 min, le chlorure de *p*-méthoxybenzyle (37 μ L, 0,28 mmol) et du Bu₄N⁺T⁻ (5mg) ont été ajoutés.

Après 24h, une solution d'hydrogénocarbonate de sodium NaHCO₃ saturée (1 mL) a été ajoutée et le mélange a été extrait avec AcOEt. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex : AcOEt (90 : 10) gradient à (70 : 30) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **3** (48,8 mg, 84 %) a été obtenu respectivement sous la forme d'un liquide coloré, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₁₄H₂₀O₄

Masse moléculaire : 252,31 g/mole

R_f = 0,56 (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

Caractérisation du (*R*)-(-)-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-ylméthyl *p*-toluènesulfonate (3**)**

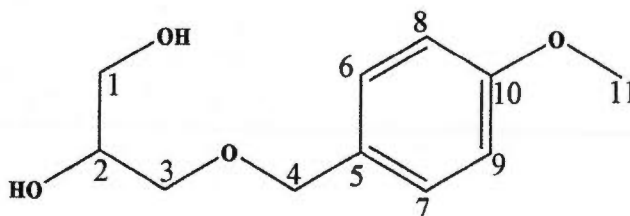
IRTF (cm⁻¹) : 1360 (m, O-PMB); 1170 (fo, OMe); 1050 (f, C-O).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,25 (d, 2H, J= 2,7 Hz, H_{aro 9-10}); 6,82 (d, 2H, J= 2,7 Hz, H_{aro 11-12}); 4,44 (s, 2H, PMB-OCH₂7); 4,21 (m, 1H, CH₂ 2); 3,97 (dd, 2H, J= 7,2 Hz et J= 18,7 Hz, CH₂ 1); 3,73 (s, 3H, OCH₃ 14); 3,39 (dd, 2H, J= 17,2 Hz, J= 6,7 Hz, H₂ 3); 1,34 (s, 3H, CH₃ 5); 1,29 (s, 3H, CH₃ 6).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 159,7 (C_{aro}, C₁₃); 130,4 (C_{aro}, C₈); 129,8 (C_{aro}, C_{9,10}); 114,2 (C_{aro}, C_{11,12}); 109,8 (C, C₄); 75,1 (CH₂, C₇); 73,6 (CH₂, C₂); 71,2 (CH, C₃); 67,3 (CH, C₁); 55,7 (CH₃, C₁₄); 27,2 (CH₃, C₅); 25,8 (CH₃, C₆).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $C_{14}H_{21}O_4^+$ ($M+H$)⁺: 253,1395; trouvée: 253,1362 (déviaton: 1,352 ppm).

Préparation du 1-(4-Méthoxybenzyl)glycérol (**4**)



4

Méthode 1 : Par hydrolyse du groupe acétonide

À T.P., sous azote, le *p*-toluènesulfonate de (*R*)-(-)-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-ylméthyl *p*-toluènesulfonate **3** (25 mg, 0,10 mmol) a été dissous dans de l'acide acétique (12 μ L, 0,20 mmol) suivi par l'ajout de l'eau (0,5 mL) et le mélange a été chauffé à 60 °C.

Après 6 h, une solution d'hydrogénocarbonate de sodium $NaHCO_3$ saturée (1 mL) a été ajoutée et le mélange a été extrait avec $AcOEt$. La phase organique combinée a été séchée avec du $MgSO_4$, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, $MeOH : DCM$ (95 : 5) gradient à (70 : 30) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **4** (18,5 mg, 87 %) a été obtenu respectivement sous la forme d'huile, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Méthode 2 : Mono-protection du Glycérol

À T.P., sous azote, le glycérol 1 (1,36 g, 14,8 mmol) a été dissous dans du DMF distillé (5mL) suivi par l'ajout du PMBCl (0,200 mL, 1,48 mmol) et l'ajout du TBAI (20 mg) et le mélange a été chauffé à 60 °C.

Après 30 min, une solution de chlorure d'ammonium NH₄Cl saturée (1 mL) et de l'eau ont été ajoutés et le mélange a été extrait avec AcOEt. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, AcOEt : Hexane (20 : 80) gradient à (60 : 40) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé 4 (168 mg, 59 %) a été obtenu respectivement sous la forme d'huile, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₁₁H₁₆O₄

Masse moléculaire : 212,24 g/mole

R_f = 0,21 (Silice, MeOH : DCM (10 : 90))

Caractérisation du 1-(4-Méthoxybenzyl)glycérol (4)

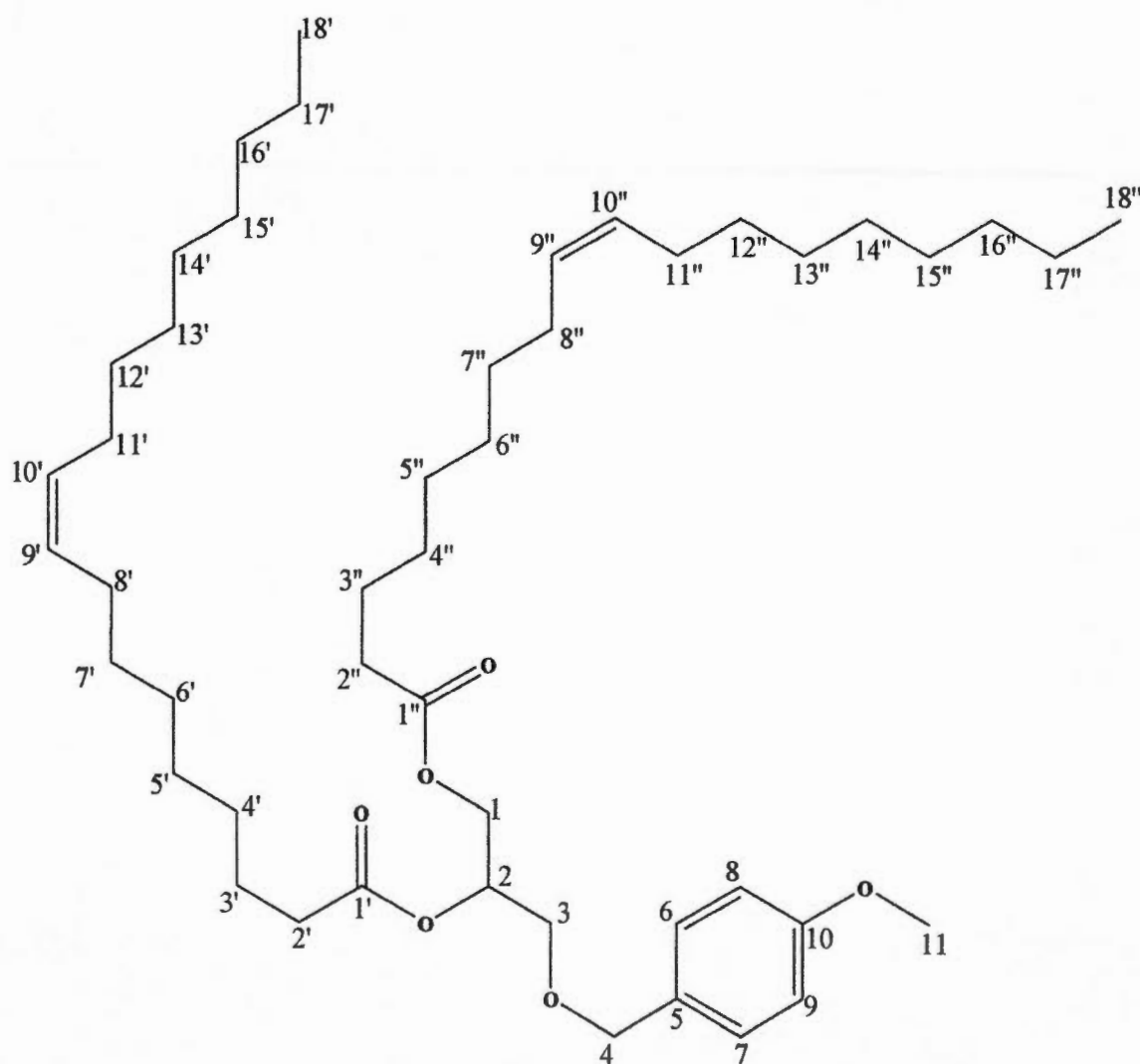
IRTF (cm⁻¹): 3500 (fo, OH); 1360 (m, O-PMB); 1170 (fo, OMe).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,28 (d, 2H, J= 8,7 Hz, H_{aro} 6,7); 6,91 (d, 2H, J= 8,7 Hz, H_{aro} 8,9); 4,51 (s, 2H, PMB-OCH₂ 4); 3,89 (m, 2H, CH₂ 1); 3,84 (s, 3H, OCH₃ 11); 3,67 (m, 2H, CH₂ 3); 3,56 (m, 1H, CH 2); 3,24 (s, 1H, CHOH); 2,54 (s, 1H, CH₂OH).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 159,5 (C_{aro}, C₁₀); 129,9 (C_{aro}, C₅); 129,6 (C_{aro}, C_{6,7}); 114,1 (C_{aro}, C_{8,9}); 73,4 (PMB-OCH₂, C₄); 71,6 (CH₂O, C₃); 70,8 (CHOH, C₂); 64,2 (OCH₃, C₁); 55,4 (CH₂OH, C₁₁).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $C_{11}H_{17}O_4^+$
($M+H$)⁺: 213,1082; trouvée: 213,1049 (déviaton: 0,853 ppm).

Préparation du composé (5)



À T.P., sous azote, le 1-(4-méthoxybenzyl)glycérol **4** (16,8 mg, 0,0800 mmol) a été dissous dans du DCM distillé (2 mL) suivi par l'ajout de l'acide oléique (58 μ L, 0,18 mmol). Après quoi, le DCC (40 mg, 0,19 mmol) a été ajouté et du DMAP (22 mg, 0,18 mmol).

Après 2 h, le mélange a été extrait avec DCM et du H₂O. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex : AcOEt (95 : 5) gradient à (75 : 25) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **5** (55,9 mg, 94 %) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₄₇H₈₀O₆

Masse moléculaire : 741,13 g/mole

R_f = 0,43 (Silice, AcOEt (100))

Caractérisation du composé (**5**)

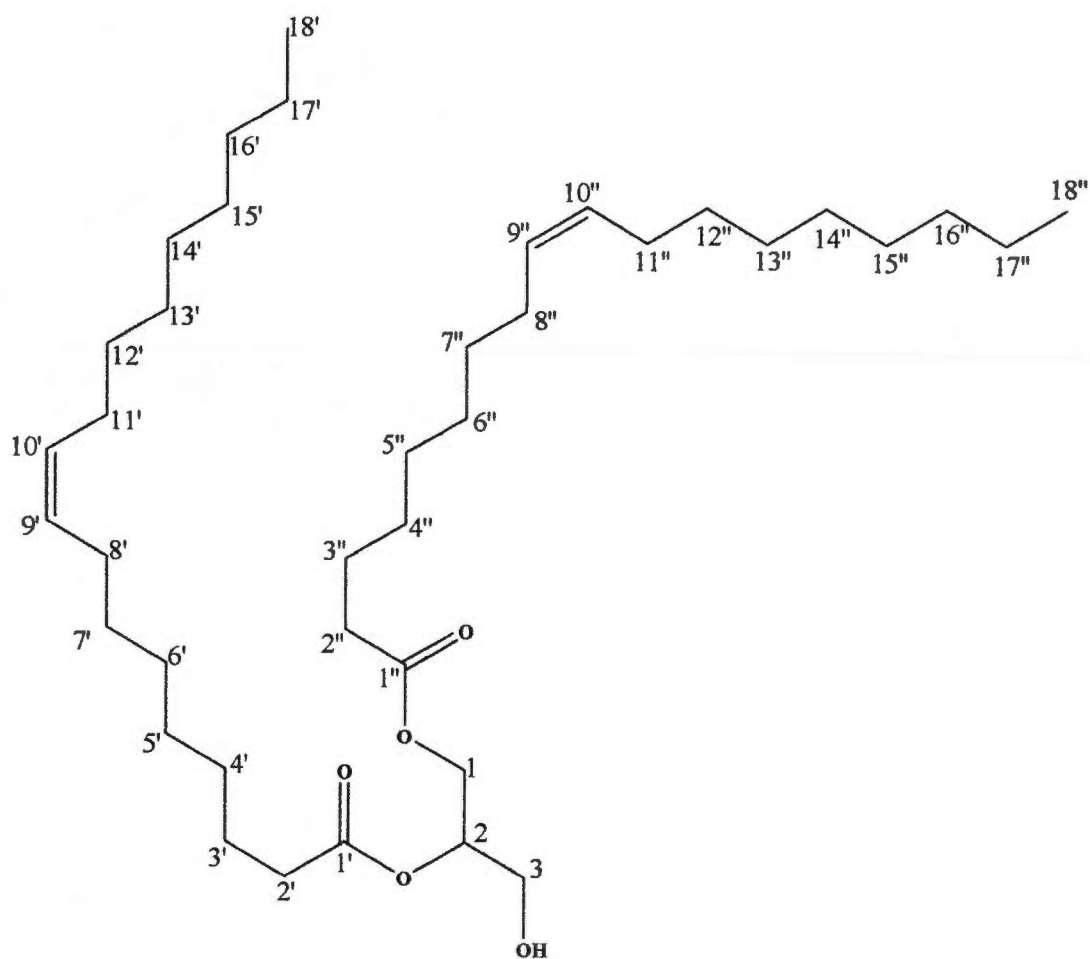
IRTF (cm⁻¹): 675 (m, C=C_{cis}); 1050(fo, C-O); 1170 (fo, O-PMB); 1200 (fo, C-O); 1600-1500 (m, C=C); 1750 (fo, C=O).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,28 (d, 2H, J= 8,5 Hz, H_{aro} 6,7); 6,91 (d, 2H, J= 3,0 Hz, H_{aro} 8,9); 5,42 (m, 4H, CH 9', 10', 9'', 10''); 4,98 (m, 1H, CH 2); 4,87 (s, 2H, PMB-OCH₂ 4); 4,74 (d, 2H, J=6,9 Hz, CH₂ 1); 4,51 (d, 2H, J= 7,2 Hz, CH₂ 3); 3,84 (s, 3H, OCH₃ 11); 2,4 (m, 4H, CH₂ 2', 2''); 2,1 (m, 8H, CH₂ 8',11', 8'', 11''); 1,65 (m, 4H, CH₂ 3', 3''); 1,29 (m, 40H, CH₂ 3'-7', 12'-16', 3''-7'', 12''-16''); 0,96 (t, 6H, J= 6,7 Hz, CH₃ 18', 18'').

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 173,5 (OC=O, $\text{C}_{1'}$, $1''$); 160,1 (C_{aro} , C_{10}); 130,8 (C=C, $\text{C}_{9'}$, $10'$, $9''$, $10''$); 129,9 (C_{aro} , 5); 128,6 (C_{aro} , $\text{C}_{6,7}$); 115,0 (C_{aro} , $\text{C}_{8,9}$); 73,4 (PMB-OCH₂, C_4); 71,6 (CH₂O, C_3); 70,8 (CHO, C_2); 64,2 (CH₂O, C_1); 55,4 (OCH₃, C_{11}); 43,1 (CH₂C=O, $\text{C}_{2''}$); 39,4 (CH₂, $\text{C}_{2'}$); 31,9 (CH₂, $\text{C}_{7', 12', 7'', 12''}$); 30,1 (CH₂, $\text{C}_{6', 13', 14', 6'', 13'', 14''}$); 29,5 (CH₂, $\text{C}_{5', 5''}$); 29,4 (CH₂, $\text{C}_{15', 15''}$); 29,1 (CH₂, $\text{C}_{4', 4''}$); 27,7 (CH₂, $\text{C}_{8', 11', 8'', 11''}$); 25,1 (CH₂, $\text{C}_{3', 3''}$); 22,8 (CH₂, $\text{C}_{17', 17''}$); 14,8 (CH₃, $\text{C}_{18', 18''}$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{47}\text{H}_{81}\text{O}_6^+$
(M+H)⁺: 742,6022; trouvée: 742,5955 (déviatıon: 0,545 ppm).

Préparation du 1,2-Dioléoylglycérol (6)



6

À 0°C, sous azote, le **5** (20,0 mg, 0,0300 mmol) a été dissous dans du DCM/H₂O (20 : 1) suivi par l'ajout du DDQ, 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone, (9,2 mg, 0,040 mmol).

Après 24 h, une solution d'hydrogencarbonate de sodium NaHCO₃ saturée (1 mL) a été ajoutée et le mélange a été extrait avec DCM. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié

par chromatographie éclair (silice, Hex : AcOEt (95 : 5) gradient à (70 : 30) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **6** (11,4 mg, 61 %) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : $C_{39}H_{72}O_5$

Masse moléculaire : 620,99 g/mole

$R_f = 0,24$ (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

Caractérisation du 1,2-dioléoylglycérol (**6**)

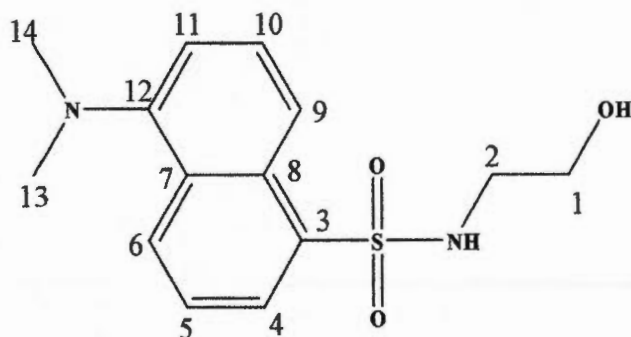
IRTF (cm^{-1}): 675 (m, $C=C_{cis}$); 1320 (fo, C-O); 1735 (fo, C=O), 3100 (l, OH).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ 5,42 (m, 4H, CH $9', 10', 9'', 10''$); 5,1 (m, 1H, CH 2); 4,34 (d, 2H, $J=6,9$ Hz, CH $_2$ 1); 3,75 (d, 2H, $J=7,2$ Hz, CH $_2$ 3); 2,4 (m, 4H, CH $_2$ $2', 2''$); 2,1 (m, 8H, CH $_2$ $8', 11', 8'', 11''$); 1,65 (m, 4H, CH $_2$ $3', 3''$); 1,29 (m, 40H, CH $_2$ $3'-7', 12'-16', 3''-7'', 12''-16''$); 0,96 (t, 6H, $J=6,7$ Hz, CH $_3$ $18', 18''$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ 173,5 (OC=O, C $1', 1''$); 130,8 (C=C, C $9', 10', 9'', 10''$); 71,6 (CH $_2O$, C 3); 70,8 (CHO, C 2); 64,2 (CH $_2O$, C 1); 43,1 (CH $_2C=O$, C $2''$); 39,4 (CH $_2$, C $2'$); 31,9 (CH $_2$, C $7', 12', 7'', 12''$); 30,1 (CH $_2$, C $6', 13', 14', 6'', 13'', 14''$); 29,5 (CH $_2$, C $5', 5''$); 29,4 (CH $_2$, C $15', 15''$); 29,1 (CH $_2$, C $4', 4''$); 27,7 (CH $_2$, C $8', 11', 8'', 11''$); 25,1 (CH $_2$, C $3', 3''$); 22,8 (CH $_2$, C $17', 17''$); 14,8 (CH $_3$, C $18', 18''$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $C_{39}H_{73}O_5^+$ (M+H) $^+$: 621,5413; trouvée: 621,5380 (déviation: 0,256 ppm).

Préparation du Dansylaminoéthanol (9)



9

À T.P., le chlorure de dansyle **7** (500 mg, 1,85 mmol) a été dissous dans du DCM (9 mL) suivi par l'ajout de la Et_3N (0,52 mL, 3,7 mmol) et finalement l'ajout de l'éthanolamine **8** (0,17 mL, 2,9 mmol).

Après 30 min, le mélange a été extrait avec DCM et du H_2O . La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO_4 , filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex : AcOEt (70 : 30) gradient à (20 : 80) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **9** (480 mg, 88 %) a été obtenu sous la forme d'une poudre verte, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$

Masse moléculaire : 294,37 g/mole

$R_f = 0,36$ (Silice, MeOH: DCM (5 : 95))

Caractérisation du dansylaminoéthanol (9)

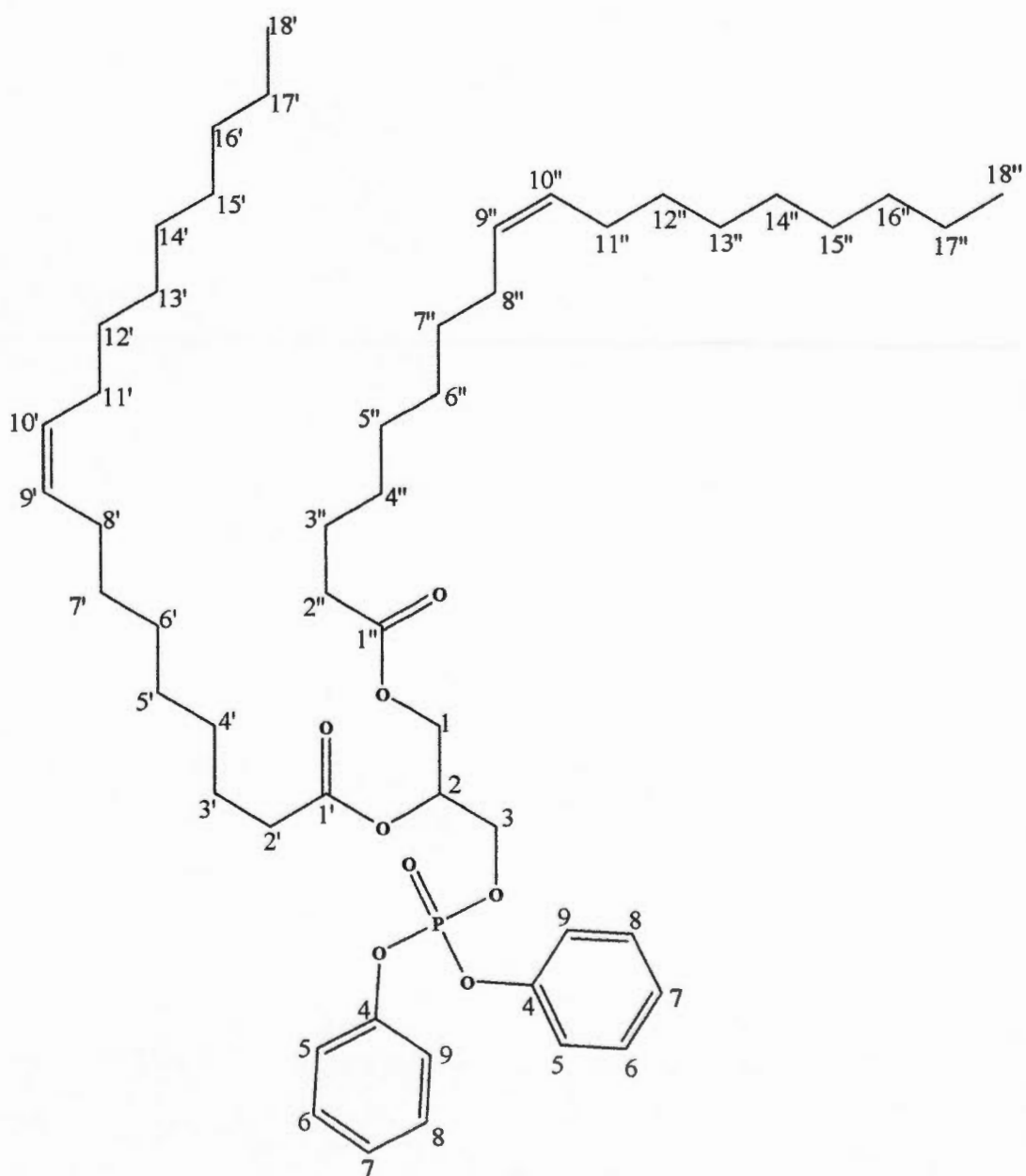
IRTF (cm^{-1}): 1000 (m, C-N); 1050(fo, C-O); 1300-1120 (fo, S=O); 1500 (m, N-H); 3500 (l, OH).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 8,51 (d, 1H, $J=6,4$ Hz, $\text{H}_{\text{aro } 4}$); 8,25 (t, 2H, $J=3$ Hz, $\text{H}_{\text{aro } 5}$); 7,64 (m, 2H, $\text{H}_{\text{aro } 6}$); 7,21 (d, 1H, $J=14$ Hz, $\text{H}_{\text{aro } 9}$); 5,11 (s, 1H, NH ou OH); 3,65 (m, 2H, $\text{OHCH}_2 1$); 3,14 (m, 2H, $\text{NHCH}_2 2$); 2,89 (s, 6H, $\text{NCH}_3 13,14$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 151,9 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_{12}$); 134,3 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_3$); 130,6 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_8$); 129,7 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_7$); 129,4 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_6$); 129,2 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_{10}$); 128,5 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_5$); 123,1 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_4$); 118,5 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_9$); 115,2 ($\text{C}_{\text{aro}}, \text{C}_{11}$); 68,1 ($\text{CH}_2\text{OH}, \text{C}_1$); 45,2 ($\text{CH}_2\text{NH}, \text{C}_2$); 37,0 ($\text{CH}_3\text{N}, \text{C}_{13-14}$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 295,1072; trouvée: 295,1038 (déviaton: 0,524 ppm).

Préparation du composé (13)



À T.P., le 1,2-dioléoylglycérol **6** (20,0 mg, 0,0300 mmol) a été dissous dans de la pyridine (0,20 mL) suivi par l'ajout de DMAP (5 mg) et PO(OPh)₂Cl (15 µL, 0,070 mmol) a été ajoutée.

Après 1 h, le mélange a été extrait avec DCM, lavé avec du HCl (1M) puis avec du H₂O. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex : AcOEt (90 : 10) gradient à (70 : 30) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **13** (23,3 mg, 91 %) a été obtenu sous la forme d'une huile, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₅₁H₈₁O₈P

Masse moléculaire : 853,16 g/mole

R_f = 0,32 (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

Caractérisation du composé (**13**)

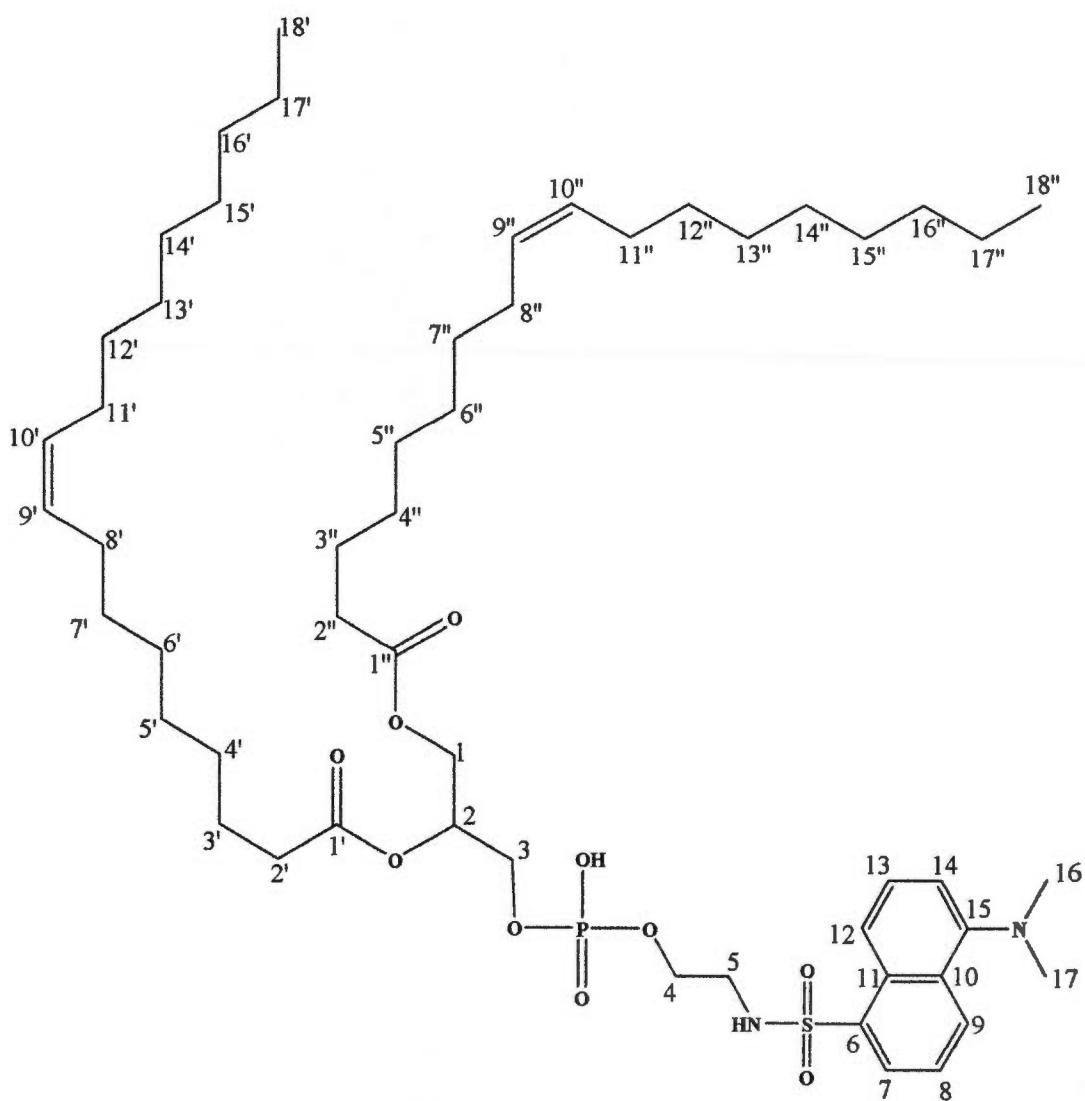
IRTF (cm⁻¹) : 675 (m, C=C_{cis}); 900 (fo, P-OR); 1050(fo, C-O); 1300 (fo, O-C₆H₅); 1200 (fo, C-O); 1600-1500 (m, C=C); 1735 (fo, C=O).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,20 (m, 4H, H_{6,8}); 6,82 (m, 2H, H₇); 6,75 (m, 4H, H_{5,9}); 5,42 (m, 4H, CH_{9', 10', 9'', 10''}); 5,1 (m, 1H, CH₂); 4,34 (d, 2H, J=6,9 Hz, CH₂₁); 3,75 (d, 2H, J= 7,2 Hz, CH₂₃); 2,4 (m, 4H, CH₂_{2', 2''}); 2,1 (m, 8H, CH₂_{8', 11', 8'', 11''}); 1,65 (m, 4H, CH₂_{3', 3''}); 1,29 (m, 40H, CH₂_{3'-7', 12'-16', 3''-7'', 12''-16''}); 0,96 (t, 6H, J= 6,7 Hz, CH₃_{18', 18''}).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 173,5 (OC=O, $\text{C}_{1'}$, $1''$); 159,5 ($\text{C}_{\text{benzène-O}}$, $2\text{C}_{\text{aro } 4}$); 130,8 (C=C, $\text{C}_{9'}$, $10'$, $9''$, $10''$); 129,9 ($\text{C}_{\text{benzène}}$, $4\text{C}_{\text{aro } 6, 8}$); 125,6 ($\text{C}_{\text{benzène}}$, $2\text{C}_{\text{aro } 7}$); 114,1 ($\text{C}_{\text{benzène}}$, $4\text{C}_{\text{aro } 5, 9}$); 71,6 (CH_2O , C_3); 70,8 (CHO, C_2); 64,2 (CH_2O , C_1); 43,1 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$, $\text{C}_{2''}$); 39,4 (CH_2 , C_2); 31,9 (CH_2 , $\text{C}_{7'}$, $12'$, $7''$, $12''$); 30,1 (CH_2 , $\text{C}_{6'}$, $13'$, $14'$, $6''$, $13''$, $14''$); 29,5 (CH_2 , $\text{C}_{5'}$, $5''$); 29,4 (CH_2 , $\text{C}_{15'}$, $15''$); 29,1 (CH_2 , $\text{C}_{4'}$, $4''$); 27,7 (CH_2 , $\text{C}_{8'}$, $11'$, $8''$, $11''$); 25,1 (CH_2 , $\text{C}_{3'}$, $3''$); 22,8 (CH_2 , $\text{C}_{17'}$, $17''$); 14,8 (CH_3 , $\text{C}_{18'}$, $18''$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{51}\text{H}_{82}\text{O}_8\text{P}^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 854,5669; trouvée: 854,5736 (déviaton: 0,691 ppm).

Préparation du composé (18)



18

À T.P., le DOPE (1,2-dioléoyl-sn-glycero-3-phosphoéthanolamine) **17** (82 mg, 0,10 mmol) a été dissous dans du DCM (1 mL) suivi par l'ajout de Et₃N (42 µL, 0,30 mmol) et Chlorure de dansyle (33 mg, 0,12 mmol) a été ajoutée et le mélange a été chauffé à 40°C.

Après 24 h, une solution d'hydrogénocarbonate de sodium NaHCO₃ saturée (0,5 mL) a été ajoutée et le mélange a été extrait avec DCM. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, MeOH : DCM (5 : 95) gradient à (20 : 80) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **18** (75,7 mg, 77 %) a été obtenu sous la forme d'une huile, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₅₃H₈₉N₂O₁₀PS

Masse moléculaire : 977,32 g/mole

R_f = 0,43 (Silice, MeOH: DCM (10 : 90))

Caractérisation du composé (18)

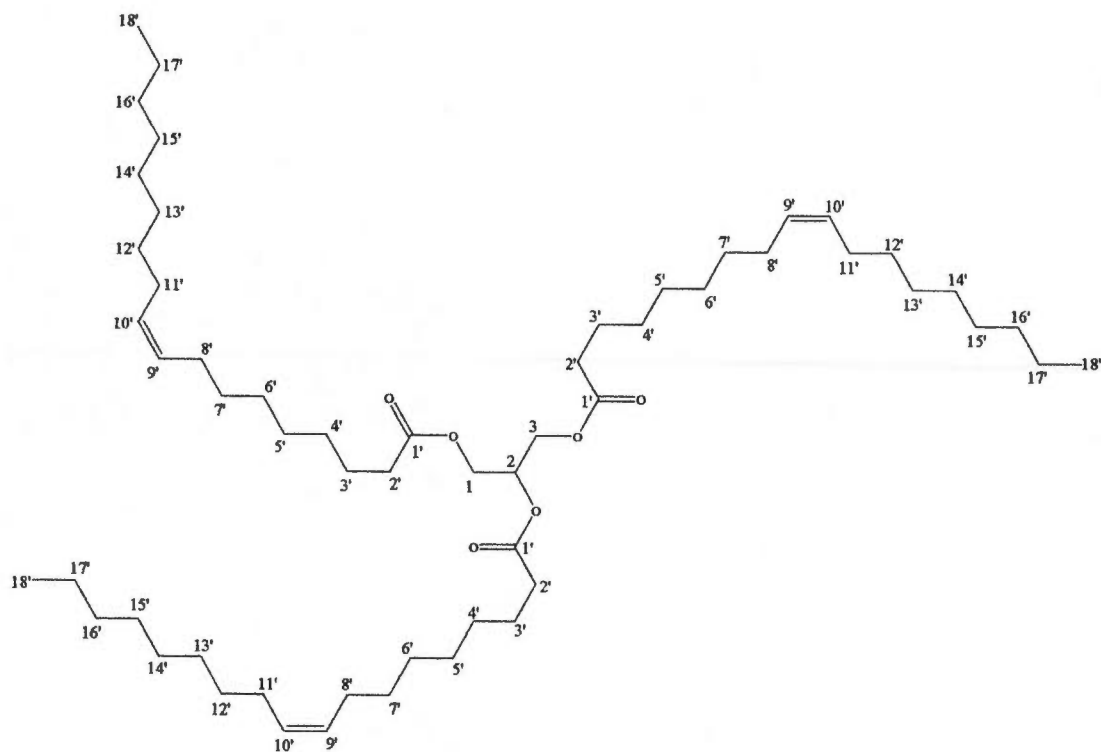
IRTF (cm⁻¹) : 675 (m, C=C_{cis}); 900 (fo, P-OR); 1000 (m, C-N); 1300-1120 (fo, S=O); 1320 (fo, C-O); 1500 (m, N-H); 1735 (fo, C=O).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,51 (d, 1H, J= 6,4 Hz, H_{aro} 7); 8,25 (t, 2H, J= 3 Hz, H_{aro} 8); 7,64 (m, 2H, H_{aro} 9); 7,21 (d, 1H, J= 14Hz, H_{aro} 12); 5,42 (m, 4H, CH 9', 10', 9'', 10''); 5,1 (m, 1H, CH 2); 4,34 (d, 2H, J=6,9 Hz, CH₂ 1); 3,75 (d, 2H, J= 7,2 Hz, CH₂ 3); 3,65 (m, 2H, OCH₂ 4); 3,14 (m, 2H, NHCH₂ 5); 2,89 (s, 6H, NCH₃ 16, 17). 2,4 (m, 4H, CH₂ 2', 2''); 2,1 (m, 8H, CH₂ 8', 11', 8'', 11''); 1,65 (m, 4H, CH₂ 3', 3''); 1,29 (m, 40H, CH₂ 3'-7', 12'-16', 3''-7'', 12''-16''); 0,96 (t, 6H, J= 6,7 Hz, CH₃ 18', 18'').

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 173,5 (OC=O, $\text{C}_{1'}$, $1''$); 151,9 (C_{aro} , C_{15}); 134,3 (C_{aro} , C_6); 130,8 (C=C, C_9 , $10'$, $9''$, $10''$); 130,6 (C_{aro} , C_{11}); 129,7 (C_{aro} , C_{10}); 129,4 (C_{aro} , C_9); 129,2 (C_{aro} , C_{13}); 128,5 (C_{aro} , C_8); 123,1 (C_{aro} , C_7); 118,5 (C_{aro} , C_{12}); 115,2 (C_{aro} , C_{14}); 71,6 (CH_2O , C_3); 70,8 (CHO, C_2); 68,9 (CH_2O , C_1); 68,1 (CH_2O , C_4); 45,2 (CH_2NH , C_5); 43,1 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$, $\text{C}_{2''}$); 39,4 (CH_2 , $\text{C}_{2'}$); 37,0 (CH_3N , C_{16-17}); 31,9 (CH_2 , C_7 , $12'$, $7''$, $12''$); 30,1 (CH_2 , C_6 , $13'$, $14'$, $6''$, $13''$, $14''$); 29,5 (CH_2 , C_5 , $5''$); 29,4 (CH_2 , C_{15} , $15''$); 29,1 (CH_2 , C_4 , $4''$); 27,7 (CH_2 , C_8 , $11'$, $8''$, $11''$); 25,1 (CH_2 , C_3 , $3''$); 22,8 (CH_2 , C_{17} , $17''$); 14,8 (CH_3 , C_{18} , $18''$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{53}\text{H}_{90}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{PS}^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 978,6043; trouvée: 978,5976 (déviaton: 0,273 ppm).

Préparation du trioléoylglycérol (19)



19

À T.P., sous azote, le glycérol **1** (50 mg, 0,54 mmol) a été dissous dans du DCM distillé (3 mL) suivi par l'ajout de l'acide oléique (0,60 mL, 1,87 mmol). Après quoi, le DCC (404 mg, 1,96 mmol) et du DMAP (229 mg, 1,87 mmol) ont été ajoutés.

Après 24 h le mélange a été extrait avec DCM et du H₂O. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex : AcOEt (90 : 10) gradient à (70 : 30) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **19** (388 mg, 81 %) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : $C_{57}H_{104}O_6$

Masse moléculaire : 885,43 g/mole

$R_f = 0,54$ (Silice, MeOH: AcOEt (10 : 90))

Caractérisation du composé (19)

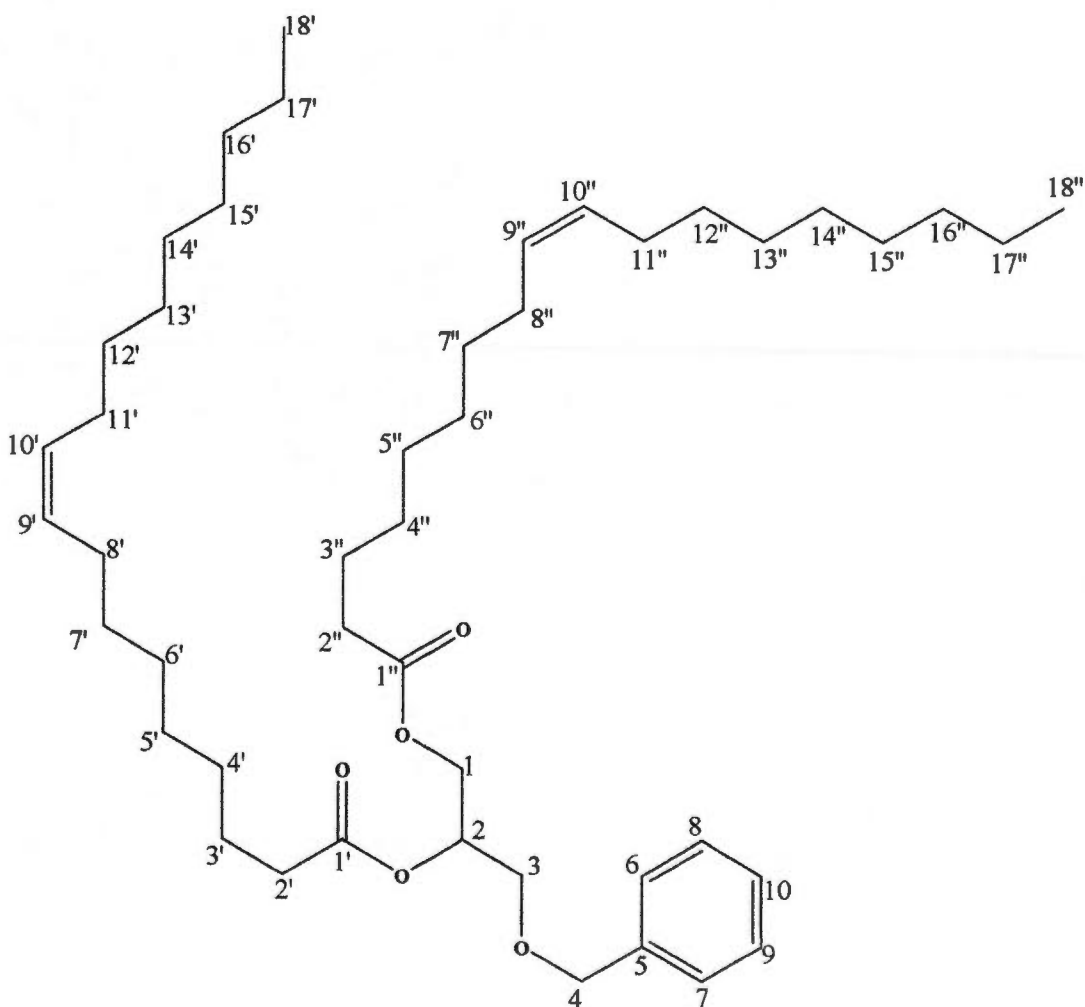
IRTF (cm^{-1}): 1735 (fo, C=O); 1600 (fo, C=C), 1202 (fo, C-O)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ 5,42 (m, 12H, CH $_{9', 10'}$); 5,1 (m, 1H, CH $_2$); 4,34 (d, 2H, $J=6,9$ Hz, CH $_2$ $_1$); 3,75 (d, 2H, $J=7,2$ Hz, CH $_2$ $_3$); 2,4 (m, 12H, CH $_2$ $_{2'}$); 2,1 (m, 24H, CH $_2$ $_{8', 11'}$); 1,65 (m, 12H, CH $_2$ $_3$); 1,29 (m, 120H, CH $_2$ $_{3'-7', 12'-16'}$); 0,96 (t, 18H, $J=6,7$ Hz, CH $_3$ $_{18'}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ 173,5 (OC=O, C $_{1'}$); 130,8 (C=C, C $_{9', 10'}$); 71,6 (CH $_2$ O, C $_3$); 70,8 (CHO, C $_2$); 64,2 (CH $_2$ O, C $_1$); 43,1 (CH $_2$ C=O, C $_{2''}$); 39,4 (CH $_2$, C $_{2'}$); 31,9 (CH $_2$, C $_{7', 12'}$); 30,1 (CH $_2$, C $_{6', 13', 14'}$); 29,5 (CH $_2$, C $_5$); 29,4 (CH $_2$, C $_{15'}$); 29,1 (CH $_2$, C $_4$); 27,7 (CH $_2$, C $_{8', 11'}$); 25,1 (CH $_2$, C $_3$); 22,8 (CH $_2$, C $_{17'}$); 14,8 (CH $_3$, C $_{18'}$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $C_{57}H_{105}O_6^+$ (M+H) $^+$: 886,7900; trouvée: 886,7833 (déviation: 0,551 ppm).

Préparation du composé (20)



20

À T.P., sous azote, le diol 4 (30,1 mg, 0,165 mmol) a été dissous dans du DCM distillé (1 mL) suivi par l'ajout de l'acide oléique (0,12 mL, 0,363 mmol). Après quoi, du DCC (75 mg, 0,363 mmol) et du DMAP (44,4 mg, 0,363 mmol) ont été ajoutés.

Après 12 h, le mélange a été extrait avec AcOEt et lavé avec du H₂O. La phase organique combinée a été séchée avec du MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex : AcOEt (95 : 5) gradient à (75 : 25) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **20** (109,7 mg, 94 %) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₄₆H₇₈O₅

Masse moléculaire : 711,11 g/mole

R_f = 0,24 (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

Caractérisation du composé (20)

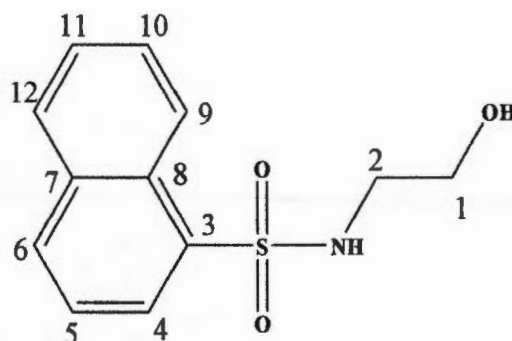
IRTF (cm⁻¹) : 675 (m, C=C_{cis}); 1050 (fo, C-O); 1300 (fo, O-C₅H₆); 1200 (fo, C-O); 1600-1500 (m, C=C); 1735 (fo, C=O).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,28 (d, 2H, J= 8,5 Hz, H_{aro} 6,7); 6,91 (d, 2H, J= 3,0 Hz, H_{aro} 8,9); 5,42 (m, 4H, CH 9', 10', 9'', 10''); 4,98 (m, 1H, CH 2); 4,87 (s, 2H, OCH₂ 4); 4,74 (d, 2H, J=6,9 Hz, CH₂ 1); 4,51 (d, 2H, J= 7,2 Hz, CH₂ 3); 2,4 (m, 4H, CH₂ 2', 2''); 2,1 (m, 8H, CH₂ 8',11', 8'', 11''); 1,65 (m, 4H, CH₂ 3', 3''); 1,29 (m, 40H, CH₂ 3'-7', 12'-16', 3''-7'', 12''-16''); 0,96 (t, 6H, J= 6,7 Hz, CH₃ 18', 18'').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 173,5 (OC=O, C₁', 1''); 160,1 (C_{aro}, C₁₀); 130,8 (C=C, C₉', 10', 9'', 10''); 129,9 (C_{aro}, 3); 128,6 (C_{aro}, C_{6,7}); 115,0 (C_{aro}, C_{8,9}); 73,4 (OCH₂, C₄); 71,6 (CH₂O, C₃); 70,8 (CHO, C₂); 64,2 (CH₂O, C₁); 43,1 (CH₂C=O, C₂''); 39,4 (CH₂, C₂'); 31,9 (CH₂, C_{7', 12', 7'', 12''}); 30,1 (CH₂, C_{6', 13', 14', 6'', 13'', 14''}); 29,5 (CH₂, C_{5', 5''}); 29,4 (CH₂, C_{15', 15''}); 29,1 (CH₂, C_{4', 4''}); 27,7 (CH₂, C_{8', 11', 8'', 11''}); 25,1 (CH₂, C_{3', 3''}); 22,8 (CH₂, C_{17', 17''}); 14,8 (CH₃, C_{18', 18''}).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $C_{46}H_{79}O_5^+$ (M+H)⁺: 712,5916; trouvée: 712,3849 (déviaton: 1.17 ppm).

Préparation du composé (21)



21

À T.P., le chlorure de naphthalène sulfonyle (2,000 g, 8,823 mmol) a été dissous dans du DCM (44 mL) suivi par l'ajout de la Et_3N (2,50 mL, 17,6 mmol) et finalement l'ajout de l'éthanolamine **8** (0,800 mL, 13,2 mmol).

Après 30 min, le mélange a été extrait avec DCM et du H_2O . La phase organique combinée a été séchée avec du $MgSO_4$, filtrée et évaporée sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, MeOH : $CHCl_3$ (5 : 95) gradient à (20 : 80) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **21** (1,96g, 94 %) a été obtenu sous la forme d'une poudre blanche, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : $C_{12}H_{13}NO_3S$

Masse moléculaire : 251,3 g/mole

R_f = 0,54 (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

Caractérisation du composé (21)

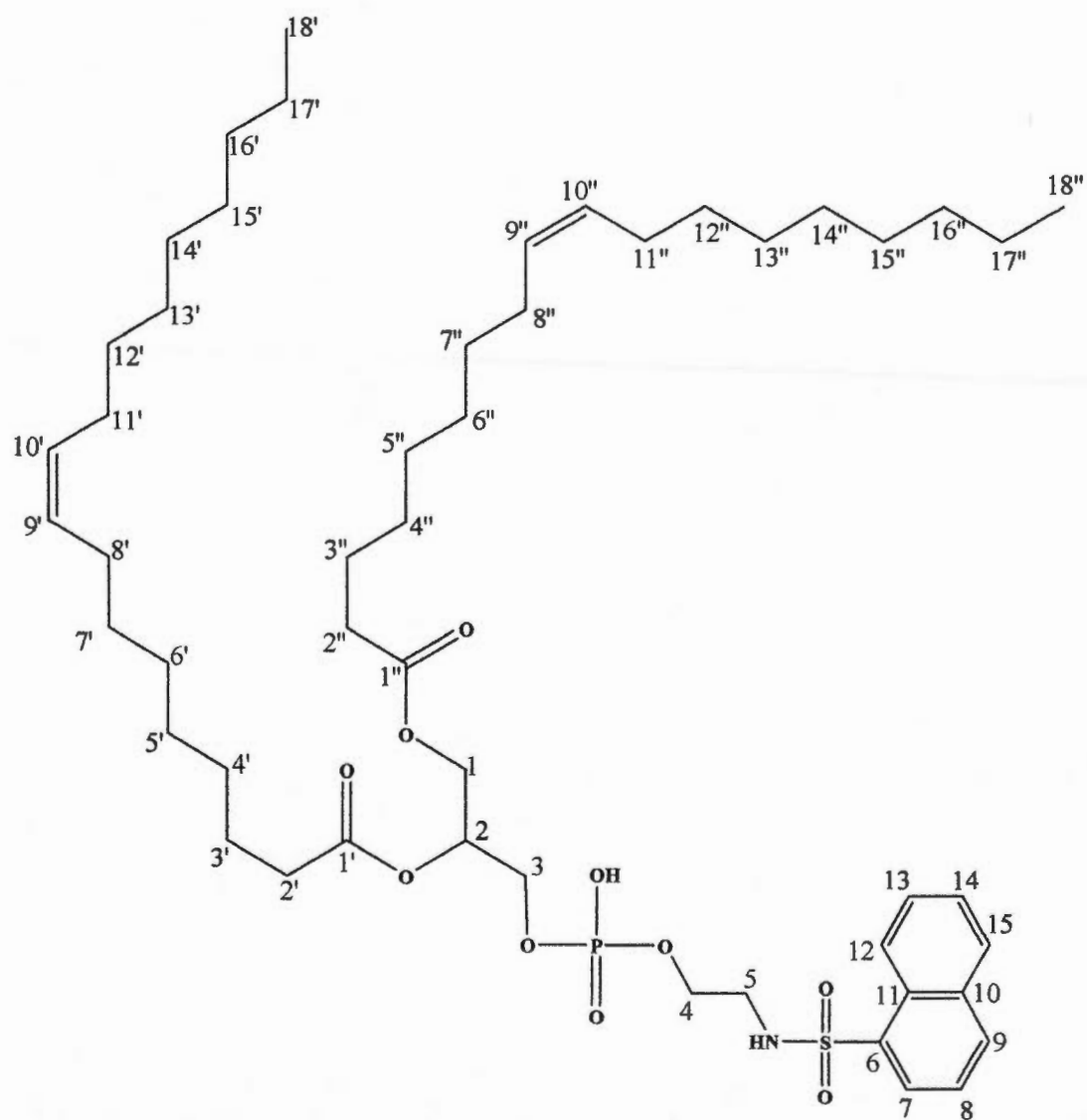
IRTF (cm^{-1}): 1050(fo, C-O); 1250 (m, C-N); 1300-1120 (fo, S=O); 1500 (m, N-H); 3500 (l, OH).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 8,57 (d, 1H, $J=6,4$ Hz, $\text{H}_{\text{aro } 4}$); 8,28 (t, 2H, $J=3$ Hz, $\text{H}_{\text{aro } 5}$); 7,64 (m, 2H, $\text{H}_{\text{aro } 6}$); 7,21 (d, 1H, $J=14$ Hz, $\text{H}_{\text{aro } 9}$); 5,11 (s, 1H, NH ou OH); 4,17 (m, 2H, OHCH_2); 3,27 (m, 2H, NHCH_2).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 151,9 (C_{aro} , C_{12}); 134,3 (C_{aro} , C_3); 130,6 (C_{aro} , C_8); 129,7 (C_{aro} , C_7); 129,4 (C_{aro} , C_6); 129,2 (C_{aro} , C_{10}); 128,5 (C_{aro} , C_5); 126,6 (C_{aro} , C_4); 126,3 (C_{aro} , C_9); 124,5 (C_{aro} , C_{11}); 60,8 (CH_2OH , C_1); 45,5 (CH_2NH , C_2).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{NO}_3\text{S}^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 252,0650; trouvée: 252,0616 (déviatiion: 0,184 ppm).

Préparation du composé (22)



22

À T.P., du DOPE 17 (50 mg, 0,067 mmol) a été dissous dans du DCM (0,5 mL) suivi par l'ajout de Et₃N (20 µL, 0,13 mmol) et de chlorure de naphthalènesulfonyle (16,7 mg, 0,074 mmol).

Après 12 h, le mélange a été filtré et évaporé sous vide. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, MeOH : DCM (5 : 95) gradient à (15 : 85) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **22** (50,1 mg, 80 %) a été obtenu sous la forme d'une huile, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₅₁H₈₄NO₁₀PS

Masse moléculaire : 934,25 g/mole

R_f = 0,5 (Silice, MeOH: DCM (10 : 90))

Caractérisation du composé (**22**)

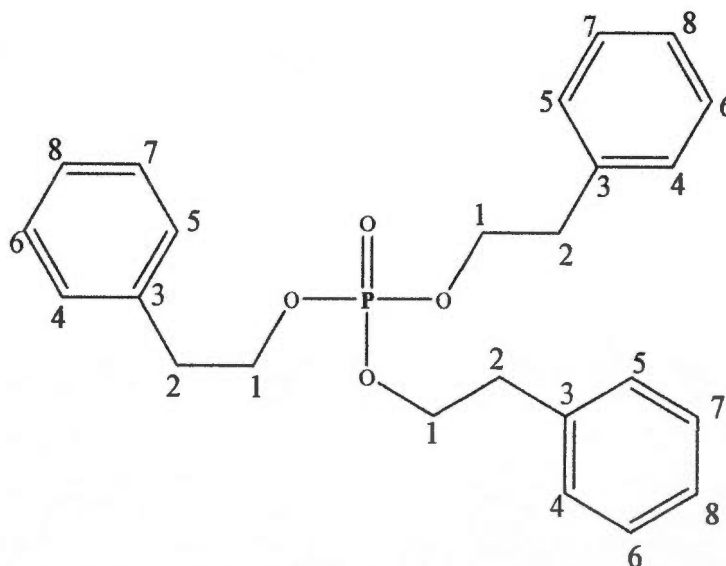
IRTF (cm⁻¹) : 675 (m, C=C_{cis}); 900 (fo, P-OR); 1250 (m, C-N); 1300-1120 (fo, S=O); 1320 (fo, C-O); 1500 (m, N-H); 1735 (fo, C=O).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,51 (d, 1H, J= 6,4 Hz, H_{aro 7}); 8,25 (t, 2H, J= 3 Hz, H_{aro 8}); 7,64 (m, 2H, H_{aro 9}); 7,21 (d, 1H, J= 14Hz, H_{aro 12}); 5,42 (m, 4H, CH_{9', 10', 9'', 10''}); 5,1 (m, 1H, CH₂); 4,34 (d, 2H, J=6,9 Hz, CH_{2 1}); 3,75 (d, 2H, J= 7,2 Hz, CH_{2 3}); 3,65 (m, 2H, OCH_{2 4}); 3,14 (m, 2H, NHCH_{2 5}); 2,4 (m, 4H, CH_{2 2', 2''}); 2,1 (m, 8H, CH_{2 8', 11', 8'', 11''}); 1,65 (m, 4H, CH_{2 3', 3''}); 1,29 (m, 40H, CH_{2 3'-7', 12'-16', 3''-7'', 12''-16''}); 0,96 (t, 6H, J= 6,7 Hz, CH_{3 18', 18''}).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 173,5 (OC=O, C_1' , $1''$); 151,9 (C_{aro} , C_{15}); 134,3 (C_{aro} , C_6); 130,8 (C=C, C_9' , $10'$, $9''$, $10''$); 130,6 (C_{aro} , C_{11}); 129,7 (C_{aro} , C_{10}); 129,4 (C_{aro} , C_9); 129,2 (C_{aro} , C_{13}); 128,5 (C_{aro} , C_8); 123,1 (C_{aro} , C_7); 118,5 (C_{aro} , C_{12}); 115,2 (C_{aro} , C_{14}); 71,6 (CH_2O , C_3); 70,8 (CHO, C_2); 68,9 (CH_2O , C_1); 68,1 (CH_2O , C_4); 45,2 (CH_2NH , C_5); 43,1 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$, C_2''); 39,4 (CH_2 , C_2'); 31,9 (CH_2 , C_7' , $12'$, $7''$, $12''$); 30,1 (CH_2 , C_6' , $13'$, $14'$, $6''$, $13''$, $14''$); 29,5 (CH_2 , C_5' , $5''$); 29,4 (CH_2 , C_{15}' , $15''$); 29,1 (CH_2 , C_4' , $4''$); 27,7 (CH_2 , C_8' , $11'$, $8''$, $11''$); 25,1 (CH_2 , C_3' , $3''$); 22,8 (CH_2 , C_{17}' , $17''$); 14,8 (CH_3 , C_{18}' , $18''$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{51}\text{H}_{85}\text{NO}_{10}\text{PS}$
 $^+ (\text{M}+\text{H})^+$: 935,5621; trouvée: 933,5554 (déviaton: 0,561 ppm).

Préparation du (23)



À T.P., le 2-phényléthanol (0,27 mL, 2,24 mmol) a été dissous dans du DCM (2 mL) suivi par l'ajout de Et₃N (0,3 mL, 3,3 mmol) et de trichlorure de phosphoryle (60 µL, 0,68 mmol). Après 1 h, le mélange a été extrait avec DCM et lavé avec H₂O. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, MeOH : DCM (5 : 95) gradient à (15 : 85) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **23** (88,3 mg, 32 %) a été obtenu sous la forme d'une huile, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₂₄H₂₇O₄P

Masse moléculaire : 410,44 g/mole

R_f = 0,6 (Silice, MeOH: DCM (10 : 90))

Caractérisation du composé (**23**)

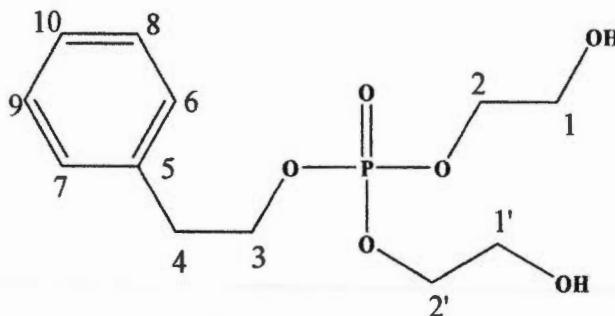
IRTF (cm⁻¹): 900 (fo, P-OR); 1250 (fo, C-O), 1600-1500 (m, C=C)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,57 (m, 6H, H_{aro 4,5}); 7,22 (m, 6H, H_{aro 6,7}); 7,14 (m, 3H, H_{aro 8}); 5,07 (t, 6H, J= 7,2 Hz, OCH_{2 1}); 2,94 (m, 6H, CH_{2 2}).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 140,5 (3C₃); 128,7 (6C_{6,7}); 127,8 (6C_{4,5}); 126,4 (3C₈); 68,8 (3OCH_{2 1}); 35,7 (3CH_{2 2}).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour C₂₄H₂₈O₄P⁺ (M+H)⁺: 411,1681; trouvée: 411,1647 (déviaton: 0,452 ppm).

Préparation du composé (24)



24

À $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, le 2-phényléthanol (0,100 mL, 0,832 mmol) a été dissous dans du DCM (4 mL) suivi par l'ajout de Et_3N (0,170 mL, 1,25 mmol) et de trichlorure de phosphoryle (0,120 mL, 1,25 mmol).

Après 2 h, de l'éthylène glycol (0,11 mL, 1,92 mmol) dissous dans DCM (2 mL), puis de la Et_3N (0,17 mL, 1,25 mmol) ont été ajoutés. Après 4 h, le mélange a été extrait avec du DCM et lavé avec H_2O . Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, MeOH : DCM (2 : 98) gradient à (10 : 90) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **24** (33 mg, 14 %) a été obtenu sous forme d'un liquide incolore, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{P}$

Masse moléculaire : 290,25 g/mole

$R_f = 0,56$ (Silice, MeOH: DCM (5 : 95))

Caractérisation du composé (24)

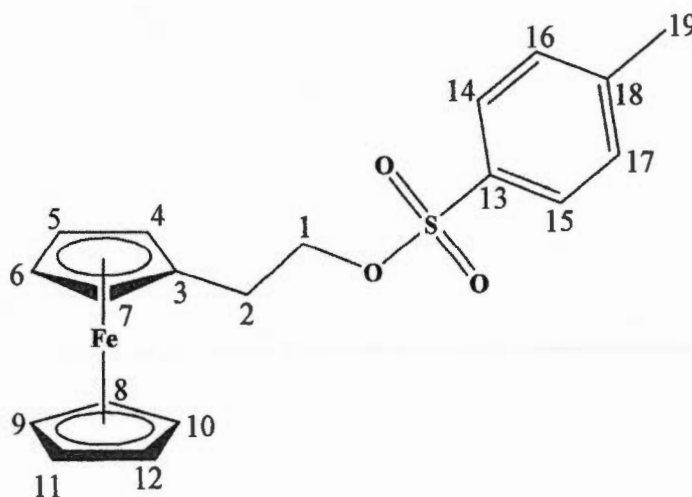
IRTF (cm^{-1}): 900 (fo, P-OR); 1250-970 (fo, C-O), 1600-1500 (m, C=C); 3200 (fo, OH).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 7,57 (m, 2H, $\text{H}_{\text{aro } 6,7}$); 7,22 (m, 2H, $\text{H}_{\text{aro } 8,9}$); 7,14 (m, 1H, $\text{H}_{\text{aro } 10}$); 4,5 (t, 2H, $J= 7,2$ Hz, $\text{OCH}_2 3$); 4,32 (t, 4H, $J= 6,7$ Hz, $\text{OCH}_2 2$); 3,97 (m, 4H, $\text{OHCH}_2 1,1'$); 2,94 (m, 2H, $\text{CH}_2 4$); 2,4 (m, 2H, OH).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 140,5 (C_5); 128,7 ($2\text{C}_{8,9}$); 127,8 ($2\text{C}_{6,7}$); 126,4 (C_{10}); 68,8 ($2\text{OCH}_2 2,2'$); 67,1 ($\text{OCH}_2 3$); 61,5 ($2 \text{OHCH}_2 1,1'$); 35,7 ($\text{CH}_2 4$).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{P}^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; ; 291,0953, trouvée: 291,0765 (déviation: 0,876 ppm).

Préparation du composé (25)



25

À 0°C, le ferrocèneéthanol (10) (27,2 mg, 0,12 mmol) a été dissous dans du DCM (1 mL) suivi par l'ajout de Et₃N (20 µL, 0,12 mmol), de DMAP (8,66 mg, 0,07 mmol) et de chlorure de tosylo (27,04 mg, 0,14 mmol). Après 1 h, le mélange a été extrait avec DCM et lavé avec du H₂O. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex: AcOEt (95 : 5) gradient à (70 : 30) comme éluant). Après évaporation des solvants, le composé **25** (28,5 mg, 63 %) a été obtenu sous la forme d'une poudre jaune, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : C₁₉H₂₀FeO₃S

Masse moléculaire : 384,27 g/mole

R_f = 0,43 (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

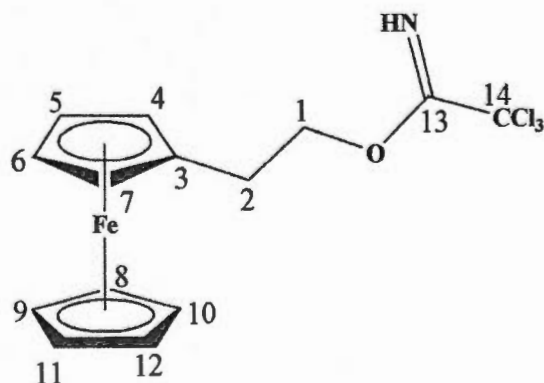
Caractérisation du composé (24)

IRTF (cm^{-1}): 1250 (m, C-N); 1300-1120 (fo, S=O); 1320 (fo, C-O); 1600-1500 (m, C=C)

RMN ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ 7,97 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, $\text{H}_{\text{aro 14,15}}$); 7,97 (d, 2H, $J = 2,6$ Hz, $\text{H}_{\text{aro 16,17}}$); 4,09 (s, 7H, $\text{H}_{\text{Fc 4,5,6,9,10,11,12}}$); 4,02 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Fc 3,8}}$); 3,51 (q, $J = 7,06$ Hz, 2H, OCH_2 1); 2,43 (t, $J = 7,14$ Hz et $J = 7,31$ Hz, 2H, CH_2 2); 2,02 (s, 3H, H_{18}).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{FeO}_3\text{S}^+$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 385,0483; trouvée: 385,0256 (déviaton: 1,91 ppm).

Préparation du composé (26)



26

À 0°C , le ferrocèneéthanol (10) (27,2 mg, 0,12 mmol) a été dissous dans du DCM (1 mL) suivi par l'ajout de Et_3N (20 μL , 0,12 mmol), le DMAP (8,7 mg, 0,07 mmol) et le chlorure de tosylate (27,0 mg, 0,14 mmol) a été ajoutée. Après 1 h, le mélange a été extrait avec DCM et lavé avec du H_2O . Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair (silice, Hex: AcOEt (95 : 5) gradient à (70 : 30) comme

éluant). Après évaporation des solvants, le composé **26** (28,5 mg, 63 %) a été obtenu sous la forme d'une poudre jaune, dont la pureté a été confirmée par spectroscopie RMN et par CCM.

Formule moléculaire : $C_{14}H_{14}Cl_3FeNO$

Masse moléculaire : 374,47 g/mole

$R_f = 0,43$ (Silice, Hex: AcOEt (80 : 20))

Caractérisation du composé (**26**)

IRTF (cm^{-1}) : 1250 (fo, C-O), 1665 (m, C=N), 1600-1500 (m, C=C)

RMN 1H (300 MHz, $(CD_3)_2SO$): δ 4.09 (sl, 7H, H_{Fc} 4, 5, 6, 9,10,11,12); 4.02 (m, 2H, H_{Fc} 8); 3.51 (q, $J = 7.06$ Hz, 2H, OCH_2 1); 2.43 (t, $J = 7.14$ Hz et $J = 7.06$ Hz, 2H, CH_2 2).

SMHR : ESI-TOF (Mode d'acquisition positif); masse calculée pour $C_{14}H_{15}Cl_3FeNO^+ (M+H)^+$: 375,7635; trouvée: 375,2467 (déviation: 2,52 ppm).

RÉFÉRENCES

1. Tsien, R. Y.; Bacsikai, B. J.; *Handbook of Biological Confocal Microscopy*, 2nd ed., Plenum Press, New York, 28, 1995, pp. 459-78.
2. Garrett, R. H.; Grisham, C. M.; *Biochimie*, 2^e édition, DeBoeck-Université, Paris, Bruxelles, 2000, pp. 263.
3. <http://www.cours-pharmacie.com/biologie-cellulaire/les-membranes-cellulaires.html> (11/03/2012)
4. Civatte, J.; *Dictionnaire de dermatologie*, conseil international de la langue française, Paris, 2000-2005, p. 271.
5. <http://www.espacesciences.com/SMO/Liposomes/Cours.htm> (21/04/2012)
6. Voet, D.; Voet, J. G.; *Biochimie*, 3^e édition, DeBoeck-Université, 2005, p. 449.
7. Garrett, R. H.; Grisham, C. M.; *Biochimie*, 2^e édition, DeBoeck-Université, Paris, Bruxelles, 2000, p. 239.
8. Garrett, R. H.; Grisham, C. M.; *Biochimie*, 2^e édition, DeBoeck-Université, Paris, Bruxelles, 2000, pp. 240-241.
9. Raven, P. H.; Johnson, G. B.; Mason, K. ; Losos, J. ; Singer, S. R.; *Biologie*, 2^e édition, De Boeck Bruxelles, 2001, p. 55.
10. http://www.warpe.snv.jussieu.fr/coursvt/images_3/figure_9.html (17/04/2012)
11. Pagliaro, M.; Rossi, M.; *The future of glycerol*, 2^e édition, RSC Green Chemistry, 2010, no. 8, p. 1.
12. Voet, D.; Voet, J. G.; *Biochimie*, 2^e édition, DeBoeck-Université, Bruxelles, 2004, pp. 390-393.
13. <http://www.cours-pharmacie.com/biologie-cellulaire/les-membranes-cellulaires.html> (17/04/2012)
14. Struck, D. K.; Hoekstra, D.; Pagano, R. E.; *Biochemistry*, 1981, 20, pp. 4093-4099; *Meth. Enzymol.* 1993, 221, p. 239; Uster, P. S.; Pagano, R. E.; *Meth. Enzymol.*, 1989, 171, p. 850; Tocanne, J.-F.; Dupou-Cézanne, L.;

- Lopez, A.; *Prog. Lipid Res.*, **1994**, 33, p. 203; Kemble, G. W.; Henis, Y. I.; White, J. M.; *J. Cell Biol.*, **1993**, 122, p. 1253.
15. Bagasra, O.; Seshamma, T.; Pomerantz, R. J.; *Immunol. Meth.* 158, **1993**, 183; Victor, N. P.; Galina, P. T.; Natalia, B. G.; Svetlana, N. S.; Sergey, P. Y.; *Anal. Biochem.*, **1992**, 207, p. 34; Darst, S. A.; Ahlers, M.; Meller, P. H.; Kubalek, E. W.; Blankenburg, R.; Ribic, H. O.; Ringsdorf, H.; Kornberg, R. D.; *Biophys. J.*, **1991**, 59, p. 387.
16. Soucaille, P.; Prats, M.; Tocanne, J. F.; Teissie, J.; *Biochim. Biophys. Acta*, **1988**, 939, 289; Briggs, J.; M. Caffrey.; *Biophys. J.*, **1994**, 66, p. 25; Kusel, J. R.; Garland, P. B.; Downie, T.; Moore, I.; *J. Cell Biol.*, **1986**, 103, p. 807.
17. <http://www.lab-mauzeroll.uqam.ca/> (28/04/2012)
18. Shiku, H.; Shiraishi, T.; Ohya, H.; Matsue, T.; Abe, H.; Hoshi, H.; Kobayashi, M.; *Anal. Chem.*, **2001**, 73, pp. 3751-3758.
19. Kaya, T.; Torisawa, Y. S.; Oyamatsu, D.; Nishizawa, M.; *Bioelectron.*, **2003**, 18, pp. 1379-1383.
20. http://www.lab-mauzeroll.uqam.ca/index.php?article_id=15 (25/04/2012)
21. <http://www.lachimie.fr/analytique/fluorimetrie/> (15/05/2012)
22. <http://pharmaxchange.info/press/2011/01/fluorescent-labeling-of-biomolecules-with-organic-probes/> (15/05/2012)
23. http://www.ifr87.cnrs-gif.fr/pbc/formation/pdf2009/BROWN_FluorochromesCHAPITRE.pdf (16/05/2012)
24. Zaramella, A.; Conti, N.; Dal Cin, M.; Paio, A.; Seneci, P.; Gehanne, S.; *J. Comb. Chem.*, **2001**, 3, pp. 410-420.
25. Guillaneux, D.; Kagan, H. B.; *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, p. 2502
26. Ciappenelli, D. J.; *J. Organomet. Chem.*, **1967**, 10, p. 127.
27. D. F. Shriver, P. W. Atkins. Chimie inorganique, 3^e édition, De BockUniversité, **2001**, p. 543.

28. Mauzeroll, J.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, pp. 15120–15123.
29. <http://www.espaceciences.com/BioMb/topo/ndev/cours.htm> (04/05/2012)
30. Tae Woo, K.; Jung-hyun, P.; Jong-In, H.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2002**, pp. 923-927.
31. Eibl, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1978**, 75, pp. 4074-4077.
32. Rakhit, S.; *Can. J. Chem.*, **1969**, 47, pp. 2906-2910.
33. Thiem, J.; Schäfer, A.; *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, pp. 24-29; Ogawa, S.; Tezuka, Y.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 19, pp. 5238-5243.
34. Rakhit, S.; *Can. J. Chem.*, **1969**, 47, pp. 2906-2910
35. Guo, J.; *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2011**, 108, pp. 3493-3498
36. Waggoner, A.S.; *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1970**, 67, pp. 579-589
37. Joe, M.; Lowary, T.L.; *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, pp. 2723-2730.
38. De Nino, A.; *Carbohydr. Res.*, **1996**, 286, pp. 77-86.
39. Teodorović, P.; *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, 4, pp. 4485-4490.
40. Lipshutz, B. H.; Chung, D. W.; Rich, B.; Corral, R.; *Org. Lett.*, **2006**, 8, pp. 5069-5072.
41. Kumara, S. K. C.; *Chem. Rev.*, **2009**, 109, pp. 2616-2619.
42. Hughes, D.L., *Organic Preparations and Procedures Int.*, **1996**, 28, p. 127.
43. Hébert, N.; Beck, A.; Lennox, R. B.; Just, G.; *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, p. 6.