

## Les bienfaits des thiosucres dans les glycosciences

**Résumé** Les glycoconjugués non naturels ayant le sucre connecté par une liaison thioglycosidique, chimiquement et enzymatiquement stable, sont utilisés pour l'inhibition de plusieurs enzymes et pour les études de reconnaissance moléculaire. Ces composés peuvent être facilement synthétisés par addition radicalaire photo-amorcée de 1-thiosucres aux alcènes ou aux alcynes.

**Mots-clés** Thioglycosides, S-glycosides, couplage thiol-ène, couplage thiol-yne, additions radicalaires, réactions photo-amorcées.

**Abstract** The benefits of thiosugars in glycosciences

The unnatural glycoconjugates having the sugar unit linked through a chemically and enzymatically stable thioglycosidic bond are employed for the inhibition of various enzymes and for molecular recognition studies. These compounds can be easily synthesized by photoinduced radical addition of 1-thiosugars to alkenes or alkynes.

**Keywords** Thioglycosides, S-glycosides, thiol-ene coupling, thiol-yne coupling, radical additions, photoinduced reactions.

Un article intéressant paru récemment dans *L'Actualité Chimique* a attiré l'attention des lecteurs sur une famille relativement peu connue de glucides naturels, celle des thiosucres [1], analogues de sucres dans lesquels l'un des

atomes d'oxygène de la molécule est remplacé par un atome de soufre (voir encadré 1). Bien que ces composés soient présents dans un certain nombre de glycoconjugués naturels [2], ils sont beaucoup moins répandus chez les êtres vivants que les autres familles de glucides telles que les aminosucres (par ex. *N*-acétyl-D-glucosamine, acide *N*-acétylneuraminique) et les désoxysucres (par ex. 2-désoxy-D-ribose, L-fucose). Néanmoins, la synthèse et les propriétés biologiques ou pharmacologiques de certains membres de cette famille, les 1-thiosucres et notamment les S-glycosides correspondants, intéressent depuis quelques années les chercheurs actifs dans le domaine des glycosciences [3]. En effet, les S-glycosides étant les isostères stables des O-glycosides, ils peuvent être utilisés pour étudier ou inhiber les enzymes qui synthétisent (glycosyltransférases) ou hydrolysent (glycosidases) les oligosaccharides, les glycoprotéines et les glycolipides. Ils servent également à élucider le mécanisme sous-jacent à la reconnaissance moléculaire entre sucres et protéines qui, par exemple, permet l'adhésion du virus de la grippe aux cellules épithéliales humaines [4] ou l'adhésion du spermatozoïde à la membrane de l'ovocyte [5]. L'intérêt de remplacer l'oxygène au carbone anomérique réside dans la conformation similaire adoptée par les S- et les O-glycosides [6] malgré les différences existantes entre les longueurs des liaisons C-S et C-O, ainsi qu'entre les angles de liaison C-S-C et C-O-C. De plus, les S-glycosides présentent une remarquable résistance vis-à-vis de l'hydrolyse chimique (conditions acides) et enzymatique.

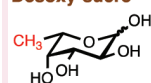
### Les méthodes traditionnelles de synthèse des S-glycosides

Profitant de la faible basicité et de la forte nucléophilie du soufre, diverses approches synthétiques ont été développées au cours des vingt dernières années pour la préparation des 1-thioglycosides d'alkyle et d'aryle. Les méthodes les plus utilisées sont basées sur (a) la réaction  $S_N2$  entre un anion glycosyl-thiolate et un substrat (sucre ou autre) ayant un bon groupe partant (GP : bromure, sulfonate, etc.), ou (b) la glycosylation d'un substrat thiol par un donneur de glycosyle couramment utilisé pour la synthèse de O-glycosides, ou

#### Encadré 1

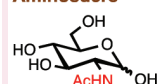
#### Un peu de nomenclature

##### Désoxy-sucre



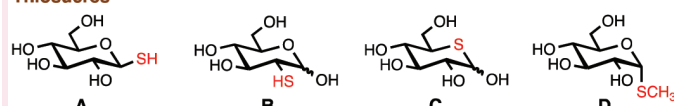
IUPAC : 6-désoxy-L-galactopyranose  
nom commun : L-fucose

##### Aminosucre



IUPAC : 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose  
nom commun : N-acétyl-D-glucosamine

##### Thiosucres



**A** : 1-thio-β-D-glucopyranose    **B** : 2-thio-D-glucopyranose  
**C** : 5-thio-D-glucopyranose    **D** : 1-thio-α-D-glucopyranoside de méthyle  
(non pas 1-méthyl-1-thio-α-D-glucopyranoside)

Le remplacement de l'atome d'oxygène d'un groupe hydroxyle par un atome de soufre est indiqué en plaçant le préfixe « thio », précédé de l'indice approprié, devant le nom systématique du sucre. Le remplacement de l'atome d'oxygène endocyclique par du soufre est indiqué de la même manière, le numéro de l'atome de carbone adjacent, non anomérique, du cycle étant utilisé comme indice. À souligner que le préfixe approprié est « thio » et non pas « thia », ce dernier étant utilisé dans la nomenclature systématique pour indiquer le remplacement du groupe  $\text{CH}_2$  par un atome de soufre. De plus, le préfixe « thio » est considéré comme un substituant et il est donc classé, le cas échéant, en ordre alphabétique dans le nom systématique d'un sucre qui possède d'autres substituants ou groupements protecteurs. Le lecteur attentif aura remarqué que, contrairement au cas des aminosucres, il ne faut pas ajouter le préfixe « désoxy » pour les thiosucres.

• Réf. : A.D. McNaught, Nomenclature of carbohydrates (IUPAC Recommendations 1996), *Pure Appl. Chem.*, **1996**, *68*, p. 1919-2008 (<https://doi.org/10.1351/pac199668101919>, en libre accès).

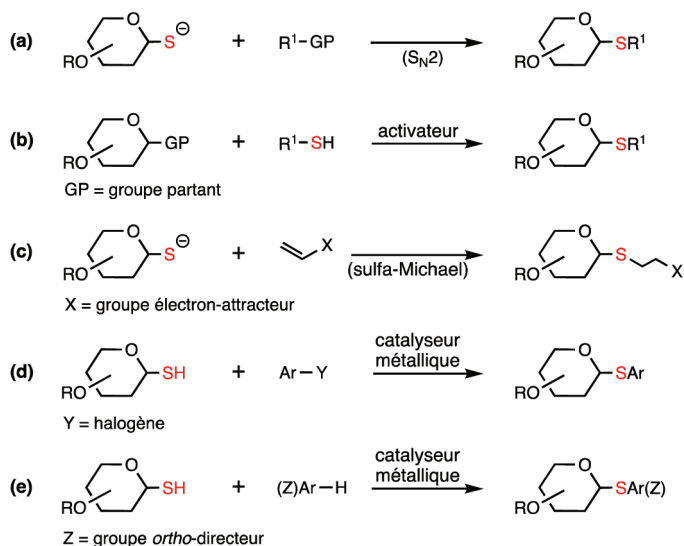


Figure 1 - Méthodes de synthèse des S-glycosides d'alkyle et d'aryle.

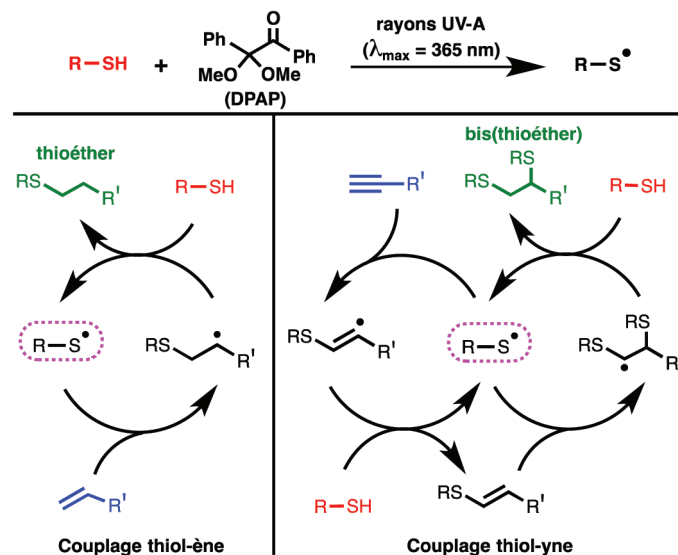


Figure 2 - Mécanisme radicalaire de l'addition photo-amorcée de thiols aux alcènes et alcynes.

encore (c) l'addition 1,4-conjuguée du glycosyl-thiolate à un alcène activé par un groupe électro-attracteur (réaction sulfamichael) (figure 1). Récemment, S. Messaoudi et ses collaborateurs ont décrit deux méthodes de synthèse, spécifiques pour les S-glycosides d'aryle, basées sur le couplage, catalysé par les métaux de transition, entre les 1-thiosucres et (d) les composés aromatiques (ou hétéroaromatiques) halogénés [7], ou (e) une molécule aromatique possédant un groupement ortho-directeur (activation de la liaison C-H) (figure 1) [8]. Il est important de noter que, contrairement aux sucres hémicétoxy, les 1-thiosucres (= hémithioacétals) ne subissent pas la mutarotation et retiennent ainsi leur configuration anomérique dans les milieux neutres ou basiques. Par conséquent, les S-glycosides obtenus à partir de glycosyl-thiols ou glycosyl-thiolates (couplages a et c-e, figure 1) ont la même configuration que les 1-thiosucres de départ.

## Lumière sur les thiosucres !

Une approche innovante à la synthèse des S-glycosides d'alkyle est constituée de l'addition directe d'un thiol à un alcène ou à un alcyne, une ancienne réaction largement exploitée dans le domaine des polymères et matériaux, mais longtemps négligée par les glycochimistes. En effet, l'hydrothiolation des alcènes terminaux a été découverte en 1905 par T. Posner tandis que son mécanisme radicalaire a été suggéré en 1938 par M.S. Kharasch et ses collaborateurs. Cette réaction est maintenant généralement appelée « couplage thiol-ène » (« thiol-ene coupling », TEC), tandis que la bis-hydrothiolation des alcynes terminaux est appelée « couplage thiol-yne » (« thiol-yne coupling », TYC). Les deux réactions commencent par la formation d'un radical thiyle qui est généré à partir du thiol par chauffage en présence d'un amorceur radicalaire ou par irradiation aux rayons UV, la longueur d'onde dépendant de la présence ou de l'absence d'un photo-amorceur approprié. Les conditions les plus douces, particulièrement adaptées aux biomolécules (sucres, peptides, protéines) [9-12], prévoient l'emploi de rayons UV-A ( $\lambda_{\max}$  365 nm), proches de la lumière visible, et de 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone (DPAP) en tant que photo-amorceur (figure 2). L'addition réversible du radical thiyle à l'alcène (ou alcyne) de manière anti-Markovnikov donne un radical centré sur le carbone qui, par abstraction d'un radical hydrogène du thiol,

## Encadré 2

### Quelques définitions de chimie verte

Plusieurs métriques ont été proposées pour quantifier l'efficacité ou la performance environnementale des transformations chimiques en termes de déchets.

L'**économie d'atomes** (en anglais **AE**) d'une réaction entre A et B qui conduit au produit P et au sous-produit SP est :

$$v_a A + v_b B \longrightarrow v_p P + v_{sp} SP$$

$$AE = \frac{v_p MM_p}{v_a MM_A + v_b MM_B} = \frac{v_p MM_p}{v_p MM_p + v_{sp} MM_{sp}} \quad \left( v : \text{coefficient stoechiométrique} \right)$$

MM : masse molaire

La valeur peut s'exprimer en pourcentage et indique la quantité d'atomes, en masse, des réactifs pouvant être incorporés dans le produit P. À noter que cette valeur théorique ne prend pas en compte le rendement ni les conditions expérimentales (excès de réactifs, solvants, etc.). On cherchera donc à mettre en œuvre des réactions pour lesquelles AE = 1 (ou 100 %).

Pour connaître la valeur réelle de la quantité de déchets, il faut calculer le **facteur environnemental E** (E = masse des déchets/masse du produit), la masse des déchets étant constituée de tout ce qui n'est pas recyclé (réactifs en excès, solvants, agents desséchants, support de chromatographie, etc.).

La détermination de ce facteur est basée sur les sortants et il est souvent plus aisé de calculer l'**intensité massique MI** (MI = masse des entrants/masse du produit) en se basant sur les entrants, c'est-à-dire les réactants (composés de départ et réactifs), les catalyseurs, les solvants et tous les autres auxiliaires utilisés pour la réaction, le traitement et la purification. Ces deux valeurs sont évidemment liées : E = MI - 1.

Il est clair qu'une synthèse faisant intervenir le moins d'étapes possible devra être préférée, en particulier les séquences de protection/déprotection de groupes fonctionnels devraient être évitées.

• Réf. : J. Augé, M.-C. Schermann, *Chimie verte - Concepts et applications*, EDP Sciences/CNRS Éditions, 2016.

conduit, de façon irréversible, au thioéther final (ou vinylthioéther) et à un nouveau radical thiyle, amorçant ainsi la propagation de la chaîne radicalaire. La régiosélectivité de l'addition du radical thiyle au vinylthioéther est due à la formation d'un radical stabilisé par l'atome de soufre adjacent qui, par abstraction d'un radical hydrogène du thiol, donne le bis(thioéther) final. Les réactions TEC et TYC procèdent avec 100 % d'économie d'atomes (voir encadré 2), régiosélectivité

totale, rendement quantitatif, cinétique rapide, et sans catalyseurs à base de métaux potentiellement toxiques. De plus, elles tolèrent un large éventail de groupes fonctionnels, peuvent être effectuées à température ambiante en l'absence de solvant ou dans des solvants polaires (eau, méthanol, DMF) et apolaires (toluène, dichlorométhane), et le seul produit secondaire formé est le disulfure résultant de l'homocouplage radicalaire du thiol en excès. Étant donné que les couplages ont lieu sous irradiation à une longueur d'onde proche de la lumière visible, ils ne nécessitent pas de verrerie en quartz et peuvent être effectués à l'aide d'une lampe UV-A à usage domestique de faible dimension (42 x 30 x 19 cm) et peu coûteuse.

### Aminoacides et peptides thioglycosylés

La plupart des protéines humaines sont glycosylées : il est désormais largement démontré que les sucres affectent profondément le repliement des protéines, l'immunogénicité, la stabilité vis-à-vis des protéases ainsi que leurs activités biologiques. Des études pour clarifier le mécanisme de tels événements, et éventuellement contrôler leur occurrence, sont à la pointe de la glycobiochimie moderne. Malheureusement, l'isolement de glycopeptides et glycoprotéines avec des chaînes oligosaccharidiques bien définies à partir de sources naturelles est très difficile en raison de la présence de diverses glycoformes et des liaisons labiles O- et N-glycosidiques. En conséquence, il est important de synthétiser des glycopeptides et glycoprotéines dont le nombre et la structure des sucres sont bien déterminés. À cet égard, les aminoacides S-glycosylés, molécules stables vis-à-vis des O- et N-glycosidases, peuvent être utilisés pour l'assemblage de glycopeptides non naturels. Les glycopeptides avec ces liaisons non natives sont des sondes pour les études biochimiques et

pourraient mener à la préparation de vaccins synthétiques. Alors que la méthode classique pour la synthèse des S-glycosyl-aminoacides repose sur la réaction entre un sucre activé et une cystéine protégée, le couplage thiol-ène permet l'assemblage de produits avec un bras de longueur variable reliant le résidu glycosyle et le groupe glycinyle. Cette stratégie est illustrée dans la *figure 3* montrant le couplage du tétra-O-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranose (**1**) avec la vinyl-glycine **2** et l'allyl-glycine **4** [13]. Les deux réactions ont lieu rapidement en irradiant à 365 nm en présence de DPAP comme photo-amorceur pour donner les aminoacides S-glycosylés **3** et **5** sans aucune perte d'intégrité stéréochimique.

Une autre stratégie consiste à fonctionnaliser la L-cystéine avec un groupe alcényle ou alcyne par réaction avec le bromure de butényle ou propargyle et à effectuer ensuite le couplage thiol-ène ou thiol-yne donnant lieu à un dérivé de la cystéine mono-glycosylé **9** ou bis-glycosylé **10** (*figure 4*) [13-14]. Bien que les configurations du carbone anomérique et de l'aminoacide soient préservées dans tous les cas, la formation d'un nouveau centre asymétrique issue du couplage thiol-yne conduit à un mélange de diastéréoisomères. Cette stratégie est aussi compatible avec les tétra- et octa-peptides, totalement déprotégés, qui contiennent une cystéine et un aminoacide basique (arginine, leucine) susceptible, en principe, d'être alkylé par le bromure de butényle ou propargyle [14].

Au cours des études sur la thioglycosylation de la S-propargyl-cystéine, il a été découvert qu'en présence d'un seul équivalent de thiosucre, l'addition conduit presque exclusivement au vinyl-thioéther intermédiaire (voir mécanisme dans la *figure 2*). Ce résultat est surprenant car la cinétique devrait être plus favorable dans la deuxième addition du thiol, celle qui donne le bis(thioéther), que dans la première (pour former le vinyl-thioéther), grâce à la stabilisation du radical intermédiaire par l'atome de soufre adjacent. Cette caractéristique inattendue du couplage thiol-yne, probablement due à l'encombrement stérique des thiosucres utilisés, a permis d'effectuer la bis-hydrothiolation séquentielle des alcyne-peptides en utilisant deux thiols différents [14]. Par exemple, le tripeptide glutathion a été propargylé en milieu aqueux pour donner **11**, et ce dernier a été soumis à l'addition photo-amorcée du 1-thio-β-D-glucopyranose **12** et du dérivé thiol de la biotine **14** sans purifications intermédiaires (*figure 5*). Cette nouvelle approche synthétique ouvre la voie à la double fonctionnalisation de peptides et protéines contenant une ou plusieurs unités de cystéine.

### S-disaccharides

Alors que plusieurs méthodes ont été utilisées pour la synthèse des thiodisaccharides [15], le couplage thiol-ène entre deux unités de sucre a été décrit pour la première fois en 2009 [16]. Parmi la dizaine de S-disaccharides préparés, les deux exemples ci-après montrent que le couplage thiol-ène est une réaction non seulement rapide (15 min) et efficace (89-92 %), mais aussi hautement stéréosélective (*figure 6*). Dans les deux cas, l'unité de sucre à l'extrémité réductrice des thiodisaccharides **17** et **19** appartient à la série « D », tandis que les diastéréoisomères « L » n'ont pas été détectés par analyse RMN 400 MHz du brut réactionnel. À signaler que si on ne dispose pas d'une lampe UV-A, la synthèse des S-disaccharides peut être réalisée par exposition directe au soleil : les rendements restent acceptables mais il faut s'armer de patience (8 h d'irradiation !) [16].

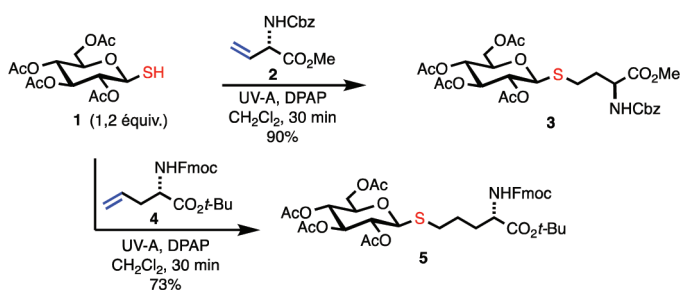


Figure 3 - Synthèse de S-glycosyl-aminoacides par couplage thiol-ène.

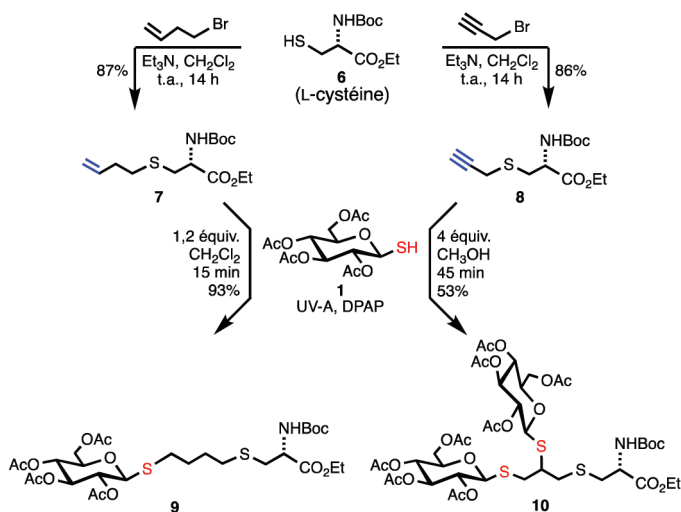


Figure 4 - Synthèse de mono- et bis-(S-glycosyl)cystéines.

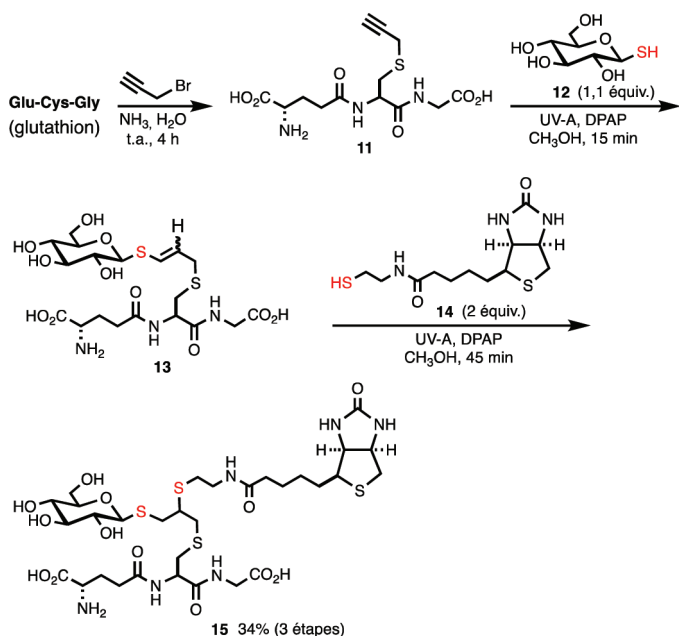


Figure 5 - Double fonctionnalisation du glutathion par couplage thiol-yne.

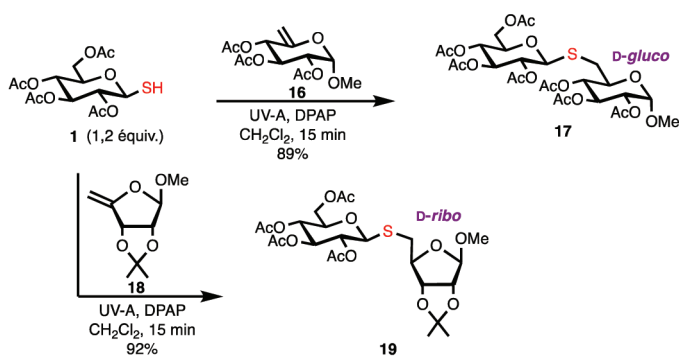


Figure 6 - Synthèse stéréosélective de S-disaccharides par couplage thiol-ène.

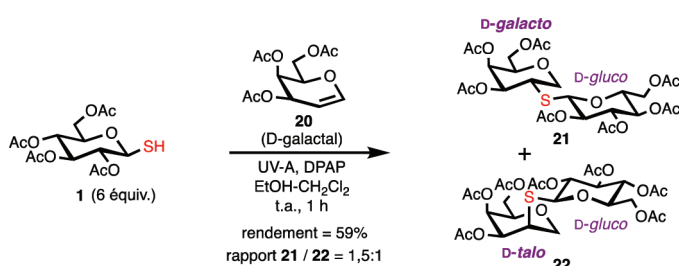


Figure 7 - Addition photo-amorcée de 1-thiosucres aux glycols.

D'autre part, l'addition de 1-thiosucres aux glycols, éthers d'énol cycliques très utilisés en glycochimie, est totalement régiosélective mais parfois incomplète malgré l'emploi d'un fort excès de thiol et une durée prolongée d'irradiation [17]. De surcroît, le couplage est souvent non stéréosélectif et les 1'-désoxy-thiodisaccharides épimères au C-2' (par ex. **21** et **22**, figure 7) se forment en quantité similaire, les proportions étant variables et liées à la configuration soit du glycol (D-glucal, D-galactal, D-allal, etc.) soit du 1-thiosucre (*gluco*, *galacto*, *manno*, etc.). Plus récemment, l'équipe de A. Borbás a montré qu'effectuer l'hydrothiolation des glycols à très basse température (-80 °C) permet d'augmenter considérablement le rendement et la stéréosélectivité en faveur du thiodisaccharide ayant la nouvelle liaison C-S axiale [18].

## Imino-S-disaccharides

Les iminosucres, quelques fois appelés à tort azasucres [19], sont des composés azotés monocycliques ou bicycliques polyhydroxylés qui peuvent être considérés comme des analogues de sucres portant un azote basique au lieu de l'atome d'oxygène endocyclique (figure 8). Ces produits naturels sont des inhibiteurs puissants mais non sélectifs des glycosidases et des glycosyltransférases. Leur activité d'inhibition est due, outre à la ressemblance stérique et stéréochimique aux sucres, à l'azote endocyclique qui est protoné à pH physiologique et génère de fortes interactions électrostatiques avec l'ion carboxylate situé dans le site actif de l'enzyme.

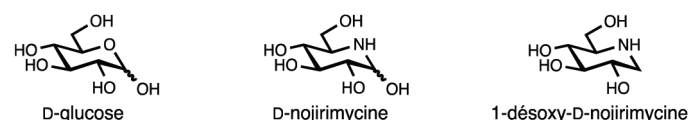


Figure 8 - Deux iminosucres naturels appartenant à la série stéréochimique D-gluco.

Afin de trouver de nouveaux traitements pour les pathologies provoquées par un dysfonctionnement de ces enzymes, de nombreux iminosucres monosaccharidiques ont été préparés au cours des quatre dernières décennies. Cependant, ces composés non naturels sont également des inhibiteurs de glycosidases non sélectifs et donc très peu utilisés en thérapie. En général, ces enzymes ne sont pas totalement sélectives pour le monosaccharide (glucose, mannose, etc.) et la liaison anomérique ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) qui doivent être clivés, mais certaines d'entre elles reconnaissent sélectivement l'unité de sucre lié au monosaccharide à hydrolyser. Pour cette raison, les imino-disaccharides, composés constitués d'un iminosucre lié à un sucre, devraient être de bons candidats pour l'inhibition sélective des glycosidases. Bien que plus de deux cents imino-disaccharides aient été synthétisés à ce jour [20], la plupart d'entre eux présentent des liaisons O- et N-glycosidiques labiles au niveau du sucre et/ou de l'iminosucre. Dans le but d'obtenir des structures non hydrolysables, nous avons proposé une synthèse directe d'imino-disaccharides chimiquement et enzymatiquement stables où l'iminosucre est lié par une chaîne N-alkyle (e.g. **25**, figure 9) ou par une liaison C-glycosidique (e.g. **27**) au sucre qui, à son tour, est un S-glycoside [21]. Les monosaccharides O- et N-déprotégés (iminosucres **23** et **26**, thiosucres **24** et **12**) ont été connectés en exploitant le couplage thiol-ène en présence d'un acide fort (acide trifluoroacétique, TFA) pour éviter la déprotonation du thiol par l'azote basique de l'alcényl-iminosucre (l'anion glycosyl-thiolate ne peut pas générer le radical thiyle) (figure 9).

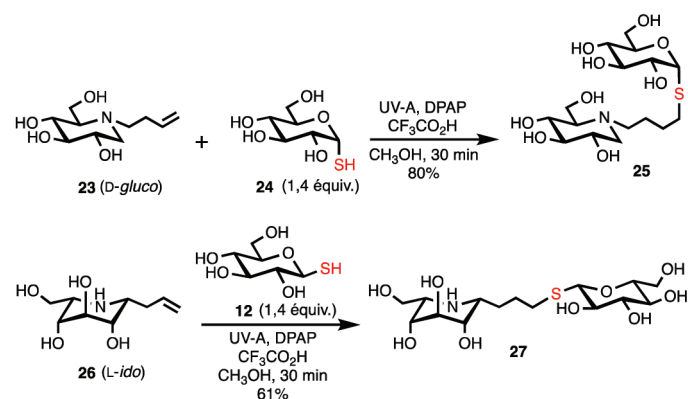


Figure 9 - Synthèse d'imino-S-disaccharides par couplage thiol-ène.



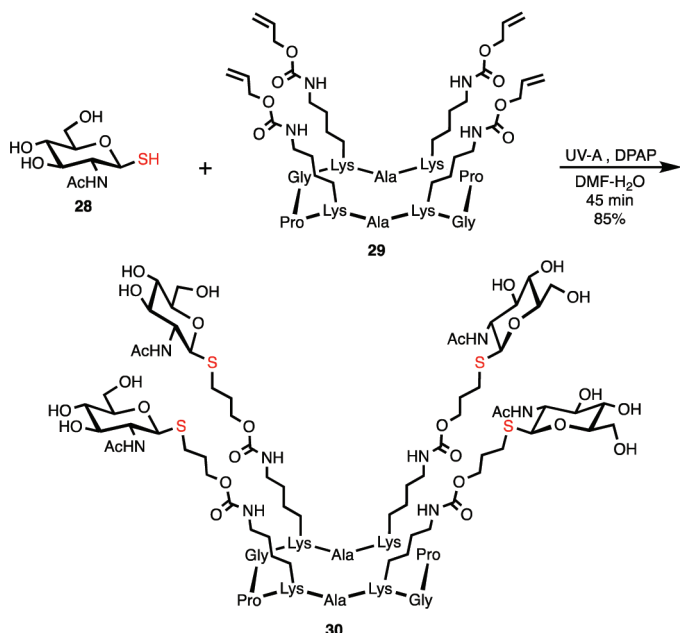


Figure 10 - Synthèse d'un système tétravalent sur une plateforme cyclodécapeptide.

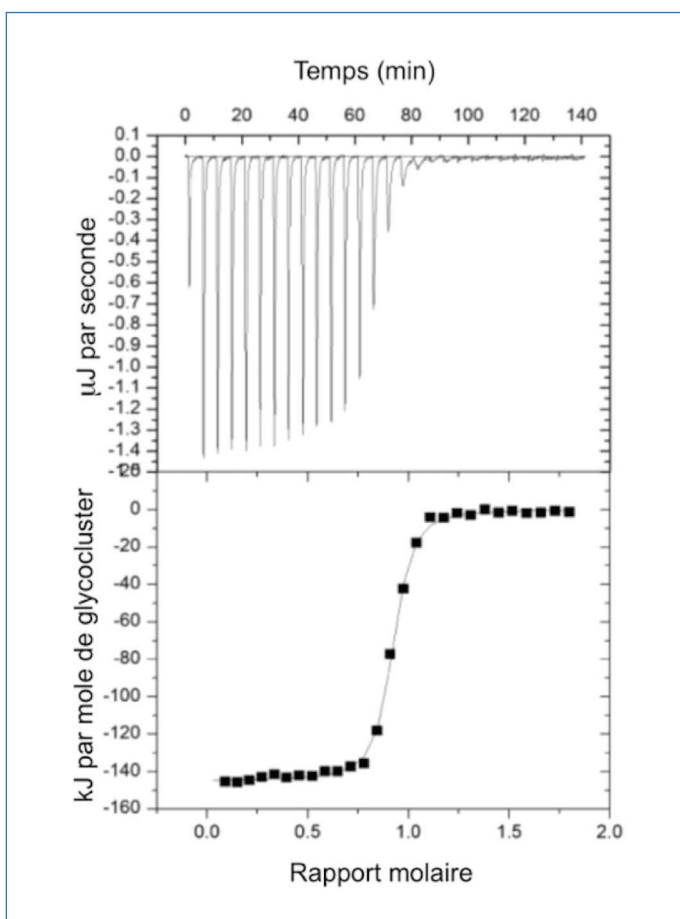


Figure 11 - Données ITC. Haut : thermogramme obtenu par injection, toutes les 5 minutes, d'une solution du glycocluster **30** à une solution de la lectine WGA. Bas : isotherme de fixation.  $\Delta H$  : amplitude de l'isotherme de fixation ;  $K_{\text{association}} = 1/K_{\text{dissociation}}$  : pente de l'isotherme de fixation.

Pour isoler les imino-disaccharides **25** et **27**, la technique de « catch and release », basée sur l'utilisation de résines échangeuses d'ions, a permis à la fois le traitement du brut réactionnel et la purification de ces molécules basiques hydrosolubles.

### Thiosucres multivalents : un peu, beaucoup, passionnément !

Il est fermement établi que de nombreux processus physiologiques (par exemple la fécondation) et pathologiques (comme l'adhésion de virus et bactéries aux cellules) se produisent lors d'interactions entre les sucres et les lectines, protéines d'origine non immune qui se lient réversiblement aux glucides et ne montrent aucune activité enzymatique. Les interactions entre une seule unité de sucre et la lectine sont généralement très faibles et peu sélectives ; cependant, dans le cas où plusieurs unités du même sucre sont regroupées avec la bonne disposition sur une plateforme, l'interaction devient forte et spécifique. On a constaté que le grand nombre d'interactions faibles génère une adhésion beaucoup plus forte que celle attendue sur la base de la simple augmentation de la concentration locale du sucre, un phénomène appelé « effet cluster glycosidique ». Il est évident que pour étudier ou inhiber cette reconnaissance sucre-lectine, des architectures multivalentes avec une large gamme de valences et d'arrangements tridimensionnels doivent être synthétisées [22]. Étant donné que souvent l'espacement et les géométries des sites de liaison des lectines ne sont pas connus, la construction d'un grand nombre de glycoclusters et l'évaluation de l'affinité pour chacun d'entre eux est une approche empirique mais viable. Nous avons tiré profit des couplages thiol-ène et thiol-yne pour préparer plusieurs séries de structures multivalentes affichant de 4 à 96 unités de sucre. Les paragraphes ci-après illustrent de façon succincte les thiosucres multivalents obtenus à partir de différentes plateformes moléculaires.

#### • Systèmes tétravalents

Les équipes de P. Dumy et O. Renaudet à Grenoble et Montpellier ont amplement démontré l'utilité des cyclodécapeptides conformationnellement stables comme échafaudages pour la présentation multivalente de sucres dans une orientation spatiale bien définie. Un nouvel exemple est représenté par le couplage thiol-ène en milieu aqueux entre le cyclodeptide **29** présentant les quatre unités de L-lysine protégées par le groupe allyloxycarbonyle et le 2-acétamido-2-désoxy-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranose **28** pour donner l'adduit tétravalent **30**, avec un rendement de 85 % (figure 10) [23]. Comme dans d'autres cas décrits dans les paragraphes précédents, la réaction est parfaitement compatible avec les sucres et les peptides déprotégés.

Les essais compétitifs ELLA (« enzyme-linked lectin assay ») ont montré que chaque sucre du glycocluster tétravalent **30** a une capacité de se lier à l'agglutinine de germe de blé (« wheat germ agglutinin », WGA), une lectine spécifique pour la N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc), de 4,9 millions de fois supérieure à celle du ligand monosaccharidique GlcNAc. Cet effet remarquablement fort a été confirmé par titrage calorimétrique isotherme (« isothermal titration calorimetry », ITC), une méthode qui permet d'obtenir des données thermodynamiques telles que la stœchiométrie, la constante de dissociation ( $K_d$ ), la variation d'enthalpie ( $\Delta H$ ) et la variation d'entropie ( $\Delta S$ ) des interactions sucre-lectine en solution [24]. Contrairement à l'analyse ELLA, cette technique ne nécessite ni marquage ni immobilisation de la protéine ou des ligands. Les expériences ITC (figure 11) ont permis de déterminer  $\Delta H$  (-164 kJ/mol),  $\Delta S$  (-118 kJ/mol) et  $K_d$  (8,8  $\pm$  0,3 nanomolaire) pour le glycocluster tétravalent **30**, présentant ainsi une affinité 212 500 plus élevée que le

monosaccharide GlcNAc. Les résultats globaux démontrent que les plateformes de type cyclodécapeptide présentent les sucres dans une orientation favorable pour interagir avec cette lectine. De plus, des essais avec les dérivés mono-, di- et trivalents correspondants ont révélé que la tétravalence est indispensable pour obtenir une affinité élevée vis-à-vis de WGA.

Les calix[4]arènes (macrocycles constitués de quatre résidus phénol reliés par des ponts méthylène) sont des plateformes souvent utilisées pour la préparation de sucres multivalents en raison de leur fonctionnalisation aisée, la tolérance aux diverses conditions de réaction et le contrôle de la mobilité conformationnelle par la substitution appropriée des groupes hydroxyle [25]. Ces macrocycles peuvent également servir de plateformes dans le cas du couplage thiol-ène : la réaction entre un excès de tétra-O-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranose **1** (3 équiv. par groupe allyle) et les calix[4]arènes, en conformation bloquée « cône », portant quatre groupes allyle au bord supérieur ou inférieur, donne les dérivés tétravalents correspondants **31** et **32** avec un rendement de 78 et 88 %, respectivement, sans modifier la conformation originale des calix[4]arènes (figure 12) [26].

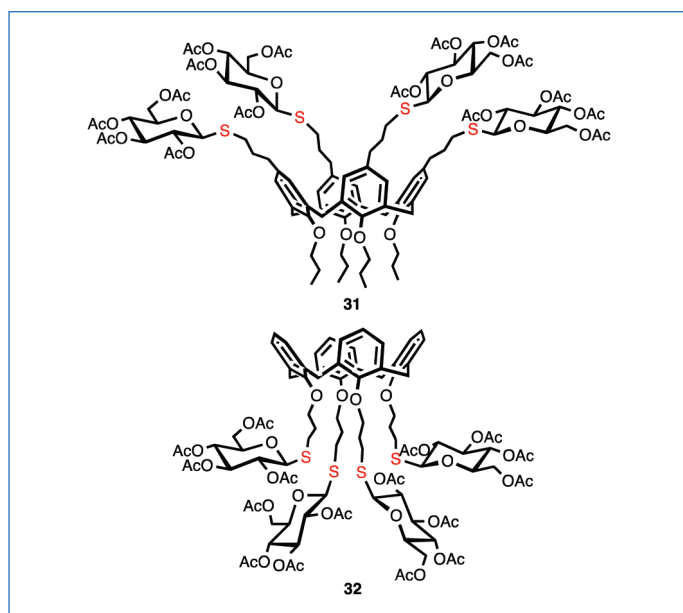


Figure 12 - Systèmes tétravalents construits sur une plateforme calixarène.

### • Systèmes octovalents

Afin de préparer des architectures moléculaires ayant plus de quatre unités de sucre, on peut exploiter encore une fois le calix[4]arène en tant que plateforme. Le macrocycle tétra-C-allylé au bord supérieur et tétra-O-allylé au bord inférieur a été couplé avec un excès de tétra-O-acétyl-1-thio-β-D-glucopyranose **1** pour donner, après une heure d'irradiation, le calixarène octa-glycosylé **33** qui a été isolé avec un rendement de 67 %, correspondant à une moyenne de 95 % pour chaque couplage thiol-ène (figure 13) [26].

Les silsesquioxanes octamériques cubiques (en anglais COSS), plus communément appelés oligosilsesquioxanes polyédriques (POSS), sont des matériaux hybrides organiques-inorganiques qui suscitent un intérêt croissant dans le domaine de la reconnaissance moléculaire en raison de la présence de huit substituants équivalents dans une structure globulaire. Les expériences initiales de couplage photochimique entre l'octavinyl-POSS commercial (figure 14) et un excès de 1-thiosucre n'ont pas été satisfaisantes car seuls des

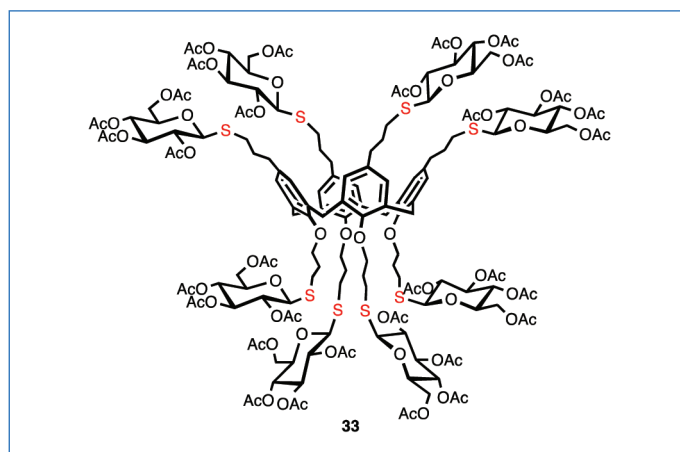


Figure 13 - Octaglycosyl-calix[4]arène obtenu par couplage thiol-ène.

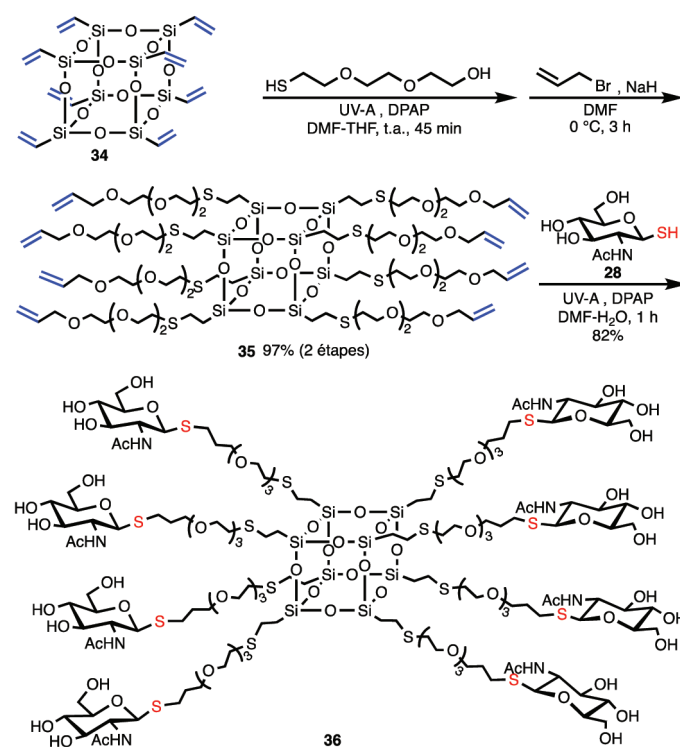


Figure 14 - Synthèse d'un système octovalent sur une plateforme oligosilsesquioxane polyédrique.

dérivés POSS partiellement glycosylés ont été obtenus, très vraisemblablement à cause d'un encombrement stérique important. Cet obstacle peut être contourné en introduisant un bras hydrophile portant une fonction alcène à l'extrémité. Une chaîne de type polyéthylène glycol (PEG) a été introduite par couplage photo-amorcé de l'octavinyl-silsesquioxane **34** avec un PEG-thiol équipé d'un groupe hydroxyle terminal, suivi de l'alkylation avec le bromure d'allyle pour donner presque quantitativement l'octa-allyl-PEG-silsesquioxane **35** (figure 14). Le spectre RMN de ce composé a révélé une seule série d'hydrogènes de la double liaison conformément à la symétrie  $T_8$  du système. L'irradiation UV-A de ce dernier en présence de 2-acétamido-2-désoxy-1-thio-β-D-glucopyranose **28** (3 équiv. par groupe allyle) permet l'hydrothiolation complète et le glycluster octovalent **36** est isolé avec un rendement de 82 % [27]. Il est important de noter que les conditions de réaction dans lesquelles les couplages thiol-ène ont été effectués n'ont pas modifié la structure symétrique de l'oligosilsesquioxane polyédrique, comme en témoigne

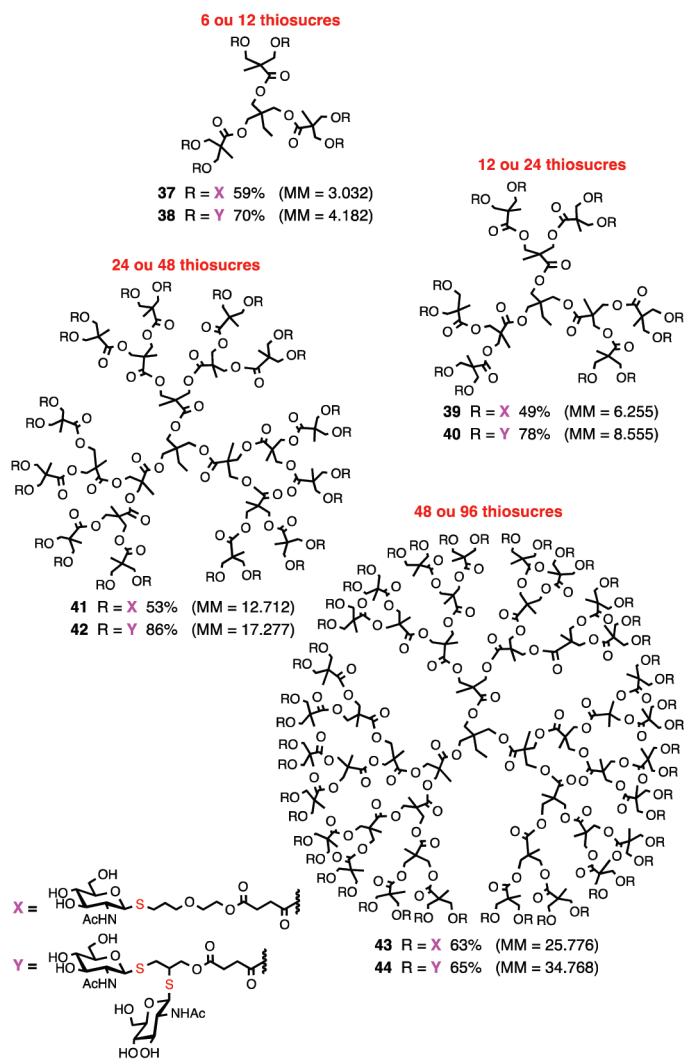


Figure 15 - Glycodendrimères de 1<sup>ère</sup> à 4<sup>e</sup> génération préparés par couplage thiol-ène et thiol-yne.

l'analyse <sup>29</sup>Si-RMN. Ce système octovalent a une forte affinité vis-à-vis de l'agglutinine de germe de blé (WGA) : les essais compétitifs ELLA ont montré que chaque sucre du glycocluster a une capacité de se lier à la lectine un million de fois supérieure à celle du monosaccharide GlcNAc utilisé comme référence monovalente. Des résultats comparables ont été obtenus par le couplage thiol-yne entre le thiosucre **28** et l'octa-propargyl-PEG silsesquioxane préparé par une séquence de réactions similaire à celle montrée dans la figure 14 [28]. La capacité de chaque sucre du glycocluster hexadécavalent de se lier à la lectine WGA est de 900 000 fois supérieure à celle du monosaccharide GlcNAc (essais ELLA).

### • Glycodendrimères

Un dendrimère est une macromolécule synthétique hautement ramifiée, monodisperse et polyfonctionnelle, constituée d'unités répétitives (appelées « générations ») liées les unes aux autres par un processus arborescent autour d'un noyau central. Contrairement aux polymères, qui ont des structures moléculaires mal définies (un inconvénient important pour les applications médicales en termes de caractérisation des produits), les dendrimères sont structurellement bien définis et peuvent être synthétisés à partir d'une approche itérative contrôlée. Dans les glycodendrimères, les saccharides sont conjugués selon les principes de la croissance dendritique ou, plus souvent, sont liés à des échafaudages dendritiques préexistants hautement fonctionnalisés [29]. Plusieurs

méthodes de ligation ont été utilisées pour la synthèse des glycodendrimères, en particulier la cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre (« Cu-catalysed azide-alkyne cycloaddition », CuAAC) qui conduit aux triazoles 1,4-disubstitués. Une méthode alternative, basée sur l'addition radicalaire photo-amorcée de 1-thiosucres aux groupes alcène ou alcyne à l'extrémité des dendrimères, peut surmonter la grave limitation de la CuAAC dans la synthèse de médicaments : la contamination des adduits par le catalyseur à base de cuivre, un métal toxique. De plus, les ligations TEC et TYC permettent de remplacer le triazole, un bras espaceur rigide et hydrophobe, par une liaison thioglycosidique flexible et plus hydrophile.

Les dendrimères hydroxylés à base de polyester d'acide bis(hydrométhyl)-propanoïque de quatre générations différentes (figure 15, R = H), formés à partir d'un noyau tris(hydroxyméthyl)-propane, ont été traités séparément avec l'anhydride 3-[2-(allyloxy)éthoxycarbonyl]-propanoïque ou 3-(propargyloxycarbonyl)-propanoïque pour donner les dendrimères allylés ou propargylés correspondants, tous isolés par chromatographie sur colonne de gel de silice. Ensuite, l'irradiation pendant 1 h de ces dendrimères en présence de DPAP et d'un excès de 2-acétamido-2-désoxy-1-thio-β-D-glucopyranose **28** conduit aux glycodendrimères **37**, **39**, **41** et **43** par couplage thiol-ène (rendement de 49-63 %) ou aux glycodendrimères **38**, **40**, **42** et **44** par couplage thiol-yne (65-86 %) après purification par chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20 (figure 15) [30]. Les produits synthétisés ont sur leur surface un nombre de N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) allant de six unités par molécule, pour l'adduit **37** préparé par couplage thiol-ène (TEC), jusqu'à 96 unités par molécule pour l'adduit **44** obtenu par couplage thiol-yne (TYC). La structure de ces composés (masses molaires de 3 000 à 35 000) a été confirmée par spectrométrie de masse MALDI-TOF et analyse élémentaire. Les essais ELLA ont prouvé que tous les glycodendrimères montrent une excellente affinité envers la lectine WGA (de 170 000 à plus de 2 millions de fois supérieure, par unité de sucre, à celle du monosaccharide GlcNAc). Cependant, en comparant les valeurs trouvées pour les couples de glycodendrimères préparés par ligation TEC et TYC affichant le même nombre de GlcNAc (par ex. **38** et **39** ou **42** et **43**), il apparaît que la densité de sucre plus élevée (nombre de sucres par volume ou par unité de masse molaire de plateforme dendrimérique) n'améliore pas l'affinité vis-à-vis de l'agglutinine du germe de blé. Ce travail montre que l'augmentation de la densité de sucre et, dans une moindre mesure, de la valence d'un dendrimère (et probablement d'autres plateformes), conduit à une amélioration modérée ou même réduite de l'affinité pour une lectine. Cette observation constitue une information importante pour la conception et la réalisation de nouvelles architectures multivalentes.

### Vers le développement de nouveaux médicaments

Les composés naturels contenant du soufre, dont les 1-thiosucres, sont largement utilisés comme agents thérapeutiques dans le traitement de diverses maladies. Les chimistes ont également exploité le soufre pour développer de nouveaux médicaments où cet élément est présent non seulement dans des groupes fonctionnels (sulfonamide, sulfone, etc.) et des hétérocycles (thiazole, thiazine, etc.), mais également dans les thioglycosides. Pour ne citer qu'un exemple, un



article publié en 2020 a rapporté que les S-disaccharides ont une activité antinéoplasique en favorisant l'apoptose dans les cellules cancéreuses sans affecter les cellules normales [31].  
Le mot de la fin : saviez-vous que les thiosucres et leur conjugués n'ont aucune (mauvaise) odeur car non volatils ? Une raison de plus pour les utiliser !

[1] S. Messaoudi, Les thiosucres : réactivité et applications, *L'Act. Chim.*, **2020**, *448*, p. 12-15.  
[2] C.-I. Lin, R.M. McCarty, H. Liu, The biosynthesis of nitrogen-, sulfur-, and high-carbon chain-containing sugars, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, p. 4377-4407, <https://doi.org/10.1039/C2cs35438a>.  
[3] Z.J. Witzczak, J.M. Culhane, Thiosugars: new perspectives regarding availability and potential biochemical and medicinal applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2005**, *69*, p. 237-244, <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0156-x>.  
[4] J.E. Stencel-Baerenwald, K. Reiss, D.M. Reiter, T. Stehle, T.S. Dermody, The sweet spot: defining virus-sialic acid interactions, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2014**, *12*, p. 739-749, <https://doi.org/10.1038/nrmicro3346>.  
[5] G.F. Clark, The role of carbohydrate recognition during human sperm-egg binding, *Hum. Reprod.*, **2013**, *28*, p. 566-577, <https://doi.org/10.1093/humrep/des447>.  
[6] E. Montero *et al.*, The conformational behaviour of non-hydrolyzable lactose analogues: the thioglycoside, carbaglycoside, and carba-iminoglycoside cases, *Eur. J. Org. Chem.*, **2000**, p. 1945-1952, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0690\(200005\)2000:10<1945::AID-EJOC1945>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0690(200005)2000:10<1945::AID-EJOC1945>3.0.CO;2-G).  
[7] A. Bruneau, M. Roche, A. Hamze, J.-D. Brion, M. Alami, S. Messaoudi, Stereoretentive palladium-catalyzed arylation, alkenylation, and alkylation of 1-thiosugars and thiols using aminobiphenyl palladacycle precatalyst at room temperature, *Chem. Eur. J.*, **2015**, *21*, p. 8375-8379, <https://doi.org/10.1002/chem.201501050>.  
[8] A. Chabrier *et al.*, Stereoretentive copper-catalyzed directed thioglycosylation of C(sp<sup>2</sup>)-H bonds of benzamides, *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, p. 15006-15010, <https://doi.org/10.1002/chem.201602909>.  
[9] A. Dondoni, A. Marra, Recent applications of thiol-ene coupling as a click process for glycoconjugation, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, p. 573-586, <https://doi.org/10.1039/C1cs15157f>.  
[10] A. Dondoni, A. Marra, Free-radical thiol-ene and thiol-yne couplings as click processes for glycoconjugation, in *Click Chemistry in Glycoscience: New Developments and Strategies*, Z.J. Witzczak, R. Bielski (eds), Wiley, **2013**, p. 45-75.  
[11] A. Dondoni, A. Marra, Metal-catalyzed and metal-free alkyne hydrothiolation: synthetic aspects and application trends, *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, p. 3955-3969, <https://doi.org/10.1002/ejoc.201301879>.  
[12] L. McSweeney, F. Dénès, E.M. Scanlan, Thiyl-radical reactions in carbohydrate chemistry: from thiosugars to glycoconjugate synthesis, *Eur. J. Org. Chem.*, **2016**, p. 2080-2095, <https://doi.org/10.1002/ejoc.201501543>.  
[13] M. Fiore, M. Lo Conte, S. Pacifico, A. Marra, A. Dondoni, Synthesis of S-glycosyl amino acids and S-glycopeptides via photoinduced click thiol-ene coupling, *Tetrahedron Lett.*, **2011**, *52*, p. 444-447, <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.11.097>.  
[14] M. Lo Conte, S. Pacifico, A. Chambery, A. Marra, A. Dondoni, Photoinduced addition of glycosyl thiols to alkynyl peptides: use of free-radical thiol-yne coupling for post-translational double-glycosylation of peptides, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, p. 4644-4647, <https://doi.org/10.1021/jo1008178>.  
[15] K. Pachamuthu, R.R. Schmidt, Synthetic routes to thioligosaccharides and thioglycopeptides, *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, p. 160-187, <https://doi.org/10.1021/cr040660c>.  
[16] M. Fiore, A. Marra, A. Dondoni, Photoinduced thiol-ene coupling as a click ligation tool for thiodisaccharide synthesis, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, p. 4422-4425, <https://doi.org/10.1021/jo900514w>.

[17] S. Staderini, A. Chambery, A. Marra, A. Dondoni, Free-radical hydrothiolation of glycals: a thiol-ene-based synthesis of S-disaccharides, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, p. 702-704, <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.11.140>.  
[18] A. Borbás, Photoinitiated thiol-ene reactions of enoses: a powerful tool for stereoselective synthesis of glycomimetics with challenging glycosidic linkages, *Chem. Eur. J.*, **2020**, *26*, p. 6090-6101, <https://doi.org/10.1002/chem.201905408>.  
[19] IUPAC Nomenclature of Carbohydrates, Recommendations 1996, 2-Carb-34.1, [www.qmul.ac.uk/sbcs/iupac/2carb/34.html](http://www.qmul.ac.uk/sbcs/iupac/2carb/34.html) (consulté le 09/06/20).  
[20] A. Marra, R. Zelli, Synthesis and biological properties of imino-disaccharides and -oligosaccharides, in *Specialist Periodical Reports – Carbohydrate Chemistry: Chemical and Biological Approaches*, A. Pilar Rauter, T.K. Lindhorst, Y. Queneau (eds), Royal Society of Chemistry, **2018**, *43*, p. 1-70.  
[21] R. Zelli, P. Dumy, A. Marra, Metal-free synthesis of imino-disaccharides and calix-imosugars by photoinduced radical thiol-ene coupling (TEC), *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, *18*, p. 2392-2397, <https://doi.org/10.1039/D00B00198H>.  
[22] S. Cecioni, A. Imberty, S. Vidal, Glycomimetics versus multivalent glycoconjugates for the design of high affinity lectin ligands, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, p. 525-561, <https://doi.org/10.1021/cr500303t>.  
[23] M. Fiore *et al.*, Tetravalent glycocyclopeptide with nanomolar affinity to wheat germ agglutinin, *Org. Biomol. Chem.*, **2013**, *11*, p. 7113-7122, <https://doi.org/10.1039/c3ob41203b>.  
[24] G.A. Holdgate, W.H.J. Ward, Measurements of binding thermodynamics in drug discovery, *Drug Discov. Today*, **2005**, *10*, p. 1543-1550, [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03610-X](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03610-X).  
[25] A. Marra, A. Dondoni, Calixarene and calixresorcarene glycosides: their synthesis and biological applications, *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, p. 4949-4977, <https://doi.org/10.1021/cr100027b>.  
[26] M. Fiore, A. Chambery, A. Marra, A. Dondoni, Single and dual glycoside clustering round calix[4]arene scaffolds via click thiol-ene coupling and azide-alkyne cycloaddition, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, p. 3910-3913, <https://doi.org/10.1039/b912686d>.  
[27] M. Lo Conte *et al.*, Glycoside and peptide clustering around the octasilsesquioxane scaffold via photoinduced free-radical thiol-ene coupling: the observation of a striking glycoside cluster effect, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, *10*, p. 3269-3277, <https://doi.org/10.1039/C2OB07078B>.  
[28] A. Marra *et al.*, Thiyl glycosylation of propargylated octasilsesquioxane: synthesis and lectin binding properties of densely glycosylated clusters on a cubic platform, *Eur. J. Org. Chem.*, **2013**, p. 1144-1149, <https://doi.org/10.1002/ejoc.201201453>.  
[29] Y.M. Chabre, R. Roy, Design and creativity in synthesis of multivalent neoglycoconjugates, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **2010**, *63*, p. 165-393, [https://doi.org/10.1016/S0065-2318\(10\)63006-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(10)63006-5).  
[30] M. Ghirardello *et al.*, Thiol-ene and thiol-yne-based synthesis of glycodendrimers as nanomolar inhibitors of wheat germ agglutinin, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **2014**, *52*, p. 2422-2433, <https://doi.org/10.1002/pola.27262>.  
[31] J. Sarnik *et al.*, (1-4)-Thiodisaccharides as anticancer agents. Part 5. Evaluation of anticancer activity and investigation of mechanism of action, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2020**, *30*, art. 126904, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126904>.

**Alberto MARRA,**

Professeur de l'Université de Montpellier, équipe « Glycochimie et Reconnaissance moléculaire » de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM, UMR 5247).

\*Alberto.Marra@umontpellier.fr



Retrouvez-nous en ligne !  
**lactualitechimique.org**  
Archives, actus, photothèque...