



HAL
open science

Conception et synthèse bioinspirées de nucléolipides pour l'élaboration de biomatériaux

Aladin Hamoud

► **To cite this version:**

Aladin Hamoud. Conception et synthèse bioinspirées de nucléolipides pour l'élaboration de biomatériaux. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2018. Français. NNT : 2018BORD0250 . tel-03092249

HAL Id: tel-03092249

<https://theses.hal.science/tel-03092249>

Submitted on 2 Jan 2021

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DE CHIMIE
SPÉCIALITÉ CHIMIE ORGANIQUE

Par Aladin HAMOUD

**CONCEPTION ET SYNTHÈSE BIOINSPIRÉE DE
NUCLEOLIPIDES POUR L'ÉLABORATION DE
BIOMATÉRIAUX**

Sous la direction de : Valérie Desvergnès

Soutenue le 6 décembre 2018

Membres du jury :

M. BARTHELEMY, Philippe	Professeur, Université de Bordeaux	Président du jury
M. BRIERE, Jean-François	Directeur de Recherche, CNRS	Rapporteur
M. SMIETANA, Michael	Professeur, Université de Montpellier	Rapporteur
Mme GENIN, Emilie	Maître de conférence, Université de Bordeaux	Examineur
M. POLIDORI, Ange	Professeur, Université d'Avignon	Examineur
Mme DESVERGNES, Valérie	Chargée de Recherche, CNRS	Directrice de thèse

Ce travail a été réalisé à l'université de Bordeaux sous la direction du Docteur Valérie Desvergnès. Je tiens tout d'abord à lui adresser mes remerciements pour m'avoir confié un sujet de recherche passionnant, pour son implication au laboratoire comme dans la relecture et la correction de ce manuscrit et pour sa disponibilité tout au long de ces trois dernières années.

J'adresse également mes sincères remerciements au Professeur Philippe Barthélémy pour m'avoir accueilli dans le laboratoire ChemBioParm, au sein duquel j'ai pu évoluer dans un environnement interdisciplinaire et riche qu'il guide avec un enthousiasme inspirant.

J'adresse mes plus vifs remerciements au Professeur Michael Smietana (université de Montpellier) et au Docteur Jean-François Brière (université de Rouen) pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail. J'associe à ces remerciements le Professeur Ange Polidori (université d'Avignon) et le Docteur Emilie Genin (Université de Bordeaux) qui honorent également de leur présence le jury de cette thèse en qualité d'examineurs.

Ces travaux se sont inscrits dans des projets interdisciplinaires et ont bénéficié d'une expertise dans d'autres domaines que celui de la chimie organique à l'université de Bordeaux. J'adresse mes remerciements à Sylvie Crauste-Manciet pour la collaboration au sein du laboratoire concernant le développement des gels et des nanoémulsions. Pour l'analyse par RMN des gels, leur écoute et leurs explications claires, j'adresse mes sincères remerciements au Docteur Antoine Loquet et au Docteur Ahmad Saad. J'associe à ces remerciements Brice Kauffmann pour les efforts réalisés lors des tentatives d'analyses par rayons X.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes collègues de laboratoire présents et passés, en particulier à Mégane Debais pour son travail de stage remarquable sur la chimie dans l'eau, à Julien Verget pour les synthèses qu'il a réalisées et pour la bonne ambiance qu'il fait régner au laboratoire, au Docteur Alexandra Gaubert pour son aide précieuse lors de l'étude des gels et ses conseils avisés et à Anthony Cunha qui a valorisé une partie de ce travail au travers de la synthèse de nucléolipides lipophiles et de la réalisation de nanoémulsions. Je remercie particulièrement Geoffrey Prévot dont le travail sur les nanoémulsions a initié l'étude des oléogels. Pour avoir partagé, au-delà de leur bureau, leurs conseils, leur entrain, et pour m'avoir permis de participer à des enseignements à leur côté, je remercie également le Docteur Laurent Latxague et le Docteur Arnaud Gissot.

Pour sa participation active à ce travail par son expertise en rhéologie dont elle a su me transmettre les bases, son apport en synthèse organique et son implication dans la relecture de ce manuscrit, pour tous les bons moments marqués de sa présence et pour son soutien indéfectible, je tiens à adresser de profonds remerciements à Julie Baillet sans qui cette expérience n'aurait pas été aussi enrichissante qu'elle l'a été.

Je remercie également toutes les personnes ayant participé à la relecture attentive et à la correction de ce manuscrit.

J'adresse de très sincères remerciements à mes confrères Kevin Antien et Anthony Fernandes pour les échanges scientifiques de qualité procurés tout au long de mon parcours universitaire, au travers d'une amitié qui a élevé mon intérêt pour la chimie au niveau de la recherche et inspire encore mon travail aujourd'hui.

Je remercie profondément tous mes proches pour leur soutien sans faille, leurs encouragements, leurs passions et pour être des sources d'inspiration, en particulier Baptiste, Clément, Thomas et mes professeurs de piano Pascal et Hilomi.

Enfin, mon frère, ma sœur, ma mère et mon père, c'est avec mes sentiments les plus profonds que je vous remercie pour votre amour, votre soutien, vos sourires, votre présence, votre lumière.

Sigles et abréviations

A : adénine	HMWG : High molecular weight gelator
Ac : acétyle	<i>i</i> -PrOH : isopropanol
ACN : acétonitrile	IR : spectroscopie infra-rouge
ADN : acide désoxyribonucléique	K ₂ CO ₃ : carbonate de potassium
APTS : acide para-toluènesulfonique	LMWG : Low molecular weight gelator
ARN : acide ribonucléique	m/m : masse/masse
Ar : aromatique	Me : méthyle
ATP : adénosine-5'-triphosphate	MeCN : acétonitrile
AZT : 3'-azido-3'-désoxythymidine	MeOH : méthanol
Bn : benzyle	MET : Microscopie électronique à transmission
<i>n</i> -BuOH : <i>n</i> -butanol	NAD : nicotinamide adénine dinucléotide
<i>t</i> -Bu : tert-butyle	NADH : forme réduite de NAD
C : cytosine	NHC : Carbène-N-Heterocyclic
Cat. : catalyseur	NL : nucléolipide
CDI : carbonyldiimidazole	PBS : Phosphate buffered saline
CMG : concentration minimale de gélation	Pd/C : palladium sur charbon activé
DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène	PEG : polyéthylèneglycol
DCM : dichlorométhane	Ph : phényle
DMAP : diméthylaminopyridine	Pr : propyle
DMF : diméthylformamide	Py : pyridine
DMSO : diméthylsulfoxyde	<i>i</i> -Pr : isopropyle
DOPC : dioléylglycérophosphocholine	Rdt : rendement
DSC : calorimétrie différentielle à balayage	RMN : résonance magnétique nucléaire
Eq. : équivalent	SAXS : Small angle X-ray scattering
Et : éthyle	T : thymine
EtOH : éthanol	t.a. : température ambiante
G : guanine	TBAF : fluorure de tétrabutylammonium
GNL : glycosylnucléolipide	TBDMS : tert-butyldiméthylsilyle
HMBC : heteronuclear multiple bond correlation	TBDPS : tert-butyldiphénylsilyle
HMDS : hexaméthylidisilazane	TCM : triglycéride à chaîne moyenne
HRMS : spectrométrie de masse haute résolution	THF : tétrahydrofurane
	TIPS : triisopropylsilyle

TM : tamis moléculaire

TTMS : tris(triméthyl)silyl

Ts : tosyl

U : uracile

DLS dynamic light scattering

ESI-MS electrospray ionization mass spectrometry

μ ondes : micro-ondes

INEPT : insensitive nuclei enhanced by polarization transfer

CP : cross-polarization

WAXS : Wide angle X-ray scattering

Table des matières

Introduction générale	1
Chapitre 1 : Les nucléolipides : outil supramoléculaire pour des biomatériaux	5
I) Généralités sur les constituants des Nucléolipides	7
I.1) Acides Nucléiques, nucléotides, nucléosides et nucléobases	7
I.2) Propriétés d'assemblage des acides nucléiques	8
I.3) Auto-assemblage de nucléotides, nucléosides et nucléobases	12
I.4) Propriétés des lipides	13
II) Les Nucléolipides	15
II.1) Les nucléolipides naturels	16
II.1.1) Cas de la cytidinediphosphate diacylglycérol	16
II.1.2) Nucléolipides naturels d'intérêt thérapeutique	17
II.1.3) Les Agélasines : une famille de nucléobase-lipides	18
II.2) Influence de la composition structurale dans les nucléolipides synthétiques	21
II.2.1) Exemple de la cytarabine	21
II.2.2) Substitution et modification des nucléolipides	25

II.3)	Influence de la nature du lien chimique entre nucléotide, nucléoside, nucléobase et le lipide	30
II.3.1)	Cas des nucléotides-lipides	30
II.3.2)	Cas des nucléosides-lipides	32
III)	Nucléolipides portant un lien de type triazole	40
III.1)	Nucléolipides organogélateurs	41
III.2)	Conception d'hydrogélateurs	42
III.3)	Structures de type bolaamphiphile	48
IV)	Développement de stratégies bioinspirées	52
IV.1)	Définition et concept	53
IV.2)	Réactions organocatalysées bioinspirées	56
IV.3)	Synthèse bioinspirée de dicétones-1,4	57
Chapitre 2 : Synthèse bioinspirée de nucléolipides		61
I)	Stratégies de synthèse de dicétones-1,4	62
I.1)	Méthodes d'accès aux dicétones-1,4	62
I.2)	La réaction de Stetter	65
I.3)	Réactivité des NHC	67
I.4)	Choix de la stratégie de synthèse	68
II)	Accès au partenaire nucléoside aldéhyde	69
II.1)	Par oxydation de la position 5' de la thymidine	69
II.2)	Coupure oxydante d'alcènes	70
II.2.1)	Synthèse divergente d'alcènes	71
II.2.2)	Migration de groupement protecteur : une réactivité inattendue	73

II.2.3)	Synthèse des aldéhydes par clivage oxydatif	77
III)	Synthèse des partenaires énonés	79
III.1)	Synthèse d'énonés <i>via</i> un amide de Weinreb	79
III.2)	Synthèse d'énonés à partir d'aldéhydes	81
IV)	IV- Synthèse de nucléolipides originaux <i>via</i> la réaction de Stetter	85
IV.1)	Réaction de Stetter sur les substrats nucléosidiques	85
IV.2)	Une réaction secondaire inattendue	87
IV.2.1)	Élimination <i>via</i> un processus d'"internal redox"	87
IV.2.2)	Cas des nucléosides	90
IV.2.3)	Mise en évidence du mécanisme réactionnel	90
IV.2.4)	Hypothèse d'une assistance électrophile du silicium	92
IV.2.5)	Alternatives réactionnelles	94
V)	Synthèse de liens hétérocycliques	97
V.1)	Réaction de type Paal-Knorr : accès à des pyrroles	97
V.2)	Déprotection des nucléolipides	98
V.3)	Tentatives de synthèse de furanes	98
VI)	Synthèse de GNLs	100
VI.1)	Première stratégie de synthèse	100
VI.2)	Seconde stratégie de synthèse	101
VII)	Évaluation des propriétés gélatrices des nucléolipides	103
VII.1)	Organogels	103
VII.2)	Hydrogels	104

Chapitre 3 : Oléogels de nucléolipides	107
I) Exploration du potentiel organogélateur de nucléolipides lipophiles	107
I.1) Synthèse de Nucléolipides lipophiles benzylés	107
I.2) Essais de formation d'organogels	110
I.2.1) Cas des Nucléolipides protégés	111
I.2.2) Cas Nucléolipides déprotégés : propriétés oléogélatrices . . .	113
II) Oléogels de nucléolipide lipophile	115
II.1) Les oléogels : des biomatériaux pour le domaine pharmaceutique . . .	116
II.2) Familles d'oléogélateurs et structure microscopique	117
II.3) Structure et propriétés de l'oléogel issu du composé 163	121
II.3.1) Relation structure/propriétés de l'oléogélateur	121
II.3.2) Caractérisation de l'oléogel	127
II.3.3) Propriétés rhéologiques des oléogels	133
III) Nanoémulsions : vers une nouvelle voie de transport des nucléolipides	138
III.1) Définition et applications des nanoémulsions	138
III.2) Formulation de nucléolipides lipophiles	140
III.3) Développement d'émulgels : résultats préliminaires	142
Chapitre 4 : Synthèse bioinspirée de dicétones-1,4 : réaction de Stetter en milieu aqueux	145
I) Synthèse organique en milieu aqueux	146
I.1) L'eau : un solvant vert ?	146
I.2) Réactions « In- » et « on- » water	147
I.3) Stabilité des NHCs dans l'eau	150

I.3.1)	Sensibilité des NHCs en milieu aqueux	150
I.3.2)	Catalyse par les NHCs en milieu aqueux	152
II)	Développement de la réaction de Stetter en conditions aqueuses	156
II.1)	Etude modèle : cas de la chalcone et du benzaldéhyde	156
II.1.1)	Etude du système catalytique	156
II.1.2)	Influence de la quantité d'eau sur la réactivité	158
II.1.3)	Influence de l'eau sur le mécanisme réactionnel	159
II.1.4)	Activation alternative : réaction sous micro-ondes	164
II.2)	Extension à d'autres substrats	165
Conclusion et perspectives		173
Partie expérimentale		178
Bibliographie		251

Introduction générale

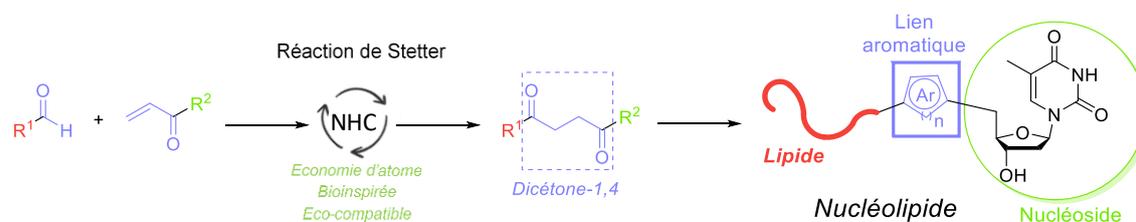
Le progrès des conditions de vie de l'être humain est fortement dépendant des matériaux qui sont à sa disposition, tant que certaines périodes de l'histoire portent le nom de ceux qui les ont marqués (pierre, bronze, fer...). Ces exemples font référence à des matériaux « durs » et persistants qui ont été considérés comme dominants, mais masquent de fait l'importance des autres, par exemple issus du milieu végétal tels que les résines ou le coton, qui interviennent dans la vie de tous les jours mais ont une durée de vie archéologique bien moindre. Toutefois, au cours du temps, la diversité et la complexité des matériaux s'est accrue avec les progrès de la chimie de synthèse notamment et tout particulièrement en ce qui concerne les matériaux organiques. Le domaine biomédical a fait preuve au cours de ces dernières décennies d'un intérêt croissant pour des matériaux plus souples aux propriétés modulables, répondant aux problématiques associées au développement d'applications pharmaceutiques performantes qui posent des contraintes souvent difficiles à respecter. Dans ce contexte, les biomatériaux, définis comme des “ substances inertes du point de vue systémique et pharmacologique conçues pour être implantées ou incorporées dans un système vivant ” [1], ont prouvé leur pertinence et se retrouvent aujourd'hui au coeur de l'évolution des futures applications pour la recherche et l'industrie [2]. Pour cela, ils doivent répondre à certains critères à savoir être bien tolérés par le receveur soit biocompatibles, ne pas être toxiques et posséder les propriétés mécaniques nécessaires à l'application pour laquelle ils sont employés.

Sur le modèle de la Nature et du milieu biologique qui base son fonctionnement sur des interactions non-covalentes entre des « briques » préfabriquées, la chimie supramoléculaire définie par Jean-Marie Lehn comme étant la chimie « au-delà de la molécule [3] » s'est particulièrement illustrée au travers de nombreux exemples de matériaux bioinspirés hautement modulables et biocompatibles, ouvrant la possibilité de transférer à l'échelle macroscopique des informations structurales programmées au niveau moléculaire [4]. Dans ces matériaux, les « briques » sont des molécules organiques dont la structure dicte le type d'édifice supramoléculaire formé. C'est d'abord en qualité d'architectes que les chimistes interviennent dans ce domaine pour lequel l'étape de conception et de compréhension de l'organisation au niveau microscopique est primordiale. Cependant, la multitude de possibilités d'assemblages supramoléculaires complexifie la prédiction des propriétés des matériaux résultants et le manque de données précises concernant les interactions engagées représente un frein à la conception rationnelle de biomatériaux.

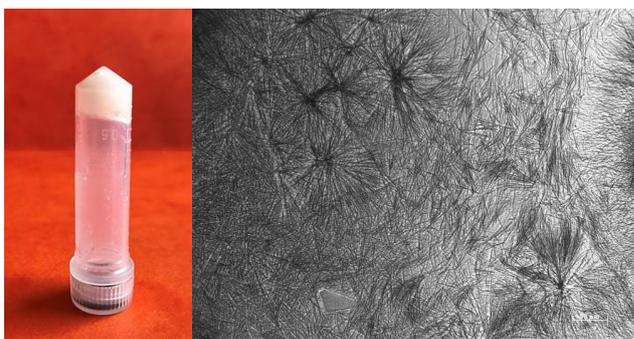
Ce constat apparait clairement dans le contexte des gels supramoléculaires, en particulier ceux produits à partir de petites molécules organiques gélatrices (LMWG). Ces dernières peuvent former spontanément des réseaux non-covalents en piégeant un liquide pour former un matériau viscoélastique appelé gel « physique ». Elles peuvent être de nature variée, mais l'auto-assemblage requiert des composés capables d'interactions supramoléculaires et les molécules amphiphiles de type nucléolipides en représentent un exemple probant. Cette famille de molécules hybrides présentes à l'état naturel associe de façon covalente un lipide avec un acide nucléique ou un de ses constituants soit un nucléotide, un nucléoside ou une

nucléobase. L'intérêt de ces biomolécules ou de leurs analogues synthétiques, auxquelles l'équipe ChemBioPharm s'intéresse depuis des années, s'est illustré dans la conception de substances actives, de vecteurs ou de biomatériaux dont des gels. Au regard des propriétés des nucléolipides dans ces différents domaines, il apparaît que la structure des deux parties des nucléolipides définissent leurs propriétés, mais aussi que le lien qui les unit joue un rôle crucial, ce qui constituera l'objet d'un premier chapitre bibliographique rapportant des exemples choisis de la littérature.

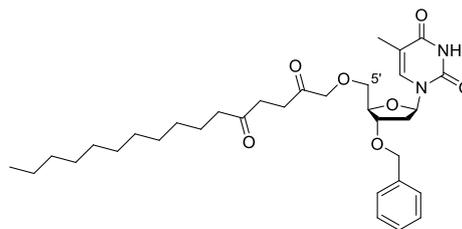
Un axe de recherche du laboratoire porte sur la synthèse de nucléolipides par réaction click de cycloaddition de Huisgen. Les composés synthétisés ont notamment montré de très bonnes capacités de gélification dans le cadre de la formation d'hydrogels et il a été démontré que le lien de type triazole obtenu est impliqué dans l'organisation supramoléculaire *via* des interactions de type π -stacking. Les propriétés de ces nucléolipides sont cependant difficilement prédictibles. Dans le but d'apporter des éléments de compréhension concernant le rôle du lien triazole dans le processus d'autoassemblage, nous nous sommes proposés de concevoir et synthétiser des nucléolipides analogues dont les deux parties seraient unies par des hétérocycles aromatiques différents. Par souci d'apporter une solution synthétique éco-compatible et efficace complémentaire à la réaction « click » de Huisgen, notre stratégie a été basée sur la réaction bioinspirée de Stetter entre un aldéhyde et une énone. Cette réaction conduit à un synthon de type dicétone-1,4, précurseur de différents cycles aromatiques, *via* un mécanisme organocatalysé par un carbène N-hétérocyclique (NHC). La synthèse et l'étude des propriétés gélatrices de ces composés originaux constituera l'objet du deuxième chapitre de ce manuscrit.



Parmi les nucléolipides synthétisés, un analogue lipophile possédant un lien de type dicétone-1,4 s'est distingué par sa capacité à former des gels dans des huiles. Alors appelés « oléogels », ces biomatériaux attirent l'attention du domaine pharmaceutique pour leur capacité à encapsuler des substances actives lipophiles efficacement tout en étant biocompatibles, ce qui pose souvent un problème dans le cas des autres gels hydrophobes formés dans des solvants organiques. La synthèse des nucléolipides lipophiles, la mise en relation de leur structure chimique avec leurs propriétés puis la caractérisation microscopique et l'étude rhéologique des oléogels seront décrites dans un troisième chapitre.



Oléogel dans le Miglyol[®] 812N



Dans le cas présenté, la nécessité de la présence du motif dicétone-1,4 a été démontrée, mettant en lumière l'importance et la pertinence du développement de stratégies de synthèse procurant de la diversité structurale. La réaction de Stetter représente une méthode de choix d'une part pour son efficacité reconnue sur de nombreux substrats et d'autre part pour son potentiel en tant que procédé éco-compatible. Pour aller plus loin dans ce sens et apporter une solution plus "verte", cette réaction a été réalisée dans des conditions aqueuses, tout d'abord au travers d'une étude modèle puis sur différents dérivés de petites biomolécules. Cette approche s'est révélée efficace sur différents substrats et nous espérons l'étendre dans le but du développement d'une éventuelle nouvelle méthode de bioconjugaison. Procédant *via* l'action de carbènes, très sensibles à l'humidité, la mise au point de cette réaction dans l'eau représentait un réel défi. Ce travail, qui représente à notre connaissance le premier exemple de réaction de Stetter en milieu aqueux sans additif, sera l'objet d'un quatrième et dernier chapitre.

Chapitre 1

Les nucléolipidides : outil supramoléculaire pour des biomatériaux

La recherche de nouvelles méthodes thérapeutiques constitue un enjeu constant dans le domaine biomédical, que ce soit par le développement de nouvelles substances actives, vecteurs, matériaux ou par l'amélioration des formes existantes. L'objectif à atteindre étant une application *in vivo*, le problème de la biocompatibilité se pose en premier lieu. L'intérêt se porte donc de plus en plus vers l'utilisation de composés bioorganiques, naturels ou synthétiques, qui présentent en général une biocompatibilité accrue. En effet, la nature regorge de structures moléculaires ou de matériaux issus de mécanismes supramoléculaires très spécifiques et efficaces pour des applications biologiques. Ils représentent ainsi une source d'inspiration pour le développement de systèmes analogues qui les miment, utilisent les mêmes propriétés ou des mécanismes similaires, alors dits bio-inspirés. Toutefois, les mécanismes naturels sont basés sur des interactions subtiles et se produisent dans des milieux complexes. La prédiction du comportement d'analogues synthétiques peut alors s'avérer délicate.

Dans ce contexte, ChemBioPharm, équipe de recherche appartenant à l'unité mixte de recherche ARNA (Acides Nucléiques : Régulations Naturelle et Artificielle, Université de

Bordeaux, INSERM, CNRS), concentre ses efforts sur l'étude des acides nucléiques et leurs dérivés ainsi que de leurs propriétés physiques, chimiques et/ou biologiques. Sa recherche est notamment axée sur la synthèse d'édifices basés sur les propriétés des nucléolipides. De telles molécules hybrides existent dans la nature et sont composées d'une part d'une nucléobase, nucléoside ou nucléotide, et d'autre part d'un lipide, les deux étant liés de façon covalente. La conception d'analogues synthétiques implique alors le développement de stratégies de synthèse variées influant sur la nature des deux parties de la molécule et du lien qui les unit. Ils combinent ainsi les propriétés de deux familles de biomolécules et s'illustrent dans la conception d'applications innovantes, notamment au travers de systèmes supramoléculaires organisés. Ces molécules amphiphiles par nature sont capables de s'auto-organiser, conduisant à la formation d'édifices gouvernés par des interactions faibles. En utilisant les capacités de ces composés hybrides, l'équipe ChemBioPharm développe notamment des molécules bioinspirées dont l'autoassemblage résulte en la formation de biomatériaux possédant des propriétés compatibles pour le domaine biomédical.

Ce chapitre bibliographique présentera dans une première partie les nucléotides, nucléosides, nucléobases ainsi que les lipides, blocs élémentaires des nucléolipides. Dans une seconde partie, l'influence des changements structuraux ainsi que des sites de substitution des nucléolipides sur les propriétés chimiques, physico-chimiques et/ou biologiques sera discutée, tout d'abord au travers d'exemples choisis de nucléolipides naturels. Différentes stratégies de synthèse et de modification mises en place pour accéder à des nucléolipides synthétiques illustreront ensuite l'intérêt de l'apport de diversité structurale dans la conception de nucléolipides. Une attention particulière sera portée à l'impact de la nature du lien covalent unissant les deux parties d'un nucléolipide sur ses propriétés. En regard des travaux antérieurs de l'équipe ChemBioPharm, celles d'une famille de composés possédant un lien de type triazole seront exposées dans une troisième partie, notamment quant à leur capacité à induire la formation de gel pour des applications biomédicales. Enfin, l'intérêt de s'inspirer de systèmes biologiques naturels, tant en ce qui concerne la structure de la cible synthétique que la méthode de synthèse mise en œuvre pour accéder à cette structure sera présenté dans une quatrième partie.

I) Généralités sur les constituants des Nucléolipides : les acides nucléiques, nucléosides, nucléotides, nucléobases d'une part et les lipides d'autre part

I.1) Acides Nucléiques, nucléotides, nucléosides et nucléobases

Les acides nucléiques sont des polymères qui interviennent dans de nombreux procédés biologiques, sous forme d'Acide DésoxyriboNucléique (ADN) ou d'Acide RiboNucléique (ARN). Les monomères possèdent un hétérocycle azoté qui est appelé base azotée ou nucléobase. Dans les structures naturelles, elles existent au nombre de cinq et sont l'adénine (A), la thymine (T), l'uracile (U), la guanine (G) et la cytosine (C) (Schéma 1A). Elles se classent en deux catégories, T, U et C, possédant un cycle de type pyrimidine (bases dites pyrimidiques), et A et G étant constituées d'un cycle de type purine (bases dites puriques). A celles-ci peut être attaché un sucre en position N-1 ou N-3 sous forme furanose, de configuration ribose ou désoxyribose. L'ensemble constitue alors des glycosylamines appelées nucléosides et nommés respectivement adénosine, thymidine, uridine, guanine et cytosine (Schéma 1B). Enfin, des groupements phosphate peuvent être présents sur le sucre, formant dans ce cas les nucléotides résultant qui une fois assemblés en polymères forment les acides nucléiques. Les nucléobases, les nucléosides, les nucléotides et les acides nucléiques constituent chacun une famille de composés à part entière possédant des propriétés particulières. Ces composés possèdent notamment des capacités d'auto-assemblage très spécifiques par interactions supramoléculaires influant de façon importante sur le comportement des nucléolipides.

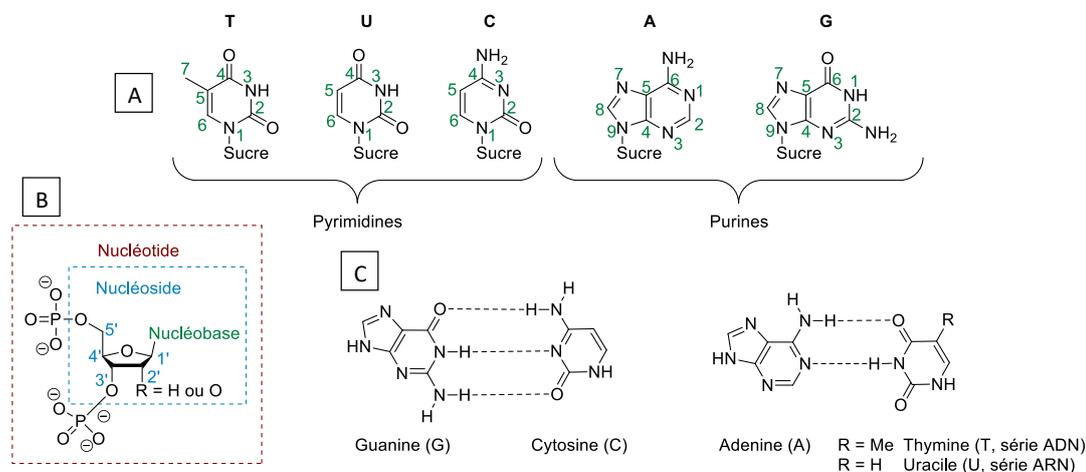


Schéma 1 - Structure des nucléobases B- Structure des nucléosides et nucléotides C- Interactions de type Watson-Crick

I.2) Propriétés d'assemblage des acides nucléiques

Il existe deux types d'acides nucléiques : l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN). La différence entre les deux se situe d'une part sur la nature du pentose qui les constitue, le désoxyribose en série ADN (Schéma 1B, R = H) et le ribose en série ARN (Schéma 1B, R = OH). D'autre part, les nucléotides formant l'ADN comportent les nucléobases A, C, G et T alors que la structure de l'ARN est basée sur A, C, G et U. L'ADN s'organise en double hélice par l'enroulement de deux brins d'acides nucléiques, principalement grâce aux liaisons hydrogène entre les quatre bases azotées. Elles interagissent spécifiquement par paires G-C et A-T grâce à la complémentarité des structures des bases (Schéma 1C). Cet appariement est alors dit de type Watson-Crick[5]. Les acides nucléiques constituent ainsi le matériel génétique du vivant. Ensuite, ces mêmes interactions permettent la transcription en ARN, qui sont alors des simples brins dans lesquels la thymine a été remplacée par l'uracile, et les désoxyriboses par des riboses. Ceux-ci seront ensuite traduits en protéines, elles même engagées dans différents mécanismes biologiques. Il s'agit d'un système complexe impliquant des structures très élaborées, mais dont l'organisation est basée sur quelques interactions induisant une reconnaissance supramoléculaire qui représentent alors des outils simples et exploitables.

En effet, l'utilisation de systèmes supramoléculaires est de plus en plus répandue dans le domaine biomédical, notamment pour la délivrance de substances actives[6] et la conception de nouveaux matériaux[7][4]. Par comparaison avec les liaisons covalentes, les interactions faibles sur lesquelles sont basés les édifices supramoléculaires permettent la réalisation de matériaux plus dynamiques et stimulables ainsi qu'une optimisation fine de leurs propriétés physiques, chimiques et/ou biologiques. Ce principe s'est illustré dans de nombreux exemples basés sur les acides nucléiques, parmi lesquels des vecteurs de substances actives[8]. Les capacités de reconnaissance et d'auto-assemblage exceptionnelles des acides nucléiques ont permis la conception de structures organisées avec une précision sans précédent. Grâce à un travail de conception en amont basé sur l'appariement de type Watson-Crick, il est possible de prédire la façon dont vont s'assembler les brins d'acides nucléiques. Ainsi, sur la base des hélices formées par les dimères d'acides nucléiques comme dans le cas de l'ADN, des tétramères ont été imaginés de sorte que les hélices formées soient toutes interconnectées pour former des structures géométriques précises en trois dimensions. Des motifs tétraédriques ont par exemple été décrits (Figure 1A). Ils peuvent être fonctionnalisés de façon très précise à chaque sommet par des substances actives, des vecteurs ou des unités furtives par exemple. Ces nanoobjets ont été utilisés comme véhicule pour le transport de molécules d'intérêt et ont montré une amélioration de l'efficacité des fonctionnalités introduites en augmentant leur concentration locale, leur solubilité et leur internalisation cellulaire. Ce même principe a été étendu à la formation de structures plus complexes, appelées « DNA origami », grâce à la prédiction du repliement des brins d'acides nucléiques, avec une précision presque atomique.

Des motifs répétables, considérés comme des pixels, ont été définis (Figure 1B) et il est aujourd'hui possible d'accéder à des structures de formes extrêmement variées (Figure 1C).

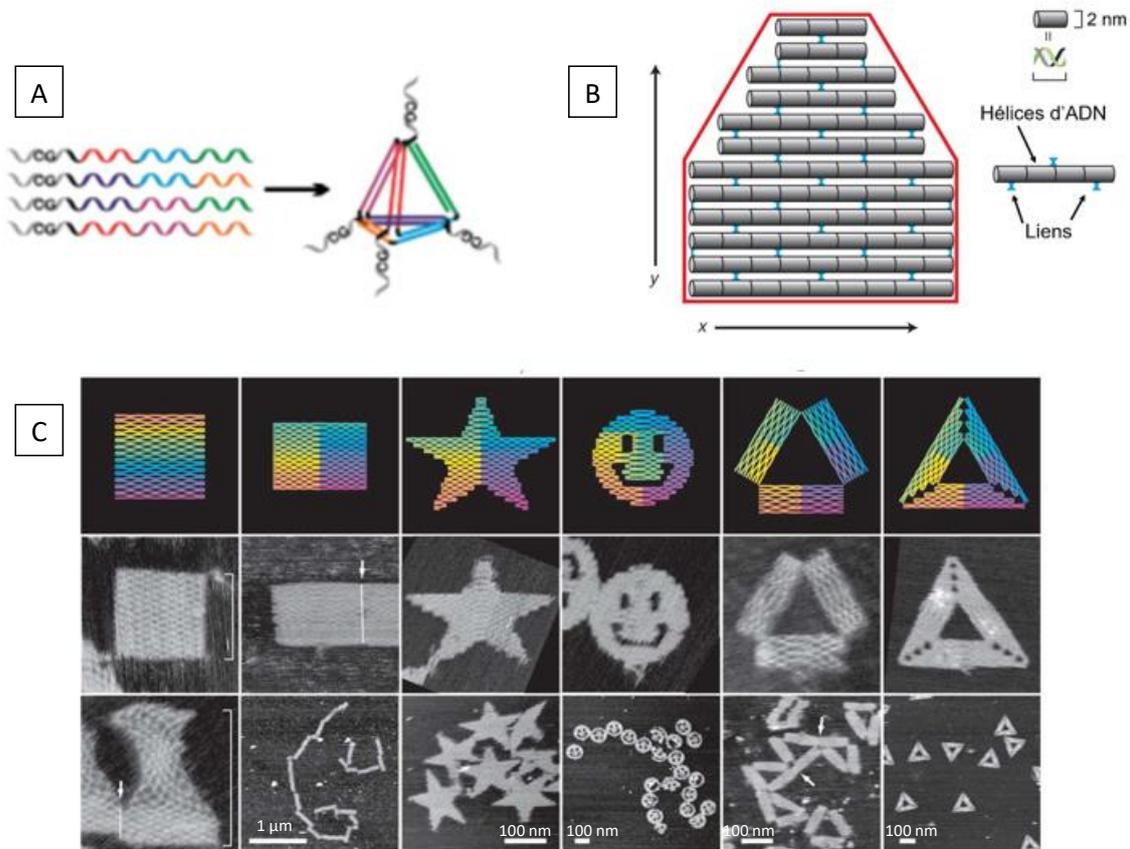


Figure 1 - A- *Tétraèdres d'acides nucléiques* B- *Représentation des pixels d'acides nucléiques pour le DNA origami* C- *Exemples de structures de DNA origami*

L'avantage de ces systèmes est qu'ils peuvent être décorés avec une multitude de fonctionnalités positionnées avec une précision inégalée. Celle-ci permet un contrôle sans précédent des propriétés des nanoobjets formés, et se révèle particulièrement intéressante pour la conception de vecteurs multifonctionnels. De plus, ils sont formés en une étape en mélangeant les différents brins, ce qui permet d'apporter facilement des variations. Les acides nucléiques nécessitent tout de même d'être synthétisés, mais les techniques de synthèse automatisées sont aujourd'hui maîtrisées et permettent d'y parvenir facilement. Le travail important de conception en amont peut également être assisté par ordinateur. De façon générale, les vecteurs basés sur les acides nucléiques ont démontré une bonne capacité d'internalisation cellulaire sans agent de transfection, et une immunogénicité ainsi qu'une toxicité très faibles ou inexistantes ont été observées dans la plupart des cas. De plus, il est possible d'y intégrer des substances actives de différentes façons, par liaison covalente, par intercalage dans la double hélice ou par captation dans des poches hydrophobes dans le cas de molécules lipophiles. La solubilité des composés utilisés peut ainsi être améliorée. Un relargage contrôlé peut également être réalisé, notamment grâce à l'optimisation de la température de dissociation des brins pour un contrôle thermique, ou encore par affinité avec

un brin complémentaire capable de dissocier la structure. Les nanoobjets organisés *via* les interactions supramoléculaires des acides nucléiques présentent donc de nombreux avantages. Cependant, la majorité des études sont limitées à des expériences *in vitro* et des efforts importants seront nécessaires pour les adapter à des études *in vivo* puis cliniques. Toutefois, les résultats très prometteurs obtenus en font aujourd’hui un domaine en plein essor.

Dans un contexte proche, des biomatériaux de type hydrogels basés sur les acides nucléiques ont été décrits[9]. Ils peuvent alors être de deux types : chimiques (maintenus par des interactions covalentes) ou physiques (maintenus par des interactions faibles). Une étude de Luo décrit notamment ces deux possibilités[10]. Dans le premier cas, l’appariement de brins d’acides nucléiques a été optimisé pour former des réseaux en trois dimensions, réticulés ensuite par réaction enzymatique (Figure 2A) pour obtenir un gel chimique. Ces conditions de réticulation sont donc réalisables en milieu physiologique et permettent l’encapsulation de protéines, de substances actives ou de cellules pour la délivrance de médicaments, l’ingénierie tissulaire ou la culture cellulaire en trois dimensions.

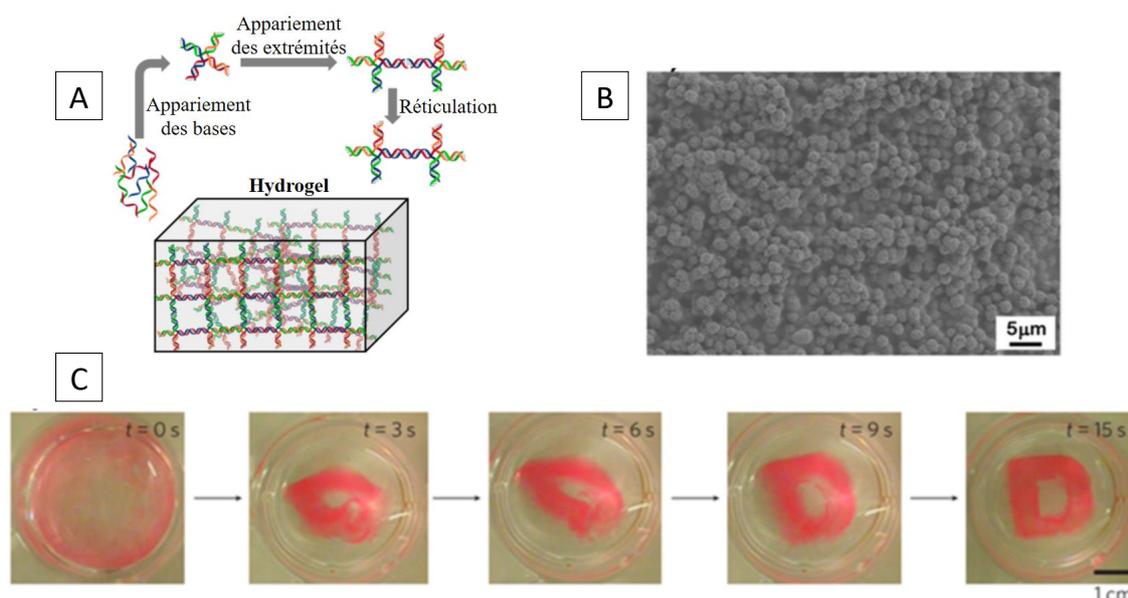


Figure 2 - A- Synthèse des hydrogels chimiques B- Observation d’un hydrogel physique d’acide nucléique par MEB C- Régénération dans l’eau d’un hydrogel physique

En revanche, un hydrogel physique possédant des propriétés étonnantes et innovantes a été décrit par les mêmes auteurs. Il est obtenu par la synthèse de très longs brins d’acides nucléiques par l’ADN polymérase $\Phi 29$ qui s’assemblent par reconnaissance des bases et figent le milieu pour former un hydrogel. Une microstructure inhabituelle composée de l’assemblage de nanoobjets de type « nid d’oiseau » a pu être observée par microscopie électronique à balayage (MEB) (Figure 2B). De plus, un comportement macroscopique particulier a également pu être noté. En effet, lorsque l’eau présente dans le gel est retirée, celui-ci est déformé par la tension de surface et la gravité, se comportant alors comme un liquide. Mais lorsqu’il est réintroduit dans un milieu aqueux, il retrouve sa forme initiale et son caractère viscoélastique

à dominante solide (Figure 2C). Il s'agit donc d'un matériau modulable synthétisé par une enzyme, ce qui le rend intéressant pour le relargage de substances actives, la culture cellulaire ou l'immunothérapie. Par comparaison, le maintien des structures tridimensionnelles par des interactions supramoléculaires a permis l'obtention d'un matériau plus dynamique et capable de retrouver sa forme initiale, alors que les gels chimiques ont tendance à se déformer sous l'action de stimuli externes[11].

Il apparaît finalement que les interactions supramoléculaires de type Watson-Crick entre les nucléobases constituent un outil puissant pour la conception de nanostructures aux propriétés modulables et dynamiques. De plus, même si l'appariement de type Watson-Crick est très favorable thermodynamiquement, chaque base peut en réalité former des interactions avec chaque autre base, y compris elle-même (Schéma 2)[12][13]. Des interactions dites de type Hoogsteen impliquent notamment les mêmes paires de bases mais engagent d'autres atomes dans les liaisons hydrogène. D'autres appariements ont également été observés dont quelques exemples impliquant une chélation d'un atome d'oxygène, l'intervention d'une liaison C-H ou encore d'une molécule d'eau. Ils sont représentés dans le Schéma 2. Les édifices supramoléculaires relevant de ces assemblages peuvent alors être considérés en dehors du contexte de leur rôle biologique pour donner lieu au développement de nanostructures d'intérêt. Ce constat a notamment conduit à considérer ces mêmes interactions dans le cas des molécules plus simples que sont les acides nucléiques qui sont les nucléotides, les nucléosides ou les nucléobases.

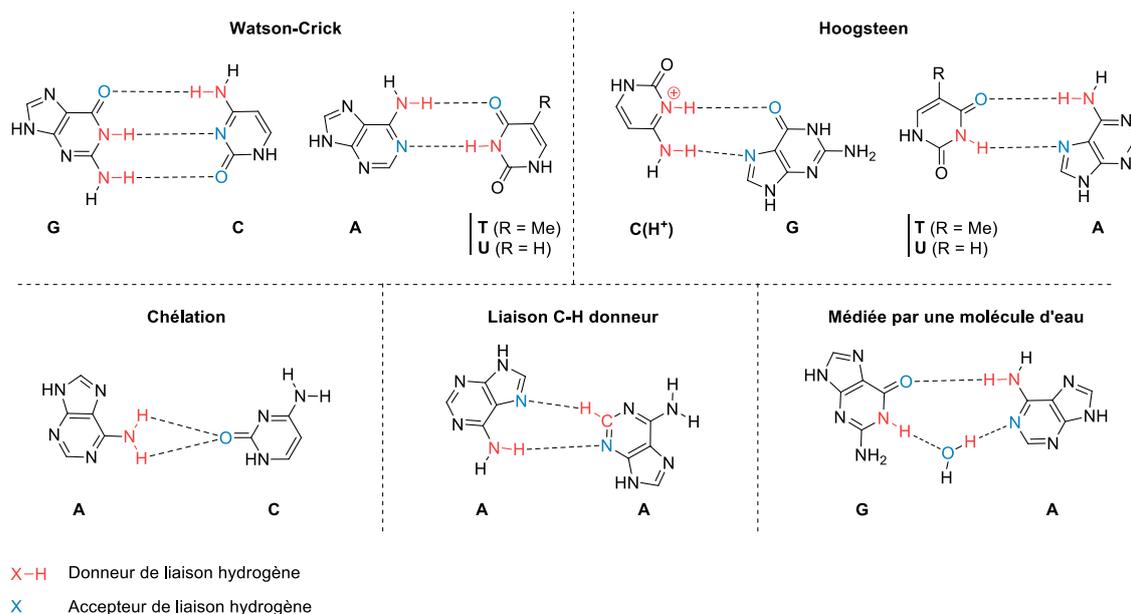


Schéma 2 - Exemples d'interactions entre nucléobases

I.3) Auto-assemblage de nucléotides, nucléosides et nucléobases

Les propriétés d'auto-assemblage décrites précédemment ont conduit, dans un contexte similaire à celui des acides nucléiques, au développement de matériaux et de vecteurs basés sur des petites molécules organiques à savoir des nucléotides, des nucléosides et des nucléobases. Contrairement aux cas précédents, il s'agit de petites molécules organiques. Elles présentent une forte densité de fonctions chimiques amenant plusieurs opportunités d'interaction à exploiter en termes d'organisation supramoléculaire (Schéma 3).

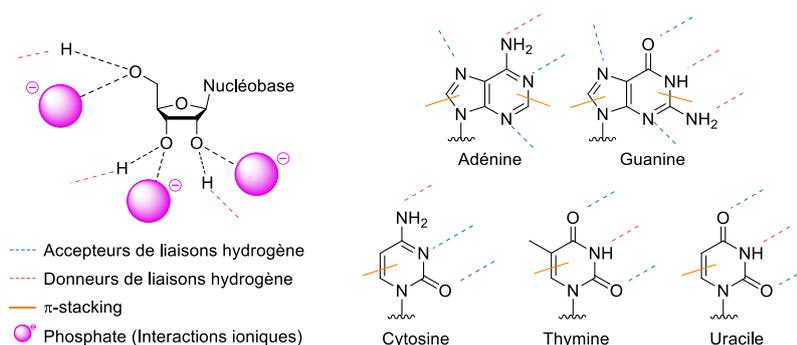


Schéma 3 - Sites d'interactions par liaisons faibles dans les nucléotides, les nucléosides et les nucléobases

Au regard de l'ensemble des fonctions chimiques présentes dans leur structure, les azotes et les carbonyles des bases mais aussi les fonctions hydroxyles de la partie sucre peuvent jouer le rôle de donneurs ou accepteurs de liaisons hydrogène. Ensuite, le caractère conjugué (et/ou aromatique) des nucléobases peut engendrer des interactions de type π -stacking. Enfin, les groupements phosphates dans le cas des nucléotides sont le siège d'interactions ioniques. Nous pourrions également relever le fait qu'étant composées de nombreuses fonctions polarisées, ces molécules ont un fort caractère polaire et hydrophile.

Parmi les assemblages décrits pour les structures supramoléculaires formées par ces composés, des gels physiques ont également été présentés[14]. Les nucléosides, nucléotides ou nucléobases font de fait partie des gélateurs à faible poids moléculaire (Low Molecular Weight Gelator, LMWG). Plusieurs méthodes ont été décrites pour former des réseaux supramoléculaires menant à la formation de gels. Les groupements phosphates et les nucléobases peuvent notamment former des réseaux en coordonnant des métaux. Des hydrogels formés par la 5'-guanosine monophosphate (GMP) en présence d'ions Ag^+ ont par exemple été observés[15]. La structure et le paramètre de viscoélasticité du gel ont pu être optimisés à partir du ratio GMP/Ag^+ , permettant l'encapsulation de différentes substances actives, sondes ou biomolécules. Toutefois, la présence de métaux n'est pas toujours nécessaire à la formation des gels et dans ce cas, les autres types d'interactions citées peuvent être impliqués[11]. En revanche, excepté pour le cas de la guanosine qui forme des tétramères, un groupement hydrophobe doit en général être ajouté au LMWG. Ces structures hybrides com-

binant des nucléobases, nucléosides ou nucléotides avec une partie lipidique sont alors des nucléolipides (Figure 3). Leurs propriétés physiques, chimiques ou biologiques découlent de celles de chaque partie de la molécule. Nous venons de présenter quelques généralités et propriétés des nucléobases, nucléosides et nucléotides. Il apparaît donc nécessaire de présenter le rôle et l'intérêt des lipides pour le domaine biomédical avant de présenter en détails la famille hybride des Nucléolipides.

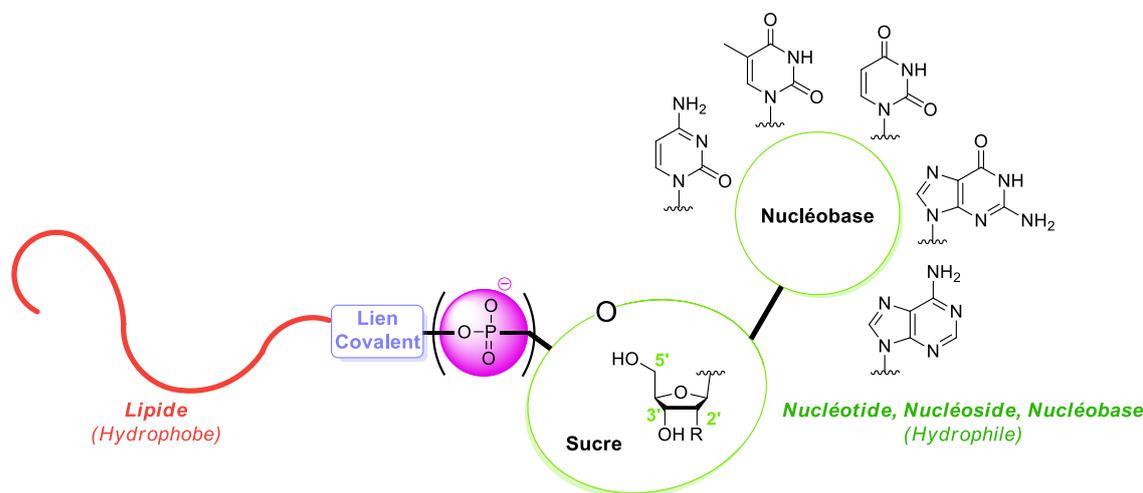


Figure 3 - Structure générale d'un nucléolipide

I.4) Propriétés des lipides

Les propriétés physico-chimiques et biologiques du lipide vont influencer sur celles du nucléolipide résultant. Le choix de ce celui-ci devrait alors permettre d'optimiser les fonctions des objets synthétisés, en définissant le type de structure souhaitée au vu d'une future application. Pour cela, il est nécessaire de s'accorder sur la définition même du terme lipide. En effet, cette appellation regroupe plusieurs types de structures qui n'ont pas toujours de points communs d'un point de vue chimique. Larsson, Quinn, Sato et Tiberg commencent d'ailleurs le premier chapitre du livre *Lipids : Structure, physical properties and functionality*[16] par la phrase :

"There is no strict definition of lipids."

Ils proposent néanmoins une définition énoncée par Christie en 1987 pour les décrire :

"Lipids are fatty acids and their derivatives, and substances related biosynthetically or functionally to these compounds"

Il s'agit d'une définition « biologique » qui fait sens puisqu'elle décrit des molécules issues du domaine du vivant. Ces composés naturels sont alors reliés entre eux par leur fonction et

par leurs voies de biosynthèse. Toutefois, une définition « physico-chimique » a également été proposée, notamment par Gurr, Harwood et Frayn dans *Lipid Biochemistry*[17] :

“The word ‘lipid’ (in older literature spelled also as lipide or lipoid) is used by chemists to denote a chemically heterogeneous group of substances having in common the property of insolubility in water, but solubility in non aqueous solvents such as chloroform, hydrocarbons or alcohols. It is necessary to use this definition based on physical properties since there may be little or no chemical relationship between the numerous compounds now classified as lipids.”

Cette définition découle des techniques d’isolement des lipides par extraction des milieux biologiques à l’aide de solvants organiques. Cela laisse alors entrevoir que les lipides peuvent être considérés pour leurs rôles biologiques ou bien pour leurs propriétés physico-chimiques, les deux étant souvent reliés. Certaines différences peuvent donc subsister dans leur indexation suivant le point de vue adopté. Néanmoins, les principales classes de lipides sont bien définies et ne sont pas sujettes à l’imprécision due à ces considérations. Ces dernières sont toutefois importantes si l’on considère l’emploi d’analogues ou « mimes » de lipides, qui correspondent alors plutôt à la définition physico-chimique de ces molécules. Le terme « lipide » fera donc référence dans ce manuscrit à toute partie lipophile qui s’opposera au caractère hydrophile d’un nucléotide, d’un nucléoside ou d’une nucléobase, conférant de fait un caractère amphiphile à un nucléolipide.

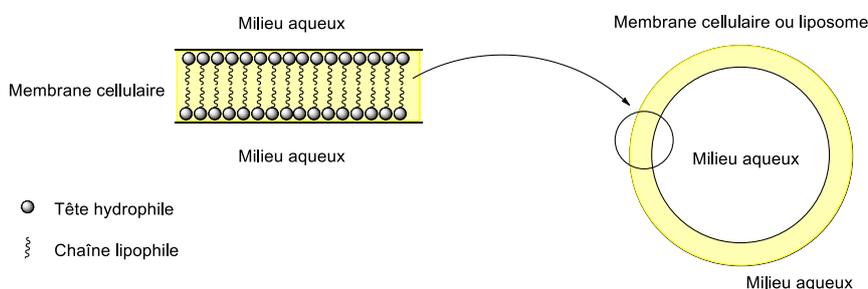


Figure 4 - *Structure des liposomes*

Dans le domaine du vivant, les lipides interviennent à différents niveaux comme la constitution des parois cellulaires, notamment par les phospholipides et le cholestérol, le stockage d’énergie par les triglycérides, et la signalisation, en particulier dans le cadre de l’activité des cellules. Grâce à leur caractère hydrophobe, une des caractéristiques les plus importantes de ces composés réside dans leur rôle de brique dans la construction de membranes cellulaires et donc leur capacité à s’y intégrer pour le transport ou la signalisation. Par exemple, les phospholipides sont principalement responsables de l’architecture extérieure des cellules. Ils possèdent une longue chaîne aliphatique, leur conférant le caractère lipophile nécessaire, reliée à une tête polaire chargée et hydrophile. Ce sont donc des molécules amphiphiles qui, une fois introduites dans un milieu aqueux, vont s’auto-organiser de sorte que les parties hydrophiles soient au contact de l’eau et que les parties lipophiles soient isolées du milieu.

Une des possibilités, qui se produit dans le cas des membranes, est la formation de bicouches lipidiques. Ainsi, deux couches de phospholipides se placent l'une au contact de l'autre en sens inverse. Les chaînes lipidiques se retrouvent alors en contact les unes avec les autres et les têtes hydrophiles se retrouvent de chaque côté de la paroi au contact de l'eau (Figure 4). Cette structure obtenue de cette manière est appelée liposome et constitue la base des membranes cellulaires à laquelle vont se greffer du cholestérol ou encore des protéines.

De façon plus générale, tous les composés amphiphiles dont les nucléolipides, sont sujets à l'auto-organisation. Ces derniers peuvent en effet s'auto-assembler et former différentes architectures supramoléculaire comme des liposomes, des micelles, des nanotubes ou encore des fibres[18][19][20][21]. La nature, la longueur ainsi que les fonctions présentes sur la chaîne lipidique seront alors décisives en ce qui concerne l'organisation supramoléculaire résultante, et subséquemment les propriétés physico-chimiques. Il s'agit donc d'une étape importante du processus de conception d'édifices basés sur les nucléolipides.

II) Les Nucléolipides

Cette famille hybride de biomolécules, composée d'un nucléotide, un nucléoside ou une nucléobase lié de façon covalente à un lipide, se révèle fascinante par la pluralité des structures et des propriétés développées et constituent ainsi un bel exemple de la diversité résultant de la combinaison de molécules naturelles. En effet, les variations structurales sont nombreuses puisque la partie polaire est composée d'une association de fragments élémentaires modulables par changement de la nature du sucre, de la base azotée ou par la fonctionnalisation de ceux-ci et s'ajoute à cela le très grand nombre de lipides qu'il est possible d'y associer. De plus, si des fragments supplémentaires sont présents comme des sucres ou d'autres hétérocycles, la molécule peut toujours être considérée comme un dérivé de nucléolipide.

La variation structurale permet de ce fait de moduler le caractère amphiphile des nucléolipides qui est à l'origine de leurs principales propriétés. Celui-ci peut notamment influencer sur leurs propriétés biologiques lors de la conception de substances actives, ou encore mener à la formation d'édifices supramoléculaires variés pour la conception de vecteurs ou de biomatériaux par le biais des différents types d'interaction faibles cités précédemment[22][23][24]. La balance hydrophile/hydrophobe peut également être modulée et jouer un rôle crucial vis-à-vis des paramètres de solubilité et des propriétés d'auto-assemblage. Dans cette partie, des exemples illustrant les variations structurales qu'il est possible d'apporter sur les nucléolipides ainsi que l'impact engendré sur leurs propriétés seront décrits, tout d'abord dans le contexte des nucléolipides naturels, puis au travers des diverses approches synthétiques visant à l'obtention de nucléolipides modifiés.

II.1) Les nucléolipides naturels

Il est à noter que l'on trouve dans la nature des nucléolipides aux rôles divers. Dans cette partie, des exemples choisis pour leur importance dans le domaine du vivant, l'originalité de leur structure ou des applications pour lesquels ils sont utilisés seront décrits. La diversité des structures existantes représente une source d'inspiration riche, et illustre la relation entre la structure et les propriétés des nucléolipides.

II.1.1) Cas de la cytidinediphosphate diacylglycérol

Le nucléolipide le plus présent dans les milieux naturels est la cytidinediphosphate diacylglycérol[24]. Sa biosynthèse est simple et consiste en la condensation de l'acide phosphatidique sur la cytidinetriphosphate, catalysée par la cytidinediphosphate diacylglycerol synthase[25]. Le nucléolipide va alors servir de vecteur pour l'acide phosphatidique vers des groupements alcool à travers les membranes cellulaires. Il intervient ainsi dans la synthèse du phosphatidylglycérol en substituant le nucléotide par une molécule de glycérol, puis, après addition d'une deuxième molécule d'acide phosphatidique, de la cardiolipine qui joue un rôle important dans la structuration des membranes des mitochondries (Schéma 4)[25][26]. Il peut également être précurseur du phosphatidylinositol et de la phosphatidylsérine, tous deux retrouvés dans les membranes cellulaires, après substitution par un sucre ou un acide aminé respectivement. La fonction première des nucléolipides est donc le transport de molécules d'intérêt pour la biosynthèse de lipides. Ici, la biosynthèse de différents lipides ou phospholipides d'intérêt biologique majeur est réalisée avec un intermédiaire nucléolipidique commun. Cette méthode permet de limiter la quantité de substrats existants et constitue un exemple de biosynthèse orientée vers la diversité structurale, grâce à des outils simples.

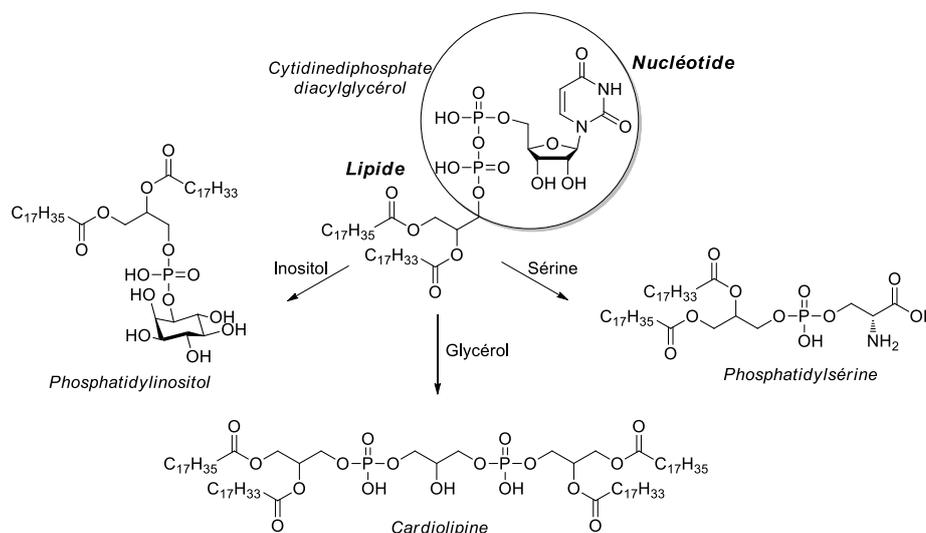


Schéma 4 - Structures des dérivés lipidiques obtenus à partir de la cytidinediphosphate diacylglycérol

II.1.2) Nucléolipides naturels d'intérêt thérapeutique

Parmi les nucléolipides, des molécules bioactives plus complexes sont également retrouvées dont plusieurs familles d'antibiotiques. La première, les tunicamycines, fut isolée de *Streptomyces lysosuperficus* par Tamura et ses collègues en 1971[27]. Les membres de cette famille sont composés d'un groupement uridine lié à une chaîne carbonée linéaire (Schéma 5). Quatre analogues, les tunicamycines A, B, C et D possédant une chaîne carbonée plus ou moins longue, ont tout d'abord été découverts. L'originalité de leur structure provient du lien peu commun entre ces deux parties, constitué d'un groupement aminodialdose à l'origine de l'inhibition de la glycosylation des protéines. Cette activité antibiotique a été observée sur de nombreux types d'organismes. Ils se sont aussi révélés utiles en tant qu'outils pour l'étude biochimique et physiologique du rôle des sucres dans les glycoprotéines[28].

D'autres analogues ont ensuite été découverts et sont venus enrichir cette famille de nucléolipides[28]. On peut notamment citer les streptovirudines A¹ à D¹ et A² à D². Elles diffèrent des composés précédents par des chaînes lipidiques plus courtes (de 6 à 8 carbones) et pour la série A¹ à D¹ un motif dihydrouracile à la place de l'uracile. Il a été observé que leur activité augmentait de A à D dans les deux séries en lien avec l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée. Plus elle est longue (entre 6 et 8 carbones), plus le composé est efficace. Cela est probablement le résultat d'une meilleure internalisation au sein des cellules. C'est un constat intéressant qui peut servir à guider la conception de composés à visée thérapeutique. En effet, l'activité de nombreux systèmes est dépendante de l'internalisation cellulaire, et des vecteurs capables de traverser les membranes sont aujourd'hui très recherchés. En ce qui concerne la nucléobase, l'effet de la présence d'un motif uracile ou dihydrouracile dépend du système étudié mais peut également avoir un impact.

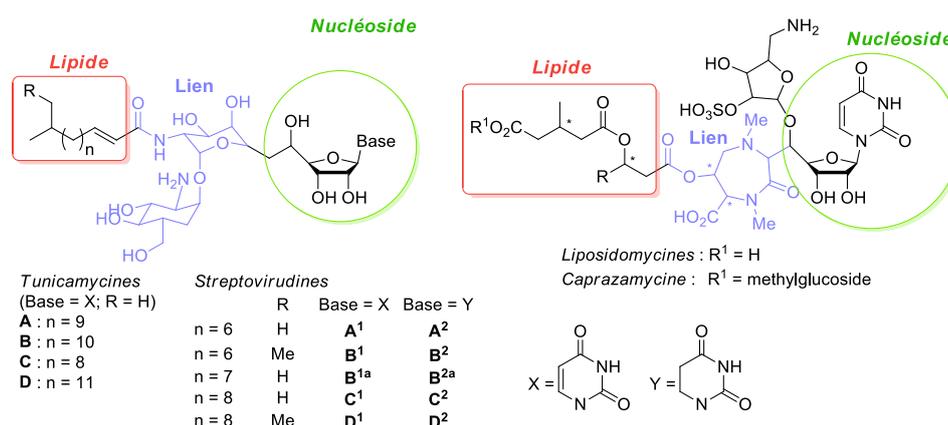


Schéma 5 - Structures des tunicamycines, liposidomycines et caprazamycine

D'un point de vue physico-chimique, la présence d'un disaccharide augmente le caractère hydrophile de la molécule, celle-ci étant soluble dans l'eau à un pH basique ou dans la pyridine mais plus difficilement soluble dans les alcools et insoluble dans l'acétone, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, le benzène ou dans l'eau à pH acide[27]. Ce type de groupement polaire est

donc impliqué dans l'optimisation de la balance hydrophile/hydrophobe des nucléolipides amphiphiles. Ce principe a notamment été utilisé par Barthélémy *et al.* pour augmenter le caractère hydrophile de nucléolipides capables de former des organogels, et ainsi leur conférer la capacité de former des hydrogels[29].

D'autres nucléolipides aux propriétés antibiotiques ont par la suite été découverts. Les liposidomycines et les caprazamycines par exemple, isolée de *Streptomyces griseosporus* et *Streptomyces sp. MK730-62F2* respectivement, possèdent une structure similaire et assez complexe. Le groupement uridine constitue également la partie nucléosidique, mais ici l'oxygène en position 5' est fonctionnalisé par un groupement 5-aminopentose-2-sulfate, alors que le carbone en position α de cet oxygène est fonctionnalisé par un groupement diazepamone, suivi d'une partie lipidique comprenant plusieurs centres asymétriques (Schéma 5). Cette fois encore, le lien entre la partie lipidique et la partie acide nucléique apporte une originalité à la structure et lui confère des propriétés particulières. En effet, cette famille de composé interagit avec la translocase bactérienne I et inhibe ainsi la synthèse de peptidoglycane essentiels à la formation des parois cellulaires des bactéries et donc à leur croissance et à leur survie[30].

II.1.3) Les Agélasines : une famille de nucléobase-lipides

Finalement, au regard des exemples de nucléolipides naturels connus, il apparaît que ceux-ci portent très majoritairement la partie lipidique sur les atomes d'oxygène, notamment sur la position 5' qui est la plus réactive[24]. Mais il existe tout de même une famille, les agélasines, isolées à partir d'extraits d'éponges marines, qui ne possèdent pas de sucre et portent un lipide directement lié à la nucléobase de type adénine (Schéma 6). Leur partie lipidique est composée d'un alcaloïde, qui peut être fonctionnalisé, et qui est lié à la base par une liaison C-N au niveau de l'azote N-7. La purine est méthylée sur la position N-9 qui est quaternarisée : il s'agit donc de sels. Nous pourrions également remarquer l'absence de fonctions hydroxyles dans ces structures.

Certaines d'entre elles présentent une activité intéressante. Les agélasines peuvent être anti-microbiennes, cytotoxiques, induire une réponse musculaire ou inhiber la Na,K-ATPase ou la maturation de *Mycobacterium Smegmatis*[31]. L'agélasine F a, quant à elle, démontré une activité contre *Mycobacterium tuberculosis*. Des familles similaires de ce type de nucléolipides ont ensuite été découvertes, dont les agélasimines, n'étant plus méthylées sur la position N-7 mais sur les azotes N-3 et exocyclique qui adopte une forme imine, ou encore les asmarines qui intègrent un motif diazepamone oxydé et se présentent sous la forme d'un tricycle (Schéma 6). Ne possédant pas d'azote quaternaire, il ne s'agit alors plus de sels. La discadénine peut également être rapprochée de ces familles même si elle possède une chaîne terpénique très courte et un acide aminé. Ces familles de composés ont attiré l'atten-

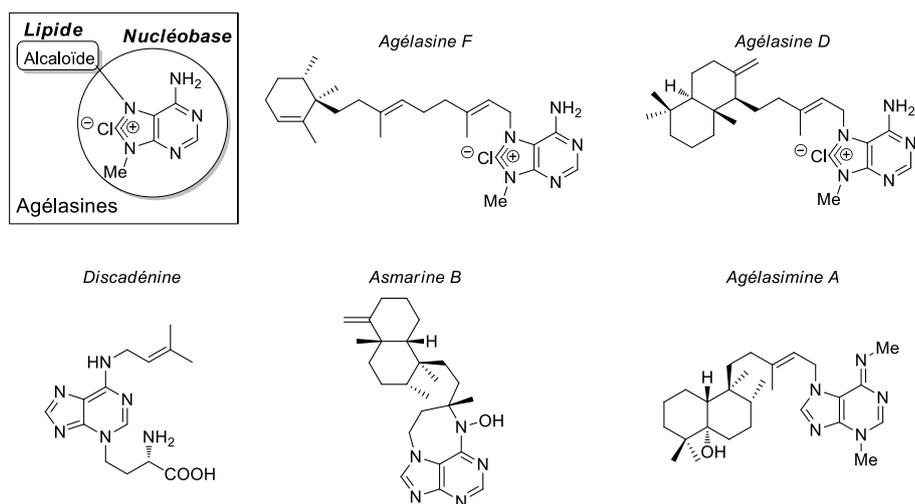


Schéma 6 - Structure des agélasines et de familles analogues

tion des chercheurs par leurs propriétés cytotoxiques, anti-microbiennes, anti-protazoales ou anti-fongiques.

En dehors des applications biomédicales, l'agélasine D a également suscité un intérêt pour ses propriétés « anti-fouling », autrement dit « anti-encrassement » ou « anti-salissure ». En effet, les éponges marines produisent plus de métabolites secondaires que toute autre espèce animale, et il est supposé que les composés bioactifs qu'elles fabriquent les aident à se défendre contre les agressions issues de leur milieu naturel qui sont la prédation, les microbes pathogènes ou l'encrassement par différents organismes tels que les algues ou certains crustacés. Dans une démarche bio-inspirée, l'agélasine D et ses analogues ont été proposés en tant que composants pour les peintures qui subissent les agressions du milieu marin[32]. Leur activité contre l'installation de larves cypris de *Balanus improvisus*, stade primitif du développement de cirripèdes, a été démontrée. Ainsi, ces larves ne se développent pas dans un milieu en présence d'agélasine D ou de ses analogues. Cependant, il ne s'agit pas d'un effet toxique puisque lorsque les larves sont placées dans un autre milieu après incubation avec deux des analogues proposés (AKB695 et AV1003A), elles peuvent se développer à nouveau (Figure 5). Ils permettent donc de protéger les peintures sans détruire l'écosystème marin. Cette propriété n'est pas retrouvée avec les composés commerciaux déjà utilisés dans le même but et qui agissent par effet toxique sur les larves, ce qui confère un avantage écologique aux nucléolipides. De plus, ces derniers agissent avec une efficacité similaire et la partie lipidique de la molécule pourrait permettre une meilleure internalisation au sein des peintures par effet hydrophobe. L'agélasine D et ses analogues pourraient donc, en combinant leur activité biologique et leurs propriétés physico-chimiques, permettre le développement d'une biotechnologie efficace pour la protection des peintures en milieu aquatique tout en réduisant l'impact sur l'environnement. Cet exemple de technologie bioinspirée nous montre que des systèmes basés sur des mécanismes et des molécules naturelles peuvent se révéler très efficaces tout en s'intégrant au milieu naturel, réduisant ainsi l'impact sur ce dernier.

Ces différences illustrent bien la dualité des nucléolipides qui peuvent être utilisés d'une part pour leur activité biologique, et d'autre part pour leurs propriétés physico-chimiques afin de créer des systèmes organisés.

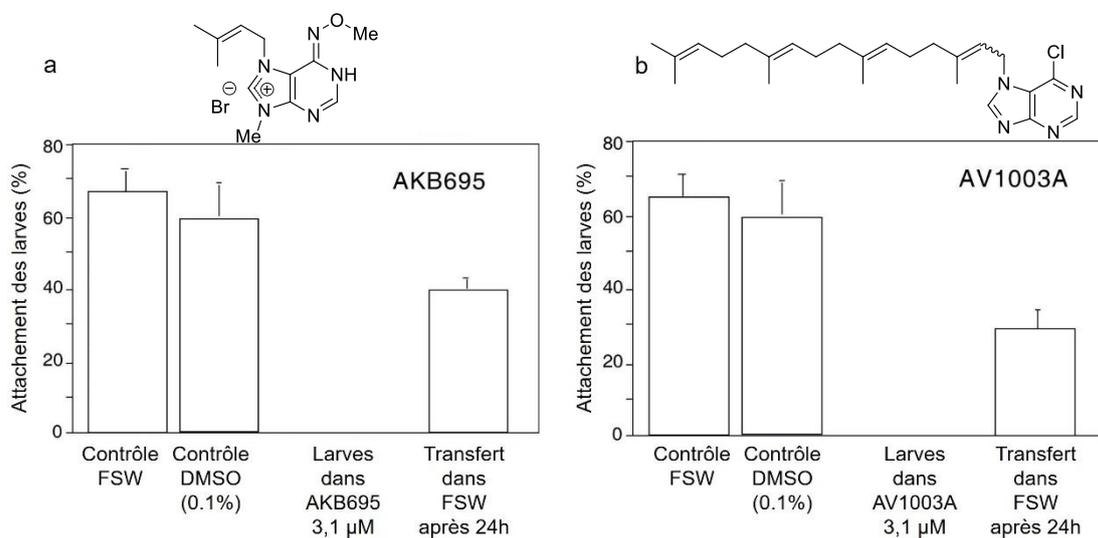


Figure 5 - Inhibition du développement des larves cypris par les agélasines

Il apparaît donc que pour répondre à des besoins spécifiques, la nature a su développer des familles plus ou moins complexes de nucléolipides. Leur structure varie au niveau de la nucléobase, du sucre, du lipide ou du lien covalent qui les unit, conférant la spécificité nécessaire à l'obtention de propriétés optimisées pour une fonction donnée. De la même manière, les chimistes ont développé de nombreuses familles de nucléolipides synthétiques, dans le but d'en moduler les propriétés ou d'en concevoir de nouvelles. Cependant, celles-ci restent difficilement prévisibles pour une structure donnée. Considérant l'importance que semble avoir chaque partie de la molécule, les propriétés d'un nucléolipide résultent d'un équilibre entre différents paramètres dont la capacité d'interactions supramoléculaires, la solubilité ou les propriétés biologiques. Ces paramètres sont contrôlés à l'échelle de la liaison chimique et une variation structurale, même mineure, peut avoir une influence drastique sur cet équilibre. La conception d'un nucléolipide synthétique demande donc une prise en compte de la structure dans sa globalité, tout en considérant les propriétés de chaque partie de la structure. La précision et la variété des voies de synthèse envisagées est donc cruciale pour contrôler la structure moléculaire et comprendre la relation existant entre cette structure et les propriétés. Dans ce contexte, la pluralité des outils de synthèse qu'offre le progrès en chimie organique représente une opportunité pour développer des nucléolipides synthétiques aux propriétés innovantes. Le développement de méthodes de synthèse adaptées aux nucléolipides apparaît alors comme une nécessité pour y parvenir.

II.2) Influence de la composition structurale dans les nucléolipides synthétiques

Compte tenu du nombre important de possibilités structurales pour la conception de nucléolipides, la synthèse a donné lieu à des familles très variées. Des exemples reflétant d'une part les stratégies de synthèse les plus représentées, et d'autre part les pistes à explorer pour le développement de systèmes innovants d'autre part, seront exposés. Un intérêt sera porté à l'influence des variations structurales sur les propriétés des nucléolipides, et notamment aux opportunités qu'elles représentent pour la conception de nucléolipides d'intérêt pharmaceutique. En effet, les premiers nucléolipides synthétiques ont été développés suite à la découverte du mécanisme d'action des glycérides de la cytidine-5'-diphosphate évoqué précédemment et c'est donc vers le domaine biomédical que se sont tout d'abord orientées ces recherches[24]. Il constitue encore aujourd'hui l'objectif le plus recherché lors de la conception de nucléolipides synthétiques.

II.2.1) Exemple de la cytarabine

Certains dérivés de nucléosides ou de nucléotides simples possèdent une activité biologique d'intérêt pour la chimiothérapie anti-cancer[33]. La cytarabine ou 1- β -D-arabinofuranosylcytosine (ara-C) est un analogue de nucléoside identifié comme inhibiteur potentiel de la synthèse d'ADN dans les années 60[34]. Son efficacité a été démontrée sur plusieurs lignées de cellules de mammifères ainsi qu'*in vivo* sur des tumeurs chez la souris. Une fois à l'intérieur d'une cellule, ce composé subit une phosphorylation par la désoxycytidine kinase pour conduire au dérivé mono-phosphate, qui est ensuite phosphorylé par la nucléotide kinase pour atteindre la forme triphosphatée active[35] (Schéma 7). Si le médicament est injecté sous sa forme nucléosidique et non pas sous sa forme finale, c'est pour pouvoir pénétrer les membranes cellulaires car les groupements phosphates, chargés négativement en conditions physiologiques, sont trop polaires pour traverser la bicouche lipidique. Il s'agit donc d'un pro-médicament.

Cependant, son efficacité est réduite s'il n'est pas injecté en doses rapprochées ou en dose continue ce qui n'est pas adapté à un traitement chronique. Dans les années 70, la fonctionnalisation avec un résidu adamantanoate a alors permis d'augmenter considérablement son activité antitumorale[36]. Il est introduit par substitution sur un chlorure d'acyle porteur du groupement adamantane par l'alcool en position 5' du nucléoside, en milieu basique (Schéma 8). Cependant, cette réaction n'est pas sélective et l'amine exocyclique de la cytosine se retrouve également fonctionnalisée. Une déprotection en milieu plus basique (NaOH/MeOH) permet d'obtenir le nucléoside-lipide final (AdO-ara-C). Étant insoluble dans l'eau, il a été injecté par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée sous la forme d'une suspension aqueuse.

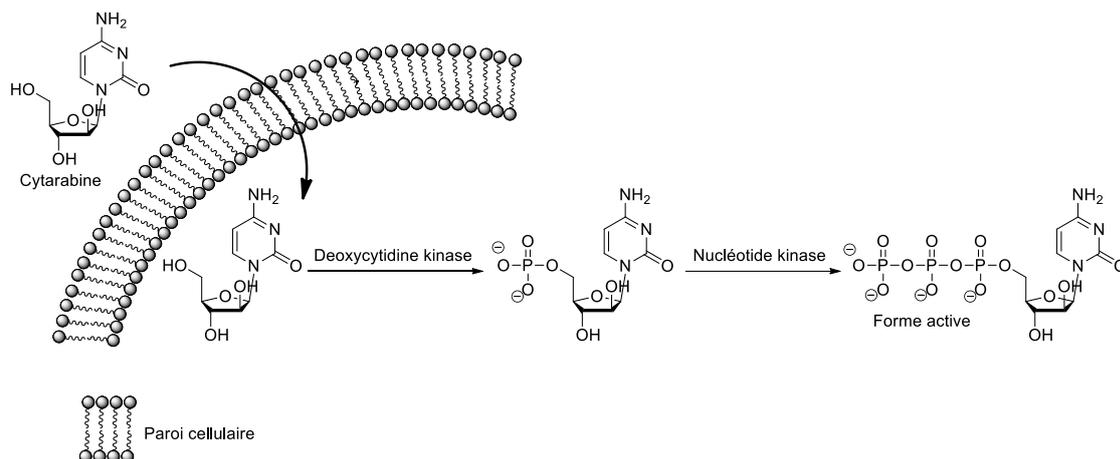


Schéma 7 - Mécanisme d'action de la cytarabine

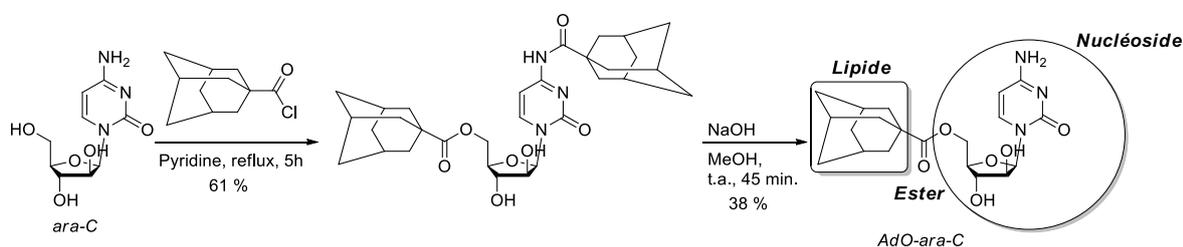


Schéma 8 - Synthèse de AdO-ara-C

Une activité supérieure de 173% a alors été observée pour 20 mg/kilo/jour d'AdO-ara-C contre 100 mg/kilo/jour d'ara-C. En effet, le groupement adamantane permet une meilleure internalisation cellulaire et un effet prolongé du médicament a ainsi été observé. Le lien ester formé peut être clivé par une estérase pour relarguer la molécule active ara-C à l'intérieur de la cellule, et fait de AdO-ara-C un pro-médicament plus efficace. La synergie des propriétés des deux parties du nucléolipide a donc permis de produire un composé actif beaucoup plus efficace. En effet, dans cet exemple, le composant nucléosidique, le lipide et le lien ester ont chacun une fonction importante pour l'activité antitumorale du composé. C'est donc par des variations structurales au niveau du lipide, du nucléotide, nucléoside ou nucléobase, et des fonctions choisies pour créer un lien covalent entre eux que leurs propriétés peuvent être optimisées. De nombreux efforts de synthèse ont depuis été réalisés dans ce sens.

Quelques années plus tard, MacCoss a notamment reporté la synthèse du 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-5'-L-1,2-dipalmitine **4A**, un autre analogue de la cytarabine. La synthèse de cette molécule a été réalisée sous la forme d'un seul diastéréoisomère[37] (Schéma 9), après avoir démontré l'activité antitumorale du mélange racémique de ce même composé. Après activation du phosphate du 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-5'-monophosphate **1a** par substitution d'un des oxygènes par un groupement morpholine, le sel d'acide α -L-dipalmitoylphosphatidique **3** peut à son tour substituer le résidu morpholine pour former un diphosphate et ainsi obtenir le composé désiré. Dans ce cas, c'est donc un nucléotide-

lipide qui est obtenu. Il s'est révélé insoluble dans l'eau et le diméthylsulfoxyde, solvant couramment utilisé pour solubiliser les substances actives lipophiles.

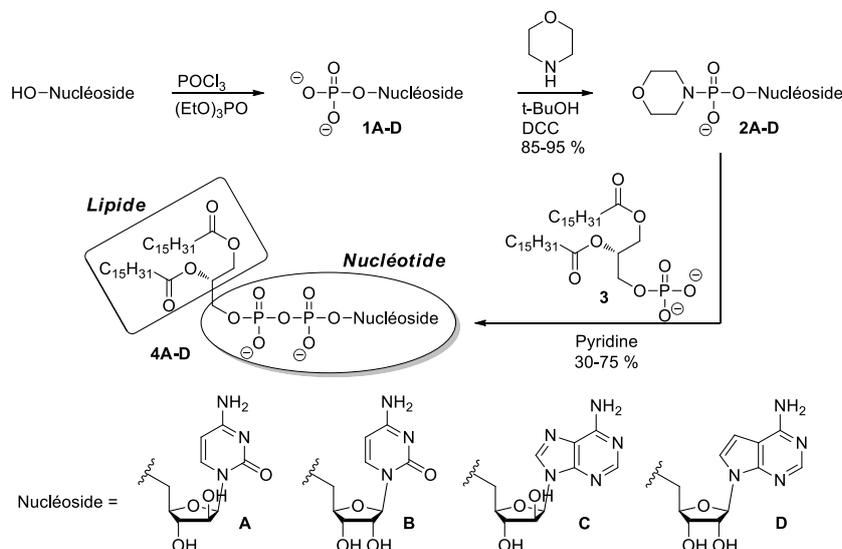


Schéma 9 - Synthèse de nucléolipides des séries 1- β -D-arabinofuranosylcytosine (A), cytidine (B), adénine (C) et déazaadénine (D) portant une chaîne L-1,2-dipalmitine

Il a donc été injecté sous la forme d'une suspension dans l'eau, mais aucune activité antitumorale n'a pu être détectée pour cette forme. Cependant, la capacité de celui-ci à s'auto-assembler sous forme de micelles ou de vésicules après sonication à température ambiante a été mise en évidence. Une solution limpide a alors été obtenue. Sous cette forme, une inhibition de 50 % de la prolifération de cellules tumorales a été observée pour une concentration de $62,2 \cdot 10^{-6}$ M. La capacité du dérivé AdO-ara-C à former un auto-assemblage a également été testée mais sans succès, prouvant donc que l'introduction du phospholipide confère cette propriété au nucléolipide. Toutefois, Ado-ara-C possède une meilleure activité contre l'inhibition des mêmes cellules lorsque qu'il est formulé dans du DMSO (50% d'inhibition à $9,2 \cdot 10^{-6}$ M). Ce constat est attribué par les auteurs à la vitesse du relargage de la substance active dans la cellule, les micelles ou vésicules nécessitant un temps de dissociation additionnel. Il peut aussi être supposé que le nucléolipide **4A** possède une moins bonne capacité d'internalisation cellulaire et, de plus, la présence d'une fonction diphosphate implique un mécanisme de clivage enzymatique différent de celui des fonctions ester, potentiellement moins efficace dans ce cas. Cependant, du point de vue de la formulation, la capacité à former des micelles ou des vésicules représente un avantage important puisqu'il évite l'utilisation de DMSO et ces formulations sont généralement plus stables que des suspensions, qui ont tendance à sédimenter. De plus, contrairement au cas de l'adamantane, le sous-produit lipidique est une molécule naturellement présente dans les membranes cellulaires, ce qui confère un avantage en termes de biocompatibilité. Le changement de la structure du lipide a donc une influence importante sur l'activité biologique des nucléolipides, mais permet également de lui conférer des propriétés d'auto-assemblage d'intérêt pour leur formulation.

L'importance de la structure du sucre du nucléotide a été mise en valeur par la suite. En effet, alors que le nucléotide-lipide **4A** possède une activité inhibitrice, son analogue **4B** de la série ARN, dont la stéréochimie de la position 2' est inversée, ne possède qu'une très faible activité inhibitrice (11% à 69.10^{-6} M). De plus, il s'est révélé moins soluble dans l'eau que son analogue **4A** et l'obtention d'une solution limpide a demandé un temps d'activation par sonication beaucoup plus long.

Les analogues **4C** et **4D** dérivés de l'adénine et de la déazaadénine ont été synthétisés plus tard par la même stratégie[38][39] (Schéma 9). Tout comme l'analogue **4A**, ces composés se sont avérés insolubles dans l'eau et dans le diméthylsulfoxyde. Le même procédé d'activation par ultrasons leur a alors été appliqué. Le composé **4C** n'a pas pu être solubilisé par cette méthode, mettant en évidence l'impact du changement de la base sur la solubilité du nucléolipide. Ensuite, des vésicules ou des micelles ont pu être obtenues à partir d'une solution de **4D** dans l'eau, mais celui-ci s'est avéré être extrêmement toxique même à faible dose. Ces constats mettent en exergue que la variation de la base azotée du nucléoside ou nucléotide peut avoir un effet drastique tout d'abord sur les propriétés biologiques des nucléolipides. Leurs propriétés physico-chimiques subissent également l'impact des changements structuraux des nucléobases, ici du point de vue de la solubilité et de leur capacité d'auto-assemblage. Une connaissance fine de ces différences et des propriétés de chacune des bases semble donc nécessaire pour une conception pertinente de nucléolipides.

En résumé, après avoir été identifiée comme substance active antitumorale prometteuse, la cytarabine a été l'objet d'études visant à améliorer sa faible biodisponibilité. La synthèse de nucléolipides en tant que pro-médicaments s'est révélée être une solution de choix en mettant à profit la capacité des lipides à traverser les membranes cellulaires ainsi qu'à protéger la substance active du milieu physiologique. En effet, l'étude de MacCoss a mis en évidence qu'après incubation en milieu de culture à 37°C, aucune variation de l'activité des nucléolipides **4A** et **4D** n'est observée jusqu'à 48h et 72h respectivement, démontrant ainsi la stabilité du lien covalent entre la partie nucléotide et le lipide. De plus, une activité *in vivo* a été démontrée alors que le temps de demi-vie de la cytosine seule est estimé entre 3 et 9 minutes.

Encore une fois, les différentes études décrites précédemment démontrent l'impact des variations structurales apportées sur chaque partie des nucléolipides. Tout d'abord, le choix du lipide est ici déterminant vis-à-vis de leur activité, de leur biocompatibilité et de leurs propriétés d'auto-assemblage en modulant la balance hydrophile/hydrophobe et en permettant une meilleure internalisation cellulaire par effet hydrophobe. Ensuite, les modifications apportées sur le sucre et la nucléobase de la partie nucléotide ou nucléoside influent directement sur les propriétés biologiques des composés, de petits changements pouvant supprimer leur activité. De plus, ils influent également sur la balance hydrophile/hydrophobe, sur les opportunités d'interactions supramoléculaires et donc sur les propriétés d'auto-assemblage.

Enfin, le lien entre les deux parties du nucléolipide impacte ici son mécanisme d'action. En effet, la fonction ester de AdO-ara-C ne subit pas l'action des mêmes enzymes que le lien phosphoester présent dans le cas d'un nucléotide. Ce paramètre influe très probablement sur l'activité des molécules, et pourrait notamment être mis à profit pour cibler certaines cellules par rapport à d'autres. Cet exemple montre donc qu'il est possible d'optimiser les propriétés des nucléolipides par la simple variation des « blocs de départ » utilisés. Toutefois, ces derniers existent en nombre limité et réduisent la diversité structurale si l'on s'en tient à l'utilisation de nucléobases, nucléoside ou nucléotides naturels ou à leurs mimes. Le besoin d'apporter plus de variations dans la composition des nucléolipides a alors amené à les substituer ou à les modifier de sorte qu'ils possèdent des fonctions supplémentaires à celles présentes dans les nucléolipides simples.

II.2.2) Substitution et modification des nucléolipides

La synthèse d'un nucléolipide portant un ammonium quaternaire sur la position 5', la 2',3'-dioleoyl-5'-(triméthylammonio)-Uridine (DOTAU), a par exemple été réalisée en plaçant un groupement tosyloxy sur l'alcool en cette position[40]. Une fois l'oxygène en position 5' fonctionnalisé et les oxygènes en position 2' et 3' déprotégés, deux chaînes oléiques ont été introduites par estérification à partir des acides carboxyliques correspondants (Schéma 10). Le groupement OTs étant un bon groupement partant, il a alors été substitué par la triméthylamine en milieu acide pour donner l'ammonium quaternaire final.

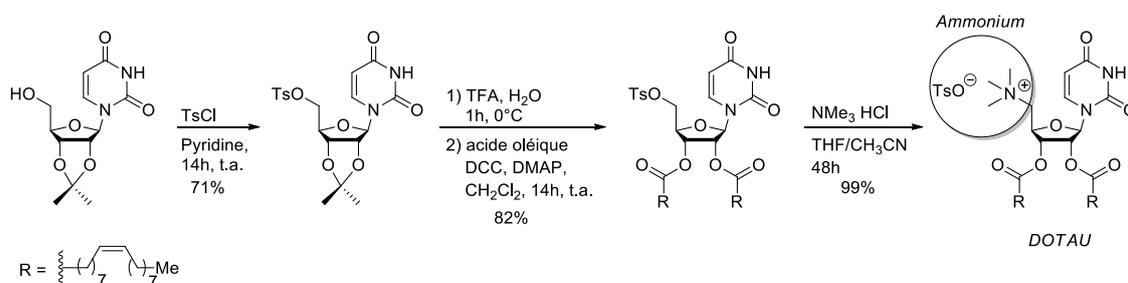


Schéma 10 - Synthèse de la DOTAU

L'étude des propriétés physico-chimiques de cette molécule ont démontré sa capacité à former des assemblages de type vésiculaires (Figure 6), soit après simple hydratation du solide sur une lame de microscopie, soit par extrusion d'une solution aqueuse du nucléolipide. En effet, les différentes parties de ce composé, un ammonium, un nucléoside et deux chaînes lipidiques, lui confèrent un fort caractère amphiphile propice à l'auto-organisation. De plus, cette combinaison a été conçue pour optimiser les interactions avec des brins d'ADN pour la transfection de gènes. Pour cela, l'ADN doit être véhiculé à l'intérieur des cellules pour induire une expression génétique particulière. Le nucléolipide serait alors un véhicule pour l'ADN. En effet, l'ammonium peut interagir avec les phosphates tandis que la nucléobase

peut être engagée dans des interactions de type Watson-Crick, permettant de se lier à l'ADN. Les chaînes oléyle ont quant à elles été choisies pour leur capacité à traverser les membranes. La capacité de transfection de DOTAU vers de nombreuses cellules avec une faible expression génétique a été mise en évidence. Ces performances sont intéressantes pour la régulation de l'expression génétique dans des cas de surexpression, et sont complémentaires par rapport aux agents de transfection déjà présents sur le marché, par exemple la Lipofectamine 2000, qui entraînent une expression génétique importante. La modification du sucre par ajout d'un groupement ammonium permet donc dans cet exemple d'ajouter une fonction de reconnaissance supplémentaire vis-à-vis des brins d'ADN, qui complète celles de la nucléobase et du lipide.

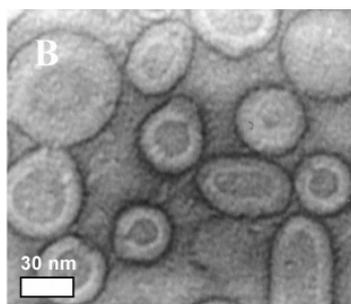
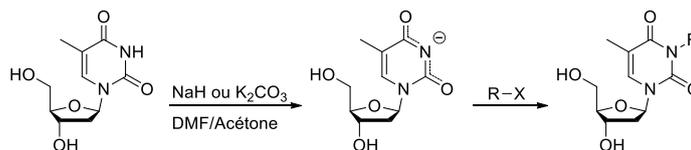


Figure 6 - *Petites vésicules unilamellaires formées par la DOTAU, observées par microscopie à transmission électronique*

Les nucléobases peuvent également être fonctionnalisées pour acquérir une activité ou une fonctionnalité particulière. Le développement de stratégies de fonctionnalisation des bases azotées a ainsi permis l'obtention de nouvelles familles de composés.

La synthèse de dérivés simples N-3 alkylés ou arylés de la thymidine en milieu basique a par exemple été décrite[41]. Cette stratégie permet d'obtenir de très bons rendements, compris entre 83% et 94% pour la plupart (Tableau 1), sans protection préalable des alcools. Le dérivé propyle est synthétisé par hydrogénation du dérivé allylé avec du palladium sur charbon activé, le 1-bromopropane n'étant probablement pas assez réactif.

La capacité des dérivés **5** à **13**, substitués en position N-3, à réduire l'activité locomotrice chez la souris a été reportée. Ils prolongent significativement le temps de sommeil induit par la prise de pentobarbital, cependant les dérivés alkylés n'ont pas d'activité hypnotique. En revanche, tous les dérivés de type benzyle possèdent une activité hypnotique, le plus puissant étant le dérivé benzyle simple. Il est intéressant de remarquer que dans une étude similaire sur l'uridine, les auteurs avaient reporté précédemment la meilleure activité des groupements xylyles par rapport au benzyle [42]. La base azotée a donc un impact non négligeable sur l'activité de la molécule, même à un méthyle près. De plus, le seul ajout de petits groupements tel qu'un benzyle peut procurer à un nucléoside une activité biologique spécifique. Cette méthode très simple de fonctionnalisation a ainsi permis un accès rapide à des composés actifs.



Composé	R	X	Rendement (%)	Temps 1 (min)	Temps 2 (min)
Thymidine	H	-	-	Aucun	132 ± 6
5	Méthyle	I	90	Aucun	220 ± 18
6	Ethyle	Br	83	Aucun	249 ± 35
7	Propyl	-	94*	Aucun	380 ± 6
8	Allyle	Br	94	Aucun	246 ± 9
9	Benzyle	Br	84	61 ± 9	256 ± 25
10	α -bromo-o-xylène	Br	72	30 ± 3	192 ± 19
11	α -bromo-m-xylène	Br	85	48 ± 3	264 ± 20
12	α -bromo-p-xylène	Br	89	45 ± 2	251 ± 7
13	α -phényléthyle	Br	49	23 ± 2	371 ± 16

Temps 1 : expérience réalisée sans injection de pentobarbital ; Temps 2 : temps supplémentaire de sommeil après prise de pentobarbital ; * : le rendement indiqué est celui de la réaction d'hydrogénation du composé allylé

Tableau 1 : *Synthèse et activité des dérivés N-substitués*

La même stratégie a été utilisée plus récemment pour implanter un bras pyridine sur la thymidine et l'uridine et former ainsi un nucléolipide capable de complexer un métal, ici du ruthenium (III)[43] (Schéma 11). Après fonctionnalisation de l'azote N-3, l'alcool en position 3' (ainsi qu'en position 2' dans le cas de l'uridine) est mis en présence de l'acide oléique activé par DCC et DMAP pour conduire à la formation d'esters d'oleyle. Cette méthode de synthèse procure une autre source d'originalité à ce nucléolipide puisque, contrairement aux cas cités précédemment et à la majorité des exemples décrits dans la littérature, elle ne place pas le lipide en position 5'. Cet emplacement est ici fonctionnalisé, après déprotection, par une chaîne triéthylène glycol ou hexaéthylène glycol, sous forme d'ester également. Les nucléolipides **14a-b** possédant un bras chélatant et des chaînes lipidiques sont ainsi obtenus en quelques étapes simples.

Chaque partie de la molécule a son importance : les résidus oléyle permettent une meilleure internalisation cellulaire grâce à leur similarité avec les phospholipides présents dans les membranes. Ensuite, les chaînes triéthylène ou hexaéthylène glycol permettent d'optimiser la balance hydrophile/hydrophobe et de protéger le nucléolipide contre la dégradation extra-cellulaire par les macrophages. Une fois à l'intérieur de la cellule, ces différents esters peuvent être clivés par une estérase et libérer le nucléoside porteur du bras pyridine. L'étude des agrégats formés par ces molécules amphiphiles par diffusion dynamique de la lumière

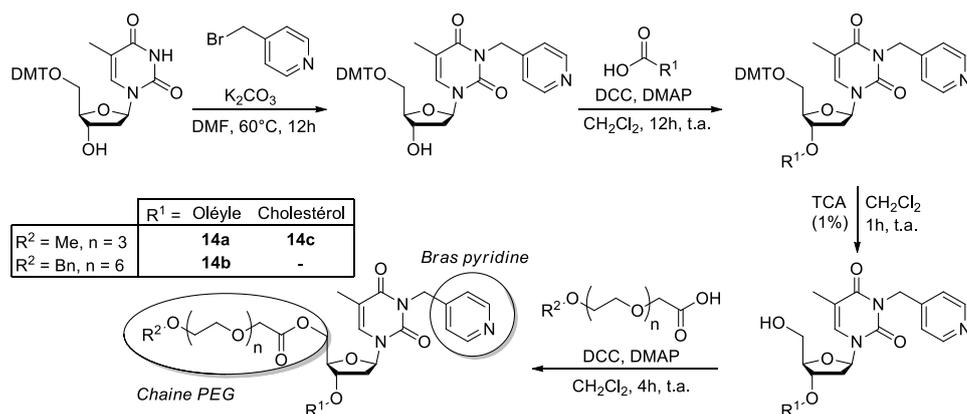


Schéma 11 - Synthèse d'un nucléolipide porteur d'un bras pyridine

(DLS) et par diffusion de neutrons sous petits angles (SANS) a mis en évidence la formation de vésicules multilamellaires d'une taille comprise entre 50 et 400 nm. De plus, **14b** ne présente aucune cytotoxicité ou effets toxiques en présence de différentes lignées cellulaires normales ou tumorales, il est donc apparu comme un bon candidat pour devenir un vecteur de médicaments.

Les auteurs ont ensuite intégré ce composé au sein d'un système plus complexe dans le but de transporter du ruthénium (III) au sein des cellules[44]. Ce dernier vise à remplacer le cisplatine dans les traitements antinéoplasiques, car ce dernier entraîne des effets secondaires importants. Un liposome biomimétique, formé de phospholipides (POPC), a été conçu afin de protéger le nucléolipide porteur du ruthénium. Le composé **14c**, analogue aux molécules décrites précédemment, a été développé sur le modèle de la thymidine. Il est toujours porteur du bras pyridine, mais fonctionnalisé avec un groupement cholestérol à la place du groupement oléyle (Figure 7). Ainsi, il s'intercale mieux au sein des phospholipides du liposome. Sa capacité à complexer le ruthénium (III) stabilise la formulation et empêche un relargage trop rapide dans un milieu aqueux extérieur. Une étude de l'effet antinéoplasique de ce système montre qu'il est plus performant que ceux développés précédemment. Un suivi par spectrométrie UV-Visible a mis en évidence que la stabilité des complexes **14c**-Ru(III) peut atteindre plusieurs semaines en présence du POPC alors qu'elle n'est que de quelques heures sans la présence des liposomes. L'étude de leur activité *in vitro* a également montré une inhibition plus importante de la croissance et de la maturation de cellules cancéreuses humaines.

Le nucléolipide **14c** est donc l'élément clé qui permet la cohésion de la formulation développée. D'une part, les propriétés amphiphiles de cette structure ont été optimisées par la modification du sucre, sur lequel a été greffée une chaîne triéthylène glycol. Celle-ci permet de moduler finement la balance hydrophile/hydrophobe du nucléolipide. Ensuite, l'influence de la structure du lipide a été observée. Alors qu'une chaîne oléyle permet de traverser une membrane lipidique pour relarguer le nucléoside dans les cellules, un groupement cholestérol

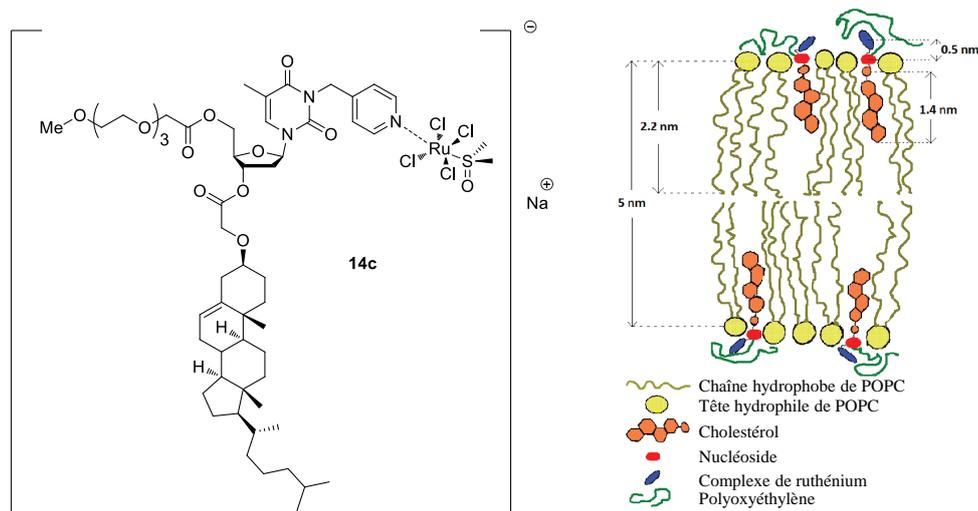


Figure 7 - Insertion d'un nucléolipide porteur d'un bras pyridine dans la paroi cellulaire

permet son ancrage dans la bicouche lipidique des vésicules et confère le rôle de véhicule à la formulation. Enfin, la modification de la nucléobase par l'ajout du bras pyridine lui attribue une fonction spécifique : complexer le ruthénium (III), ce qui confère à tout le système son activité antinéoplasique. Dans cet exemple, toutes les parties du nucléolipide ont donc été optimisées. Il illustre l'équilibre entre les différentes propriétés physico-chimiques et biologiques qui peut être atteint par la variation et la fonctionnalisation des structures.

Il est possible d'aller plus loin dans ce concept en envisageant des analogues synthétiques des nucléobases des sucres ou des lipides. Plusieurs exemples illustrent cette approche dans le cas des nucléotides et des nucléosides dont certains sont décrits dans le schéma 12[45][46][47][48][49][50].

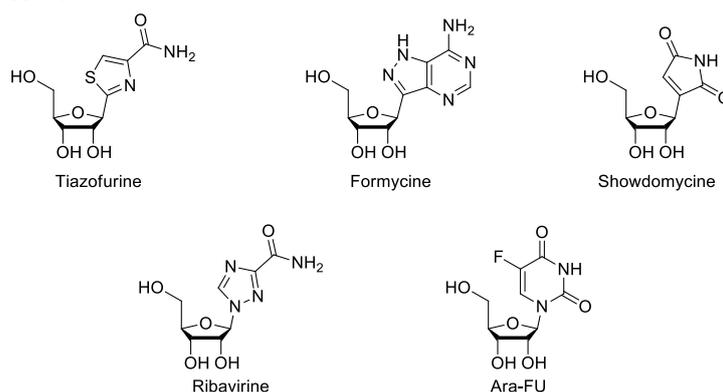


Schéma 12 - Exemples de substances actives possédant des analogues de nucléobases

Peu d'exemples sont rapportés dans le cas des analogues de nucléolipides sans doute à cause de la complexité des méthodes de synthèse nécessaires à de telles modifications structurales. Alors que les nucléobases naturelles sont disponibles commercialement, synthétiser des analogues implique de nombreuses étapes de synthèse supplémentaires. De plus, les composés modifiés peuvent alors perdre l'avantage en termes de biocompatibilité comparés à leurs analogues issus de structures naturelles. Le cas de l'analogue de cytarabine **4D** évoqué

précédemment illustre par exemple l'augmentation drastique de toxicité impliquée par la variation d'un seul atome dans la nucléobase.

En résumé, l'utilisation de briques moléculaires de type nucléobases, sucres et lipides naturels apparait pertinente pour la conception de substances actives, de vecteurs ou de matériaux pour le domaine pharmaceutique, mais limite les variations structurales qu'il est possible d'apporter. La source de diversité la plus facile à exploiter en respectant cette contrainte réside alors dans le type de lien qui unit ces différentes parties de façon covalente. En effet, comme cela a été évoqué pour les nucléolipides naturels, cette partie de la molécule a une influence cruciale sur leurs propriétés. Un intérêt particulier sera donc porté à ce paramètre dans la suite de ce chapitre au travers d'exemples mettant en valeur l'incidence de la présence de ces liens.

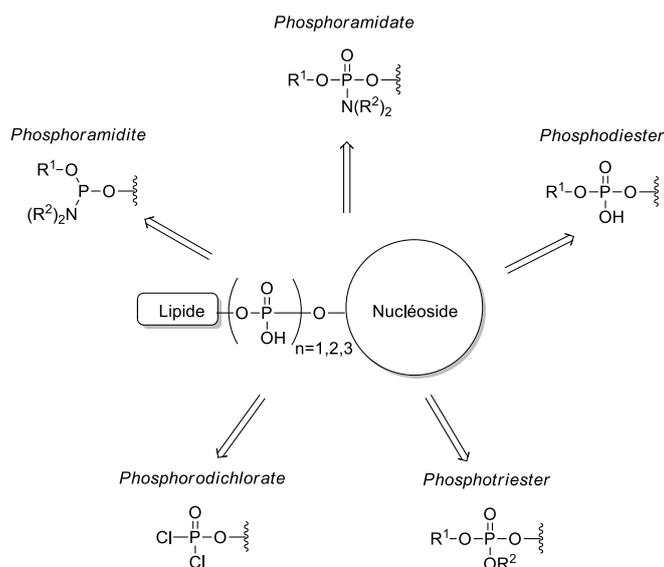
II.3) Influence de la nature du lien chimique entre nucléotide, nucléoside, nucléobase et le lipide

La nature du lien covalent introduit pour unir le lipide au reste de la molécule peut être de nature variée et dépend de la stratégie de synthèse employée. Dans la majorité des cas, le lipide est placé sur les positions 5', 3' et 2' du sucre dans le cas des nucléotides et des nucléosides, mais la fonctionnalisation d'autres positions permet d'augmenter la diversité structurale et moduler les interactions supramoléculaires résultantes. La fonction chimique et la position associées à un lien sont donc les deux facteurs qui le définissent.

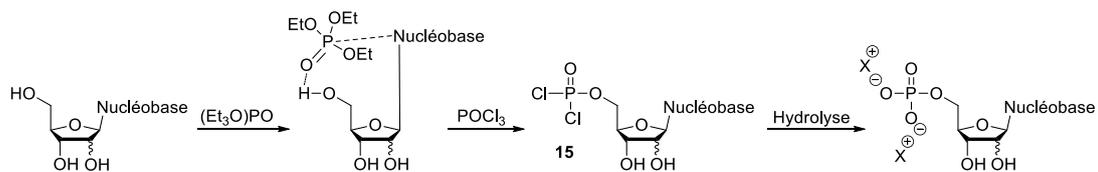
II.3.1) Cas des nucléotides-lipides

Premièrement, la fonctionnalisation de nucléotides occupe une place à part puisqu'elle est basée sur la réactivité du groupement phosphate. Ce dernier peut être introduit à partir d'un nucléoside et peut être un mono-, di- ou tri-phosphate. Différents réactifs comprenant l'atome de phosphore ont été conçus dans ce but[51]. Les stratégies sont multiples et peuvent faire intervenir des groupements phosphorodichloridate, phosphoramidites, phosphoramidate, phosphodiester, phosphotriester, H-phosphonate, tosylé ou encore phosphosulfonyle, et peuvent être réalisées en solution ou sur support. Toutefois, ces stratégies ont pour la plupart été développées pour la synthèse d'oligonucléotides et seules quelques-unes sont représentées dans le contexte des nucléolipides[24] (Schéma 13).

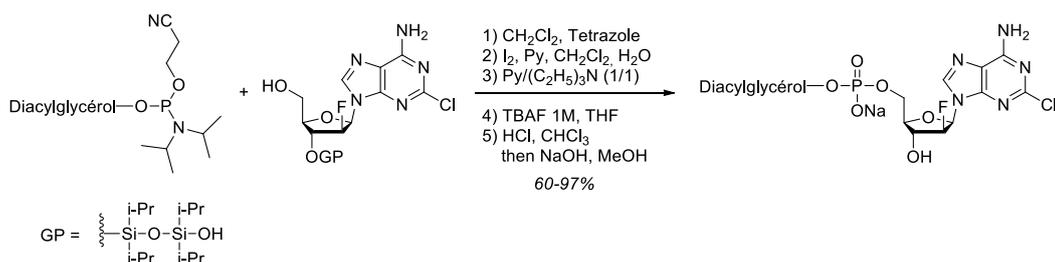
Une première a été illustrée lors de la synthèse du 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-5'-L-1,2-dipalmitine (chapitre 1, II-2.1), pendant laquelle un intermédiaire phosphorodichloridate a été utilisé pour introduire le premier groupement phosphate en une étape. L'alcool a été activé par le phosphate de triéthyle pour conduire au dichloré **15** (Schéma 14) qui a

Schéma 13 - *Intermédiaires phosphorés utilisés pour la synthèse de nucléotides-lipides*

été hydrolysé pour obtenir le nucléolipide diphosphate final. D'autres exemples démontrent la possibilité de fonctionnaliser le phosphate directement par cette méthode qui permet d'obtenir des composés mono-, di ou triphosphate[52].

Schéma 14 - *Synthèse d'un nucléotide via un intermédiaire phosphorodichlorate*

L'autre stratégie la plus utilisée implique l'utilisation de phosphoramidites ou de phosphoramidates[53]. La synthèse des 1,2- et 1,3-diacylglycérophosphates a ainsi été réalisée avec des lipides porteurs de groupements phosphoramidites. Cette méthode nécessite cinq étapes ainsi que la protection de l'alcool en position 3' mais permet d'intégrer directement le lipide sur le nucléoside (Schéma 15). Cette stratégie se révèle intéressante puisque qu'il suffit d'utiliser un lipide avec une fonction alcool pour obtenir le phosphoramidite correspondant[54]. Elle permet alors d'introduire une grande variété de lipides et est sélective envers les alcools même en présence des amines exocycliques des bases de type A, G ou C.

Schéma 15 - *Synthèse d'un nucléotide-lipide via un phosphoramidate*

Des méthodes alternatives engageant la condensation d'acylphosphates sur des nucléosides ont également été décrites[52][55]. Au final, l'introduction d'un groupement phosphate peut être réalisée de façon régiosélective en position 5' pour introduire le lipide sur cette position. Cependant, si le phosphate est introduit sur le lipide avant le nucléoside, la protection des alcools peut être nécessaire. Ces méthodes permettent ainsi d'accéder à une grande variété de nucléotides-lipides. Néanmoins, peu de diversité est amenée au niveau du lien dans ce cas puisque tous les exemples décrits sont des phosphoesters, la seule variation résidant dans le fait qu'ils soient issus de motifs mono-, di- ou tri-phosphate. Les nucléotides-lipides se sont donc principalement révélés d'intérêt dans la conception de pro-médicaments, ces fonctions étant clivées dans les cellules par les phospholipases pour libérer des nucléotides actifs[52]. Le fozivudine tidoxil a par exemple été conçu ainsi comme précurseur de la zidovudine (AZT) pour le traitement du VIH[56] (Schéma 16).

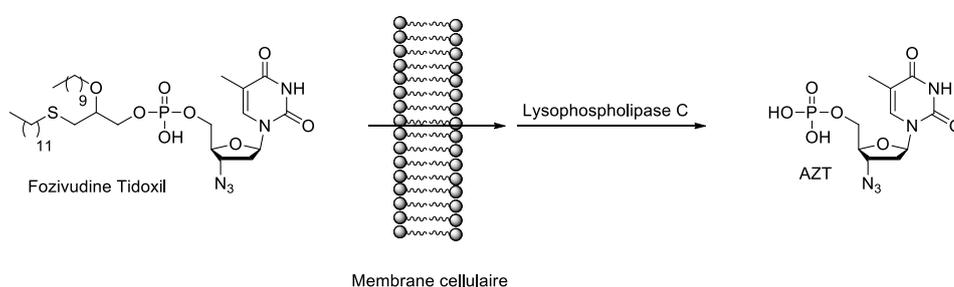


Schéma 16 - Mécanisme d'action du fozivudine tidoxil

II.3.2) Cas des nucléosides-lipides

II.3.2.1) Liens de type ester

Dans le cas des nucléosides-lipides, les exemples décrits jusqu'à présent montrent que les parties lipidiques sont principalement introduites sur les fonctions alcools du sucre, notamment sur la position 5' qui est la plus réactive. Les fonctions azotées des nucléobases sont également des sites privilégiés. Dans cette partie, des exemples illustrant les techniques de synthèse des principaux liens utilisés ont été choisis. L'influence de la nature des liens sur les propriétés des nucléolipides sera ensuite discutée.

Comme cela a déjà été dit précédemment, le type de lien covalent introduit peut avoir une influence importante sur le comportement de la molécule finale ou même être nécessaire à son activité. Nous avons par exemple évoqué le cas de la cytarabine pour lequel un analogue de nucléolipide avec une fonction ester peut améliorer de façon très significative l'internalisation cellulaire puis être clivée par une estérase pour retrouver sa forme active. Les liens ester étant très facile d'accès, ils ont été les plus utilisés pour la synthèse de nucléosides-lipides non naturels.

L'élacytarabine (CP-4055), par exemple été obtenu par simple condensation du chlorure de (E)-octadec-9-énoyle sur la cytarabine conduisant à la formation d'une fonction ester en position 5'[57] (Schéma 17).

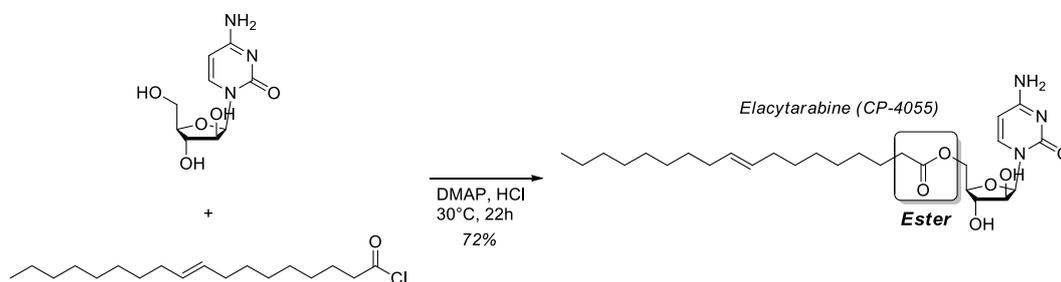


Schéma 17 - Synthèse de l'élacytarabine (CP-4055)

Il s'agit donc ni plus ni moins d'un analogue de l'AdO-ara-C présenté précédemment (chapitre 1, II-2.1). Or, dans ce cas une technique de synthèse régiosélective plus récente est utilisée. Contrairement au cas du dérivé adamantoylé pour lequel l'azote exocyclique de la base parasitait la réaction, aucune étape de déprotection supplémentaire n'est nécessaire. Ici, le progrès des méthodes de synthèse a permis, grâce à des conditions de réaction simples, de réduire la synthèse de ces composés à une seule étape avec un assez bon rendement (72%). De plus, le changement du type de lipide permet également d'augmenter la capacité d'internalisation cellulaire du pro-médicament[58][35]. L'élacytarabine CP-4055 a ainsi atteint la phase III des essais cliniques pour le traitement de la leucémie aigüe myéloblastique et se révèle très prometteuse[59]. Cette technique de vectorisation a été développée notamment par Clavis Pharma sous le nom de *Lipid Vector Technology* (LVT). Les nucléolipides possédant un lien ester présentent donc aujourd'hui un fort intérêt pour l'industrie pharmaceutique, d'autant plus qu'ils peuvent être obtenus avec peu d'efforts de synthèse.

Ils sont d'ailleurs les plus représentés et s'illustrent dans les différentes facettes du domaine biomédical, notamment pour la conception de biomatériaux. Srivastan a récemment décrit la capacité de nucléolipides simples résultant de l'estérification de la thymidine à former des organogels ou des surfaces hydrophobes en fonction de leur structure[60]. Dans cette étude, les propriétés physico-chimiques des composés mono-lipidiques **16a-e** et di-lipidiques **17a-c** dont la synthèse est décrite Figure 8 ont été étudiées.

Lorsque les composés sont dissous à chaud dans des solvants organiques, la formation de gels a été observée après retour à température ambiante dans certains cas. Il a ainsi été remarqué une relation entre la longueur des chaînes lipidiques, leur nombre (une ou deux), le solvant et l'obtention d'un gel. En effet, la concentration minimale de gélification (CMG) a été déterminée dans chaque cas (Tableau 2) et a montré que plus la chaîne aliphatique est longue, plus cette valeur est basse. Un lipide plus long améliore donc les propriétés gélatrices de ces molécules en favorisant les interactions par effet hydrophobe, dans la limite où la

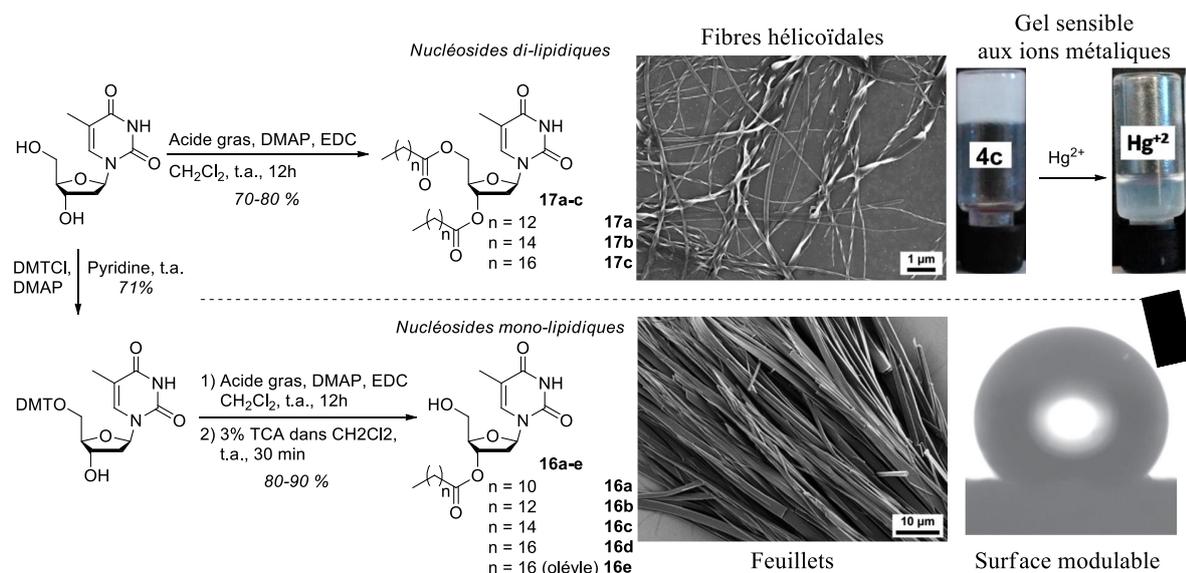


Figure 8 - Synthèse et propriétés de nucléosides mono- et di-lipidiques avec un lien ester

balance hydrophile/hydrophobe reste favorable à l'auto-assemblage. En effet, les composés possédant la chaîne la plus longue (**16e**, 18 carbones) sont solubles dans tous les solvants décrits et ne forment pas de gels. Ils sont probablement trop hydrophobes et perdent en partie leur caractère amphiphile.

Solvant	16a	16b	16c	16d	16e	17a	17b	17c
DMSO	G(2.2, 20)	G(1.8, 20)	G(1.4, 20)	G(1.2, 18)	S	G(3.0)	G(2.1)	G(1.1)
DMF	G(3.0, 15)	G(2.2, 15)	G(1.8, 13)	G(1.4, 14)	S	S	P	P
ACN	G(2.0, 13)	G(1.5, 12)	G(1.5, 9)	G(1.4, 8)	S	P	G(1.5)	G(1.2)
Méthanol	G(2.4, 19)	G(1.5, 18)	G(1.3, 20)	G(1.1, 20)	S	P	Gp	Gp
CCl ₄	G(3.2, 16)	G(2.3, 15)	G(2.0, 12)	G(1.8, 10)	S	S	Gp	Gp
Dioxane	G(3.0, 20)	G(2.8, 20)	G(2.5, 20)	G(2.0, 18)	S	S	S	S
Toluène	G(3.1, 20)	G(3.0, 20)	G(2.1, 20)	G(2.0, 18)	S	S	S	S
Heptane	I	P	G(2.1, 20)	P	S	P	E	E

G = gel ; Gp = gel partiel ; P = précipité ; I = insoluble ; S = soluble ; E = émulsion ; concentration minimale de gélation en nucléolipide (%) et pourcentage d'eau minimal indiqués entre parenthèse.

Tableau 2 : Propriétés de gélation des nucléolipides **16a-e** et **17a-c**

Une différence fondamentale a, par ailleurs, été observée entre les dérivés mono- et di-lipidiques : alors qu'avec deux chaînes lipidiques un gel est formé spontanément dans le DMSO et l'acétonitrile, l'ajout d'eau est nécessaire pour obtenir un gel dans le cas des nucléolipides **16a-e**. La quantité ajoutée est assez importante (entre 8 et 20 % du volume), mais permet la formation de gels dans presque tous les mélanges testés. Une analyse par rayon X et par RMN de ces molécules a montré que les molécules d'eau agissent comme partenaires de liaisons hydrogène entre les nucléobases et favorisent ainsi la formation d'un

réseau supramoléculaire. Cette différence de comportement a été également investiguée par microscopie électronique. Il a ainsi été montré que les xérogels obtenus à partir de DMSO des nucléolipides **17b** et **17c** forment des fibres hélicoïdales alors que ceux des composés **16c** et **16d** obtenus à partir d'un mélange DMSO/eau (80/20) forment un réseau dense de feuillets plus larges (Figure 8).

Ces variations de comportement ont été exploitées pour la réalisation de matériaux aux propriétés différentes. Les gels obtenus avec **16c** dans un mélange solvant organique/eau (80/20) ont permis l'obtention de xérogels dont la modulation de la structure macroscopique par le changement de système de solvants définit le caractère hydrophobe ou hydrophile de la surface. Ainsi, un gel obtenu à partir du mélange toluène/eau mène à l'obtention d'une surface dont les chaînes hydrophobes sont orientées vers l'extérieur (soit vers le solvant), le toluène favorisant les interactions par effet hydrophobe. La mesure de l'angle θ de contact entre une goutte d'eau et la surface a montré que le matériau obtenu était très hydrophobe ($\theta = 151 \pm 3^\circ$). A l'inverse, l'utilisation d'un solvant hydrophile comme le méthanol favorise les interactions avec les parties nucléosides hydrophiles qui se retrouvent alors orientées vers l'extérieur (soit vers le solvant). La mesure de l'angle de contact entre la surface obtenue et une goutte d'eau montre que cette dernière s'étale ($\theta = 62 \pm 2^\circ$), ce qui caractérise un matériau hydrophile. L'utilisation d'autres solvants permet ensuite de faire varier cet angle ($\theta_{DMSO} = 105 \pm 3^\circ$ et $\theta_{dioxane} = 74 \pm 4^\circ$). Les propriétés de ces matériaux ont donc ainsi pu être optimisées grâce au caractère amphiphile des nucléolipides et aux interactions supramoléculaires avec le solvant.

Le gel obtenu à partir de **17c** dans le DMSO s'est quant à lui révélé sensible à la présence d'ions Hg^{2+} . Lorsque ce cation métallique est ajouté en petite quantité à la formulation (0.02 équivalents), la formation du gel n'est pas observée. L'analyse du mélange obtenu par microscopie électronique à balayage montre l'impact du mercure sur la microstructure qui passe de fibres à l'état de gel à des feuillets plus désordonnés après ajout du cation. Or, ce phénomène n'a pas été observé lorsque Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ ou Pb^{2+} ont été introduits de la même façon. Ce mécanisme est donc spécifique des ions mercure. Toutefois, ce métal ainsi que le solvant utilisé (DMSO) sont très toxiques. De plus, le processus de gélification est perturbé par la présence du métal, mais il n'est pas indiqué si l'ajout du métal sur le gel déjà formé induit une déstructuration de celui-ci. L'utilisation de ces gels dans des applications pharmaceutiques semble donc très limitée.

II.3.2.2) Influence du lien dans la conception de biomatériaux

Ces exemples de nucléolipides comportant des liens de type ester se sont révélés adaptés à la formation de biomatériaux dont les propriétés peuvent être modulées par la nature du lipide. De plus, des composés similaires portant le lipide en position 5' uniquement,

décrits 14 ans auparavant[61], possèdent des propriétés de gélation différentes et démontrent l'impact de la position du lipide. Dans le cadre d'une étude s'intéressant à l'influence du type de lien utilisé sur les propriétés de gélation de différentes familles de nucléolipides les auteurs ont rapporté la synthèse de composés avec des liens de type amide, et urée notamment. La substitution sélective de l'alcool en position 5', notamment par un dérivé iodé lors d'une réaction de type Appel, a été exploitée (Schéma 18). Cette réaction est bien décrite pour des composés possédant tous les types de nucléobases, que ce soit la thymidine[62][63], l'uridine[64], la cytidine[65], l'adénosine[66][67] ou la guanine[68].

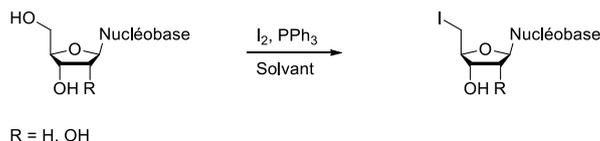


Schéma 18 - Introduction d'un iode en position 5'

Cette stratégie a été utilisée pour introduire une fonction amine permettant d'accéder à des fonctions amide et urée. La substitution de l'iode par NaN_3 introduit un groupement azoture qui est ensuite réduit en présence de palladium sur charbon et de dihydrogène, ou encore de triphénylphosphine dans l'eau. Une réaction de couplage sur un lipide porteur d'une fonction acide carboxylique ou isocyanate conduit alors à la formation de liens amide ou urée respectivement[61] (Schéma 19).

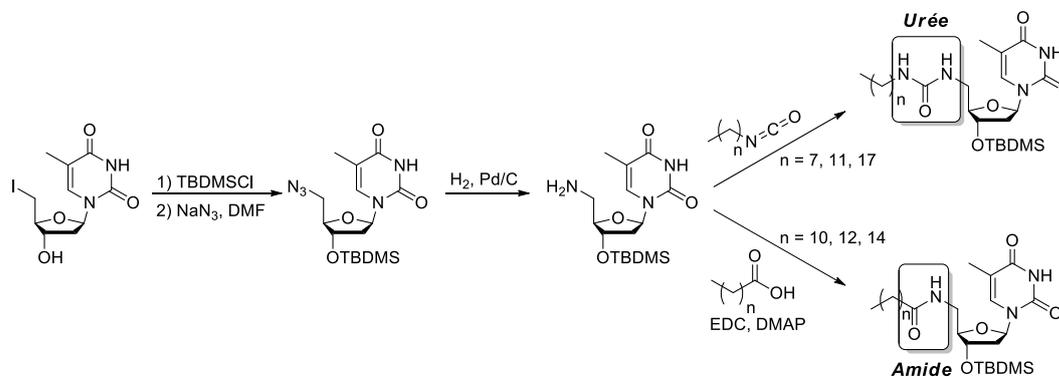


Schéma 19 - Synthèse de nucléolipide avec des liens de types urée et amide

Dans cette étude, différents nucléolipides porteurs de chaînes aliphatiques de différentes longueurs ont ainsi montré une capacité à former des gels dans des solvants organiques, à une concentration de 2 % m/m (Schéma 20).

L'analyse par MEB des organogels formés a révélé la formation de différentes architectures supramoléculaires, en fonction du système nucléolipide/solvant utilisé (Figure 9). Une structure de type fibre est obtenue pour les systèmes **18**/cyclohexane et **20a**/ CCl_4 , alors qu'un réseau ramifié de type « tissé » est observé pour le système **22**/octane, et que les systèmes **19**/toluène, **20a**/toluène, **20a**/benzène et **20a**/tétraline forment des structures lamellaires. Ces différences de comportement supramoléculaire ont été attribuées par les auteurs à la

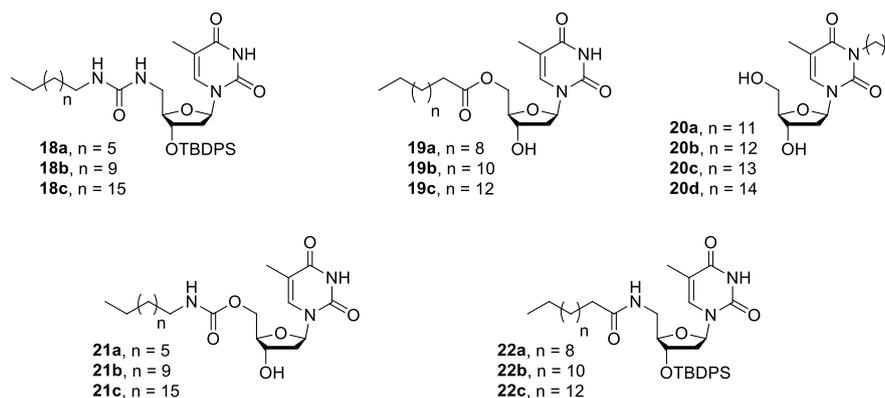


Schéma 20 - Nucléolipides organogélateurs

capacité à former des liaisons hydrogène, d'une part par les nucléosides et d'autre part par les fonctions les liant aux lipides. En effet, les fonctions urée et amide sont très propices à la formation de ce type d'interactions, alors qu'une chaîne aliphatique comme dans le cas des composés **20a-c** n'ouvre pas de possibilité dans ce sens.

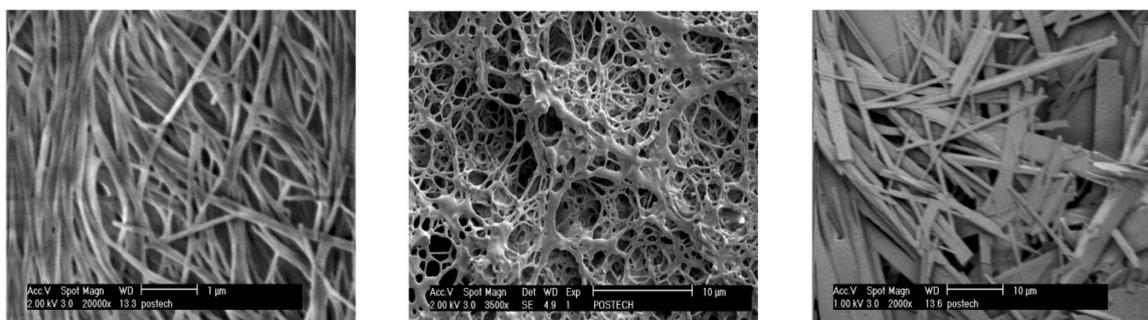


Figure 9 - Observation par microscopie électronique à balayage (MEB) des réseaux formés par les systèmes (2% m/m) A- **20a**/ CCl_4 , B- **22**/octane et C- **20c**/toluène

Il est à noter que le composé **20a**, alkylé en position N-3, forme le même type de structure que les composés **18a-c**, porteurs de groupements urée, ou encore que les composés **19a-c**, porteurs de groupements ester, suivant qu'il est dans un solvant ou dans un autre. L'organisation supramoléculaire de ces nucléolipides ne semble donc pas pouvoir s'expliquer par le seul fait des liaisons hydrogène. En effet, les auteurs évoquent également la possibilité d'interactions de type π -stacking et van der Waals pour décrire ce phénomène. Cependant, ces interactions qui semblent pourtant être des facteurs importants n'ont pas été mises en évidence dans cette étude. De plus, les composés **18a-c** et **22a-c** sont fonctionnalisés en position 3' par un groupement TBDMS, ce qui améliore probablement leur solubilité dans les solvants organiques mais diminue le nombre de sites donneurs de liaisons hydrogène. Ce sont pourtant les composés les plus propices à la formation de gel. Le paramètre de solubilité peut donc également avoir une importance cruciale. Ensuite, il est intéressant de remarquer que le changement de position du lipide, ici lorsqu'il est placé sur l'azote N-3 de la thymidine, change fondamentalement les propriétés de la molécule. Le composé **20a** forme par exemple un gel dans le benzène et le toluène alors que ce n'est pas le cas des composés **18b** et **21b**

qui ont la même longueur de chaîne. Enfin, cette étude montre que la longueur des chaînes aliphatiques a aussi un impact sur le processus de gélification, impliquant très probablement des interactions par effet hydrophobe. Les résultats obtenus sont exposés dans le Tableau 3.

Solvant	18a	18b	18c	19a	19b	19c	20a	20b	20c	20d	21a	21b	21c	22a	22b	22c
Benzène	P	P	-	G	Gp	G	P	G	G	G	I	I	I	S	S	S
Toluène	P	P	I	G	G	G	P	G	G	-	I	Gp	G	S	S	S
CCl ₄	S	P	-	I	G	G	G	-	-	-	I	I	I	-	-	-
Tétraline	-	-	-	Gp	G	G	G	Gp	Gp	H	G	G	G	-	-	-
<i>n</i> -Hexanes	G	G	G	I	Gp	G	-	-	-	-	I	I	I	G	G	G
Cyclohexane	G	G	G	I	Gp	G	-	-	-	-	I	I	I	G	G	G
<i>n</i> -Pentane	G	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	G	G
<i>n</i> -Heptane	Gp	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	G	G
<i>n</i> -Octane	P	Gp	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	G	G

G = gel; Gp = gel partiel; P = précipité; I = insoluble; S = soluble; H = huileux

Tableau 3 : *Propriétés de gélification des nucléolipides 18a-c, 19a-c, 20a-d, 21a-c et 22a-c*

D'après ceux-ci, l'augmentation du nombre de carbone de la chaîne aliphatique, dans les longueurs considérées, favorise dans certains cas la formation d'un organogel. Les composés **18c**, **19c** et **20c**, porteurs de fonctions urée, ester et carbamate respectivement, entraînent une gélification dans plus de cas que leurs analogues **Xa** et **Xb**. Les composés de la série **22** ont quant à eux tous les mêmes propriétés gélitrices, quelle que soit la longueur de la chaîne aliphatique. L'analyse par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) des composés **22a**, **22b** et **22c** montre tout de même une dépendance de leurs capacités gélitrices à la longueur de la chaîne carbonée. Plus celle-ci est longue, plus la température de gélification est basse et donc plus les nucléolipides s'organisent facilement. Même si la différence de température est assez faible (entre 82°C et 79°C), cette analyse suggère la présence d'effets hydrophobes entre les chaînes lipidiques.

Les propriétés physico-chimiques des nucléolipides semblent donc résulter d'une association complexe de différents facteurs, qui sont ici les interactions par liaisons hydrogène, π -stacking et effet hydrophobe. Ils sont alors autant de variables ajustables pour l'optimisation des systèmes développés. Dans cet exemple, toutes les variables ont un impact sur les interactions observées, mais le type de lien mis en jeu a un effet prédominant. En effet, pour un même nombre de carbones, placés sur la même position sur le nucléoside, deux composés avec des liens très similaires présentent des propriétés physico-chimiques très variables. Par exemple, les composés **19c** et **22c**, dont la seule différence réside en la présence d'un atome d'oxygène ou d'azote en position 5', vont respectivement former un gel ou non dans le benzène et le toluène. De même, le nucléolipide **18c** forme un gel dans l'hexane et le cyclohexane alors que le composé **21c** ne se solubilise pas. Par contre, ce dernier forme un gel dans le toluène alors que le composé **18c** n'y est pas soluble. Cette étude met donc particulièrement en évidence l'importance de la nature du lien covalent entre le lipide et le nucléoside, et l'influence directe qu'il peut avoir sur les propriétés physico-chimiques de l'ensemble, même à un atome près.

La fonctionnalisation de la position 2' a également été décrite dans le cas de nucléolipides de la série ARN, notamment par acylation avec des acides gras, formation de carbamates, alkylation ou à partir d'un 2'-amino-2'-désoxynucléoside[69][70]. La fonctionnalisation de cette position est très intéressante pour la synthèse de polynucléotides fonctionnalisés. En effet, dans ce cas, les positions 3' et 5' sont engagées dans les liaisons phosphoesters et les nucléobases doivent être libres pour garder leur fonction de reconnaissance vis-à-vis des autres bases. La position 2' est donc la seule disponible.

Une des stratégies décrites procède par la substitution de l'alcool par un azoture, de façon analogue à celle décrite précédemment pour la synthèse des liens de type urée et amide[69]. Dans ce cas, l'intermédiaire cyclique **23** est obtenu à partir de l'uridine en milieu basique (Schéma 21). Celui-ci est ensuite ouvert en présence d'azoture de triméthylsilyle pour conduire au composé **24** fonctionnalisé en position 2'. Une réaction de Staudinger-Vilarrasa permet ensuite l'accès au nucléolipide **25** avec un lien de type amide.

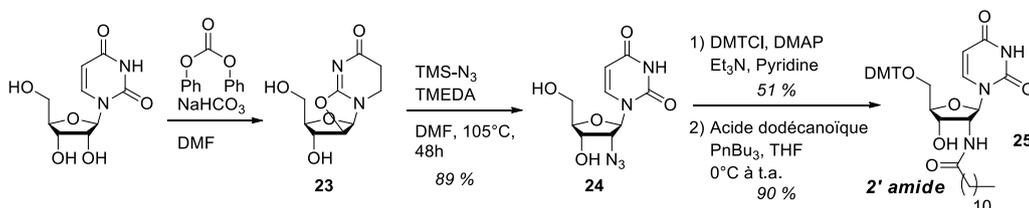


Schéma 21 - Synthèse d'un lien amide en position 2'

L'intérêt porté ces dernières années à la réaction de cycloaddition de Huisgen dans le contexte de la chimie des biomolécules a attiré l'attention sur les intermédiaires de type azoture. En effet, cette réaction très bien décrite dans le cadre des biomolécules est très sélective et peut conduire à de bons rendements, même pour des macro-biomolécules[71][72][73]. Elle est également très utilisée dans le domaine des biomatériaux[74][75][76][77]. C'est la réaction la plus utilisée de celles que l'on regroupe sous la dénomination de « chimie click » définie par Sharpless[78][79]. Ce concept fait référence à des réactions procédant en une seule étape avec des rendements élevés sur un large panel de substrats et dans des conditions douces et faciles à réaliser. Elles doivent également générer le moins de déchets possibles, ceux-ci devant être faciles à éliminer. De plus, il est préférable qu'elles soient stéréo- et régiosélectives dans les cas concernés, et qu'elles soient réalisées dans des solvants peu toxiques, dans l'eau ou même sans solvants. Cette réaction a donc bien évidemment été appliquée à la synthèse de nucléolipides.

Les différents exemples décrits dans cette partie montrent que les possibilités concernant le type de lien qui unit les différentes parties d'un nucléolipide sont nombreuses. Les plus utilisés, décrits dans le Schéma 22, sont pour la majorité des liens simples accessibles par des méthodes de synthèse efficaces dans le but d'obtenir facilement des nucléolipides. Ces variations simples ont permis de moduler de façon importante les propriétés des nucléolipides synthétisés. Le rôle crucial de la nature du lien n'est donc plus à démontrer. Apporter une

diversité structurale supplémentaire à ce niveau serait donc un moyen de mettre à disposition des outils permettant une optimisation fine des propriétés des nucléolipides. Pour cela, des réactions efficaces et permettant l'accès à des fonctions originales doivent être mises en œuvre. Parmi les méthodes de choix pour l'association de biomolécules, la cycloaddition de Huisgen a fait ses preuves grâce à ses conditions douces, sélectives et efficaces. Elle s'est illustrée dans plusieurs exemples intéressants dans le contexte des nucléolipides.

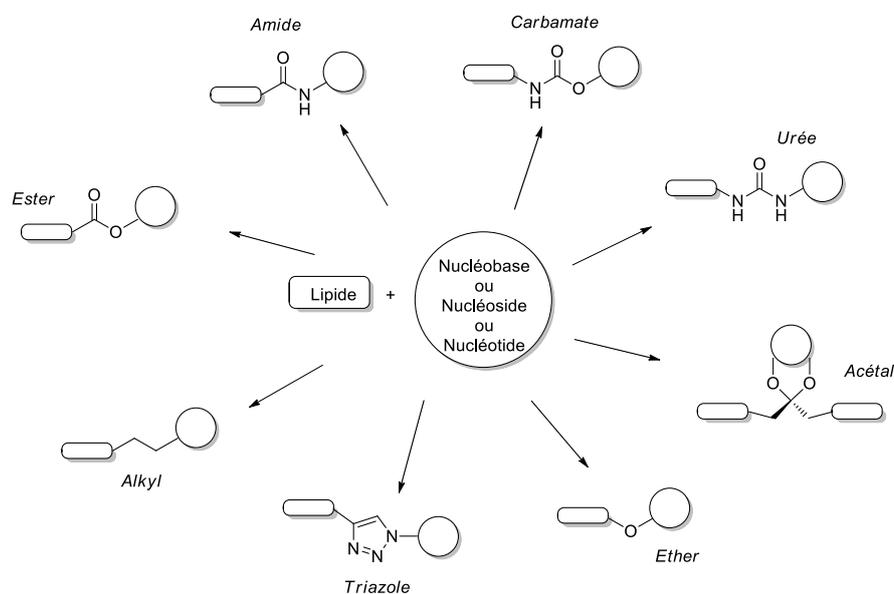


Schéma 22 - Principaux types de liens retrouvés dans les nucléolipides synthétiques

III) Nucléolipides portant un lien de type triazole

La réaction de cycloaddition de Huisgen a popularisé l'utilisation du triazole en tant que lien intramoléculaire dans la synthèse des biomolécules. En effet, le triazole est notamment un isostère des fonctions amides, il est stable en milieu physiologique et en tant que groupement aromatique, il présente la possibilité de former des interactions de type π -stacking.

La 2'-azido-2'-désoxyuridine a ainsi été engagée dans une réaction de cycloaddition de Huisgen avec des lipides portant une fonction alcyne[70] (Schéma 23). Les nucléolipides correspondant ont été obtenus avec de bons rendements dans le cas de dérivés du cholestérol (85-88%).

La capacité d'ancrage des composés **27a** et **27b** dans des membranes de POPC a été étudiée par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN). Seules de faibles différences de comportement ont été observées entre ces deux composés dues au plus grand degré de liberté induit par le tétraéthylène glycol dans le cas de **27b**. Finalement, ils se sont tous les deux montrés capables de s'ancrer dans les membranes sans affecter l'ordre de la bicouche lipidique. Des membranes équipées de nucléosides ont ainsi été obtenues.

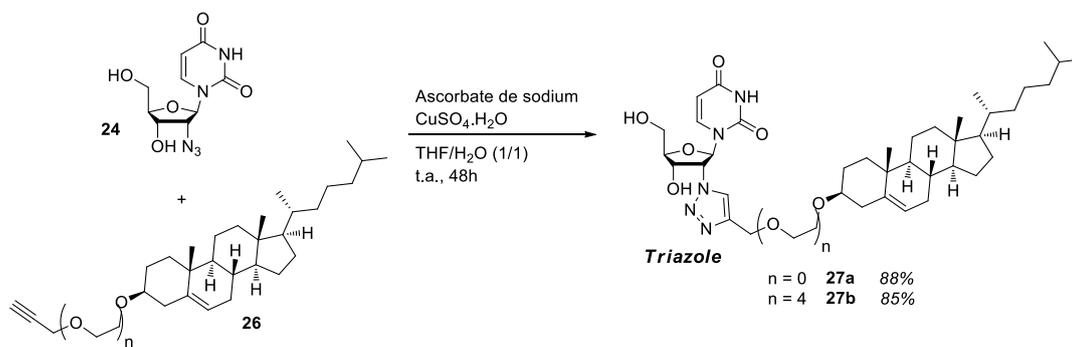


Schéma 23 - Synthèse d'un lien triazole en position 2' par la cycloaddition de Huisgen

III.1) Nucléolipides organogélateurs

L'équipe de Philippe Barthélémy a aussi utilisé la réaction de cycloaddition-1,3 de Huisgen catalysée au cuivre (CuAAC) lors de la synthèse de nucléolipides[80]. Elle a permis d'introduire le motif triazole entre la partie nucléoside et la partie lipide sur la position 5' de nucléosides. La 5'-azido-5'-déoxythymidine et la 5'-azido-2',5'-didéoxyadénosine ont été synthétisées[29] dans des conditions similaires à celles décrites précédemment (chapitre 1, II-3.2). La 2'-déoxyadénosine s'est révélée moins réactive que la thymidine mais l'introduction du groupement azoture a été réalisée avec succès en augmentant la proportion de réactifs et le temps de réaction. Une fois fonctionnalisés, les nucléosides ont pu être couplés efficacement avec différents lipides porteurs d'une fonction alcyne terminale.

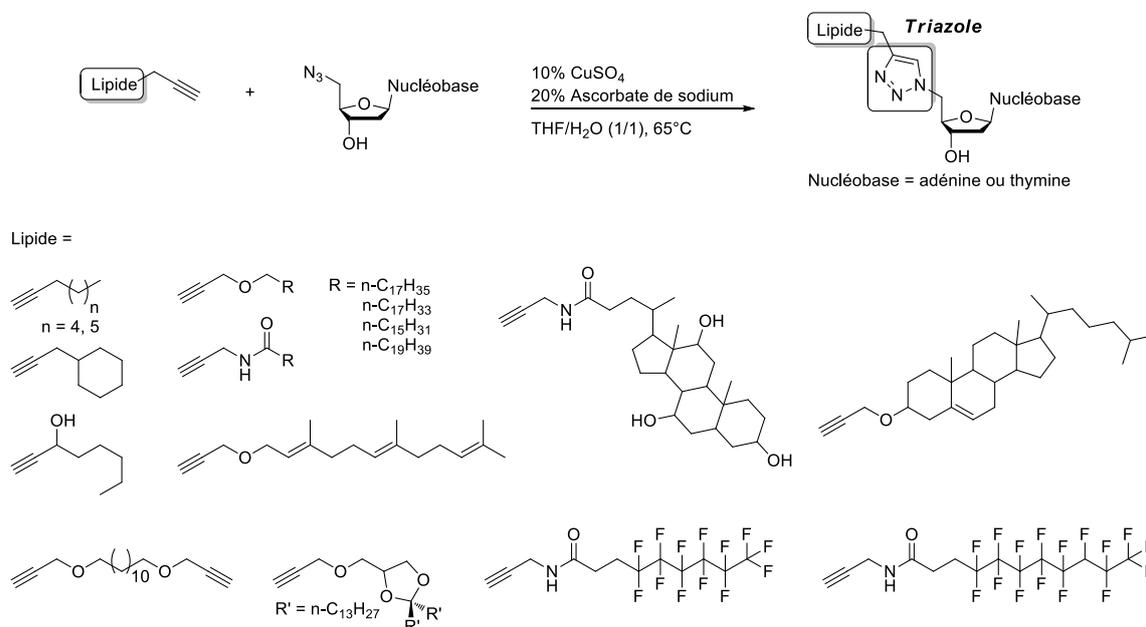


Schéma 24 - Synthèse de nucléolipides par la cycloaddition de Huisgen

Cette technique a permis d'obtenir rapidement un panel de nucléolipides d'une même famille dans laquelle de petites variations dans la nature de la chaîne lipidique ont été introduites. L'optimisation des conditions de réaction a été tout d'abord réalisée avec des

chaînes alkyles, puis des groupements de type oléyle, cyclohexane, stéroïde, terpénoïde et perfluorés ont également été utilisés avec succès (Schéma 24). Ceux-ci sont également porteurs de fonctions de type éther, amide ou alcool qui pourront jouer un rôle dans l'autoorganisation des nucléolipides au même titre que le motif triazole issu de la cycloaddition 1,3.

Ces propriétés d'auto-organisation ont alors été étudiées dans des solvants organiques. La présence des groupements cholestéryle et octadécyle a notamment permis d'observer des structures de type fibres hélicoïdales, nanotubes et membranes dans le toluène ou le n-butanol (Figure 10) à des concentrations très faibles (0,1% m/m).

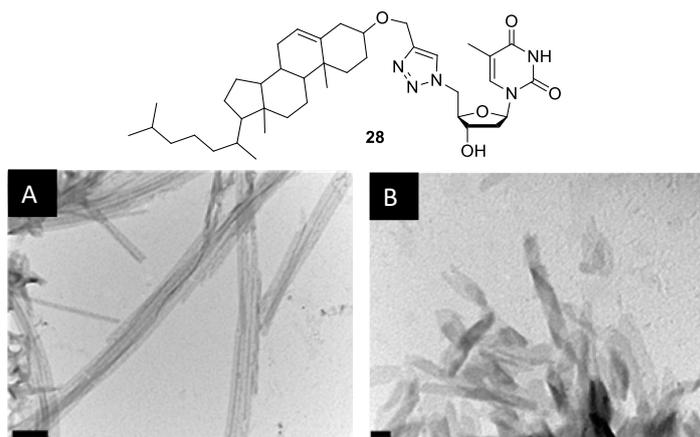


Figure 10 - *Edifices supramoléculaires formés par 28 dans le toluène (0,1 % m/m) observés par MET. A- Nanotubes ; B- Fibres hélicoïdales*

Par ailleurs, de façon analogue aux composés décrits dans le chapitre précédent, ces nucléolipides originaux sont capables de former des organogels à une concentration de 8% m/m. Or, dans le contexte d'éventuelles applications de ces gels dans le domaine biomédical, l'utilisation de solvants organiques représente une limite. La nécessité de développer des systèmes adaptés aux conditions physiologiques, et donc préférentiellement dans l'eau, a alors mené à la conception de nucléolipides possédant une plus grande affinité pour les milieux aqueux.

III.2) Conception d'hydrogélateurs

L'introduction d'un sucre (très polaire de par ses nombreux groupements hydroxyles) dans la structure du nucléolipide s'est imposée comme une évolution logique vers la formation d'hydrogélateurs. Un squelette glycoside a ainsi été introduit sur la nucléobase. Les composés de cette famille ont été baptisés GlycosylNucléoLipides (GNL). Ce sont donc des composés amphiphiles constitués de "briques" issues de trois des grandes familles de biomolécules - les sucres, les lipides et les nucléosides.

Cette stratégie a initialement été développée dans le cadre de la synthèse de nucléolipides

capables d'interagir avec les doubles brins d'ADN [81]. L'analogue de l'uridine **29** possédant deux chaînes lipidiques de type oléyle, liées au nucléoside en position 2' et 3' par des fonctions carbamate, a été synthétisé. La partie osidique a été introduite en position 5' du ribose par une réaction de glycosylation au moyen d'un trichloroacétamide du glucose peracétylé (avec rendement moyen de 55%) avant déprotection de Zemplen pour fournir le composé **29** (Schéma 25). La capacité de ce composé de type GNL à se lier à l'ADN a été attribuée à des interactions sucre-phosphate et nucléoside-nucléoside entre les brins d'ADN et le nucléolipide. Enfin, en l'absence du motif glucose, le nucléolipide résultant ne s'avère pas assez soluble dans l'eau pour interagir avec l'ADN. Cet exemple constitue le premier nucléoside amphiphile neutre conçu dans ce but et démontre l'intérêt d'introduire un sucre en terme de solubilité et d'interactions supramoléculaires.

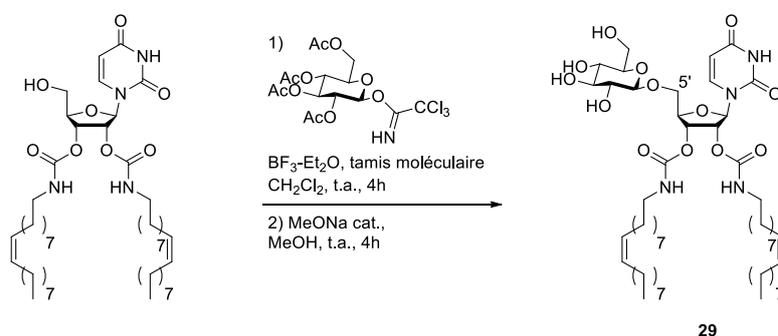


Schéma 25 - Synthèse d'un GNL portant le sucre en position 5'

Cependant, la méthode de synthèse précédemment décrite ne permet pas de placer le sucre ailleurs que sur la position 5' du nucléoside. Comme pour le couplage de la partie lipidique, d'autres méthodes de synthèse doivent être envisagées pour placer le sucre à d'autres positions et offrir une plus grande variété de structures. La stratégie adoptée pour la synthèse des GNLs a été d'utiliser la cycloaddition de Huisgen en liant le sucre par un motif triazole, de la même manière que pour le lipide. Cette réaction s'est révélée à la fois très efficace et plus facile à mettre en œuvre et permet d'introduire un lien aromatique supplémentaire qui pourrait faciliter l'établissement d'interactions de type π -stacking avec tous les avantages des réactions "click".

La série de nucléolipides développée précédemment a donc été glycosylée pour mener à une nouvelle série de composés présentant un caractère hydrophile plus important[29]. Pour y parvenir, les nucléolipides ont été propargylés en position N-3 avec une méthode similaire à celle décrite pour les composés N-3 substitués présentés précédemment (chapitre 1, II-2.2). Ils ont ensuite été soumis à la réaction "click" avec des sucres porteurs d'une fonction azoture pour obtenir des GNLs possédant deux fonctions triazole avec des rendements remarquables allant jusqu'à 93% (Schéma 26).

engagées dans des liaisons hydrogène). Ici, les fonctions présentes au niveau du lien, en plus de la nature du lipide, ont donc un impact direct sur l'auto-assemblage des molécules.

La formation d'hydrogels à très faibles concentrations (0,1% à 3% m/m) a notamment été observée dans le cas de plusieurs structures. Plus particulièrement, la structure **32** possédant une chaîne lipidique fluorée, appelée GlycosylNucléolipide Fluoré ou GNF, s'est révélée très intéressante et est aujourd'hui un composé modèle largement utilisé pour l'étude des hydrogels basés sur les GNLs[82][83]. Son utilisation s'est avérée pertinente dans divers champs d'application, allant de la culture cellulaire à la décontamination de l'eau, grâce à ses propriétés physico-chimiques uniques.

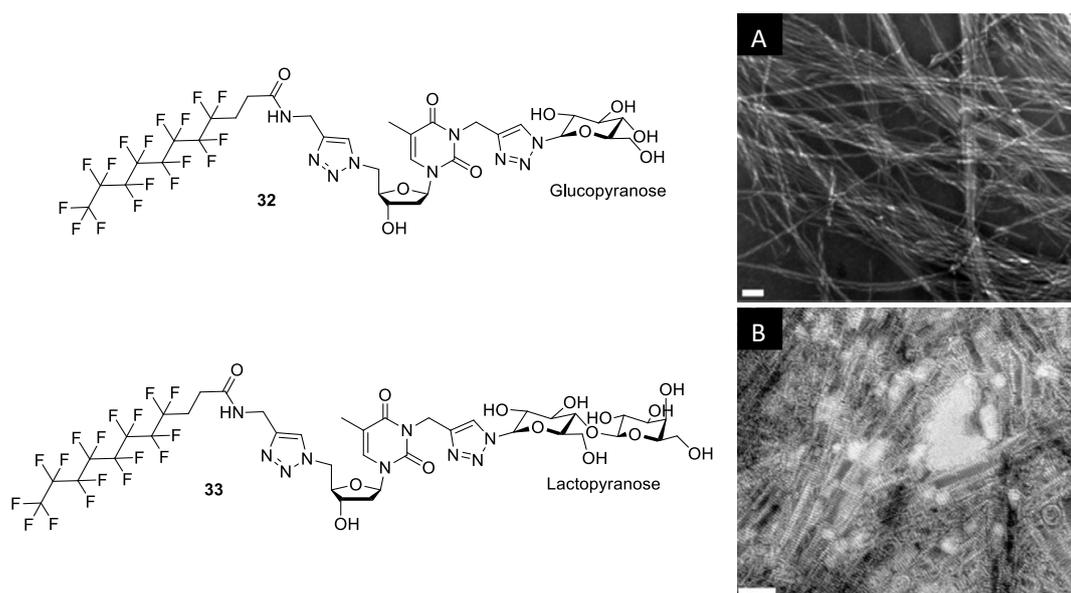


Figure 12 - Observation par MET des édifices supramoléculaires formés par les GNFs A- **32** et B- **33** dans l'eau

En effet, les chaînes fluorées sont connues pour apporter un fort caractère hydrophobe à un composé. Dans cet exemple, cela permet d'accentuer la balance hydrophile/hydrophobe par rapport à la partie polaire glycosylnucléoside. Une chaîne perfluorée d'une longueur de 10 carbones permet d'obtenir des propriétés hydrophobes et une concentration minimale d'agrégation semblables à celles observées avec une chaîne aliphatique de 18 carbones[83]. De plus, les liaisons C-F sont remarquablement stables chimiquement et biologiquement, ce qui permet l'obtention de biomatériaux plus résistants. Enfin, la caractéristique la plus remarquable de ces nucléolipides est la capacité à former des hydrogels de milieu de culture cellulaire (*Dulbecco's modified Eagle medium*, DMEM). En effet, alors que les autres GNLs ne forment pas de gels dans ces conditions, des gels clairs ont été obtenus avec les composés de type GNF. Deux composés différents ont été synthétisés, portant respectivement un groupement glucopyranoside (**32**, Figure 12A) et lactopyranoside (**33**, Figure 12B). De façon intéressante, l'utilisation de ces deux nucléolipides a conduit à la formation d'hydrogels stables, mais pas avec les mêmes propriétés. En effet, la présence du motif lactopyranose entraîne globalement de moins bonnes performances que son analogue glucopyranose.

Ainsi, une concentration minimale de gélification de 2,5% m/m contre 0,1% m/m est obtenue dans l'eau pure, et 1% m/m contre 0,1% m/m dans le milieu de culture. Cette observation au niveau macroscopique est due à une différence d'organisation au niveau microscopique. L'analyse d'échantillons par MET montre la formation de fibres droites pour le composé **32** (Figure 12A), alors que des fibres hélicoïdales sont observées pour le composé **33** (Figure 12B). Finalement, la structure du sucre employé a un impact important sur l'organisation supramoléculaire des GNLs. Le composé **32** étant le plus prometteur, sa cytotoxicité a été évaluée sur des cellules humaines (Huh-7, lignée de cellules d'hépatocarcinome humaines). Il n'a présenté aucune toxicité dans les concentrations testées (jusqu'à 500 μ M), contrairement à un analogue aliphatique C₁₈ qui est toxique à partir de 100 μ M. De plus il s'est avéré thermoréversible, ce qui en fait un très bon candidat pour la conception de biomatériaux pour des applications biomédicales.

Le GNF a ainsi été utilisé en ingénierie tissulaire en tant que substitut de matrice extracellulaire pour favoriser le développement des cellules au sein du gel[84]. Cette méthode est d'un intérêt majeur pour le domaine de la médecine régénérative. Cependant, les conditions à remplir pour permettre le développement d'un tel système sont complexes et dépendent de nombreux paramètres. Aujourd'hui, peu de composés connus les remplissent. Les hydrogels de GNFs, par leur statut de gel physique, ont de bonnes capacités d'adaptation, des propriétés mécaniques cohérentes sans cross-linking chimique qui pourrait être incompatible avec un milieu physiologique.

Les propriétés physico-chimiques d'un gel sont évaluées par rhéologie. Il s'agit de la discipline de choix pour l'étude de composés tels que les gels puisqu'elle s'intéresse à l'écoulement ou la déformation des corps sous l'effet des contraintes qui leur sont appliquées. Un gel possède un comportement viscoélastique c'est-à-dire qu'il comprend à la fois les caractéristiques d'un solide et d'un liquide, déterminées par un module élastique G' et visqueux G'' respectivement. Ces modules reflètent l'énergie emmagasinée par la matière qui peut être restituée en l'absence de contrainte (G') ainsi que l'énergie dissipée par effet Joule lorsqu'une contrainte est appliquée (G''). Outre un comportement viscoélastique, un gel est plus précisément caractérisé par un comportement rhéologique de solide dominant c'est-à-dire un module G' supérieur à G'' .

Un tel module élastique G' (supérieur à G'') a été obtenu pour le GNF, prouvant l'état de gel du matériau (Figure 13B). Son temps de gélification a été estimé à environ 30 minutes (Figure 13A), ce qui laisse le temps aux cellules de bien se répartir dans le gel lorsqu'elles y sont introduites, et laisse envisager une formation *in situ* du gel. De plus, l'étude rhéologique a également mis en évidence la capacité de stimulation à l'effort et de régénération de l'hydrogel. Lorsqu'une force assez importante est appliquée sur ce dernier, son module élastique chute en dessous du module visqueux. Il a alors un comportement plutôt liquide. Mais dès que cette force n'est plus appliquée, l'hydrogel se forme à nouveau et retrouve ses propriétés

physiques. Cette propriété appelée thixotropie permet au gel d'être injectable. En effet, la force appliquée par la seringue lors du prélèvement ou de l'injection de celui-ci suffit à lui conférer un caractère liquide et permet de l'introduire en l'éjectant facilement de la seringue. Il se reforme ensuite une fois injecté.

Le gel s'est révélé stable après injection *in vivo*, avec un temps de demi-vie de 30 jours. Il peut cependant être sensible aux conditions de culture et à la présence de protéines. Le choix du lieu d'injection du gel va donc modifier sa stabilité. Mais le fait d'être dégradable est aussi un avantage qui peut se révéler indispensable dans la régénération de tissu osseux par exemple, pour laisser place au réseau de cellules régénérées. Dans ce but, le gel a été chargé en cellules souches de tissu adipeux (ASC) avant injection. Ces cellules sont différenciables en plusieurs types de cellules spécialisées en fonction des conditions de culture, et sont utilisées dans les stratégies de régénération tissulaire. Injectées de façon classique, c'est-à-dire isolées, elles ne survivent pas au-delà d'une semaine dans le gel. Cette observation n'est pas due à la toxicité du GNF, mais plutôt à un problème de communication des cellules au sein du gel. Par contre, les ASC ont la faculté de former des agrégats qui pré-organisent leur développement. Ainsi, les cellules survivent lorsqu'elles sont ajoutées sous forme d'agrégats pré-formés, et leur présence est toujours détectée après au moins deux semaines. Finalement, les propriétés des GNFs sont prometteuses et ont été mises à profit lors du développement d'hydrogels pour la régénération osseuse notamment[85]. Toutefois, le GNF présente des incompatibilités avec un certains nombres de cellules et son utilisation est aujourd'hui limitée à la réalisation d'études modèles.

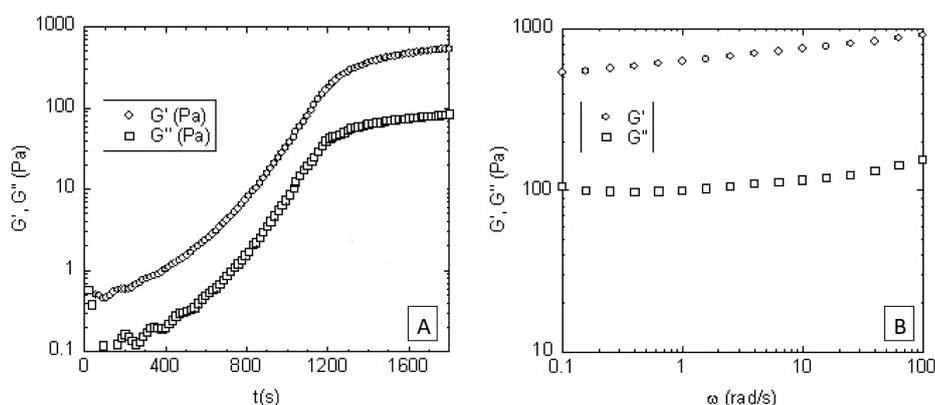


Figure 13 - Évolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction A- du temps pendant le processus de gélification du GNF 32; B- de la fréquence

L'optimisation des propriétés des hydrogels, et donc de la structure des LMWG, devient alors une étape clé pour arriver au développement de systèmes biomédicaux aboutis. Par exemple, l'ajustement du paramètre de dégradation dépend très probablement des liens chimiques covalents qui forment la molécule. De plus, le fait d'être adapté au développement cellulaire dépend fortement du type de structure supramoléculaire formée qui définit l'organisation du système au niveau microscopique[86]. Pour pallier aux inconvénients du GNF vis-à-vis du développement de cellules isolées, de nouveaux nucléolipides ont été développés.

III.3) Structures de type bolaamphiphile

Pour moduler la balance hydrophile/hydrophobe et améliorer encore la solubilité des nucléolipides dans l'eau, la synthèse de composés de type "bolaamphiphiles" s'est avérée prometteuse. Il s'agit de structures qui ne possèdent non plus une mais deux parties polaires, ici des nucléosides, placées de part et d'autre de la partie lipidique[87]. Le composé **35** a ainsi été synthétisé par cycloaddition de Huisgen entre deux équivalents de 5'-azido-5'-désoxythymidine et le lipide **34** (Schéma 27). En milieu aqueux, il forme des vésicules mais le gain en termes d'hydrosolubilité ne s'est pas avéré suffisant pour mener à la formation d'hydrogels en comparaison des GNLS.

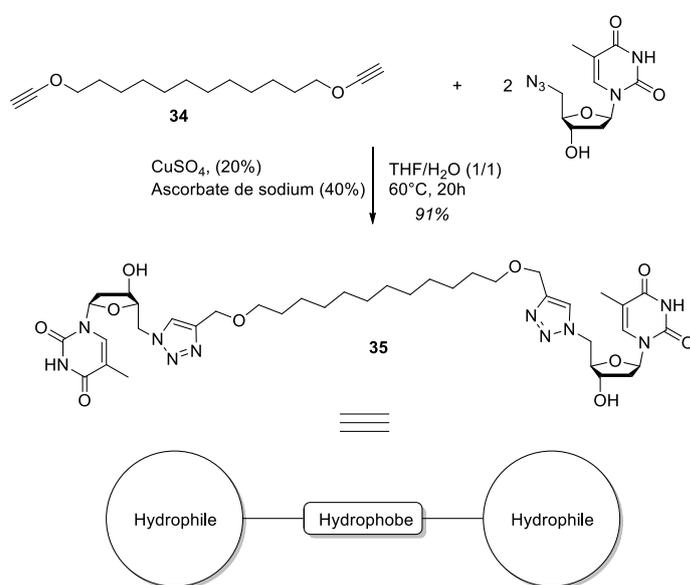


Schéma 27 - Structure d'un nucléolipide de type bolaamphiphile

Ce constat a conduit plus récemment à la synthèse de GNLS de type bolaamphiphile (GNBAs) dont les propriétés gélatrices se sont révélées très intéressantes[88]. Ces composés ont un fort caractère hydrophile puisqu'ils possèdent deux parties polaires comprenant chacune un sucre et permettant de moduler davantage leur balance hydrophile/hydrophobe. Le bolaamphiphile **35** décrit précédemment a été glycosylé *via* la réaction de Huisgen sous activation micro-ondes pour donner le composé **36** (Schéma 28).

Les analogues **37** et **38** ne possédant respectivement qu'un seul nucléoside avec deux groupements glucopyranoside, et qu'un seul nucléoside avec un seul groupement glucopyranoside (Schéma 29) ont également été décrits pour tenter d'établir des liens structure/propriétés. Le GNBA **36** et son analogue **38** forment des hydrogels à une concentration de 1% masse/volume, alors que le composé **37** trop hydrophile ne conduit pas à la formation d'un gel. Un intérêt a alors été porté à la compréhension du mécanisme de l'auto-assemblage supramoléculaire.

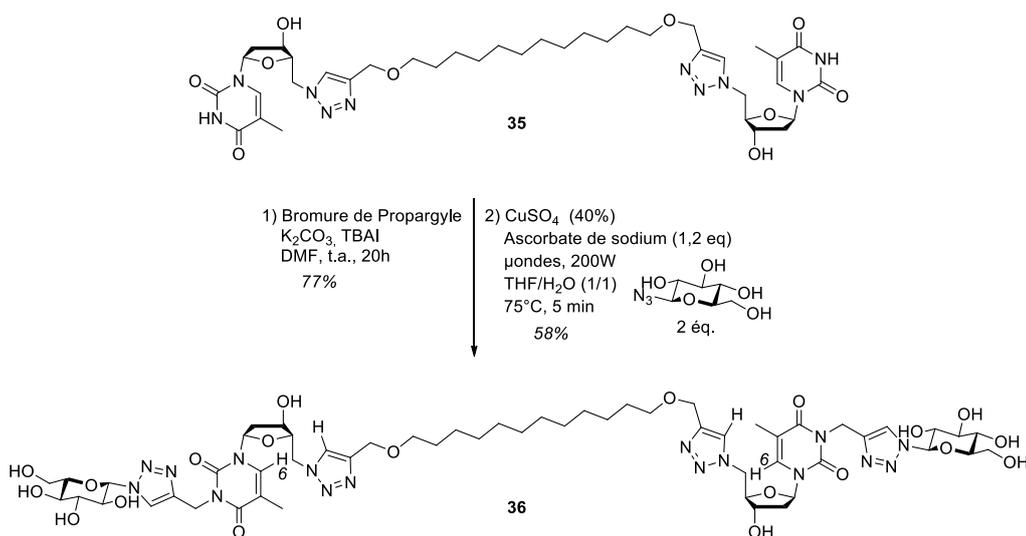


Schéma 28 - Synthèse d'un bolaamphiphile de type GNL

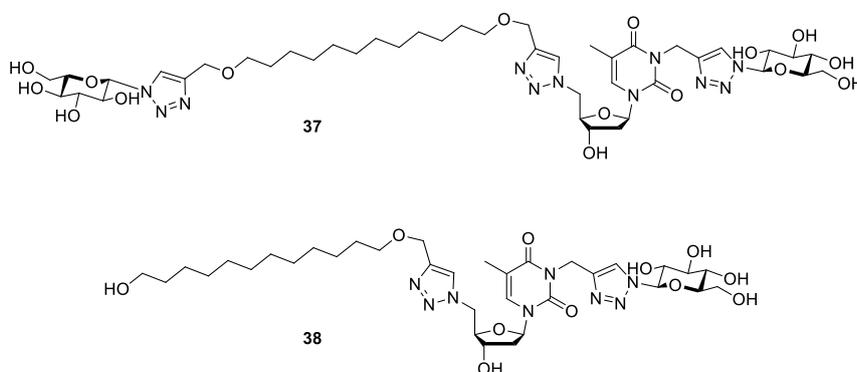


Schéma 29 - Structure des analogues du GNBA 36

L'implication par π -stacking des nucléobases a été démontrée par l'analyse en RMN ¹H de **36**. En fonction de la température tout d'abord, un écart significatif des déplacements chimiques de l'hydrogène H-6 est observé (Figure 14B). En effet, plus la température augmente, plus le signal est déblindé. Cela peut être mis en corrélation avec la rupture des interactions de type π -stacking par l'énergie apportée par la chaleur. Ensuite, des échantillons ont été placés dans du DMSO deutéré et analysés par RMN ¹H. Une faible quantité d'eau a alors été ajoutée graduellement pour observer les interactions mises en jeu en milieu aqueux (Figure 14A). Cette fois, le signal du même hydrogène H-6 est blindé au fur et à mesure que l'eau est ajoutée. Des interactions se créent donc en présence de l'eau, ce qui est encore une fois cohérent avec des interactions de type π -stacking. De plus, les signaux s'élargissent au fur et à mesure que la température est augmentée ou que l'eau est ajoutée, traduisant également ces interactions.

De la même manière, l'influence du motif triazole a été mise en évidence. Des écarts de déplacement chimiques et un élargissement des pics ont été observés dans le même sens pour les hydrogènes se trouvant sur les triazoles (Figure 14A et 14B). Ils sont donc également impliqués dans l'organisation supramoléculaire des réseaux de GNLS *via* des interactions de

type π -stacking, comme cela avait été supposé auparavant. Les images de MET montrent dans ce cas la formation d'un réseau de fibres fines et très droites, avec un haut degré d'interconnexion (Figure 14C), alors qu'à la même concentration, un réseau beaucoup moins dense était obtenu avec le GNF (Figure 14D). De plus, des mesures de diffraction des rayons X à petits angles (SAXS) ont mis en évidence un motif périodique de 4nm de longueur, correspondant à la longueur de la molécule. Il s'agit donc d'un réseau très serré de nucléolipides.

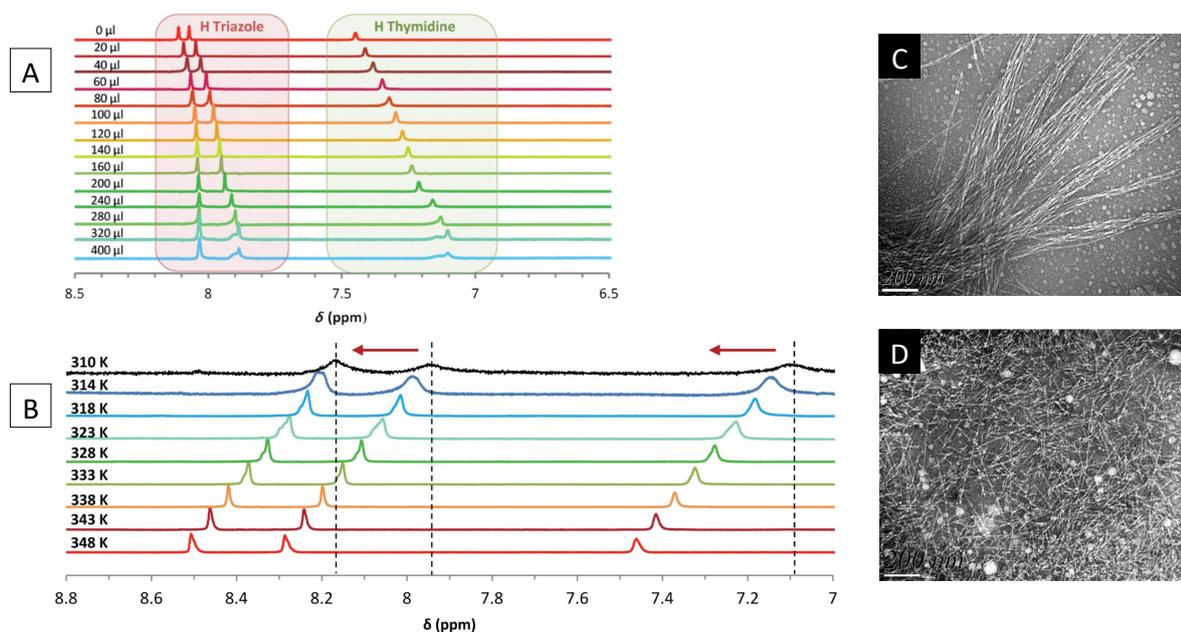


Figure 14 - Évolution du signal RMN ^1H en fonction de A- la quantité d'eau ajoutée (DMSO d_6); B- la température (D_2O); Observation en MET du réseau de fibres formé C- par le GNBA **36** et D- par le GNF **32**

Enfin, l'étude rhéologique de l'hydrogel issu du composé **36** montre d'une part une rigidité beaucoup plus importante que dans le cas des GNFs, avec une valeur de G' (à une fréquence angulaire de 1 rad/s) égale à 30 325 Pa contre 1749 Pa à la même concentration. Cette propriété s'est avérée bénéfique pour une application en ingénierie tissulaire. En effet, contrairement au GNF, ce GNBA a permis l'adhésion de cellules ASC isolées avec une population cellulaire maintenue au cours du temps. Cette propriété a été attribuée à la rigidité du matériau et à la densité du réseau de fibres formé ainsi qu'aux nombreuses connections entre les fibres, celles-ci permettant la bonne adhésion des cellules sur le gel. De plus, l'étude rhéologique a également mis en évidence la thixotropie du gel (figure 15). Son injection a donc été réalisée sur une souris et le gel formé a pu être récupéré 2h après l'injection. C'est une propriété extrêmement recherchée dans le domaine biomédical puisqu'elle permet d'envisager une application directe des biomatériaux de façon moins invasive que par chirurgie.

Il est intéressant de remarquer que le composé **38** conduit quant à lui à un gel très faible avec un module G' inférieur à 1000 (à une fréquence angulaire de 1 rad/s). Ce résultat

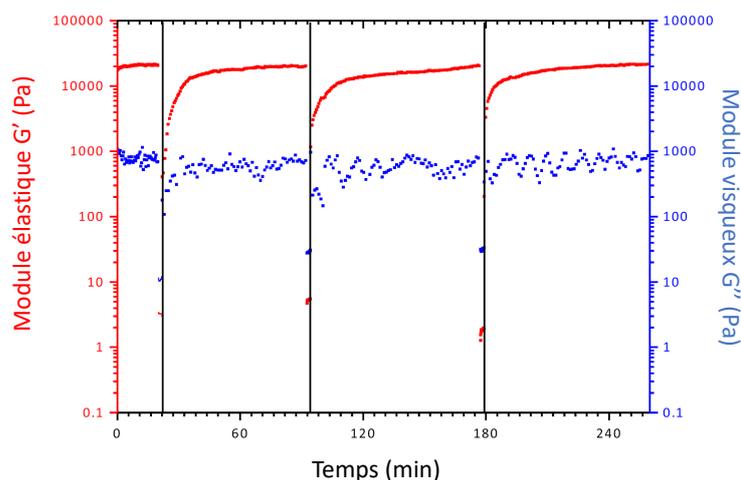


Figure 15 - Evolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction du temps pendant une séquence de déformation en trois phases : 1- déformation faible ; 2- déformation importante ; 3- déformation faible. Le cycle est répété trois fois

est probablement dû à la diminution du nombre d'interactions par π -stacking étant donné qu'il possède une nucléobase et un groupement triazole en moins. Ces interactions ont donc un effet très significatif sur les propriétés des GNLS. Nous pouvons supposer qu'apporter des variations à ce niveau pourrait permettre d'une part de développer des matériaux avec des propriétés améliorées, et d'autre part de mieux comprendre comment ces interactions participent à la formation des objets supramoléculaires pour savoir comment les améliorer. Encore une fois, apporter de la diversité structurale est une façon d'étudier son influence sur les propriétés physico-chimiques et éventuellement d'apporter des réponses aux questions que soulèvent ces systèmes organisés.

Suite à ces travaux, le GNBA **39** (Schéma 30) possédant des fonctions carbamate à la place des fonctions éther dans la chaîne lipidique a été synthétisé[18]. Une analogie avec l'étude des propriétés organogélatrices de nucléolipides évoquée précédemment peut être faite. De la même manière, ces fonctions apportent plus de possibilités de liaisons hydrogène pour favoriser la formation d'hydrogels. Un gel à une concentration de 1% masse/volume a également été obtenu, et l'étude de ses propriétés mécaniques par rhéologie a aussi démontré un comportement thixotrope. De plus, un module élastique de 50 kPa a été relevé, contre 30 kPa pour le composé précédent. Ce GNBA est donc très prometteur pour le développement de gels injectables.

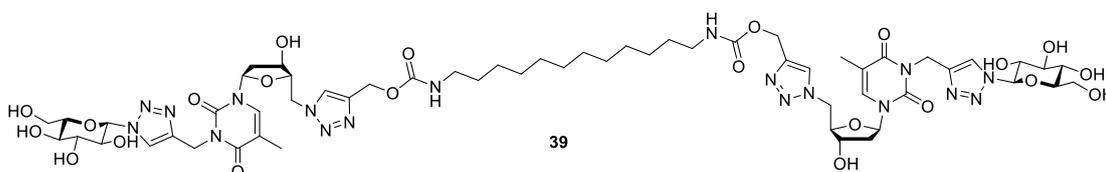


Schéma 30 - Structure du GNBA **38** avec des liens carbamates

Toutefois, il est intéressant de remarquer que ce gel ne se forme que partiellement à température ambiante, et qu'il a besoin d'être placé à 4°C pour se former. L'auto-organisation de ce système est donc plus difficile mais conduit à un matériau plus rigide. Cette même rigidité pourrait être considérée comme un motif qui rend le mouvement des molécules, et donc leur auto-assemblage, plus difficile une fois le gel partiellement formé. Cependant, la difficulté de gélification peut aussi être liée au type de réseau formé, ou encore à la solubilité de la molécule. En effet, nous avons vu dans l'étude des nucléolipides organogélificateurs (Chapitre 1-II.2) que la solubilité constitue un paramètre important du processus de gélification. Or, si les azotes des fonctions carbamate augmentent les possibilités de liaisons hydrogène, elles diminuent à priori l'hydrophobie de la chaîne lipidique, influant sur l'équilibre amphiphile de la molécule. Il est probable qu'en augmentant trop l'hydrosolubilité, les fonctions carbamate diminuent la probabilité de formation des fibres, responsables de l'obtention des gels, à température ambiante. La méthode consistant à ajouter des possibilités de liaisons hydrogène trouvera peut-être une limite en ce sens. C'est pourquoi il est tout à fait pertinent de diversifier les approches et d'optimiser tous les types d'interactions mises en jeu pour parvenir à des systèmes plus performants. Une autre approche consiste alors à développer de nouvelles réactions pour unir les différentes parties des nucléolipides.

Les hétérocycles aromatiques triazole introduits par réaction de Huisgen ont par exemple abouti au développement de familles originales de nucléolipides aux propriétés remarquables. En augmentant les interactions de type π -stacking, ces groupements ont permis la formation d'assemblages supramoléculaires nouveaux aux propriétés physico-chimiques et biologiques innovantes. Pourtant, peu de stratégies différentes sont utilisées en comparaison des possibilités offertes par la synthèse organique. Développer des conditions de réaction adaptées aux nucléolipides et menant à des liens originaux, et notamment aromatiques, devrait permettre d'influencer les différents types d'interaction possibles et mener sans doute à l'obtention de systèmes aux propriétés encore inexplorées. Cela devrait également fournir des informations cruciales pour la compréhension des mécanismes qui régissent l'organisation supramoléculaire des nucléolipides.

IV) Développement de stratégies bioinspirées

Dans ce contexte, les contraintes et les attentes modernes, au niveau académique ou industriel, concernant le développement de réactions respectueuses de l'environnement, efficaces et originales, conduisent de plus en plus à la conception de stratégies de synthèses inspirées par la nature. Il y a plusieurs décennies, Jacques Livage, Professeur au Collège de France se demandait déjà s'il était "possible d'imaginer une « chimie douce » qui s'intégrerait de façon plus harmonieuse dans les processus naturels?". Selon lui, "pour répondre à cette question, il suffit d'observer l'océan au sein duquel la vie est née il y a près de quatre milliards d'années. Il abrite des micro-organismes qui, depuis longtemps, ont appris à élaborer leurs

matériaux dans des conditions beaucoup plus douces que nous. Ces biomatériaux, synthétisés à température ambiante et à partir de sels dissous dans l'eau, présentent des performances souvent bien supérieures à celles de nos matériaux les plus modernes. La nature pourrait-elle devenir une source d'inspiration pour élaborer les matériaux du futur ? pour imaginer une « chimie douce » qui s'intégrerait de façon plus harmonieuse dans les processus naturels ?" [89]

"Il ne s'agit pas simplement d'une chimie « biomimétique » ayant pour objectif de synthétiser des biomatériaux existants tels que la nacre, l'os ou le corail. L'observation de la Nature peut aussi servir de source d'inspiration pour imaginer des matériaux qui n'existaient pas auparavant, tels que les hybrides organominéraux ou les nanocapsules." [90]

En effet, les systèmes biologiques sont une source diversifiée de structures et mécanismes originaux et optimisés. La synthèse organique est donc concernée au premier plan par cette approche qui consiste à mettre en valeur les réactions produites par la nature et les conditions dans lesquelles elles sont réalisées. Ce concept du « bio-inspiré » nous est apparu d'autant plus pertinent dans le cas des nucléolipides qui dérivent directement de molécules naturelles et s'organisent *via* des interactions inspirées par les systèmes biologiques.

D'après Clément Sanchez, professeur au Collège de France et directeur du Laboratoire Chimie de la matière condensée de Paris, une telle approche de "chimie dite « intégrative » bio-inspirée nourrit déjà une branche innovante de la science des matériaux, et ce domaine émergent et fortement multidisciplinaire ira très probablement bien au-delà d'une simple intégration et d'une simple somme, aussi bien au niveau des architectures accessibles que des propriétés et des applications résultantes. Le champ des applications à découvrir est encore vaste, voire infini, tant que la nature continuera à livrer ses secrets, tant que le chimiste aura de l'imagination et saura écouter la nature..."

Au fil des dernières décennies, la chimie dite bioinspirée est devenue une nouvelle façon de penser la chimie en complément de et comme l'a été la chimie verte. C'est en quelque sorte un retour à l'école de la Nature et qui a d'ores et déjà conduit à de très nombreuses applications notamment dans le domaine des matériaux[91][92].

IV.1) Définition et concept

« La nature, trésor inépuisable des couleurs et des sons, des formes et des rythmes, modèle inégalé de développement total et de variation perpétuelle, la nature est la suprême ressource ! » Olivier Messiaen.

La fleur de bardane pour le velcro, les chauves-souris pour les radars, « l'algorithme des fourmis » pour les systèmes de guidage des GPS, et même les oiseaux dans la musique d'Oli-

vier Messiaen sont autant d'exemples de systèmes biologiques qui ont inspiré des concepts et des productions parmi les plus innovants[93]. Une rapide recherche sur Scifinder montre le nombre croissant de publications mentionnant le terme « bioinspiré » (Figure 16), mettant en valeur l'intérêt grandissant pour cette approche. Au regard de ces données, l'utilisation de ce terme est relativement récente puisque ce n'est qu'à partir des années 2000 qu'une augmentation du nombre de publication est observée, augmentation devenue très importante ces dernières années.

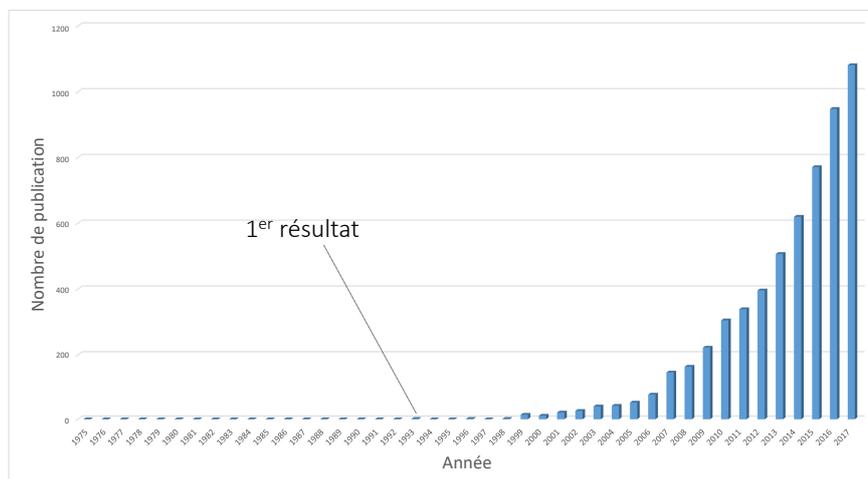


Figure 16 - *Nombre de publication mentionnant le qualificatif « bioinspiré » en fonction de l'année de publication*

En effet, des termes voisins ont été employés par le passé, notamment celui de « biomimétique » qui est aujourd'hui encore le plus représenté (3723 publications en 2017). Or, ces désignations différentes, même si elles sont souvent regroupées, ne signifient pas la même chose et expriment les variations apparues dans les concepts s'inspirant de la nature. Cette question a été notamment soulevée en 2011 par Valentine Ivanov Vullev dans le contexte de l'énergie solaire[94], repris ensuite par Krishnan Rajeshwar[95]. Le terme « biomimétique », introduit dans les années 70, suggère une imitation des systèmes biologiques. Cette approche joue un rôle crucial dans la recherche fondamentale et exploratoire, mais les applications technologiques qu'elle produit restent limitées. En effet, le mimétisme mène en général à des produits moins performants que ceux de la nature, celle-ci étant extrêmement complexe. Pour faire le pas des sciences fondamentales vers les sciences appliquées et de la recherche exploratoire vers le développement, une vision plus large s'avère nécessaire. Elle consiste à prendre exemple sur des mécanismes de la Nature pour en concevoir d'autres qui n'existent pas nécessairement dans le milieu naturel, et se rapporte plus à une « bioinspiration ». Le terme « bioinspiré », apparu seulement dans les années 90, fait donc référence à tout ce qui s'inspire des réalisations de la nature, sans pour autant l'imiter. Cette approche porte les propriétés et fonctionnalités des entités naturelles au-delà de ce que la Nature prodigue et donne plus de flexibilité lors de la conception d'applications. Elle se révèle de plus en plus prometteuse au cours des années, donnant lieu à de nombreuses réalisations inspirées par le vivant.

Or, tous les systèmes biologiques étant basés sur des molécules organiques, la chimie organique a toute sa place au premier plan de la conception de systèmes bio-inspirés. Le domaine des matériaux a par exemple été très influencé dans ce sens[96][92]. Beaucoup d'exemples ont notamment été développés à partir des acides nucléiques ou de leurs dérivés[9][97][10]. Les hydrogels de GNLs en sont une illustration. Comme cela a été exposé, ces composés sont capables de s'organiser en trois dimensions grâce à leur structure dérivée des nucléolipides pour former des biomatériaux d'intérêt pour le domaine biomédical. Toutefois, le besoin de nouvelles stratégies de synthèse permettant d'apporter de la diversité structurale est ressenti et, cette fois encore, une réponse bio-inspirée pourrait se révéler pertinente. De façon assez modeste, nous souhaitons synthétiser des molécules bioinspirées de type GNLs en utilisant une approche synthétique également bioinspirée.

En effet, la nature met en place des procédés efficaces, peu coûteux et, de façon évidente, respectueux d'elle-même pour synthétiser les composés qui vont ensuite participer aux mécanismes qu'elle met en place. Ils sont donc optimisés pour des biomolécules, et les schémas réactionnels dans lesquels ils sont employés ont inspiré de nombreuses stratégies qui sont alors qualifiées de « biomimétiques »[98]. Elles se basent sur les données biochimiques connues ou supposées concernant les biosynthèses de composés naturels pour reproduire ces schémas en laboratoire. La synthèse spontanée de molécules complexes a par exemple été réalisée avec cette approche[99]. L'intérêt de cette pratique se base sur le fait que les réactions utilisées par les milieux naturels sont souvent réalisées avec peu d'étapes, économie d'atome et utilisent des réactifs simples. Ces critères font notamment partie des principes énoncés dans le cadre du développement d'une chimie plus « verte » et leur développement reçoit aujourd'hui un intérêt grandissant. Poupon a par exemple largement participé au développement de ce domaine en réalisant la synthèse biomimétique de nombreuses molécules complexes naturelles[100][101][102] (Schéma 31).

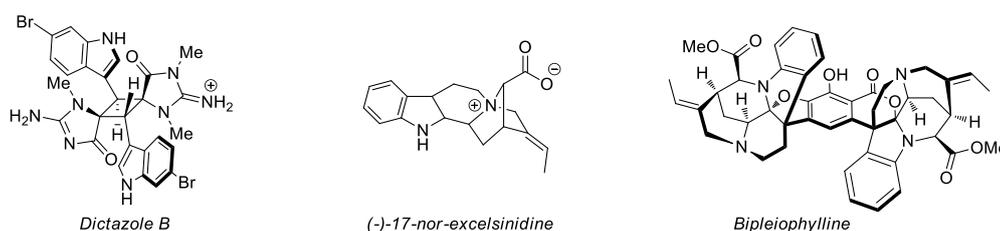


Schéma 31 - Molécules naturelles synthétisées via des stratégies biomimétiques par Poupon et al.

Toutefois, les stratégies biomimétiques concernent majoritairement la synthèse totale de produits naturels puisqu'elles consistent à reproduire des schémas réactionnels observés dans la nature. Il s'agit donc d'un outil d'intérêt pour les aspects fondamentaux de la synthèse qui ouvre des pistes pour le développement de stratégies de synthèse efficaces, mais le développement de synthèses destinées à des sciences appliquées nécessite des réactions moins spécifiques. L'adoption d'un point de vue plus large, bioinspiré, constitue alors l'étape

suivante de la mise en valeur des stratégies de synthèse naturelles. Une solution attrayante est alors la catalyse, la plupart des réactions biochimiques étant catalysées. La première publication mentionnant le terme « bioinspiré » dans son titre en 1993 (Figure 16) décrit d'ailleurs un mécanisme catalysé.

IV.2) Réactions organocatalysées bioinspirées

Parmi les types de réactions alors concernées, l'organocatalyse occupe une place importante[103][104]. En effet, de nombreuses biosynthèses en intègrent, et elles se sont révélées intéressantes car elles permettent d'instaurer un système catalytique sans imposer la présence de métaux. Une quantité moindre de déchets est donc produite, ceux-ci étant de plus de nature organique. Cependant, les réactions biochimiques produites en milieu physiologique font en général intervenir des composés complexes comme les enzymes, ainsi que de nombreux substrats. La biocatalyse, qui consiste à reproduire ces conditions, peut s'intégrer de façon utile dans des stratégies de synthèse, mais ces réactions sont en général très dépendantes des substrats employés et demandent des conditions réactionnelles parfois difficiles à mettre en place et pas toujours adaptées à la chimie organique. Des tentatives de conception « d'enzymes simplifiées » ont été réalisées mais ces systèmes se révèlent souvent peu efficaces en comparaison de l'effort nécessaire à leur mise en place[105]. Par exemple, des enzymes sont connues pour leur capacité à oxyder sélectivement les liaisons C-H aliphatiques mais les tentatives de conception de catalyseurs qui s'en sont inspirées, comprenant des « poches » sensées mimer les enzymes, se sont révélées moins efficaces et moins sélectives que certains petits catalyseurs organométalliques[106].

Plutôt que de reproduire ou mimer les conditions enzymatiques, il peut alors être intéressant d'identifier les mécanismes réactionnels et de développer des organocatalyseurs plus simples capables de les réaliser en conditions de laboratoire. Dans ce contexte, les acides nucléiques et leurs dérivés se sont révélés une source d'inspiration intéressante. L'ADN est ainsi exploité en catalyse asymétrique[107]. Certains exemples ont aussi été inspirés par le Nicotinamide Adénine Dinucléotide NAD(H) et sa forme phosphatée NADP(H), des cofacteurs impliqués dans pas moins de 488 réactions bioorganiques dans le corps humain[108]. L'originalité structurale de ces dinucléotides provient du fait qu'une des deux nucléobases soit un fragment pyridine (schéma 32). Ils agissent comme co-facteurs de différentes enzymes, et catalysent notamment des réactions rédox. Ce sont les métabolites les plus utilisés dans le corps humain.

Le motif dihydropyridine substitué par un groupement amide permet le transfert d'un hydrure. Ce mécanisme a été démontré lors de l'amination réductrice de l'acide α -cétoglutarique catalysée par la glutamate déhydrogénase. En effet, l'abstraction d'un hydrure permet la réaromatization du cycle pyridine et constitue la force motrice de cette réaction (schéma 32 (gauche)). Ainsi, en présence de NADH, l'enzyme réduit l'acide α -cétoglutarique en acide glutamique (schéma 32 (droite)).

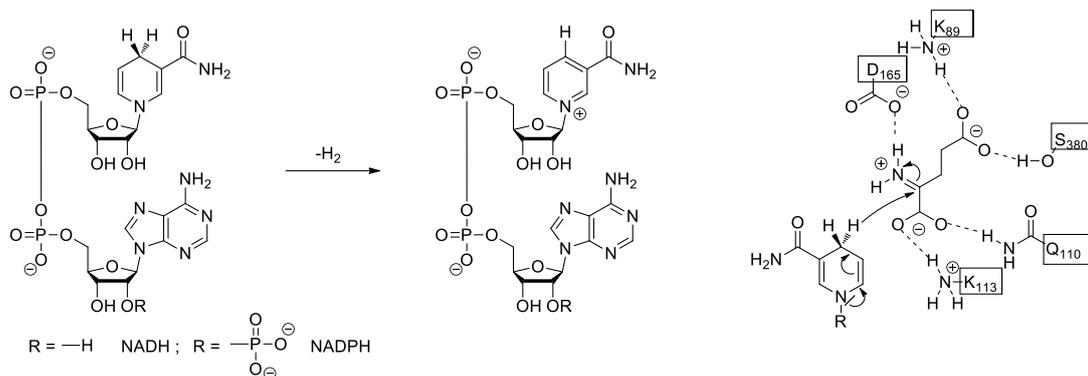


Schéma 32 - *Transfert d'hydrure par NADH/NADPH (gauche) et application à l'amination réductrice de l'acide α-cétoglutarique (droite)*

Cette approche a été utilisée pour réaliser des réductions en conditions douces par des dihydropyridines substituées en positions 1 et 4 par des esters. Ces analogues simplifiés de NADH ont été synthétisés pour la première fois par Arthur Hantzsch en 1882, ce qui leur valu le nom d'esters de Hantzsch. Ils ont été décrits pour la première fois en tant qu'agents réducteurs dès 1939 par Mumm et Diederichsen et ont depuis conduit au développement d'organocatalyseurs efficaces[103][109].

L'organocatalyse est donc une méthode élégante qui permet la réalisation de réactions efficaces dans des conditions douces. Elle répond également aux critères de la chimie « verte » et représente aujourd'hui une solution efficace et peu coûteuse pour la synthèse de molécule d'intérêt. Il est donc d'un intérêt majeur d'introduire des étapes organocatalysées dans les stratégies de synthèse employées. De plus, des organocatalyseurs bio-inspirés ont démontré leur efficacité, et leur utilisation semble d'autant plus pertinente lors de la synthèse d'analogues de biomolécules. En effet, ils opèrent dans la nature dans des conditions douces, sélectives, et étant conçus pour les milieux biologiques, leur réactivité est adaptée à celle des molécules naturelles. Leur utilisation serait donc tout à fait pertinente dans le cadre de la synthèse de nucléolipides.

IV.3) Synthèse bioinspirée de dicétones-1,4

Un autre exemple de réaction bio-inspirée organocatalysée est la réaction de Stetter[110][111]. Elle consiste en l'inversion de polarité d'un aldéhyde par addition catalytique d'un Carbène *N*-Hétérocyclique (NHC) suivi d'un transfert d'hydrogène. L'intermédiaire ainsi formé est appelé intermédiaire de Breslow et peut s'additionner en 1,4 sur des doubles liaisons activées. C'est notamment une méthode de choix pour l'obtention de dicétones-1,4 (Schéma 33). Ce mécanisme d'activation par un NHC intervient d'ailleurs dans plusieurs biosynthèses.

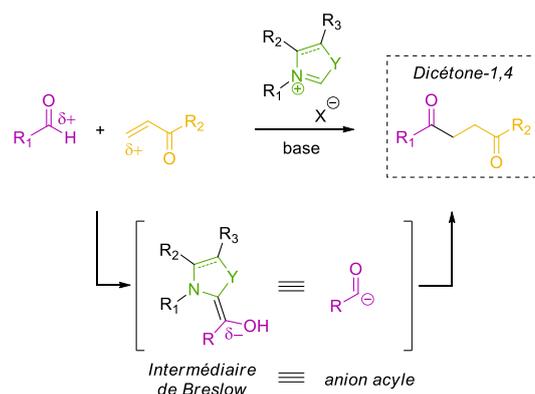


Schéma 33 - Synthèse de dicétone-1,4 par la réaction de Stetter

On peut citer la synthèse du 2-acétolactate par l'acétolactate synthase catalysée par la thiamine, un cofacteur de la vitamine B1, qui a été reportée dès 1954 par Mizuhara et Handler[112]. Plus tard, les différents intermédiaires de cette réaction biologique ont été mis en évidence par l'analyse des structures des complexes formés entre la thiamine et l'enzyme, validant le mécanisme proposé des années auparavant et impliquant un intermédiaire de Breslow[113] (Schéma 34).

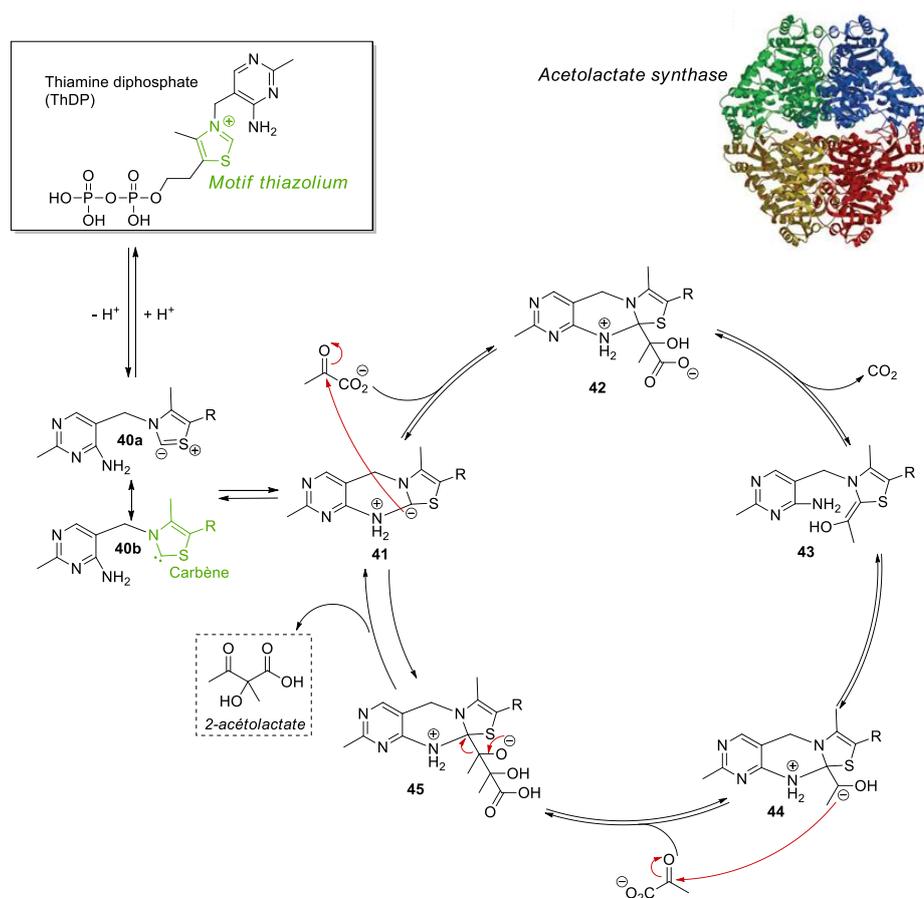


Schéma 34 - Biosynthèse du 2-acétolactate catalysée par la thiamine

Tout d'abord, c'est sous sa forme diphosphate qu'elle intervient. Ses deux cycles aromatiques, hydrophobes, se placent à proximité du résidu méthionine-422 de l'enzyme et

l'abstraction de l'hydrogène situé entre l'azote et le soufre du thiazole entraîne la formation du carbène **40b**. Celui-ci est en équilibre avec la forme tricyclique zwitterionique **41** du fait de la proximité de l'amine primaire. Le carbone chargé négativement peut alors s'additionner sur la cétone d'une molécule de pyruvate et former l'adduit **42**. Jusqu'ici, toutes les étapes sont des équilibres réversibles. La probabilité de formation des produits diminue donc au fur et à mesure que le réactif est consommé. Cependant, l'élimination de dioxyde de carbone produit favorablement l'énaminol **43**, assimilable à un intermédiaire de Breslow, de façon irréversible. Cette étape est donc la force motrice de la réaction. L'intermédiaire **43** est alors de nouveau en équilibre avec une forme tricyclique zwitterionique **44** et peut s'additionner sur une deuxième molécule de pyruvate afin d'obtenir l'adduit **45**. Enfin, l'élimination du catalyseur conduit à la formation du 2-acétolactate. Le mécanisme d'activation d'un carbonyle par un NHC *via* l'intermédiaire de Breslow est donc biomimétique. Il a plus tard inspiré la synthèse de dicétones-1,4 par Stetter[110].

Plus récemment, cette réaction a par ailleurs été rapportée comme intervenant dans des processus de biosynthèses. Par exemple, la famille d'enzyme de PigD, isolée de *Serratia marcescens*, produit la prodigiosine, un composé naturel potentiellement cytotoxique, en commençant très probablement par une réaction de Stetter[114]. De façon analogue à la synthèse du 2-acétolactate présentée précédemment, la thiamine diphosphate active une molécule de pyruvate en provoquant le départ de dioxyde de carbone et la formation de l'intermédiaire de Breslow. Cependant, ce dernier réagit cette fois sur le composé α - β insaturé **46** pour former le 3-acétyloctanal **47** (Schéma 35). Il est ici à noter que l'intermédiaire nucléophile réalise préférentiellement une addition 1,4 sur l'insaturation par rapport à une addition 1,2 sur l'aldéhyde. La famille des prodigiosines a ainsi attiré l'attention pour ses propriétés antibactériennes, antifongiques, antimalariales, antitrypanosomales, anticancéreuses et immunosuppressives, mais aussi en tant que colorant rouge pour le textile[115]. L'application de cette réaction à des substrats synthétiques a par la suite été réalisée dans des conditions se rapprochant du milieu physiologique. Une étude récente fait part de l'utilisation de réactions biocatalysées de type Stetter en présence de thiamine diphosphate et d'une enzyme nommée « stetterase » en référence à cette réaction[116].

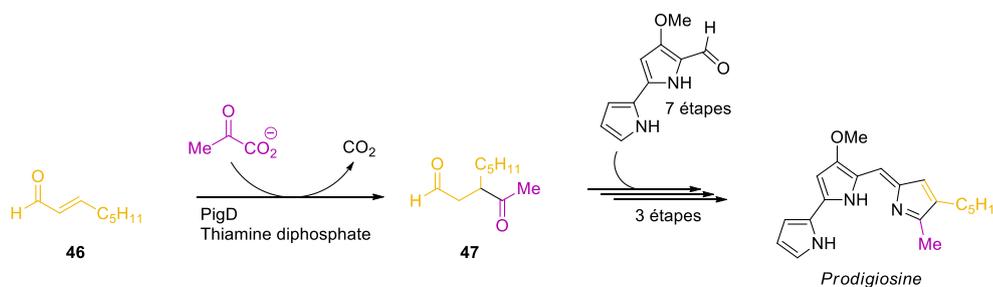


Schéma 35 - Biosynthèse de la Prodigiosine

La réaction de Stetter est donc une réaction organocatalysée permettant de façon élégante et efficace la formation d'une liaison C-C et représente aujourd'hui une méthode de choix

pour la synthèse de dicétones-1,4[111][117][118][119]. Elle a, par ailleurs, été très largement utilisée en synthèse totale et a fait l'objet de très nombreux développements, notamment en ce qui concerne les approches intramoléculaire et asymétrique. Ces études ont conduit à la conception et au développement de nombreux sels d'azolium, précurseurs de carbènes, de façon de plus en plus rationalisée. Cette réaction remarquable procède avec une économie d'atome totale et répond donc à plusieurs critères de la chimie « verte ». En effet, tous les carbones présents initialement dans l'aldéhyde et dans l'énone se retrouvent dans le produit final. Les seuls déchets produits sont donc les restes de catalyseur et de la base, tous deux organiques, et en quantité catalytique. Cet aspect lui confère, à notre avis, un intérêt supplémentaire pour une chimie bioorganique soucieuse du développement durable.

Chapitre 2

Synthèse bioinspirée de nucléolipides

Notre intérêt s'est porté sur l'introduction d'un motif original lors de la formation du lien entre le nucléoside-tide et le lipide. Au cours du chapitre précédent, nous avons déjà souligné le fait que les triazoles générés par la cycloaddition de Huisgen lors de la synthèse de GNLs participent aux interactions supramoléculaires produites lors de l'auto-assemblage de ces derniers par π -stacking. Toutefois, à notre connaissance, il s'agit du seul exemple de nucléolipide précurseur de gel dont le lien est un cycle aromatique. Etant donné son rôle important lors du processus de gélation, des informations concernant l'influence d'un groupe aromatique permettraient sans doute de mieux comprendre l'impact du π -stacking sur le mécanisme de formation des gels. Dans ce but, une stratégie de synthèse a été élaborée afin d'obtenir des nucléolipides incorporant un autre type d'hétérocycle aromatique. Pour atteindre une diversité structurale importante à partir d'une même approche synthétique, notre stratégie s'est orientée vers la formation d'un lien de type dicétone-1,4. En effet, cette fonction est précurseur de différents cycles aromatiques, parmi lesquels des furanes, des pyrroles et des thiophènes, par des réactions simples comme celle de type Paal-Knorr pour les pyrroles^{[120][121][122][123][124]} (Schéma 36). Il est donc envisageable de synthétiser plusieurs nouvelles familles de nucléolipides à partir d'un seul intermédiaire.

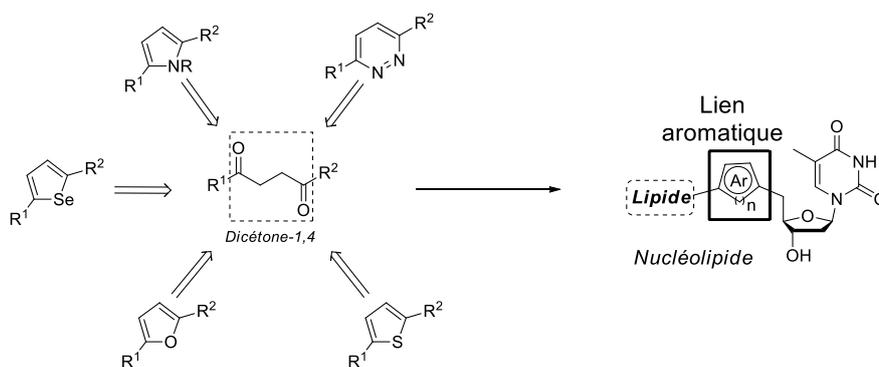


Schéma 36 - Stratégie de synthèse de liens hétéroaromatiques

I) Stratégies de synthèse de dicétones-1,4

I.1) Méthodes d'accès aux dicétones-1,4

La synthèse convergente de dicétones-1,4 n'est pas triviale puisqu'une déconnexion entre les deux carbonyles entraîne une dissonance de polarité. En effet, l'alternance des charges partielles imposées par les hétéroatomes, ici les oxygènes, sur les carbones, décrite par Seebach[125], implique une incohérence pour les composés de type 1,4. Une déconnexion symétrique ou asymétrique correspond alors à une réaction entre deux carbones nucléophiles ou électrophiles respectivement, ce qui n'est pas possible par une méthode directe (Schéma 37).

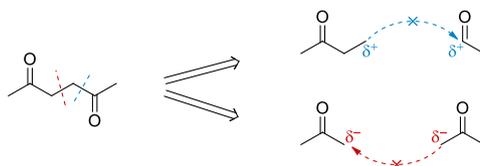


Schéma 37 - Dissonance de polarité dans les dicétones-1,4

Plusieurs stratégies de synthèse sont alors envisageables pour parvenir aux dicétones-1,4, dont les principales sont exposées Schéma 38[126][127][128]. Tout d'abord, l'homologation d'un carbone peut être réalisée sur une dicétone-1,3 en présence de carbénoïdes de zinc. Cependant, cette méthode ne permettant pas l'accès à des composés substitués, d'autres méthodes ont été développées. L'addition de nucléophiles sur une α -halocétone[129][130] ou des couplages oxydants[131] ont notamment été décrits. Il est aussi possible de procéder par inversion de polarité d'un des synthons. Ces réactions impliquant l'inversion de la réactivité donneur/accepteur d'un atome sont dites de type Umpolung. Ce concept a été introduit par Seebach[132][133] et Corey en 1975 avec l'utilisation de dithianes et s'est ensuite illustré par plusieurs méthodes dont l'utilisation NHCs[134][135].

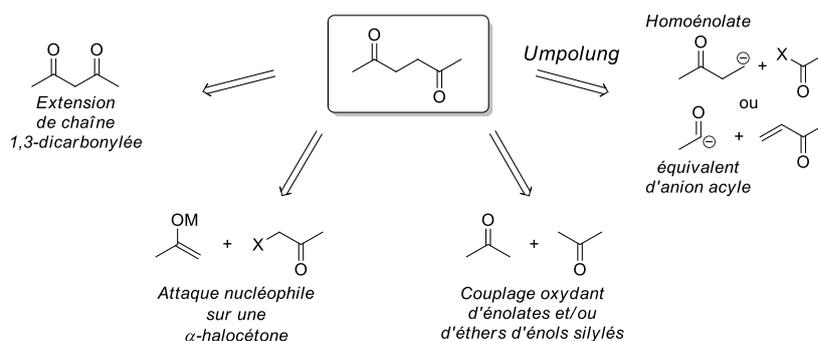


Schéma 38 - Principales stratégies de synthèse de dicétones-1,4

Les hétérocycles aromatiques étant présents dans de nombreuses structures d'intérêt, les dicétones-1,4 apparaissent fréquemment dans des voies de synthèse et représentent un intermédiaire de choix. Des efforts ont donc récemment été réalisés pour proposer des conditions de synthèse originales, mais aussi plus respectueuses de l'environnement. Répondre à ces critères tout en conservant une bonne réactivité et une diversité structurale est un défi de taille, mais des progrès sont réalisés dans ce sens. Une méthode par photo-activation a par exemple été décrite par l'équipe de Xiao *et al.*. Ainsi, des cétones α -sulfonylées peuvent produire des radicaux sous l'action de la lumière visible qui en se recombinant avec une autre cétone α -sulfonylée en milieu basique forment une dicétone-1,4[136] (Schéma 39). L'utilisation de radicaux permet donc de pallier au problème de dissonance de polarité. La réaction est alors réalisée à température ambiante, et avec une quantité catalytique d'espèce réductrice, celle-ci étant régénérée par la triéthylamine au cours de la réaction. C'est donc une méthode alternative qui permet d'obtenir de bons rendements en réalisant une synthèse convergente, sans chauffage et catalysée. Cependant, l'étude n'est réalisée que sur des composés aromatiques, ce qui réduit le champ d'application et la diversité structurale. De plus, la réaction produit des déchets soufrés et aminés en quantité stœchiométrique, ainsi que des produits secondaires liés à la recombinaison des radicaux. Le traitement et la purification des réactions sont donc complexes et limitent l'éventuelle utilisation de cette méthode à plus grande échelle. Enfin, la présence de radicaux peut représenter un facteur limitant pour l'adaptation à des molécules plus complexes comme les nucléosides ou nucléotides et les biomolécules en général, possédant de nombreuses fonctions et pouvant se révéler sensibles à ces conditions. Dans un contexte de conjugaison de biomolécules, des conditions plus douces sont sans doute préférables.

Dans le but de développer des conditions plus douces et éco-compatibles, un exemple paru dans *Green Chemistry* décrit l'obtention de dicétones-1,4 dans l'eau et sans catalyseur, par une réaction à trois composants entre un alkylglyoxal, une dicétone-1,3 et un nucléophile[137]. Une dicétone acétylée en position 2 est ainsi obtenue (Schéma 40). Une désacétylation est ensuite possible en milieu basique, tout comme la formation de cycles hétéroaromatiques comme des furanes ou des pyrroles. De plus, la formation de pyrroles a également été réalisée dans l'eau et sans catalyseur. Enfin, le fait que peu de déchets soient

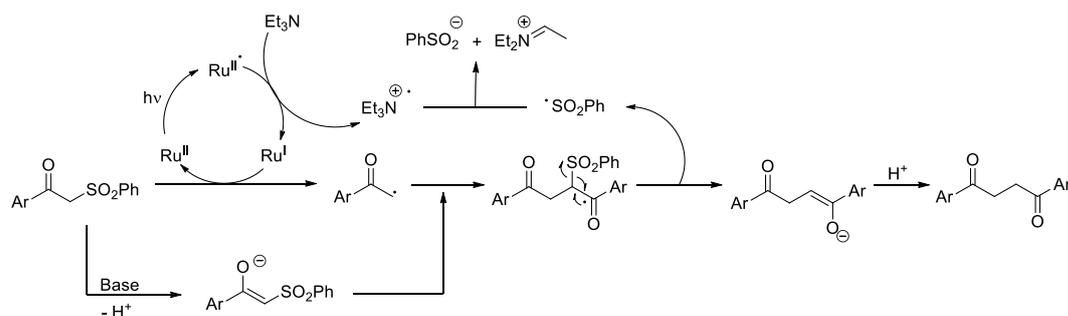


Schéma 39 - Synthèse photoactivée de dicétones 1,4

produits représente également un avantage indéniable de cette méthode qui procède avec une assez bonne économie d'atome. Cependant, la présence du nucléophile en α d'un des carbonyles de la structure finale est inévitable, ce qui empêche la généralisation de cette méthode à des produits non-substitués. De plus, aucun exemple d'alkylglyoxal et de dicétone-1,3 substitués avec des groupements plus encombrants n'est proposé. L'efficacité de cette réaction sur des substrats plus variés à ce niveau reste donc à démontrer si elle devait être appliquée à la conjugaison de molécules naturelles. Une variété importante est toutefois amenée au niveau du nucléophile est montre la polyvalence de cette réaction, même si des rendements moyens sont parfois obtenus. Il s'agit donc d'une piste intéressante mais qui demanderait des études plus poussées avant d'être adaptée à des molécules plus complexes. Dans le cas de la présence de nucléobases, on peut notamment supposer que la présence d'azotes nucléophiles pourrait être la source de réactions secondaires.

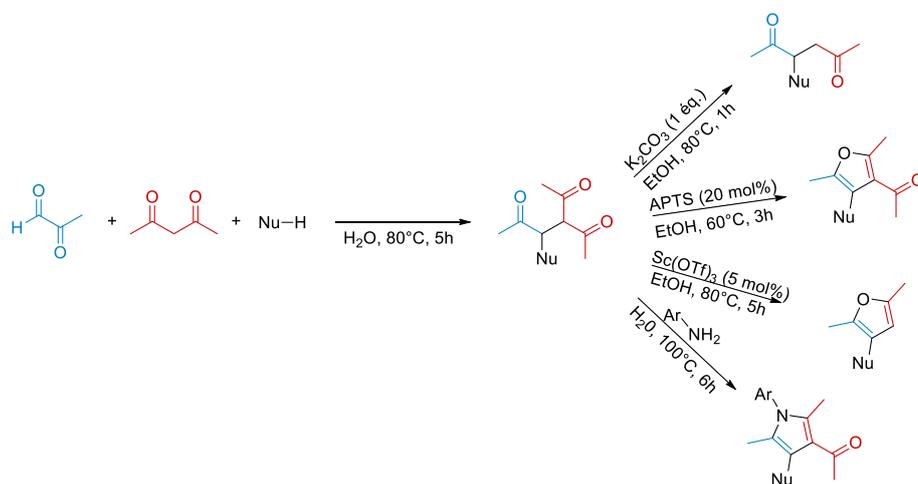


Schéma 40 - Synthèse multicomposants de dicétones-1,4 en milieu aqueux

I.2) La réaction de Stetter

Parmi les réactions les plus utilisées pour la synthèse de dicétones-1,4, une méthode de choix est la réaction de Stetter. Elle permet d'obtenir un intermédiaire de type dicétone-1,4 à partir d'un aldéhyde et d'un dérivé carbonyle α - β insaturé, avec de bons rendements (Schéma 41). Elle est parmi les méthodes les plus utilisées et a été largement exploitée lors d'étapes clés de synthèses totales[138][139][140][141]. Elle semble donc tout à fait adaptée à une utilisation sur des dérivés de types biomolécules.

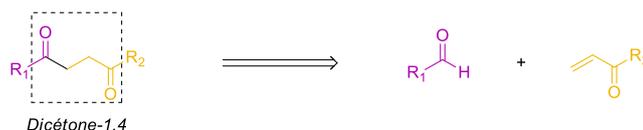


Schéma 41 - Réaction de Stetter

Le mécanisme unanimement accepté[119][117][118] a été inspiré par celui de la condensation benzoïne initialement décrit en 1832 par Liebig et Wöhler[142] (Schéma 42A). Dans un premier temps, un ion cyanure a été décrit comme catalyseur, initiant le cycle catalytique en formant le produit d'addition sur le benzaldéhyde dont la charge négative est stabilisée grâce à la présence du groupement nitrile en α . L'espèce obtenue est alors un équivalent d'anion acyle. La réactivité de ce carbone a donc été inversée et il peut réaliser une réaction d'addition sur une autre molécule de benzaldéhyde, suivie d'un transfert d'hydrogène 1,4 et de l'élimination du groupement nitrile. Une α -hydroxycétone est finalement obtenue et l'ion cyanure est régénéré.

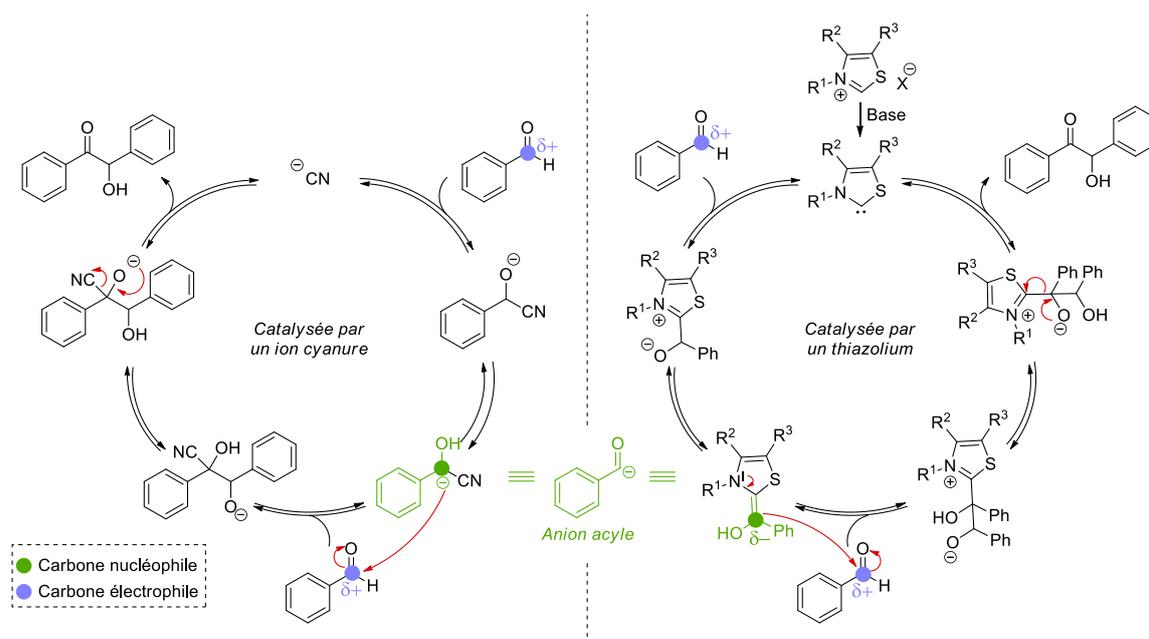


Schéma 42 - Mécanisme de la condensation benzoïne A- catalysée par un anion cyanure B- catalysée par un carbène issu d'un thiazolium

Il s'agit donc d'une réaction organocatalysée procédant par inversion de polarité. Un couplage symétrique est réalisé dans cet exemple, mais il est possible, dans certaines conditions, de réaliser des couplages croisés entre deux aldéhydes différents[143].

Plus tard, la possibilité de réaliser cette réaction par l'action d'un sel de thiazolium a été mise en évidence[144]. Breslow a ensuite proposé un mécanisme impliquant la formation d'un NHC généré *in situ* qui va attaquer le carbone électrophile de l'aldéhyde[145] (Schéma 42B). Un transfert d'hydrogène 1,2 conduit à la formation d'un énaminol, nommé plus tard intermédiaire de Breslow. Le carbone de la fonction aldéhyde initiale a alors une réactivité inversée et devient nucléophile. Il peut à ce moment-là réagir sur un autre équivalent d'aldéhyde électrophile. Le produit ainsi formé va alors subir un transfert hydrogène 1,4 puis régénérer le carbène pour donner l' α -hydroxycétone attendue. C'est notamment grâce à l'élucidation du mécanisme d'action de la thiamine cité précédemment (Chapitre 1 IV-3) que ce mécanisme a été proposé[112].

Le mécanisme d'activation d'un carbonyle par un NHC *via* l'intermédiaire de Breslow est donc dès lors biomimétique. La réaction de Stetter, issue de l'addition sur des accepteurs de Michael l'est donc par extension[146]. Dans notre cas, nous nous intéresserons plus particulièrement à la réaction entre un aldéhyde et une cétone α - β insaturée qui permet l'accès à des composés 1,4-dicarbonylés. Ainsi, une fois l'intermédiaire de Breslow formé, celui-ci est engagé dans une addition 1-4 sur le carbone électrophile d'une énone qui, après transfert d'hydrogène 1,4 et restitution du catalyseur, conduit au composé dicarbonylé (Schéma 43). Cette méthode est désormais incontournable et a été l'objet de nombreux développements[117][111][119][118][134], notamment dans des versions intramoléculaires[147][140] et/ou stéréosélectives[148][149][150][151] de la réaction.

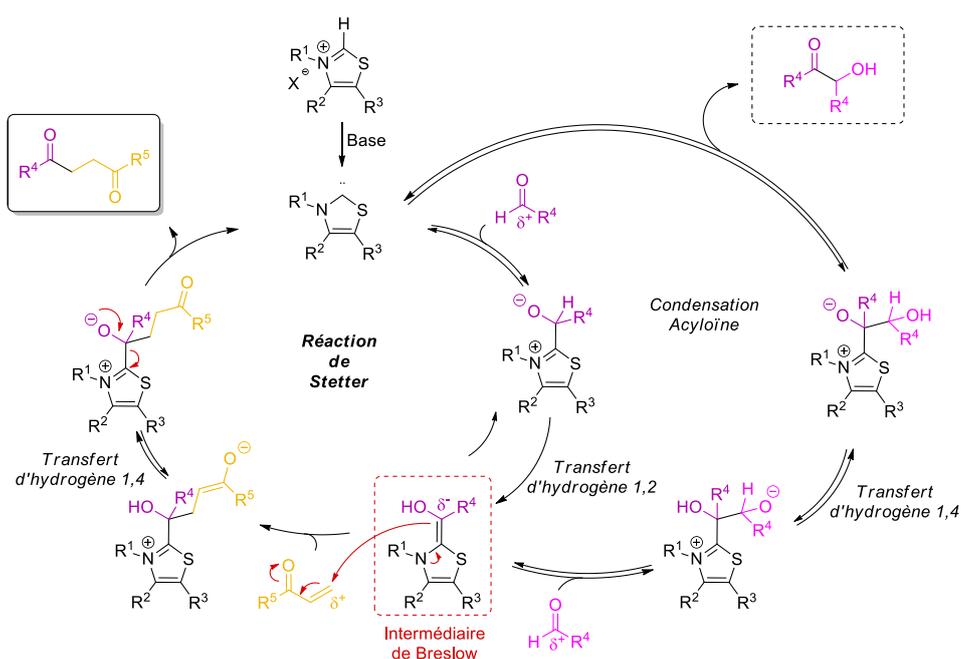


Schéma 43 - Mécanismes de la réaction de Stetter et de la condensation acyloïne

Cette réaction présente cependant une limitation résultant de la compétitivité de l'aldéhyde présent dans le milieu vis-à-vis de l'énone qui est un moins bon électrophile. L'intermédiaire de Breslow peut réaliser une addition 1,2 sur un autre équivalent d'aldéhyde et ainsi produire une réaction secondaire de condensation acyloïne (Schéma 43), de façon analogue à la condensation benzoïne décrite plus tôt. Toutefois, la condensation acyloïne est une réaction équilibrée alors que l'addition-1,4 est irréversible, ce qui déplace finalement l'équilibre en faveur de la production de dicétones-1,4. Une optimisation des conditions de réaction, et notamment de la structure du catalyseur, est en général nécessaire afin d'obtenir des rendements élevés. En effet, la composition des sels d'azolium utilisés aura un impact direct sur la réactivité et la stabilité du carbène initiant le cycle catalytique ainsi que de l'intermédiaire de Breslow.

I.3) Réactivité des NHC

Les premiers sels d'azolium décrits par Stetter en 1976 ont été des sels de thiazolium[110] (Figure 44), mimant la structure de la thiamine. Depuis, l'utilisation d'imidazoles et de triazoles a été très largement reportée[118] et très récemment, un exemple de sel d'oxazolium a été décrit par Gravel[135]. Ces sels sont des précurseurs qui génèrent l'espèce catalytique active carbène en présence de base (Schéma 43).

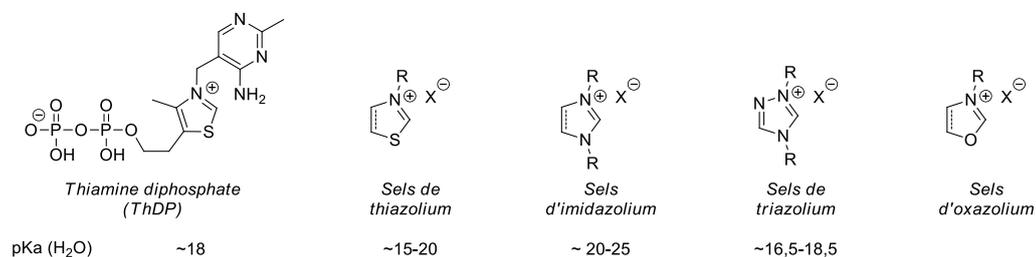
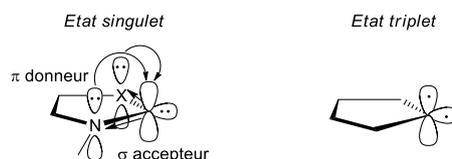


Schéma 44 - Différents sels d'azolium utilisés en catalyse et leur pK_a dans l'eau [152][153][153][154][155]

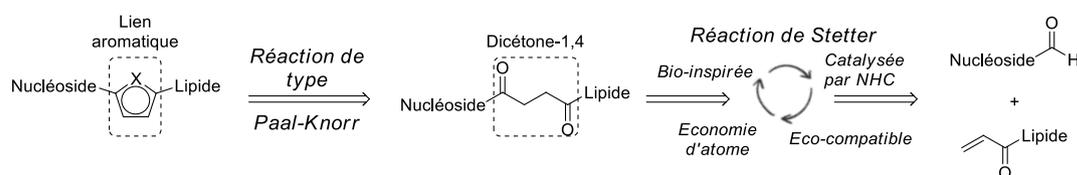
Les carbènes sont définis comme des composés neutres comprenant un carbone divalent porteur de deux électrons non-liants qui sont à l'état singulet (appariés) ou triplet (non appariés) en fonction de la structure du catalyseur. La présence d'hétéroatomes à proximité des électrons non-liants favorise l'état singulet par effet σ -attracteur et π -donneur dans les NHCs et leur confère un caractère nucléophile et stable, les démarquant ainsi de la plupart des autres carbènes (Schéma 45).

Ce caractère nucléophile rend ces espèces très réactives[156] et peut être modulé en fonction des substituants placés autour de l'hétérocycle. En revanche, les NHC sont connus pour être sensibles à la présence d'humidité et nécessitent en général des conditions réactionnelles très contrôlées[157]. Dans ce cas, ils permettent d'activer efficacement les aldéhydes pour procéder à la réaction de Stetter.

Schéma 45 - *Stabilisation des NHC à l'état singulet*

I.4) Choix de la stratégie de synthèse

La réaction de Stetter, met en jeu un organocatalyseur, procède avec une bonne économie d'atomes, et un mécanisme analogue à celui de la thiamine et est efficace sur de nombreux substrats. Ces caractéristiques en font une réaction bioinspirée pertinente pour la synthèse de dicétones-1,4 dérivées de nucléosides. Le motif dicarbonylé obtenu constitue un précurseur pour divers cycles aromatiques comme des pyrroles, des furanes ou des thiophènes. Des nucléolipides possédant de tels lien seraient alors analogues à ceux étant unis par un triazole et l'étude comparative de leurs propriétés de gélation fournira des renseignements sur l'implication de lien aromatique dans l'organisation supramoléculaire des nucléolipides. Une stratégie en deux étapes a donc été élaborée pour coupler un nucléoside et un lipide (Schéma 46).

Schéma 46 - *Stratégie de synthèse de nucléolipides envisagée*

Aucune utilisation de cette réaction n'a été reportée pour la synthèse de nucléolipides. Nous avons alors réalisé une étude modèle pour le couplage entre la thymidine et différents types de lipides. Dans le but de favoriser une synthèse convergente, nous avons tout d'abord choisi d'introduire la fonction aldéhyde sur le nucléoside et la fonction énone sur le lipide. Une stratégie prenant en compte les problématiques liées à la présence des différentes fonctions réactives de la thymidine a alors été conçue. De plus, la volonté de favoriser l'accès à une importante diversité structurale a été un élément clé lors du choix des méthodes mises en place pour la fonctionnalisation des composés de départ, en particulier en ce qui concerne l'introduction de fonctions aldéhydes sur le nucléoside.

II) Accès au partenaire nucléoside aldéhyde

II.1) Par oxydation de la position 5' de la thymidine

La méthode la plus directe pour y parvenir est l'oxydation de l'alcool en position 5'. Il a notamment été reporté que, lors d'une étude visant à optimiser les conditions de réaction de type Dess-Martin, l'oxydation de la position 5' de l'uridine, préalablement protégée en position 2' et 3', a conduit à la formation d'un aldéhyde[158] (Schéma 47). Une épimérisation pouvait alors être attendue au niveau du carbone 4', l'hydrogène qu'il porte acquérant par conséquent un caractère acide. Or celle-ci n'est pas observée dans les conditions décrites et le produit final a été obtenu avec un rendement de 90%.

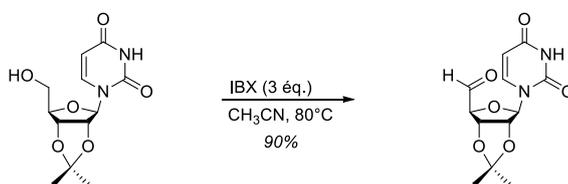


Schéma 47 - Oxydation de la position 5' de l'uridine

Cette méthode a également été décrite plus tard sur la thymidine lors de la synthèse d'oligonucléotides, dans le but d'introduire un carbone supplémentaire sur la position 5' puis d'y placer un alcyne[159] (Schéma 48).

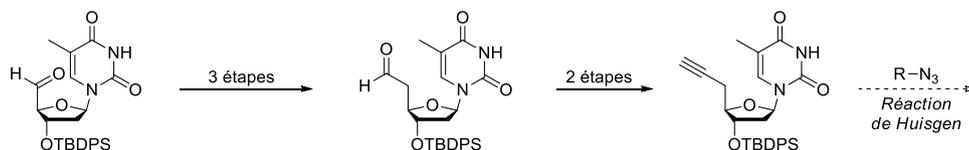


Schéma 48 - Synthèse d'un alcyne via oxydation de la position 5'

L'oxydation de la position 5' permet donc de placer une fonction réactive à cette position et a été utilisée pour mettre en place des stratégies originales pour la synthèse de nucléosides modifiés. Toutefois, l'utilisation de cette fonction pour la synthèse de nucléolipides synthétiques n'est pas recensée. C'est d'autant plus étonnant qu'elle amène de nombreuses possibilités de fonctionnalisation, les aldéhydes étant en effet impliqués dans de nombreuses réactions en chimie organique[160]. De plus, ils sont recensés comme précurseurs directs pour le cross-linking de biomolécules pour la formation de liens de type oxime ou acyle-hydrazone entre protéines, ou encore d'hétérocycles par des réactions de type Pictet-Spangler et Knoevenagel[161]. Un intermédiaire aldéhydique similaire intervient aussi lors de la biosynthèse de certains nucléolipides naturels comme les caprazamycines[162][163]. Finalement, même si cette fonction n'est pas décrite dans le cadre de la synthèse de nucléolipides, elle l'est dans le contexte des biomolécules et son utilisation a été démontrée avec succès.

L'approche par oxydation ne permettant de fonctionnaliser que la position 5', le couplage sur d'autres positions, notamment l'alcool en position 3' et l'azote N-3, a été envisagé car nous souhaitons obtenir une diversité structurale maximale. De plus, la position 5' oxydée, le carbone en 4' devient épimérisable, en conditions acides ou basiques (Schéma 49) et ce phénomène a été observé lors d'études antérieures au laboratoire. Une autre stratégie a donc été déployée pour pallier ces problématiques.

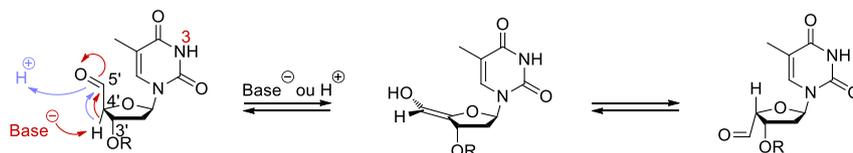


Schéma 49 - *Epimérisation de la position 4' de la thymidine*

II.2) Coupure oxydante d'alcènes

Une méthode classique de synthèse d'aldéhydes est la coupure oxydante d'une double liaison[164]. Une stratégie utilisant une séquence allylation/oxydation a donc été adoptée (Schéma 50). La possibilité d'allyler les positions 5', 3' et N-3 de la thymidine confère à cette stratégie l'avantage d'accéder à une diversité structurale en utilisant le même schéma réactionnel sur toutes les positions. De plus, cette approche place la fonction aldéhyde plus loin du cycle désoxyribose du nucléoside, réduisant ainsi l'encombrement stérique qui pourrait gêner la réaction de Stetter.

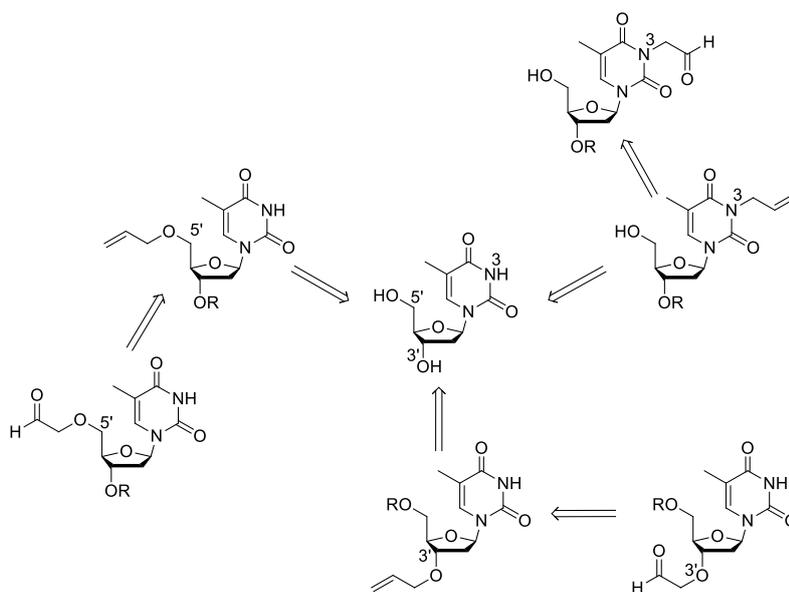


Schéma 50 - *Stratégie d'introduction des fonctions aldéhyde en position 3', 5' et N-3*

II.2.1) Synthèse divergente d'alcènes

Les trois positions réactives de la thymidine ne sont pas aisément fonctionnalisables de façon sélective.

Une méthode d'alkylation dite sélective de la position 5' de la thymidine décrite par Zerrouki *et al.* en 2004 a d'abord été considérée[165] (Schéma 51A). Les auteurs ont rapporté l'obtention du composé **48** sous activation par ultrasons ou par micro-ondes dans le DMF. L'allylation des positions 3' et N-3 n'est alors pas observée.

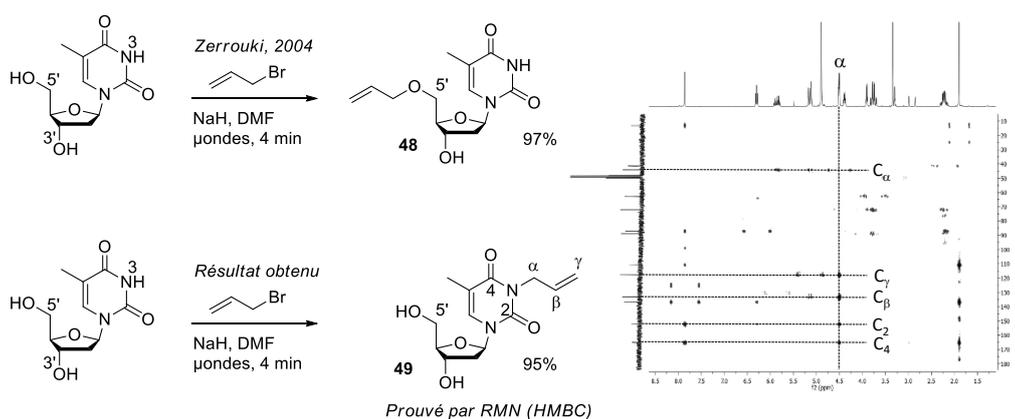


Schéma 51 - Allylation sous activation par micro-ondes et spectre HMBC du produit **49**

Lorsque cette méthode a été appliquée au laboratoire sur le même substrat la formation d'un seul composé a bien été observée, mais l'analyse de celui-ci par RMN (^{13}C , HMBC) montre clairement qu'il s'agit du composé **49** allylé en position N-3 (Schéma 51B). En effet, un déplacement chimique de 43 ppm environ est observé pour le carbone α , ce qui est incompatible avec une position en α d'un oxygène. De plus, une corrélation a été observée sur le spectre HMBC entre le signal de l'hydrogène en position α et les carbones C^2 et C^4 de la nucléobase. Les mêmes auteurs décrivent dans une autre étude en 2008 et, sans revenir sur la publication de 2004, que l'utilisation du DMF conduit à l'allylation sélective de la position N-3 par rapport à la position 3' sur la 5'-OTBDMS-thymidine[166], ce qui est cohérent avec nos observations.

Toutefois, dans cette deuxième publication, les auteurs rapportent l'allylation en position 3', toujours grâce à une activation par ultrasons ou par micro-ondes, en utilisant le THF comme solvant (Schéma 52A). Le rôle de la constante diélectrique du solvant est alors mis en avant pour justifier le résultat de la réaction. Nous avons alors réadapté ces conditions pour développer un protocole d'allylation sélective des différentes positions OH 3', 5' et N-3 de la thymidine. Tout d'abord, un essai d'allylation des alcools n'a montré aucune régiosélectivité entre les deux hydroxyles sur le nucléoside **51** protégé en position N-3 (Schéma 52B). L'analyse par RMN ^1H a indiqué l'obtention d'un mélange 50/50 des produits **52** et **53**. La protection des alcools a été nécessaire pour obtenir une sélectivité entre eux.

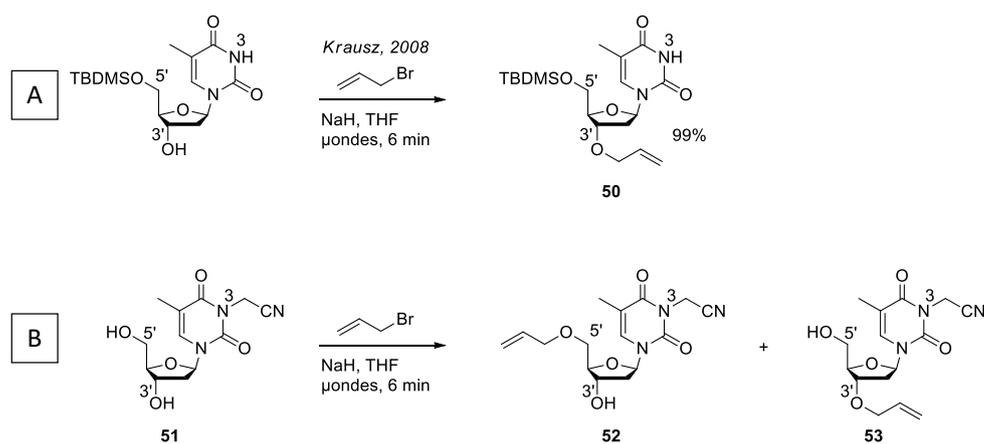
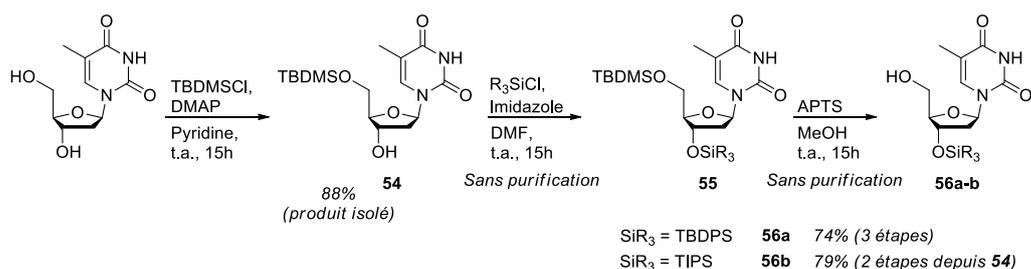


Schéma 52 - Alkylation des alcools de la thymidine sous activation par micro-ondes

Une protection sélective classique des deux différents alcools différents sous forme d'éthers silylés a ensuite été utilisée. La disponibilité et la réactivité de l'alcool en position 5', primaire, sont meilleures que celles de l'alcool secondaire en position 3'. Ainsi, dans la pyridine, le groupement TBDMS peut être introduit sélectivement en position 5' en présence d'une quantité catalytique de DMAP pour obtenir le produit **54** (Schéma 53). Ensuite, l'introduction d'un groupement TDBPS, orthogonal au premier, a conduit au produit **55**[167] (Schéma 53). La liaison O-TBDMS a ensuite été clivée sélectivement en présence d'une quantité catalytique d'acide para-toluènesulfonique dans le méthanol pour conduire au composé **56a**. Les thymidines protégées **54** et **56a** ont ainsi été obtenues avec des rendements respectifs de 88% et 74%. Le dérivé **56b** portant un groupement triisopropylsilyl (TIPS) en position 3' a également été obtenu avec un rendement de 79%.


 Schéma 53 - Synthèse des composés **54** et **56a-b**

Une fois ces produits en main, des allylations sur l'azote ou la fonction hydroxyle restée libre ont pu être réalisées dans les conditions décrites par Zerrouki. D'une part, le produit **57** déjà décrit a pu être obtenu à partir de **54**, et l'application des mêmes conditions réactionnelles à **56a** a également conduit à l'obtention du produit allylé **58** (Schéma 54). Toutefois, des rendements bien inférieurs à ceux décrits par Zerrouki ont été obtenus. Après optimisation des conditions de réaction, un temps d'activation d'une heure, bien plus important que celui de 6 minutes rapporté par Zerrouki, a permis d'obtenir le meilleur rendement dans notre cas.

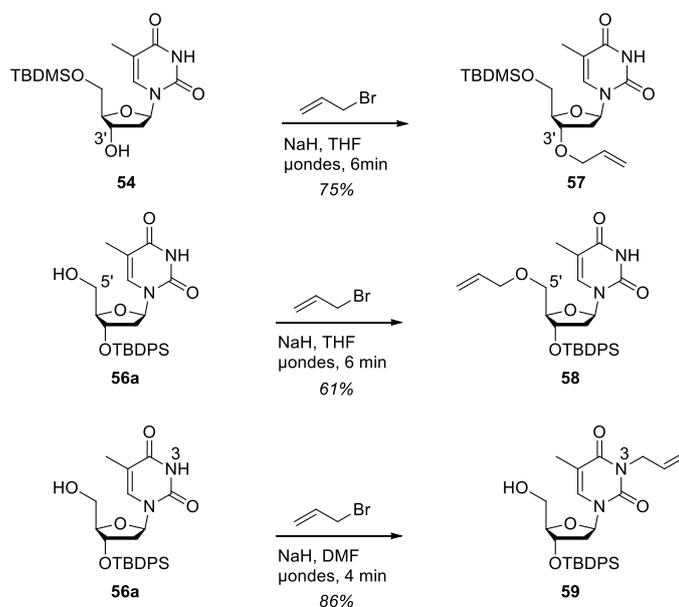
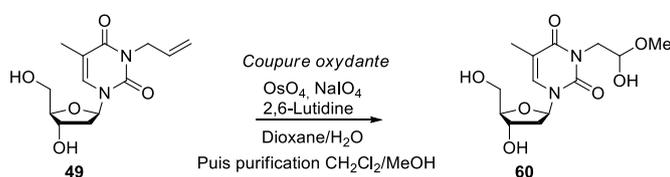


Schéma 54 - Alkylation des positions 3', 5' et N-3

La protection des alcools s'est également avérée utile pour la synthèse du composé allylé en position N-3. En effet, l'oxydation du produit N-allylé **49** de la thymidine non protégée en 3' et 5' a été précédemment étudiée au laboratoire et a conduit à la formation de la forme hémiacétal **60** de l'aldéhyde souhaité, alors très polaire et difficile à isoler (Schéma 55). Le produit N-allylé **59** (Schéma 54), a quant à lui permis l'obtention de l'aldéhyde final sans que cette réaction secondaire ne soit observée.

Schéma 55 - Obtention de l'hémiacétal **60**

Finalement, l'adaptation des conditions réactionnelles décrites par Zerrouki *et al.* a abouti à l'obtention des produits allylés sur les trois positions souhaitées avec une seule et même méthode. Cependant, des rendements bien plus faibles que ceux rapportés ont été obtenus et la formation de produits secondaires a été observée.

II.2.2) Migration de groupement protecteur : une réactivité inattendue

Les produits secondaires formés au cours de la réaction ont été analysés. Des résultats surprenants, qui ne sont pas décrits dans l'étude de Zerrouki, ont été révélés. Tout d'abord, la présence de produits bisallylés **61** et **62** est logiquement observée (Schéma 56). Ils proviennent de l'excès de bromure d'allyle utilisé et représentent les produits secondaires principaux.

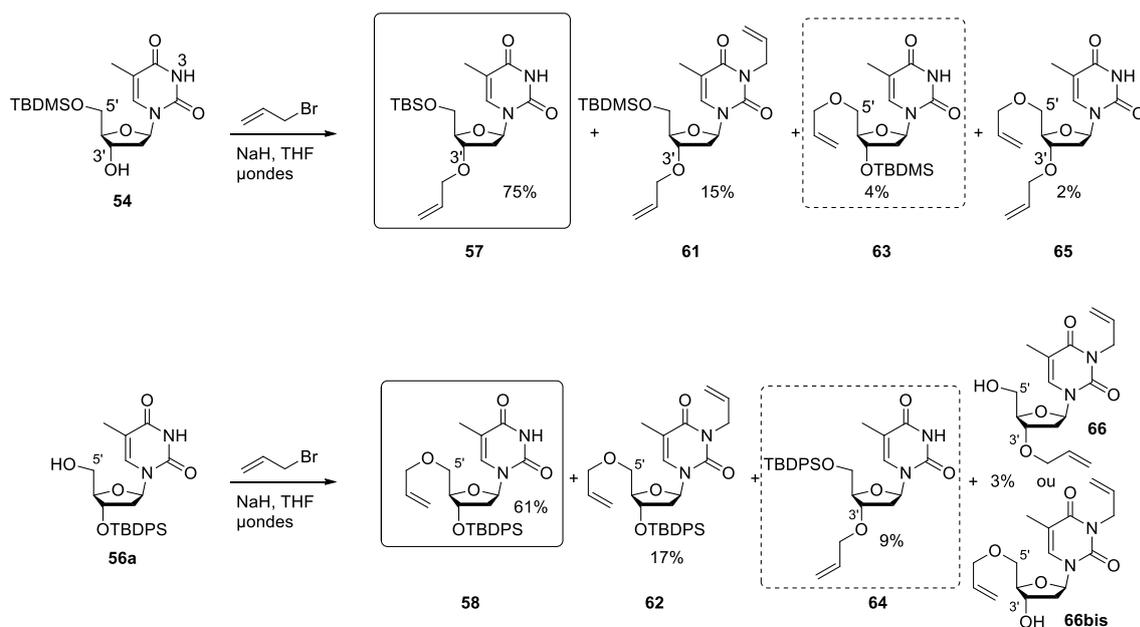
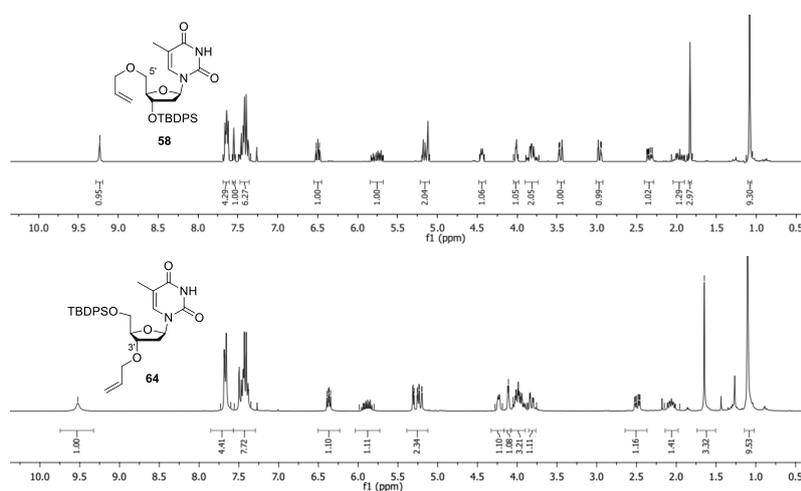


Schéma 56 - Produits secondaires résultant des réactions d'allylation

Ensuite, la formation de régioisomères due à un possible manque de sélectivité entre les alcools et l'azote n'est pas observée, mais un autre type de régioisomère a été isolé. L'analyse par RMN a démontré qu'il s'agit respectivement des produits **63** et **64** issus d'une migration du groupement protecteur silylé d'un alcool vers un autre. Les signaux correspondant aux hydrogènes 5' sont très significativement déblindés dans le spectre RMN ^1H du produit de migration **64**, alors que celui de l'hydrogène 3' se retrouve blindé (Figure 17). Les mêmes observations sont faites pour le composé **63**.


 Figure 17 - Spectres RMN ^1H des produits **58** et **64**

Ce type de migration a été décrit pour les positions 2' et 3' (relation cis) du ribose en série ARN pour des groupements silylés ou phosphatés, dans le cadre de la synthèse d'oligonucléotides[168] (Schéma 57). Le silicium peut former un intermédiaire pentavalent avec un nucléophile à proximité (ici un oxygène). C'est cet intermédiaire qui peut conduire à l'isomère par un processus équilibré. La variation des groupements silylés, et notamment

l'utilisation d'un substrat encombré comme le TIPS, permet sinon d'éviter ce phénomène dans ce cas.

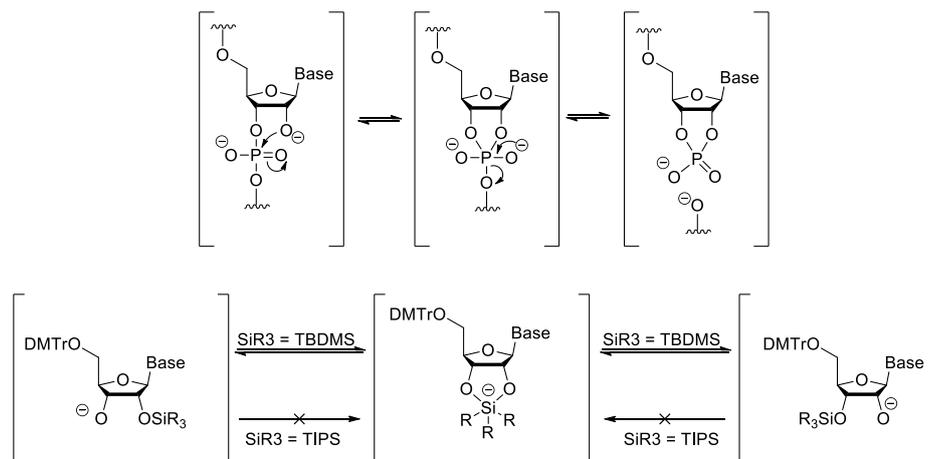


Schéma 57 - Migration de substituants entre les positions 2' et 3'

En revanche, aucune étude évoquant une migration 3'-5' n'a été trouvée. Celle-ci est en effet plus surprenante car les positions 3' et 5' sont en position *trans* l'une par rapport à l'autre, et il paraît plus difficile de former un intermédiaire pentavalent dans ce cas. L'analogie avec le mécanisme démontré pour les positions 2' et 3' est donc à priori l'hypothèse la plus probable. L'intermédiaire silylé pentavalent **68**, comme décrit dans le Schéma 58, serait alors formé dans les conditions de la réaction et pourrait conduire à l'un ou l'autre des isomères de façon équilibrée.

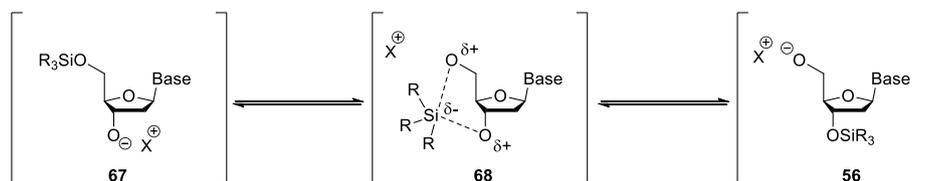
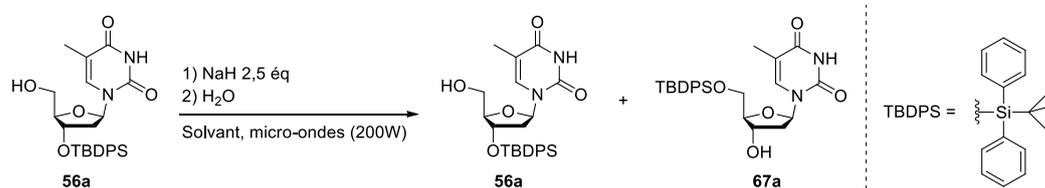


Schéma 58 - Intermédiaire réactionnel proposé pour expliquer la migration des groupes silylés

Afin d'étudier cette réactivité, les thymidines protégées ont été placées en présence de NaH sous activation par micro-ondes pour former potentiellement l'intermédiaire **68**, puis la réaction a été interrompue avec de l'eau et le ratio **67/56** a été déterminé. L'effet du solvant, du temps d'activation par micro-ondes et du type de groupement silylé utilisé sur les migrations a ainsi été mis en évidence.

L'étude a tout d'abord été réalisée avec le nucléoside **56a** portant un groupement protecteur TBDPS en position 3' (Tableaux 4). C'est avec ce composé que le produit de migration a été obtenu avec le rendement le plus important, probablement à cause de la meilleure stabilité du nucléoside protégé au niveau de la position 5', moins encombrée, et il a donc été supposé que la migration serait mieux observée dans ce cas. A 40°C, la formation du produit de migration est observée avec un rendement similaire à celui obtenu pendant la

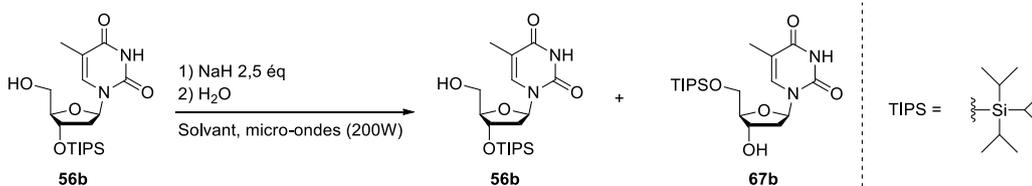
réaction d'allylation correspondante (89/11, entrée 1). A cette température, le temps de réaction n'a pas d'influence sur le ratio jusqu'à 10 minutes (entrées 1 à 3). Par contre, quand la température est augmentée, une augmentation progressive et significative de la quantité de produit de migration est observée jusqu'à atteindre 54/46 à 120°C (entrées 4 à 6). Une augmentation importante du phénomène de migration est également observée en allongeant le temps de réaction à 1h à 80°C (61/39, entrée 7) par rapport à un temps de 2min à la même température (83/17, entrée 5). Enfin, l'utilisation de DMF en tant que solvant entraîne une augmentation drastique de la formation du produit de migration puisqu'un ratio de 59/41 est déjà obtenu à 40°C (entrée 8). A 80°C, le produit **67a** devient très majoritaire (21/79, entrée 9). Cependant, à partir de cette valeur, l'effet de la température et du temps n'est plus très clair puisque des valeurs plus faibles sont obtenues à 120°C (31/69, entrée 10) ou avec un temps d'activation de 10 minutes (24/76, entrée 11).



Entrée	Solvant	Temps	Température	Ratio 56a/67a (%)
1	THF	2 min	40°C	89/11
2	THF	4 min	40°C	90/10
3	THF	10 min	40°C	91/9
4	THF	2 min	60°C	87/13
5	THF	2 min	80°C	83/17
6	THF	2 min	120°C	54/46
7	THF	1 h	80°C	61/39
8	DMF	2 min	40°C	59/41
9	DMF	2 min	80°C	21/79
10	DMF	2 min	120°C	31/69
11	DMF	10 min	80°C	24/76

Tableau 4 : *Etude de la réaction de migration avec le groupement TBDPS*

L'impact de la substitution du silicium a ensuite été évalué en utilisant le groupement protecteur TIPS. Celui-ci étant plus encombré, il a été supposé que la formation de l'intermédiaire **68** serait défavorisée dans ce cas. Les résultats obtenus ont confirmé cette hypothèse (Tableau 5). Dans le THF, la migration n'est pas observée à 40°C et 60°C (entrées 1 et 2). Les ratios obtenus dans le DMF sont également plus faibles (entrées 5 et 6), et il est nécessaire de laisser la réaction 10 à 20 minutes à 80°C (entrées 7 et 8) pour obtenir le même résultat qu'avec le TBDPS en 2 minutes.



Entrée	Solvant	Temps	Température	Ratio 56b/67b (%)
1	THF	2 min	40°C	100/0
2	THF	2 min	60°C	100/0
3	THF	2 min	120°C	86/14
4	THF	10 min	120°C	82/18
5	DMF	2 min	60°C	86/14
6	DMF	2 min	80°C	47/53
7	DMF	10 min	80°C	24/76
8	DMF	20 min	80°C	23/77

Tableau 5 : *Etude de la réaction de migration avec le groupement TIPS*

Une corrélation peut donc être faite entre l'encombrement stérique imposé par les substituants du silicium et la quantité de produit de migration obtenue ce qui appuie l'hypothèse de la formation de l'intermédiaire **68**. L'observation de phénomènes de migration entre les positions 3' et 5' est en tout cas inédite et cette étude en constitue le seul exemple décrit à notre connaissance. L'hypothèse de l'intermédiaire silylé entre ces deux positions est à garder à l'esprit pour la suite de ce travail puisqu'elle sera de nouveau évoquée.

Finalement, ces réactions de migrations complexifient la purification des produits d'allylation, les régiosomères ayant des rapports frontaux très proches en chromatographie sur couche mince, mais elle a tout de même été réalisée avec succès. De plus, ces produits issus de migration ont été obtenus avec des rendements qui restent faibles et la méthode employée, basée sur l'activation par micro-ondes, a conduit aux produits d'allylation désirés avec de bons rendements et une sélectivité totale entre les fonctions alcools et l'azote de la nucléobase. Les différents composés allylés ont alors pu être soumis à des conditions de clivage oxydatif pour obtenir les aldéhydes correspondants.

II.2.3) Synthèse des aldéhydes par clivage oxydatif

La méthode standard pour réaliser le clivage oxydatif de doubles liaisons est l'ozonolyse [164]. Toutefois, une alternative efficace est l'emploi des réactions de type Johnson-Lemieux qui utilisent le tétraoxyde d'osmium comme oxydant [169] (Schéma 59) en quantité catalytique en présence de NaIO₄. Cette réaction conduit cependant souvent à la formation de produits secondaires d'oxydation, et notamment à l'obtention d' α -hydroxycétones résultant de

l'oxydation de l'intermédiaire 1,2-diol (Schéma 59A). Pour pallier la formation de ce produit secondaire, Jin a reporté l'utilisation d'une base, la 2,6-lutidine, qui réduit la formation de celui-ci [170] (Schéma 59B). Cette méthode conduit à la formation de l'aldéhyde à partir d'un alcène avec de bons rendements et nécessite une quantité très faible de tétraoxyde d'osmium. Elle a donc été appliquée aux dérivés allylés de la thymidine précédemment synthétisés et a conduit à l'obtention des aldéhydes correspondant avec de bons rendements de 76-77% (Schéma 59C).

En résumé la stratégie allylation/oxydation a permis l'obtention avec succès des premiers partenaires porteurs de fonctions aldéhydes pour la réaction de Stetter. Il s'agit d'une stratégie de synthèse orientée vers la diversité structurale puisqu'elle a permis la fonctionnalisation des positions 3', 5' et N-3 de la thymidine. Au final, les aldéhydes **69**, **70** et **71** ont été obtenus avec des rendements respectifs de 35%, 50% et 44%, en 5, 3 et 5 étapes. Ils se sont avérés stables et ont pu être engagés dans une réaction de Stetter pour former les dicétones correspondantes. La synthèse de différents lipides porteurs de fonctions énones a été réalisée en parallèle.

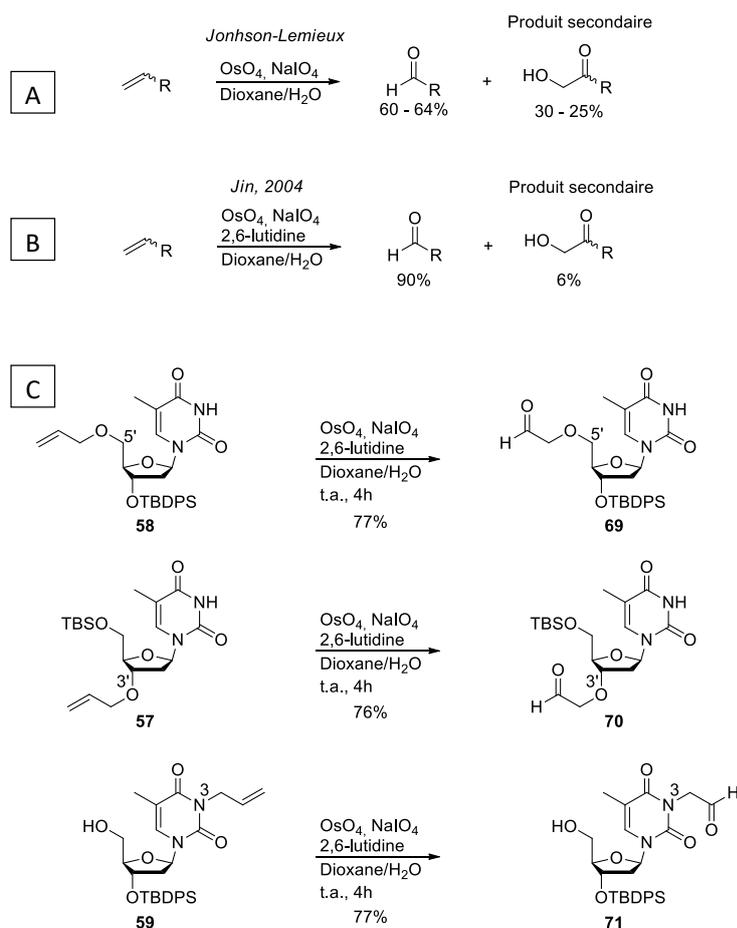


Schéma 59 - Conditions de clivage oxydatif

III) Synthèse des partenaires énonés

III.1) Synthèse d'énonés *via* un amide de Weinreb

Nous avons choisi différentes sources de chaînes grasses portant des fonctions chimiques variées et il a fallu adapter la stratégie de synthèse pour modifier les squelettes et obtenir les partenaires énonés désirés. Nous nous sommes tout d'abord intéressés à la famille des acides gras, qui possèdent des chaînes aliphatiques simples de tailles différentes et dont de nombreux analogues sont disponibles sur le marché. De plus, ils constituent de bons modèles pour l'étude de la réaction de Stetter. Une méthode de choix pour la synthèse d'énonés à partir d'acides carboxyliques est alors l'utilisation d'un intermédiaire de type amide de Weinreb[171][172]. Le composé **72**[173] (Schéma 60) a été obtenu de façon quantitative et a été engagé dans une réaction de vinylation sans purification, afin d'obtenir l'énone correspondante.

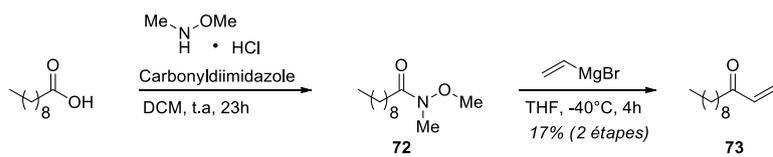


Schéma 60 - *Stratégie de synthèse d'énonés via un amide de Weinreb*

Celle-ci a été obtenue mais avec un rendement très faible de 17 % après purification. Un produit secondaire majoritaire différent du produit de départ a également été isolé, cependant, sa structure ne correspond pas à celles des produits secondaires usuels de ce type de réaction.

La vinylation d'un amide de Weinreb procède par la formation du complexe entre le produit d'addition de l'anion vinyle sur le carbonyle et l'organomagnésien **74**, *via* des interactions avec les oxygènes du carbonyle et du groupement N-méthoxy (Schéma 61A). L'énone est formée après hydrolyse de ce complexe. Une réaction secondaire qui se produit en milieu basique est bien décrite[174][175] (Schéma 61B). L'hydrogène du groupement méthoxy de l'amide de Weinreb peut être capté par la base et former l'intermédiaire énaminolate **75** (voie A), dont l'hydrolyse conduit au méthylamide **77**. Une autre possibilité pour arriver à l'intermédiaire **75** est l'abstraction d'un des hydrogènes acides en α de la fonction carbonyle pour former l'énolate **76** (voie B), qui à son tour peut provoquer l'élimination de groupement méthoxy. Cependant, l'analyse du produit secondaire par RMN ^1H ne correspond pas à l'amide **77**. Cette possibilité a donc été écartée.

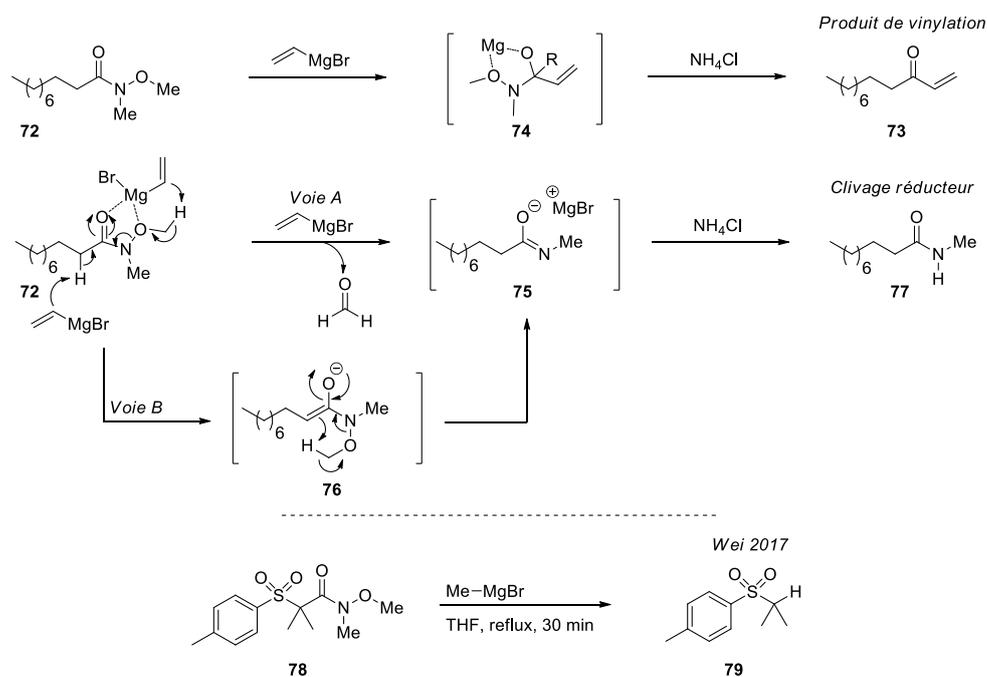
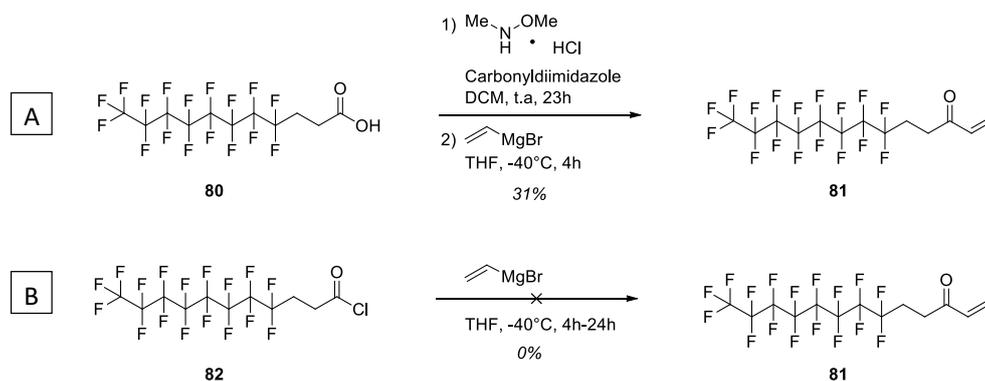


Schéma 61 - A- Mécanisme de vinylation des amides de Weinreb; B- Réaction secondaire usuelle dans les conditions de vinylation des amides de Weinreb; C- Carboxamidation des amides de Weinreb

Seul un autre type de réaction secondaire a été reporté à propos des amides de Weinreb. Wei a décrit une décarboxamidation en présence de réactifs de Grignard[176] (Schéma 61C). Il a observé qu'à reflux dans le THF, l'amide de Weinreb α -arylsulfonyl **78** donne l'arylsulfone **79**. Cependant, la présence du groupement sulfonyl et du carbone quaternaire en α de l'amide sont nécessaires à la réaction. De plus, le spectre RMN du produit obtenu ne correspond pas non plus au composé de décarboxamidation. Il reste donc encore non identifié.

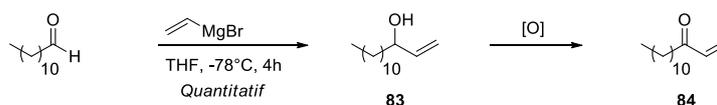
Cette stratégie a donc donné un rendement très faible mais a tout de même été appliquée à la synthèse d'une énone à partir du partenaire perfluoré **80** disponible sous la forme d'acide carboxylique. Celui-ci revêt un intérêt particulier car il est présent dans la structure du GNF décrit plus tôt (Chapitre 1 III-2). La pertinence de ses propriétés physico-chimiques a été démontrée et largement étudiée, faisant donc du GNF un point de comparaison idéal. Les conditions décrites précédemment ont permis l'obtention de l'énone fluorée **81** avec un rendement global de 31% (Schéma 62A).

Pour tenter d'obtenir un meilleur rendement, le chlorure d'acyle analogue **82** commercialement disponible a également été envisagé comme précurseur d'énone. Dans ce cas, une simple vinylation aurait pu conduire à l'obtention de la cétone α - β insaturée souhaitée (Schéma 62B). Cependant, aucune conversion n'a été observée pendant la réaction. Cela pourrait être lié à un problème de solubilité du réactif perfluoré qui a tendance à former une phase à part. La stratégie impliquant la formation d'un amide de Weinreb reste donc la meilleure dans ce cas.

Schéma 62 - *Synthèse d'une énone fluorée*

III.2) Synthèse d'énones à partir d'aldéhydes

Au regard du manque d'efficacité de la stratégie impliquant des amides de Weinreb pour la synthèse de composés aliphatiques, une méthode différente a été envisagée pour l'obtention d'autres dérivés. En effet, certaines chaînes carbonées sont disponibles sous forme d'aldéhydes. Une simple séquence vinylation/oxydation a alors permis d'obtenir les énones correspondantes (Schéma 63).

Schéma 63 - *Stratégie de synthèse de l'énone 84*

La vinylation du dodécanal a conduit dans ce cas à l'obtention de l'alcool allylique **83** avec un rendement quantitatif et sans purification. Différentes conditions ont alors été testées pour optimiser l'étape d'oxydation (Tableau 6).

Entrée	Système d'oxydation	Equivalent d'oxydant	Temps de réaction	Rendement
1	MnO ₂	20	28h	22 %
2	MnO ₂	40	28h	19 %
3	MnO ₂ (par portions)	30	29h	47 %
4	PCC	1,8	24h	9,7 %
5	Swern	1,2	2h	96 %

Tableau 6 : *Optimisation des conditions d'oxydation*

Tout d'abord, l'alcool allylique a été oxydé avec un rendement insatisfaisant de 22% en présence de 20 équivalents d'oxyde de manganèse activé et après 28h de réaction[177][178] (entrée 1). L'augmentation du nombre d'équivalents n'a pas permis d'améliorer le rendement

(entrée 2), a conduit à la formation majoritaire d'un mélange de produits secondaires non identifiés et seulement 23% de l'alcool allylique de départ a été récupéré après purification. L'ajout par portions de l'oxyde de manganèse a ensuite permis d'améliorer le rendement (47%, entrée 3) mais ce rendement n'a pas été jugé satisfaisant.

L'utilisation du chlorochromate de pyridinium a conduit à un rendement très faible de 9,7% (entrée 4) et à la dégradation du reste du réactif. De plus, les deux méthodes précédentes imposent l'utilisation d'une grande proportion d'oxydant métallique ce qui nous a amené à envisager des conditions de réaction plus douces.

Finalement, c'est dans des conditions de Swern[179][180][181][182][183] (Schéma 64) que l'alcool allylique a alors finalement été transformé en énone avec un rendement très satisfaisant de 96% (Tableau 7, entrée 5).

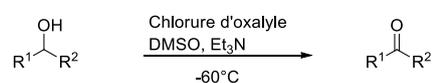


Schéma 64 - *Réaction de Swern*

Certains lipides d'intérêt n'étant pas disponibles sous la forme d'aldéhydes, ils ont été modifiés pour introduire cette fonction. Plusieurs d'entre eux sont notamment disponibles sous forme d'alcools. L'alcool oléique, l'octadécanol et le 1,12-dodécanediol ont alors été placés dans les conditions de Swern une première fois pour donner les aldéhydes correspondants **85**, **86** et **87** (Schéma 65). Cependant, ces composés se sont révélés peu solubles à -60°C , température à laquelle la réaction a été précédemment réalisée. Aucune conversion n'a alors été observée. Dans le cas de l'alcool oléique, une remontée en température jusqu'à 0°C a permis la solubilisation du composé et son oxydation a abouti à l'obtention de l'alcool allylique **85** pur sans purification et avec un rendement quantitatif. Par contre, même à plus haute température, les deux autres alcools restent insolubles et une très faible conversion a été observée. Toutefois, l'oxydation du 1,12-dodécanediol en présence de PCC a été reportée par Miyamoto[184]. Dans les mêmes conditions, l'aldéhyde **86** et le di-aldéhyde **87** ont été obtenus avec des rendements respectifs satisfaisants de 69% et 44%, après une simple filtration.

Un sucre porteur d'une fonction aldéhyde a également été synthétisé, de façon à introduire un sucre sur le nucléolipide et conduire à un glyconucléoside ou à un GNL (Schéma 66A). Le composé allylé **88** a été placé dans les conditions de clivage oxydant développées pour les nucléosides conduisant à l'obtention de l'aldéhyde **89** avec un rendement de 75% (Schéma 66B).

Tous les aldéhydes synthétisés, ainsi que différents aldéhydes commerciaux, ont alors pu être soumis aux conditions de vinylation/oxydation développées précédemment (Tableau 7).

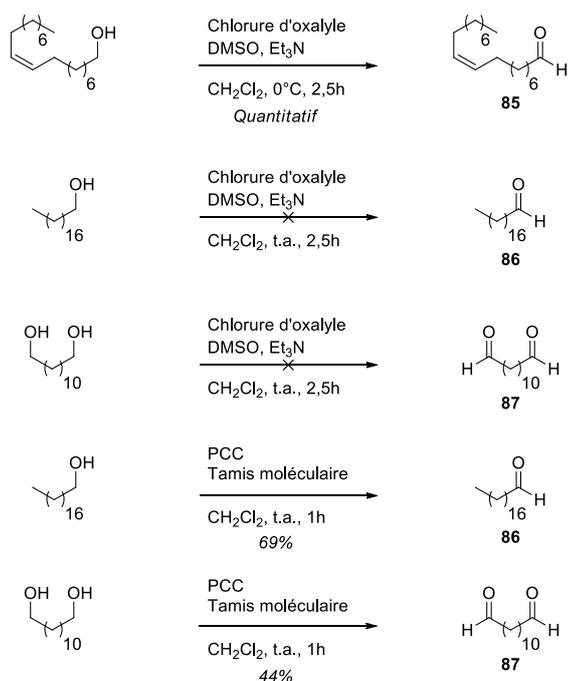


Schéma 65 - Synthèse de lipides porteurs de fonctions aldéhyde

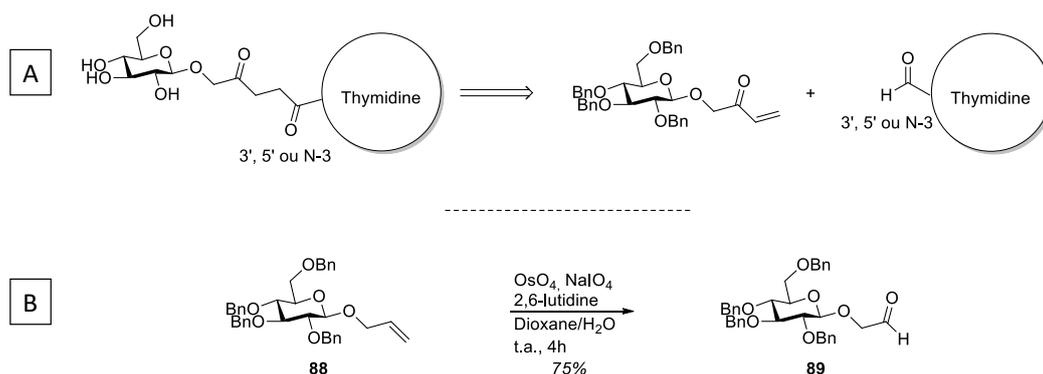


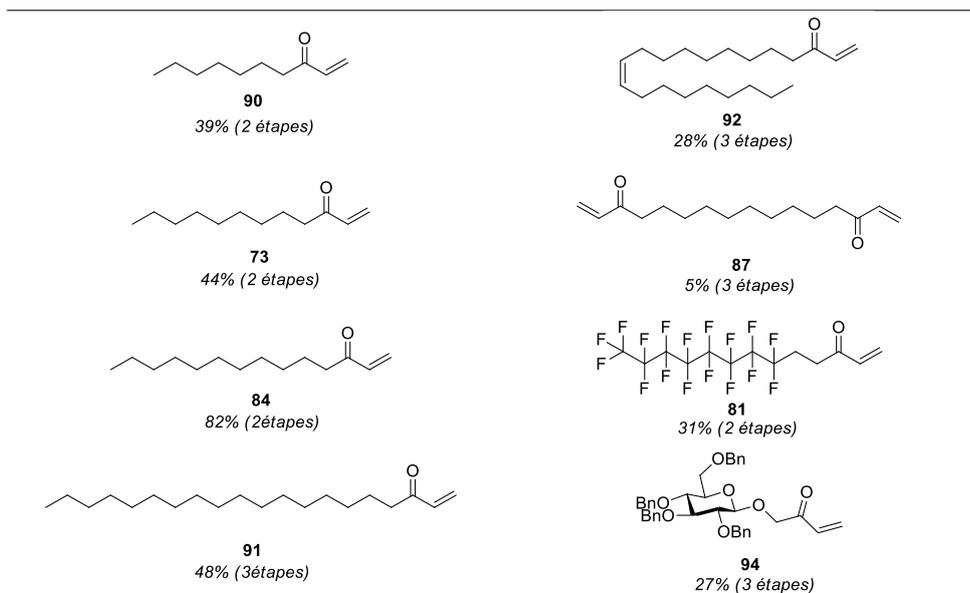
Schéma 66 - A- Stratégie de synthèse d'un glyconucléoside ; B- Synthèse d'un sucre porteur d'une fonction aldéhyde

De bons rendements ont été obtenus pour les énones **91** et **84**. Pour ce dernier, le rendement donné ici est inférieur à celui reporté précédemment lors de la phase d'optimisation. Il correspond à celui obtenu pour une synthèse à partir d'une plus grande quantité de dodécane de départ (1g). De moins bons rendements ont été obtenus pour les dérivés à chaîne aliphatique plus courte **90** et **73**, peut-être à cause de la qualité des aldéhydes commerciaux utilisés. Le dérivé oléyle **92** a quant à lui été obtenu avec un rendement de seulement 28%. Dans ce cas, la double liaison de la chaîne lipidique est probablement sensible à l'oxydation pendant la réaction de Swern. La diénone **93** a également été obtenue avec un rendement faible de 12%. Enfin, la vinylation du sucre **89** a été réalisée avec un rendement quantitatif mais l'oxydation de l'alcool allylique ainsi obtenu s'est avérée assez délicate. Plusieurs systèmes d'oxydation ont été testés (IBX, Swern et MnO₂) mais dans le meilleur cas, un rendement de seulement 36% a été obtenu par oxydation dans les conditions de Swern.

Entrée	Aldéhyde	Produit obtenu	Rendement
1		90	39%
2		73	44%
3		84	82%
4	86	91	70%
5	85	92	28%
6	87	93	12%
7	89	94	36%

Tableau 7 : Synthèse des énones par une séquence vinylation/oxydation des aldéhydes correspondants

En résumé, la stratégie employée a permis l'accès à différentes cétones α - β insaturées et une collection d'énones lipidiques a été synthétisée (Schéma 8), soit par une stratégie d'allylation/oxydation des aldéhydes correspondants, soit par une stratégie impliquant la formation d'un intermédiaire de type amide de Weinreb pour les composés disponibles sous la forme d'acides carboxyliques.

Tableau 8 : *Enones synthétisées*

IV) IV- Synthèse de nucléolipides originaux *via* la réaction de Stetter

IV.1) Réaction de Stetter sur les substrats nucléosidiques

Une fois les partenaires aldéhydes et énonés en main, des conditions de réaction de Stetter décrites dans des études antérieures ont été utilisées pour obtenir une petite librairie de dicétones-1,4 sur les positions 3', 5' et N-3 de la thymidine (Schéma 67). Le catalyseur **95**, utilisé pour la réaction de Stetter avec des substrats aliphatiques variés, a été employé. Avec une charge catalytique de 30%, de bons rendements ont été obtenus avec les énonés **73** et **84** en position 5' comme en position 3'. Par contre, un rendement beaucoup plus faible de 21% a été obtenu sur la position N-3. De plus, le composé **98** a été obtenu en mélange inséparable avec un produit secondaire non identifié et n'a pas pu être isolé, le rendement indiqué correspondant à celui déduit de l'analyse RMN ^1H du mélange. Ensuite, de même que lors de la synthèse des énonés, des rendements plus moyens ont été obtenus avec le lipide le plus court, les nucléolipides **96A** et **97A** étant produits avec des rendements respectifs de 46% et 47%. Les énonés oléyle et fluorée ont également conduit à la formation des nucléolipides **96D** et **96E** avec des rendements similaires respectifs de 44% et 46%.

Finalement, nous avons obtenus de bons rendements dans la plupart des cas. L'utilisation de NHC en présence de nucléosides est donc tout à fait adaptée. De façon générale, une conversion totale des énonés lipidiques a été observée, mais l'obtention de mélanges de produits de dégradation a contribué à diminuer le rendement. Leur nature n'a pas pu être clairement identifiée et seuls des signaux correspondant aux chaînes carbonées aliphatiques

ont été observées par RMN ^1H . Cette dégradation est étonnante puisque ces molécules sont peu fonctionnalisées et paraissent donc robustes. Il semble toutefois qu'elles soient sensibles aux conditions réactionnelles utilisées.

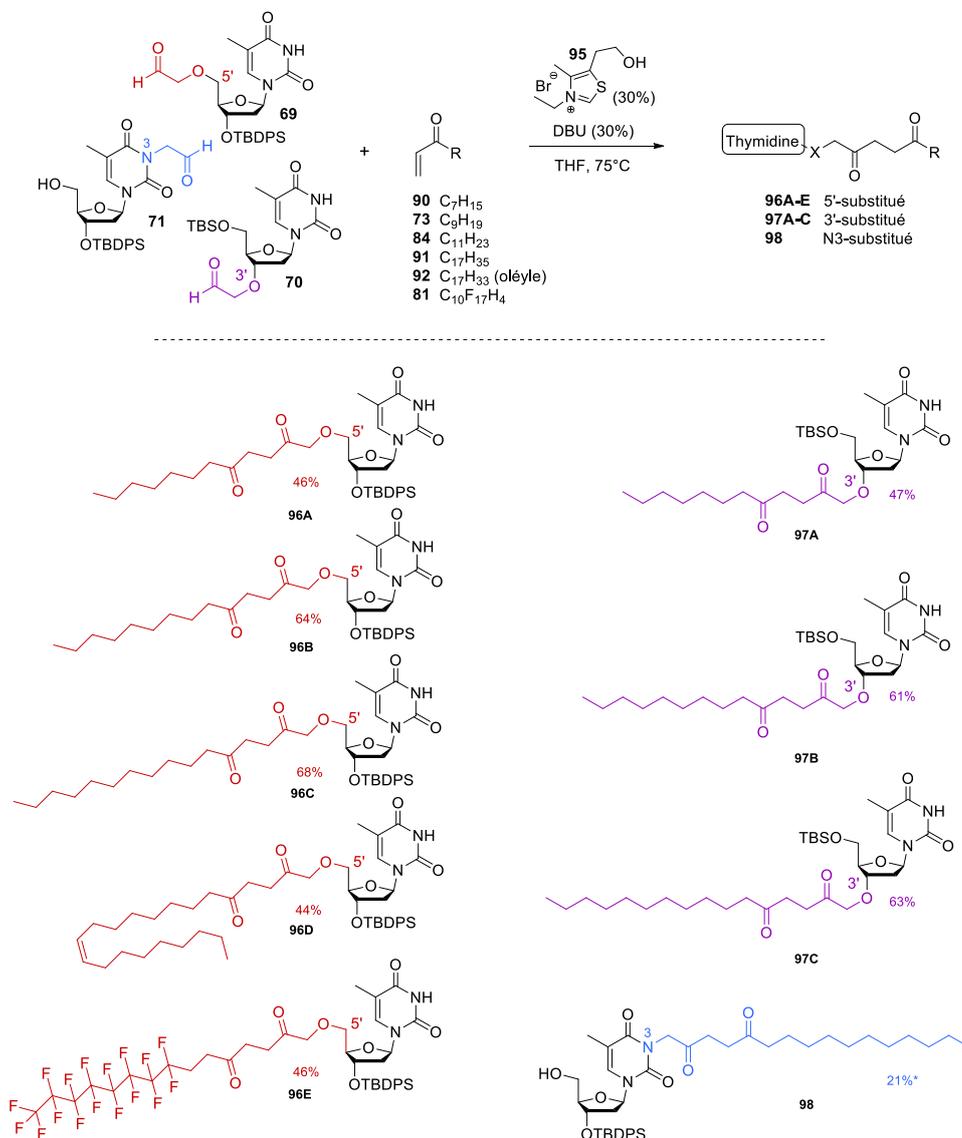


Schéma 67 - Synthèse de nucléolipides par la réaction de Stetter

Aucun des produits de dégradation des nucléolipides formés n'a été observé ce qui montre la stabilité du nucléoside vis-à-vis des conditions réactionnelles. Seul un produit secondaire plus polaire a été récupéré, que nous avons supposé être le produit de condensation benzoïne. Cependant l'analyse par RMN de ce dernier a montré qu'il s'agissait d'un tout autre produit.

IV.2) Une réaction secondaire inattendue

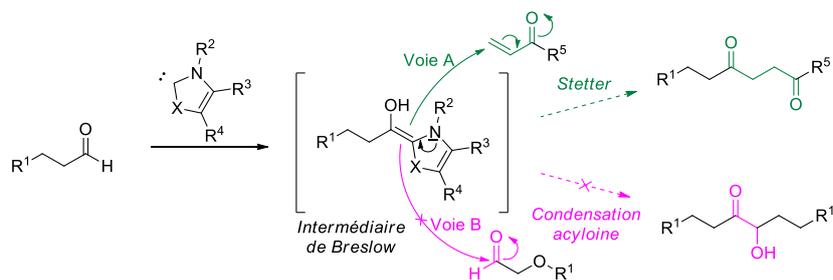


Schéma 68 - Réactivité classique de l'intermédiaire de Breslow

Même si la réaction de Stetter conduit généralement à de bons rendements, il est la plupart du temps difficile d'éviter la formation du produit de condensation benzoïne. (Schéma 68). Pourtant dans notre cas, malgré des rendements parfois moyens, voire médiocres sur la position N-3, le produit de condensation benzoïne n'a été observé dans aucun des exemples réalisés sur les nucléosides, potentiellement pour des raisons d'encombrement stérique des aldéhydes. Par contre, un autre produit a été obtenu en quantité importante (Schéma 69). L'analyse par RMN a alors révélé qu'il s'agit du nucléoside **56a** dans le cas des couplages sur les positions 5' et N-3 et de **54** pour les couplages sur la position 3', intermédiaires de la synthèse.

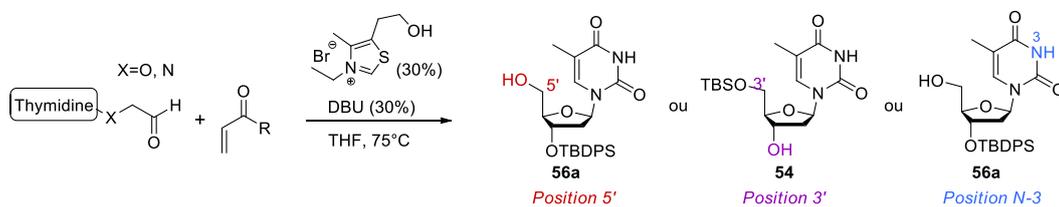


Schéma 69 - Produits secondaires de la réaction de Stetter sur la thymidine

IV.2.1) Elimination *via* un processus d'"internal redox"

Au vu de ces résultats, nous nous sommes interrogés sur la façon dont ces composés pouvaient être issus d'intermédiaires réactionnels et la seule possibilité rationnelle impliquait l'intermédiaire de Breslow. En effet, une telle réactivité n'est pas observée lors de réactions de Stetter classiques mais l'obtention d'alcools à partir d'aldéhydes possédant une fonction alcool en position β a été décrite, tout d'abord par Scheidt et Gravel en 2009, puis par Smith en 2011. En effet, une réactivité de type rédox interne pourrait conduire à un alcoolate et un énol à partir de l'intermédiaire de Breslow (Schéma 70). L'énol produit est en équilibre avec une forme cétone dans laquelle le carbone de l'aldéhyde de départ (●) et son voisin (●) se retrouvent respectivement oxydé et réduit, d'où le terme d'"internal redox" largement utilisé.

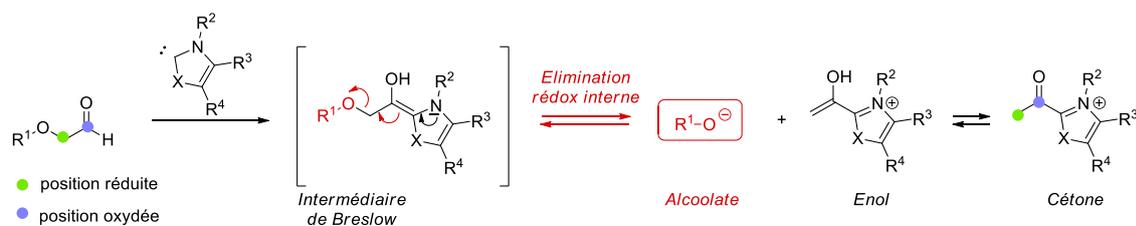


Schéma 70 - Élimination selon un processus de type « internal redox » à partir de l'intermédiaire de Breslow

Dans l'étude de Scheidt[185], l'énol obtenu est nucléophile et a été élégamment piégé par une énone présente sur une autre position de la molécule pour former une dicétone-1,5 (Schéma 71). L'alcoolate réalise ensuite une cyclisation intramoléculaire pour former une coumarine en régénérant le catalyseur. Dans cet exemple, il est notable que l'alcoolate est alors un phénolate et est donc stabilisé, ce qui permet d'obtenir des rendements allant jusqu'à 91%.

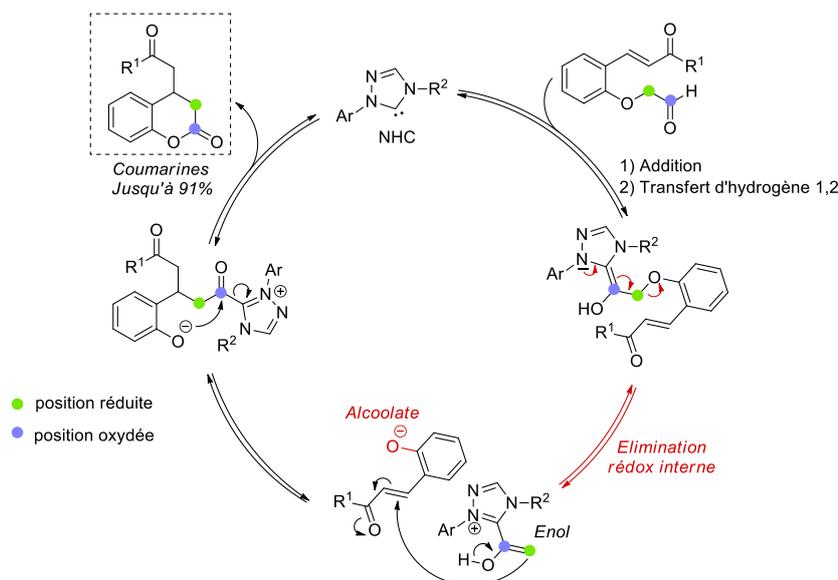


Schéma 71 - Synthèse de coumarines par élimination de type « internal redox »

Gravel a quant à lui utilisé cette réactivité pour réaliser la synthèse de lactones par expansion d'hétérocycles oxygénés[186] (Schéma 72). Dans ce cas, la réaction d'élimination permet l'ouverture d'un tétrahydrofurane. L'équilibre céto-énolique est alors mis à profit et permet à l'alcoolate de réaliser une estérification sur la cétone en régénérant le catalyseur. Dans ce cas, on peut supposer que la tension de cycle et la formation de la lactone sont des forces motrices pour la réaction. Il est aussi notable que les meilleurs catalyseurs pour cette réaction sont issus des sels d'imidazolium, alors que les sels de thiazoliums ne mènent, dans ce cas, qu'à des rendements compris entre 5% et 38%.

Enfin, Smith a montré d'une façon similaire la possibilité de piéger l'intermédiaire cétone en réalisant une estérification cette fois intermoléculaire[187] (Schéma 73). Il est intéressant

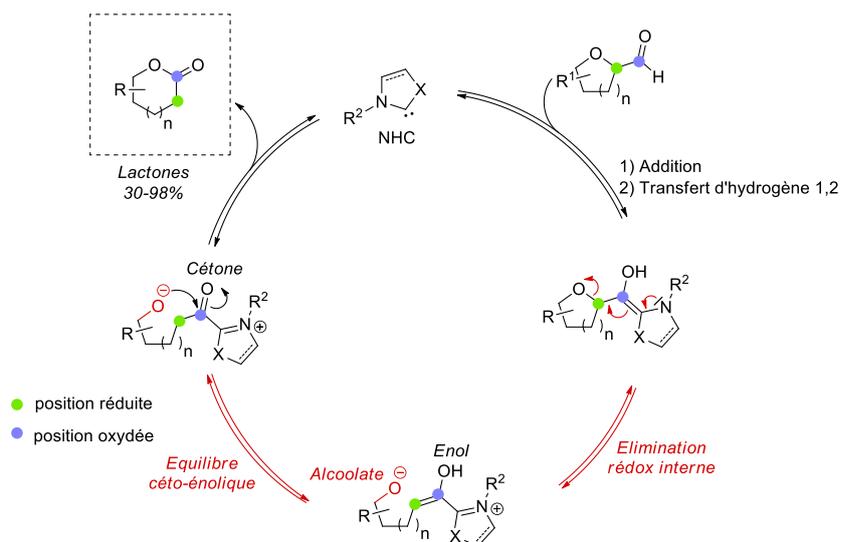


Schéma 72 - Expansion de cycle par élimination de type « internal redox »

de relever dans cette étude que si la réaction fonctionne très bien avec des alcoolates stabilisés par des groupements aryle ou benzoyle (jusqu'à 98% de conversion), aucune réactivité n'est observée en cas de substitution par un groupement benzyle, qui ne stabilise pas la charge négative.

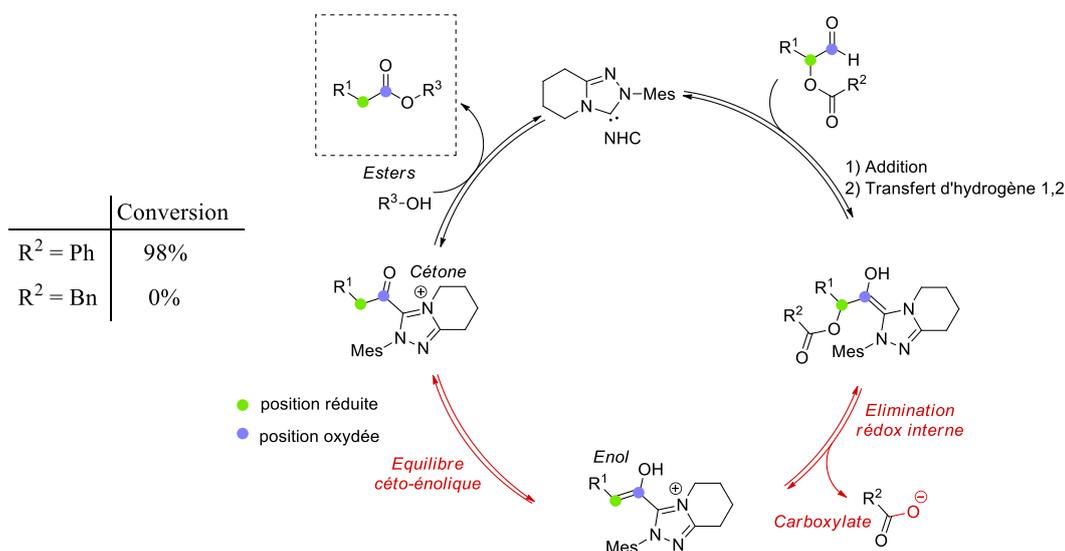


Schéma 73 - Esterification intermoléculaire via une élimination de type « internal redox »

Dans les trois cas présentés, la formation de l'alcoolate est favorisée car celui-ci est stabilisé. Dans le cas des expansions de cycle de Gravel, la tension de cycle et la formation d'une lactone peuvent être des forces motrices pour la réaction. En effet, les alcoolates sont systématiquement piégés dans les études de Scheidt et Gravel, ce qui déplace l'équilibre de la réaction. Seuls les exemples de Smith ne rapportent pas de "piégeage" de l'alcoolate issu de l'élimination sur l'intermédiaire de Breslow, mais celui-ci doit être fortement stabilisé sinon la réaction ne se produit pas.

IV.2.2) Cas des nucléosides

Dans le cas des nucléosides utilisés ici, les rendements en produits secondaires sont variables. C'est un amidure, **100**, qui est formé à partir de l'intermédiaire de Breslow **99** lorsque la réaction de Stetter est faite avec l'aldéhyde en N-3 (Schéma 74A). Les carbonyles de la nucléobase sur les deux positions en α stabilisent alors la charge négative ce qui favorise la réaction. Un rendement important de 42% en produit d'élimination est alors obtenu et peut être corrélé au faible rendement en produit de Stetter observé (21%).

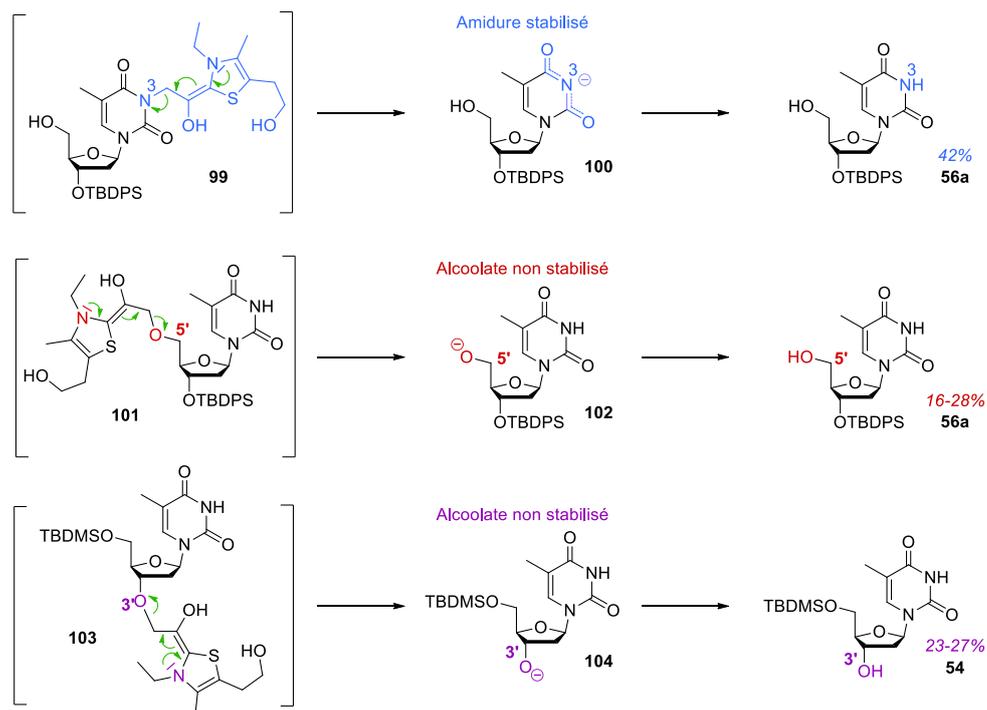


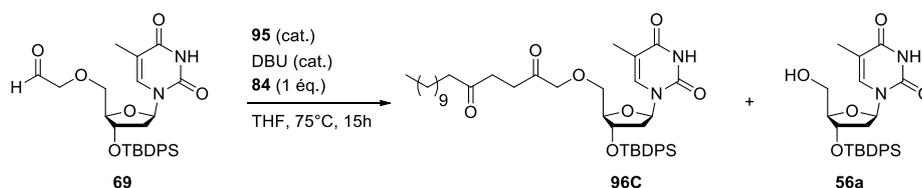
Schéma 74 - Formation des alcools par élimination sur l'énaminol intermédiaire

En revanche, les alcoolates **102** et **104** formés à partir des intermédiaires **101** et **103** ne sont pas stabilisés, leur formation est donc beaucoup plus surprenante. Les alcools **56a** et **54** correspondant sont obtenus avec des rendements plus modestes ce qui est cohérent mais au regard des exemples décrits précédemment et particulièrement à celui de Smith, la formation d'alcoolates non stabilisés via ce type de réaction est très improbable voire inexistante. De plus, un sel de thiazolium est utilisé ici alors qu'un analogue très proche menait à un rendement très faible de 5% dans l'étude de Gravel.

IV.2.3) Mise en évidence du mécanisme réactionnel

L'étude de l'influence de la charge catalytique sur le rendement en produit secondaire (Tableau 9) s'est cependant révélée cohérente avec un mécanisme impliquant cette élimination selon un processus d'"internal redox". Pour une charge catalytique de 15%, un mélange

indissociable de produits secondaires est obtenu, mais le rendement en réaction de Stetter reste inchangé par rapport à une charge catalytique de 30% (entrée 1). En revanche, le rendement en produit d'élimination augmente jusqu'à 37% pour une charge catalytique de 50%, alors que le rendement en dicétone-1,4 est de seulement 43% (entrée 3). Ces résultats sont cohérents avec le mécanisme proposé : en effet, une charge catalytique plus élevée entraîne une concentration plus élevée en intermédiaire de Breslow, ce qui augmente la probabilité de réaction secondaire et diminue le rendement de la réaction Stetter.



Entrée	Charge catalytique	Rendement 96C	Rendement 56a
1	15 %	67 %	-
2	30 %	68 %	24 %
3	50 %	43 %	37 %

Tableau 9 : *Influence de la charge catalytique sur la réaction d'élimination de type "internal redox"*

Pour obtenir d'autres éléments dans le but de confirmer le mécanisme proposé, un groupe homoallylique et non plus allylique a été placé sur la position N-3. Il "éloigne" l'aldéhyde de sorte à ne plus avoir d'hétéroatome (ici N) en position β , pour empêcher l'élimination via l'énaminol et également obtenir un meilleur rendement en dicétone-1,4. La même stratégie de synthèse que celle développée précédemment a alors été appliquée, mais en utilisant le 4-bromo-1-butène à la place du bromure d'allyle (Schéma 44). La réaction sous activation micro-ondes a pu mener au produit **105**. Le bromobutène étant moins réactif que l'allyle correspondant, la réaction a conduit à **105** avec un rendement faible mais suffisant pour continuer la synthèse et obtenir le partenaire aldéhyde avec 69% de rendement.

L'aldéhyde **106** ainsi obtenu a alors été engagé dans une réaction de Stetter avec l'énone **84**. Aucun produit d'élimination issu de l'énaminol **107** n'a alors été obtenu à partir de ce réactif. Ce résultat est très cohérent avec le mécanisme envisagé. Le seul produit obtenu est alors la dicétone **108**. Il est intéressant de relever que la formation du produit de condensation acyloïne n'a pas non plus été observée, mais que le rendement de la réaction reste du même ordre que pour les réactions de Stetter sur les positions 3' et 5'. Compte tenu du fait que la conversion de l'énone est totale, une partie des réactifs de départ est probablement dégradée dans ces conditions.

non négligeable. Pour cela, la 5'-OTIPS-thymidine **109** a ainsi été synthétisée avec un rendement de 51% avec le même protocole que celui utilisé pour le composé **54** (Schéma 77). La séquence allylation/oxydation a ensuite été réalisée avec un rendement de 72%. Par contre, la synthèse d'un dérivé 5'-OTTMS-thymidine dans les mêmes conditions n'a pas abouti. Toutefois, des éthers silylés de tailles différentes ont été obtenus. L'aldéhyde **110** a été placé dans les conditions de réaction de Stetter et le rendement en produit d'élimination a été comparé à celui des autres cas décrits précédemment.

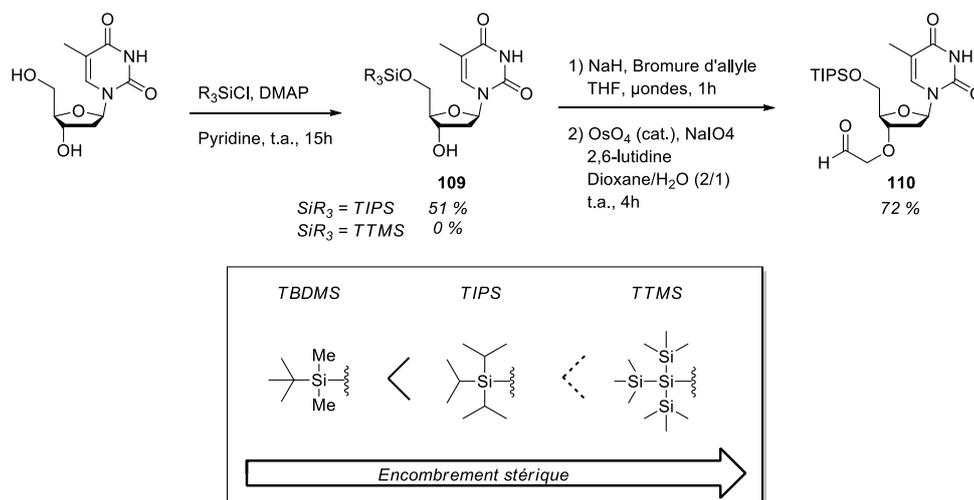


Schéma 77 - Synthèse d'aldéhydes avec d'autres groupements protecteurs

En présence du groupement TIPS sur la position 5', plus encombrant que ceux décrits précédemment, 13% seulement d'alcool en 3', issu de l'élimination sur l'énaminol correspondant, ont été obtenus (Tableau 10, entrée 2). C'est significativement plus faible que les 26% observés dans le cas de l'aldéhyde analogue **70** portant un groupement TBDMS moins encombrant (Tableau 10, entrée 1). Il peut donc être supposé que la gêne stérique importante induite par les isopropyles diminue la probabilité d'interaction du silicium avec l'oxygène de la position 3' et subséquemment la quantité d'alcoolate formé. Cette observation est cohérente avec l'hypothèse d'activation par assistance électrophile.

Entrée	Groupement protecteur	Rendement en dicétone	Rendement en alcool
1	TBDMS	63 %	26 %
2	TIPS	50 %	13 %

Conditions réactionnelles : aldéhyde (1,5 éq.), énone **73** (1 éq.), **95** (30 mol%), DBU (30 mol%), THF, 75°C, 15h.

Tableau 10 : Influence de l'encombrement stérique sur l'élimination de type "internal redox"

Toutefois, un moins bon rendement en produit de Stetter est également obtenu (50%, Tableau 10, entrée 2). La gêne stérique a donc peut-être une influence sur les autres étapes du mécanisme réactionnel.

IV.2.5) Alternatives réactionnelles

IV.2.5.1) Synthèse alternative d'aldéhydes

Pour tenter d'améliorer les rendements pour les positions 3' et 5' et éviter la réaction secondaire, d'autres approches ont alors été considérées. Comme cela a été évoqué précédemment, la synthèse de dérivés de la thymidine portant une fonction aldéhyde en position 5' a été décrite par oxydation directe par l'acide-2-iodobenzoïque (IBX) (Schéma 78). Cependant, le composé **111** ainsi obtenu possède également un oxygène, celui du ribose, en position β par rapport à l'aldéhyde. Nous pouvons donc supposer que le même type de réactivité serait attendu dans ce cas. La synthèse de l'aldéhyde **114**, comportant un carbone supplémentaire, est ensuite décrite par les auteurs. Elle n'a pas été réalisée par manque de temps mais constituerait une piste intéressante pour collecter plus de données concernant cette réactivité.

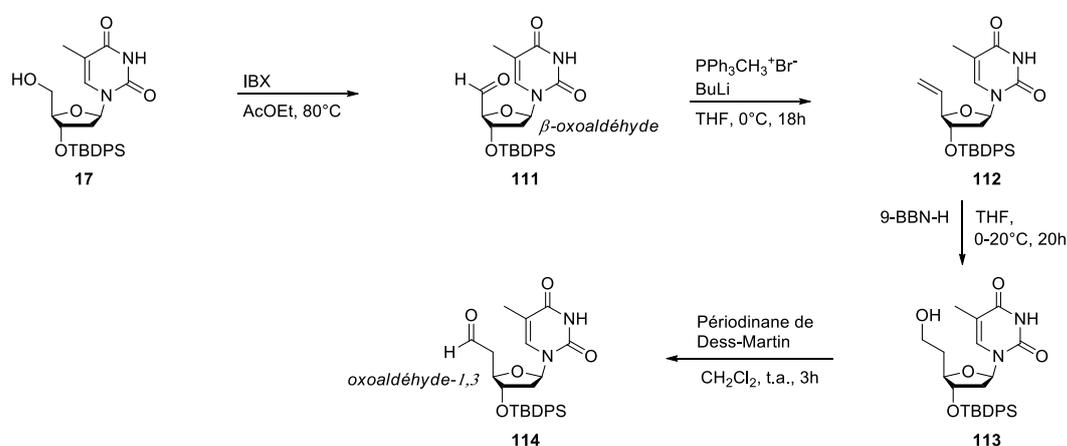


Schéma 78 - Synthèse d'aldéhydes sur la position 5'

Pour contourner la problématique liée à la structure de notre aldéhyde, une variante de la réaction de Stetter utilisant un acylsilane à la place de l'aldéhyde, appelée sila-Stetter, a alors été envisagée. Cette réaction a été développée par Scheidt pour empêcher la condensation acyloïne, les acylsilanes étant moins électrophiles et plus encombrés que les aldéhydes[122]. La synthèse d'un dérivé de la thymidine portant une fonction acylsilane en position 5' ayant été décrite par Plantier-Royon[189], nous avons suivi ce protocole pour tenter de réaliser une réaction de sila-Stetter sur la thymidine (Schéma 79).

IV.2.5.2) Synthèse d'un partenaire acylsilane

Une réaction de type Appel permet d'introduire l'iode en position 5' de façon quantitative, puis le produit brut récupéré après une simple évaporation du solvant est protégé en position 3' pour donner le composé **115**. Un dithiane silylé est ensuite lithié pour substituer l'iode et former le nucléoside **116**, à partir duquel est obtenu l'acylsilane cible **117**. Celui-ci a

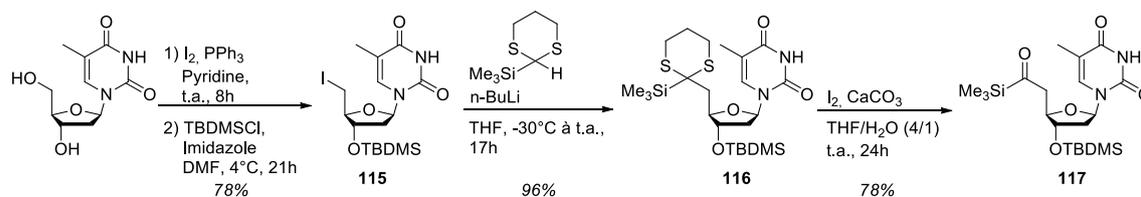


Schéma 79 - Synthèse d'un acylsilane en position 5'

ensuite été engagé dans une réaction de sila-Stetter avec l'énone **73**, dans les conditions déjà utilisées[190] (Schéma 80). Cependant, la dégradation de l'acylsilane **117** a systématiquement été observée. Ce type de composé est très sensible, notamment au rayonnement UV[191] et la réaction même réalisée à l'abri de la lumière, n'a pas conduit au produit désiré. Cette méthode n'a donc pas permis l'accès à des nucléolipides et a été abandonnée.

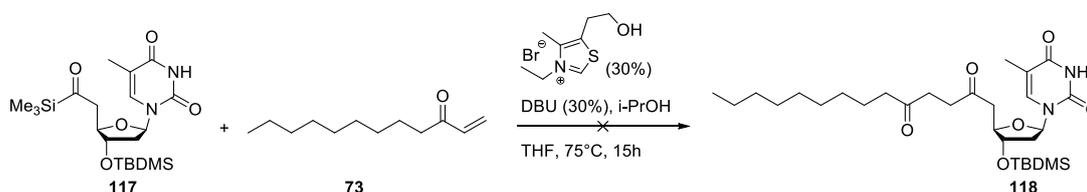


Schéma 80 - Tentative de synthèse d'un nucléolipide par la réaction de sila-Stetter

IV.2.5.3) Synthèse de partenaires nucléosides-énones

Pour pallier au problème lié aux fonctions β -oxoaldéhydes, la synthèse de partenaires nucléosides et lipides portant les fonctions aldéhyde et énone de façon inversée a alors été entreprise. Des lipides aldéhydiques étant disponibles commercialement, notre effort s'est concentré sur la conception d'une stratégie permettant l'accès à des nucléosides porteurs de fonctions énones. La synthèse des aldéhydes correspondant ayant été décrite, c'est tout naturellement que notre choix s'est orienté vers la stratégie de type vinylation/oxydation déjà développée pour la synthèse d'énones lipidiques. Elle a donc tout simplement été appliquée aux aldéhydes utilisés pour l'étude précédente.

Les aldéhydes **69** et **70** ont ainsi été placés dans les conditions de vinylation (Schéma 81), cependant ils se sont révélés très peu solubles dans le THF à $-60^\circ C$, empêchant l'agitation et subséquemment la conversion de l'aldéhyde de départ. Une température de $0^\circ C$ puis la température ambiante ont alors été appliquées, ce qui a permis d'obtenir une très faible conversion dans le cas de la position 3'. Finalement, après oxydation de l'alcool allylique **120**, l'énone **122** est obtenue avec un rendement de seulement 18% pour ces deux étapes. L'énone **121** n'a pas été obtenue en raison de la trop faible conversion lors de la vinylation.

Au vu du faible rendement obtenu avec la stratégie vinylation/oxydation, la synthèse des énones par un intermédiaire de type amide de Weinreb a alors été envisagée (Schéma 82). Le nucléoside **123** a été mis en réaction avec le 2-chloro-N-méthoxy-N-méthylacétamide

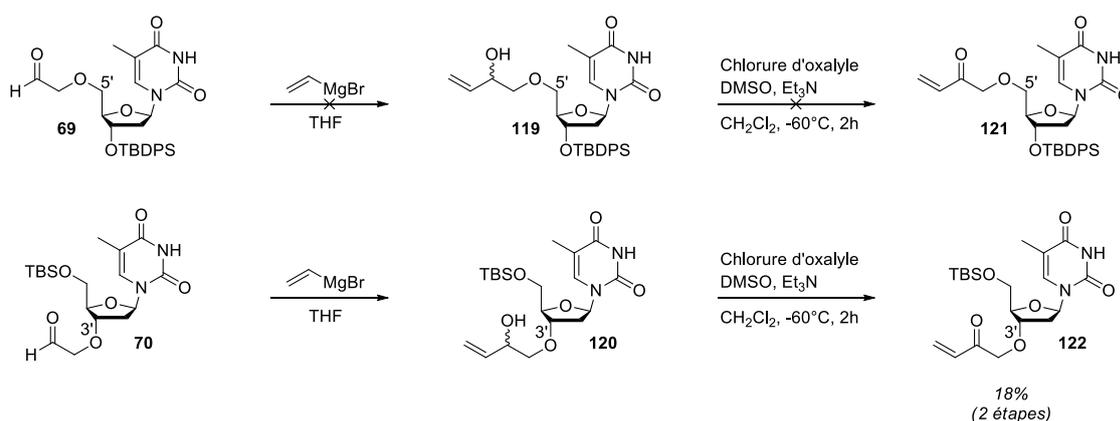


Schéma 81 - Synthèse de nucléosides portant une fonction énone par la stratégie vinylation/oxydation

en présence de NaH d'abord sous activation micro-ondes puis durant 3h à température ambiante. L'amide de Weinreb **124** a été obtenu avec un rendement de 60%. Il a ensuite été placé dans des conditions de vinylation classiques qui ont conduit à **125** avec un rendement faible de 19% ainsi qu'à des produits secondaires non identifiés. Cette méthode s'est donc avérée également peu efficace avec un rendement de seulement 11% pour les deux étapes.

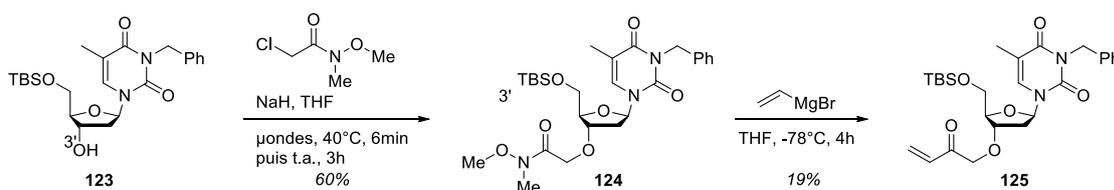


Schéma 82 - Synthèse de nucléosides portant une fonction énone via un amide de Weinreb

Une dernière stratégie d'introduction d'énone a alors été envisagée pour obtenir de meilleurs rendements. Un groupement nitrile a été introduit par alkylation sous activation micro-ondes sur la position N-3 de la thymidine, donnant le produit **51** avec un bon rendement de 77 % (Schéma 83). Celui-ci a ensuite été placé en conditions de vinylation^[173] et de façon surprenante, une conversion très lente a été observée. De plus, le produit n'a pas été récupéré après le traitement acide nécessaire à l'hydrolyse de l'imine formée. Une faible quantité de produit de départ est récupérée après purification, mais il semble que le produit de départ se soit dégradé au cours de la réaction. L'énone **126** n'a finalement pas été obtenue.

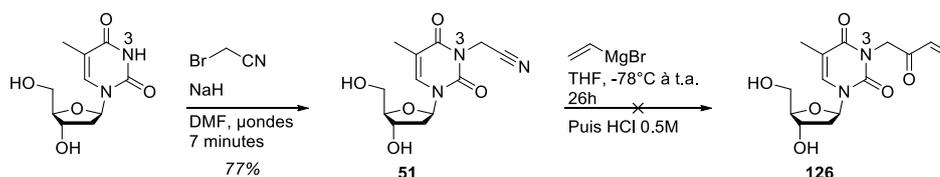


Schéma 83 - Synthèse de nucléosides portant une fonction énone par hydrolyse d'un groupement nitrile

Bien que non optimale en terme de rendements, notre approche basée sur des aldéhydes issus de l'oxydation de composés allylés s'est donc avérée être la plus appropriée au cas des nucléolipides. Les rendements obtenus ont tout de même permis la synthèse des dicétones-1,4 dans des quantités suffisantes pour continuer vers la formation de cycles aromatiques. De plus, l'approche utilisée est divergente et amène une importante diversité structurale grâce à la fonctionnalisation des positions 3', 5' et N-3 de la thymidine. La bibliothèque de nucléolipides ainsi obtenue a ensuite été soumise à des conditions de cyclisation pour obtenir les liens de type cycles hétéroaromatiques visés.

V) Synthèse de liens hétérocycliques

Les dicétones 1,4 ont été choisies comme précurseurs d'aromatiques variés et peuvent notamment conduire à la formation de furanes[192],[193] de pyrroles[122][194], de thiophènes[121] de pyridazines[195][123] ou de sélénophène[124].

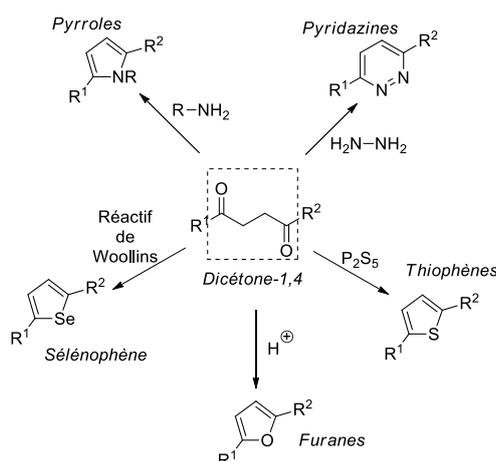


Schéma 84 - Synthèse d'hétérocycles aromatiques à partir d'une dicétone-1,4

V.1) Réaction de type Paal-Knorr : accès à des pyrroles

Notre intérêt s'est tout d'abord porté sur la synthèse de pyrroles et les dicétones ont été engagées dans une cyclisation de type Paal-Knorr. En présence d'une amine primaire en milieu acide, la déshydratation de la dicétone mène à la formation de l'hétérocycle azoté aromatique (Schéma 85). Des rendements moyens à bons (44-74%) ont été obtenus en fonction de la structure de la dicétone de départ. Il est notable que la réaction a mieux fonctionné sur la position 5' que sur la position 3'. L'encombrement stérique plus important sur la position 3' pourrait être la cause de cette réactivité. Ensuite le composé **129** fonctionnalisé en position N-3, a tout de même été obtenu avec un rendement de 57% malgré une dicétone de départ non parfaitement pure. Le pyrrole final étant moins polaire, il a pu être séparé du produit secondaire présent initialement.

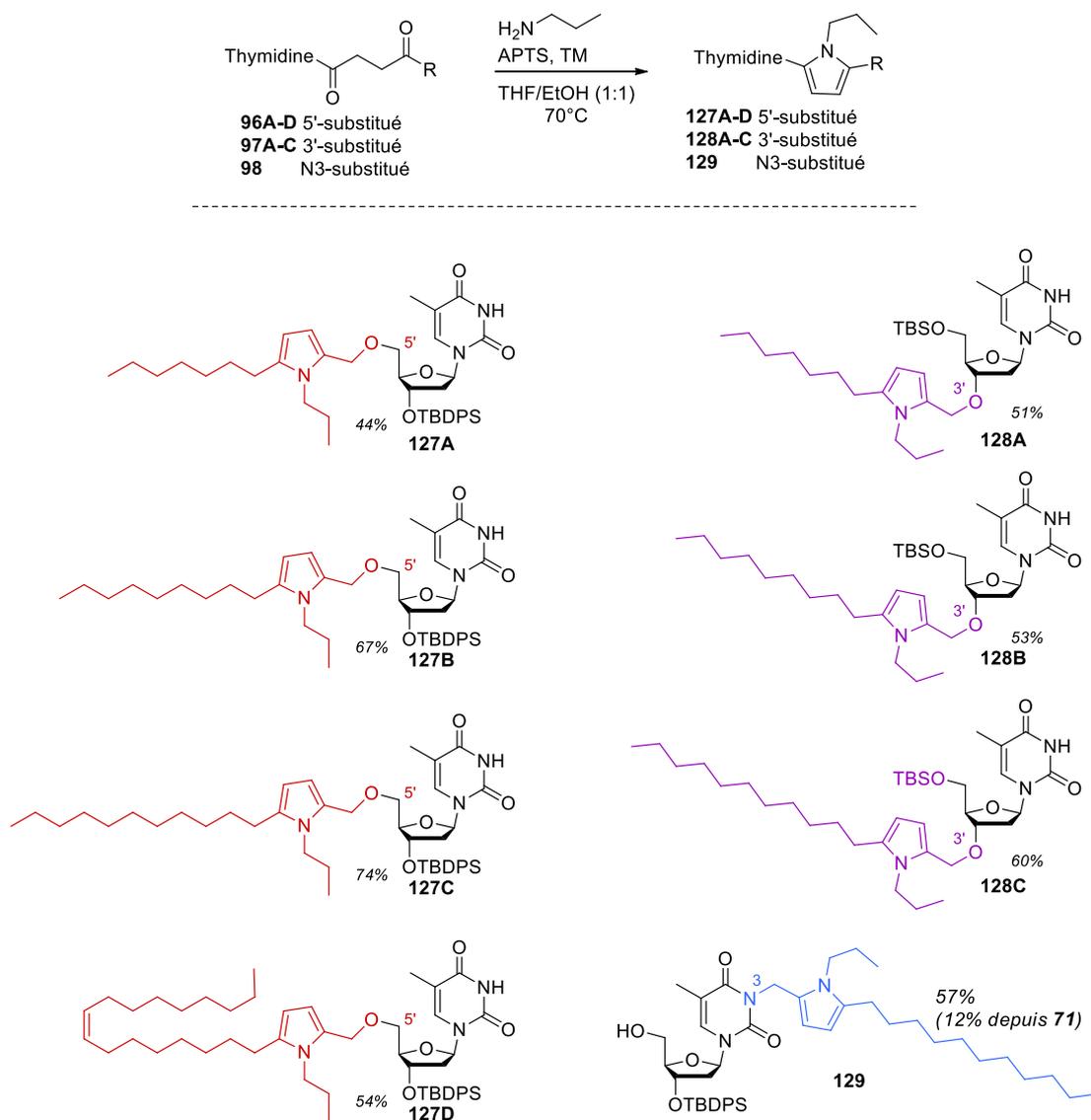


Schéma 85 - Synthèse des liens pyrroles

V.2) Déprotection des nucléolipides

Ces nucléolipides pyrroles protégés en main, le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) a été utilisé pour cliver les éthers silylés et conduire aux nucléolipides finaux avec de bons rendements (59-73%, Schéma 86). Une collection de nucléolipides possédant un lien de type pyrrole a donc été synthétisée, constituant la première famille de nucléolipides porteurs de ce type de lien.

V.3) Tentatives de synthèse de furanes

La synthèse d'autres types d'hétérocycles aromatiques à partir des dicétones-1,4 a alors été envisagée, notamment celle de furanes. Des conditions décrites par Scheidt ont été appliquées[122] (Schéma 87). Ici l'acide acétique est utilisé pour réaliser la cyclisation. Cepen-

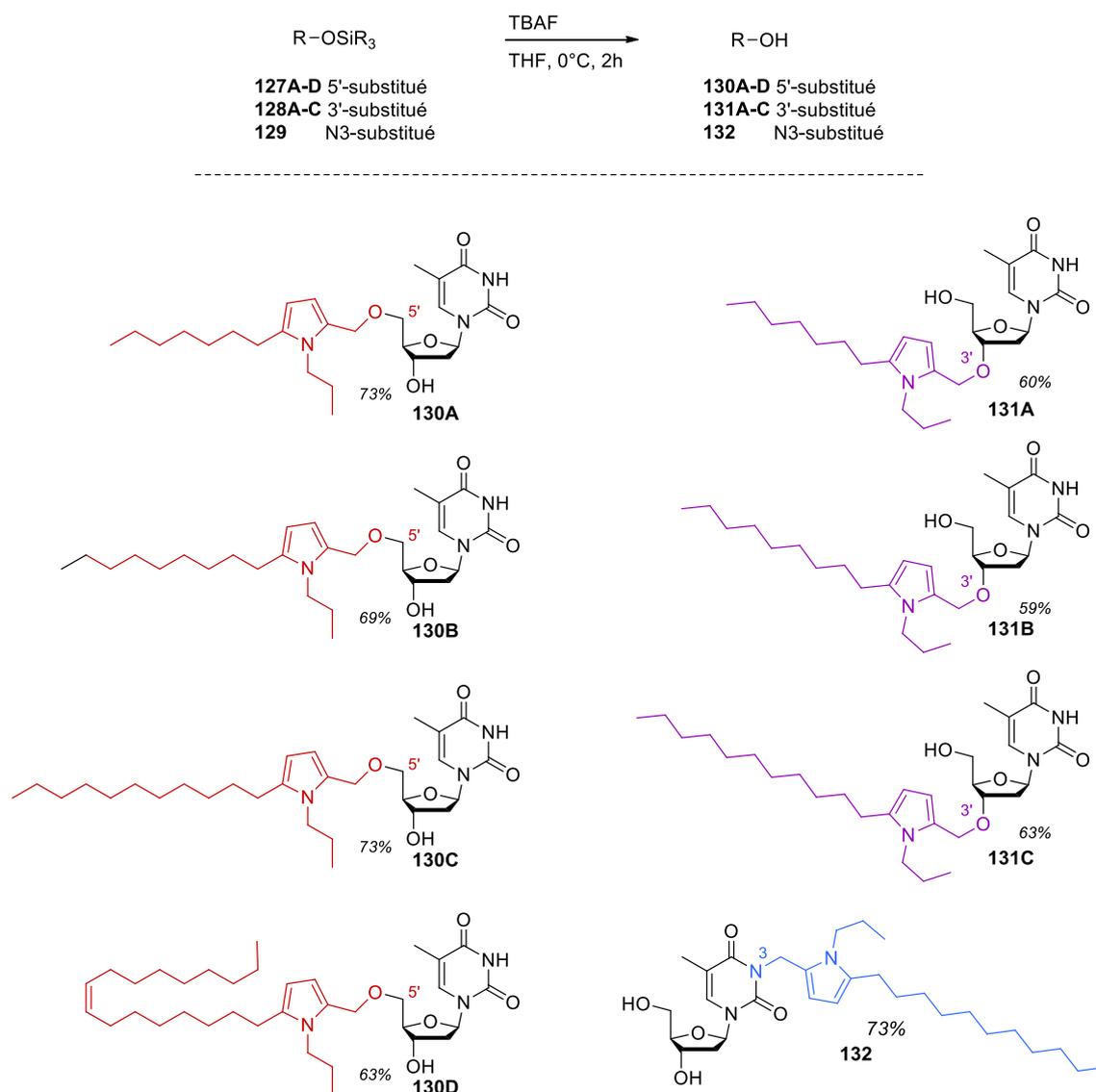


Schéma 86 - Déprotection des nucléolipides par le TBAF

dant, aucune conversion n'a été observée quelle que soit la structure du composé de départ. Seul le produit de départ a été récupéré. Ce résultat est surprenant car ce type de réaction est décrit sur de nombreux squelettes. Du tamis moléculaire a alors été ajouté au milieu réactionnel mais sans succès. D'autres conditions de réaction de type Paal-Knorr ont alors été envisagées. Des études reportent notamment l'utilisation de micro-ondes pour activer la réaction[194]. Ces conditions ont été appliquées sur le composé **96C**. Cette fois une conversion est observée, mais seul un mélange de produits de dégradation, en plus du réactif de départ, a été obtenu. Malheureusement, aucun furane n'a pu être obtenu à partir des dicétones-1,4.

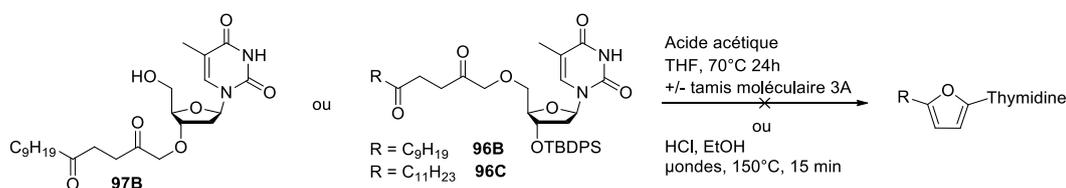


Schéma 87 - Tentatives de synthèse de furanes

VI) Synthèse de GNLs

VI.1) Première stratégie de synthèse

La faisabilité de la stratégie de synthèse développée ayant été démontrée, elle a été appliquée à la synthèse d'analogues de GlycoNucléolipides GNLs. Des composés hybrides possédant un lien pyrrole entre le nucléoside et le lipide ainsi qu'un lien triazole entre le nucléoside et le sucre ont d'abord été ciblés, pour être en mesure de comparer l'influence de l'hétérocycle aromatique sur les propriétés physico-chimiques du nucléoside. La stratégie adoptée a tout d'abord engagé un sucre protégé, introduit par une réaction de Huisgen avant de réaliser la synthèse du pyrrole par la stratégie développée précédemment. (Schéma 88).

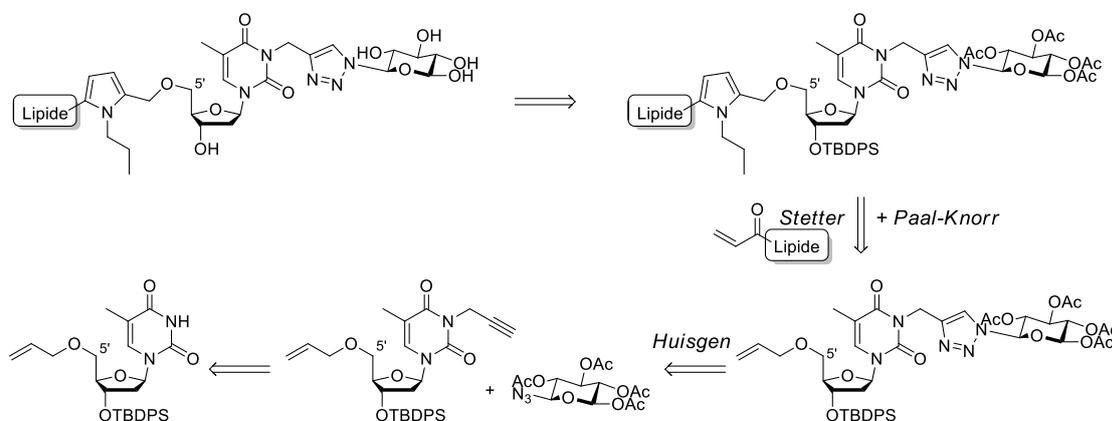


Schéma 88 - Stratégie de synthèse de GNLs hybrides

La propargylation de la position N-3 des nucléosides **58** et **57** a alors été réalisée par réaction avec le bromure de propargyle en milieu basique (Schéma 89). Cette réaction a en été réalisée par Iman Traboulsi dans le cadre de son stage de master 1. Les composés propargylés **133** et **134** ont été obtenus avec de bons rendements. Ils ont ensuite été engagés dans une cycloaddition avec une molécule de glucose acétylée et porteuse d'un groupement azoture pour conduire aux glyconucléosides **135** et **136** avec de bons rendements également.

La séquence synthétique développée pour la synthèse de nucléolipides a alors été appliquée à ces composés (Schéma 90). Le clivage oxydatif des doubles liaisons terminales a mené à la formation des aldéhydes **137** et **138** qui ont pu être engagés dans des réactions de Stetter pour former les GNLs **139** et **140**.

La formation du lien pyrrole et la déprotection ont ensuite été étudiées sur la position 5'. Les conditions de type Paal-Knorr ont permis l'accès au motif pyrrole à partir de la dicétone. Le GNL **141** ainsi obtenu a alors été placé en milieu basique pour cliver les acétates du sucre. Deux gouttes d'une solution de NaOMe à 0,5M dans le méthanol ont été ajoutées à une solution de **141** dans le méthanol (Schéma 91). La déprotection a bien eu lieu, cependant un composé très polaire a été obtenu. D'après l'analyse RMN ^1H du produit, la chaîne lipidique

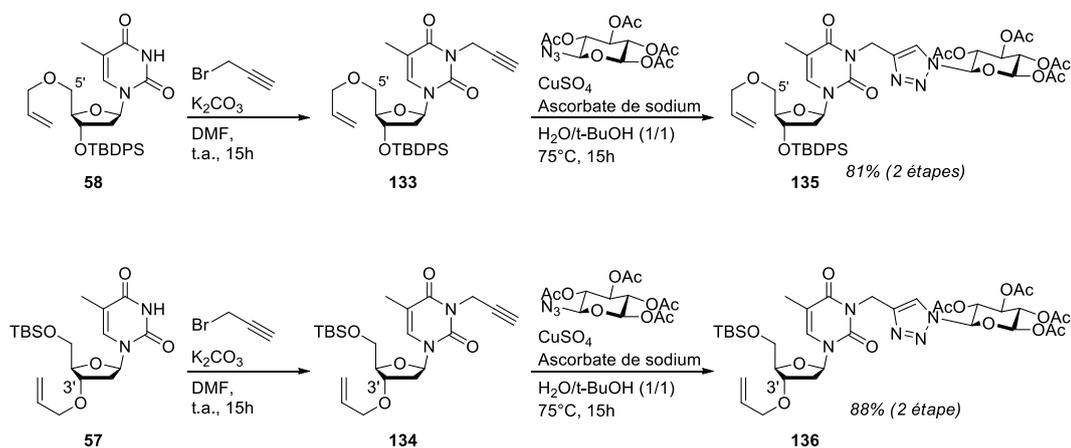


Schéma 89 - Synthèse de glyconucléosides protégés

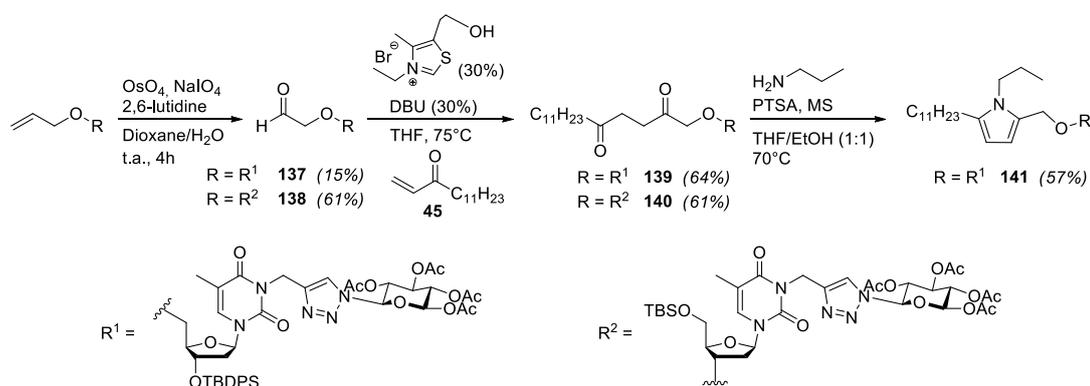


Schéma 90 - Synthèse de GNLS hybrides

a également été clivée et le produit **143** est obtenu avec un rendement de 81%. Une fois traité au TBAF, celui-ci donne le glyconucléoside **144**, récupéré en phase aqueuse. Le groupement pyrrole ne semble donc pas compatible avec les conditions de déprotection des acétates. Cependant, les produits de dégradation de la chaîne lipidique n'ont pas pu être identifiés. Lors de l'étape de déprotection des acétates, un résidu rouge a été recueilli du reste de résine servant à quencher la réaction. L'analyse RMN de ce produit n'a révélé que la présence de signaux aliphatiques.

VI.2) Seconde stratégie de synthèse

La stratégie de synthèse a alors été revue (Schéma 92). Finalement, un sucre non protégé a été utilisé pour éviter les problèmes liés aux conditions de déprotection. Il a été introduit à partir de la dicétone-1,4 **96C** avec un bon rendement de 75% pour les deux étapes de propargylation et de formation du triazole. La fonction dicétone est donc compatible avec les conditions réactionnelles permettant la cycloaddition de Huisgen. Ensuite, pour des raisons de sensibilité des motifs pyrroles observés, la déprotection de la position 3' en présence de TBAF a été réalisée avant la cyclisation de type Paal-Knorr. Le GNLS **148** a finalement été obtenu avec un rendement global de 52% en 4 étapes à partir de la dicétone-1,4 **96C**.

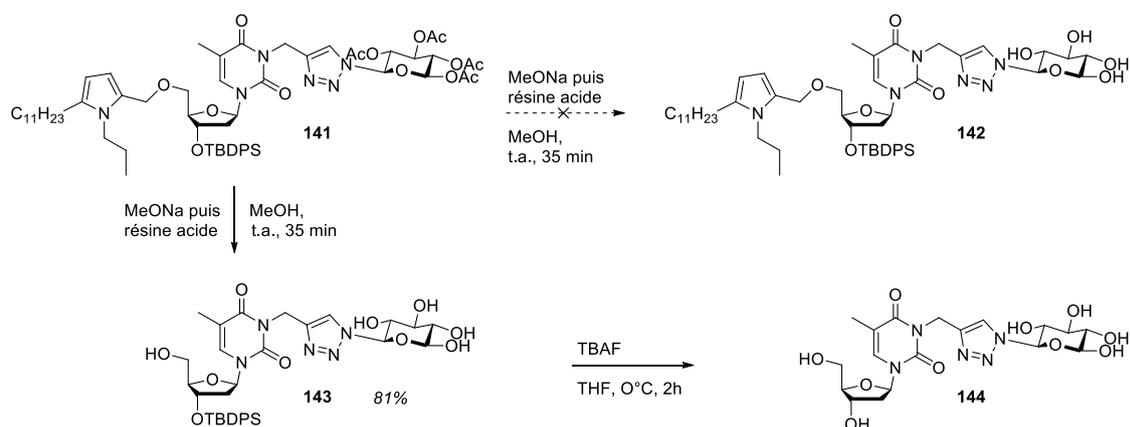


Schéma 91 - Tentative de déprotection des GNLs

En résumé, notre approche a permis l'accès à des nucléolipides originaux avec une stratégie de synthèse identique conduisant aux composés substitués en 3', 5' et sur l'azote N3. Pour la première fois, des composés portant un lien pyrrole, hétéroaromatique différent du triazole, ont été obtenus et ce, *via* une étape organocatalysée. C'est la preuve que la réaction de Stetter, bioinspirée, déjà décrite sur de nombreux substrats, peut être appliquée à des biomolécules, même sensibles. Un GNL hybride, analogue de ceux synthétisés par chimie click au laboratoire a également été obtenu.

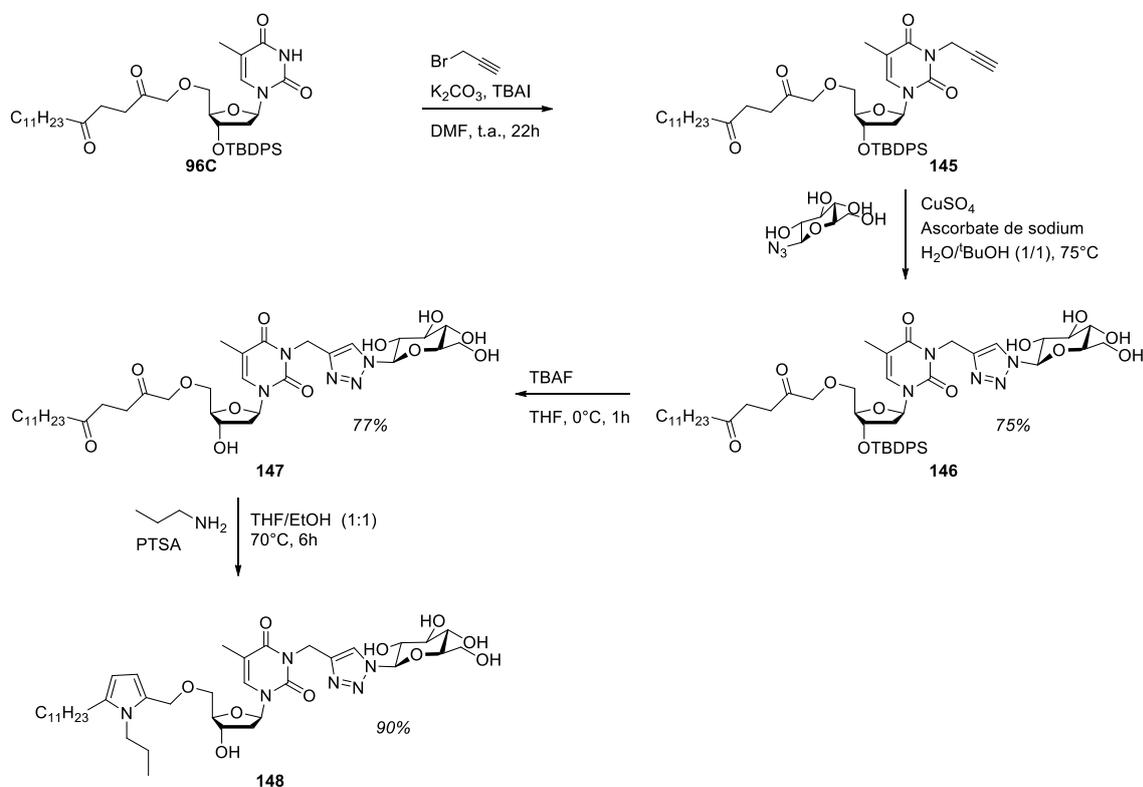


Schéma 92 - Synthèse de GNLs déprotégés

VII) Evaluation des propriétés gélatrices des nucléolipides

Des travaux antérieurs du laboratoire ayant montré l'intérêt des NLs comme gélateurs, les propriétés de gélification des molécules obtenues avec un lien pyrrole ont été étudiées (Schéma 93) par analogie avec les travaux de thèse de G. Godeau[29].

VII.1) Organogels

Suivant un protocole similaire, nos composés synthétisés ont été placés dans des solvants organiques, chauffés à une température proche de la température d'ébullition sous agitation, puis les échantillons ont été laissés revenir à température ambiante.

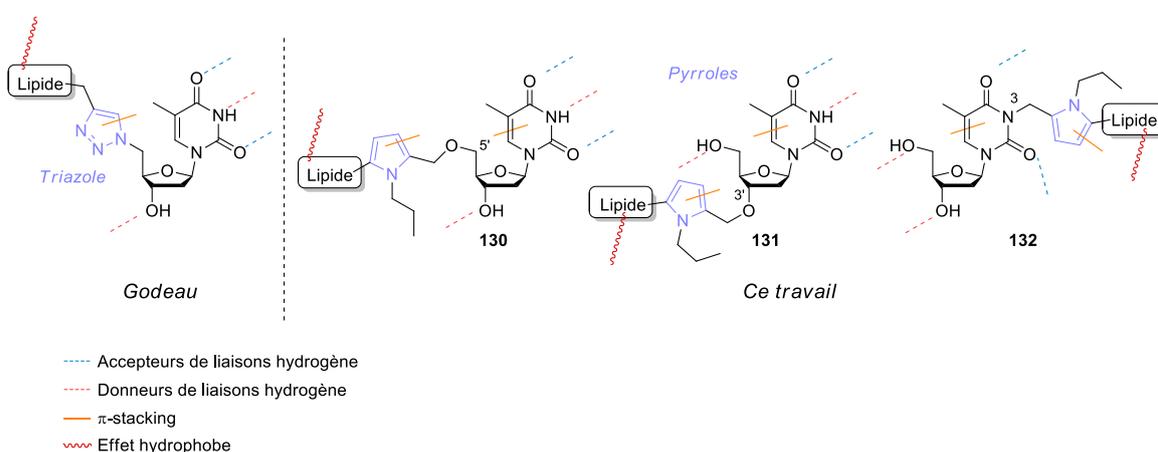


Schéma 93 - *Interactions supramoléculaires possibles des nucléolipides étudiés*

La possibilité de formation d'alcogels a notamment été explorée dans l'éthanol (tableau 11). Il est alors intéressant de relever tout d'abord le fait que la longueur de la chaîne lipidique a une influence sur la solubilité des composés. En effet, plus celle-ci est longue, plus les composés sont solubles dans l'éthanol pour les composés **131A-C** à froid, et pour les composés **130A-C** à 70°C. Ensuite, la position du lipide influe également sur les propriétés des nucléolipides. Les composés **131B-C** fonctionnalisés en position 3' sont solubles dans l'éthanol, alors que leurs analogues fonctionnalisés en position 5' **130B-C** ne le sont pas. Cependant, dans tous les cas étudiés, la formation de gels n'a pas été observée après retour à température ambiante. Le même protocole a alors été appliqué en plaçant les échantillons à 4°C après chauffage mais cela n'a apporté aucun changement de comportement. Par contre, une coloration rouge intense est observée après le temps de repos. Cela laisse supposer que les composés se sont dégradés dans les conditions présentées. De plus, les composés purs se sont colorés également au contact de l'air, rendant leur utilisation délicate. Pour cette raison, la formation d'organogels dans d'autres solvants n'a pas été testée.

NL	A	B	C	D
130A	I	I	I	I
130B	I	S	P	P
130C	I	S	P	P
130D	I	S	P	P
131A	I	S	P	P
131B	S	S	S	S
131C	S	S	S	S

S = soluble ; PS = Partiellement Soluble ; I = Insoluble ; P = Précipité ; C = Cristaux

Tableau 11 : *Etat des mélanges des nucléolipides dans l'éthanol (6% m/m) pendant les trois phases du protocole de gélation : A- à température ambiante ; B- après chauffage à 70° C ; C- après retour à température ambiante ; D- après stockage à 4° C pendant une nuit*

L'inaptitude des nucléolipides synthétisés à former des gels semble donc indiquer que le changement du type de lien a une forte influence sur leurs capacités d'assemblage supra-moléculaire. Cependant, ces résultats sont altérés par la sensibilité des pyrroles notamment à l'oxydation. De plus, l'échec rencontré lors du premier essai de synthèse du GNL **148** au moment de la déprotection des acétates du sucre a montré qu'il était possible de cliver la chaîne lipidique. Cette réaction de décomposition pourrait donc empêcher les nucléolipides de type pyrrole d'être utilisés pour la formation de gel.

VII.2) Hydrogels

L'étude des propriétés physico-chimiques du **GNL 148** a tout de même été conduite. Il se présente sous la forme d'une poudre blanche et semble moins sensible à la dégradation que les nucléolipides. Il a donc été placé dans l'eau à une concentration de 5% m/m, chauffé à 35°C puis laissé redescendre à température ambiante. Le composé n'est pas soluble à froid mais le devient à chaud. Cependant, il précipite pendant la redescente en température. La même opération a été reproduite en chauffant à 50°C entraînant la même observation. La solution a alors été chauffée à 80°C, seulement le composé n'était plus soluble. Il s'est donc probablement dégradé. Toutefois, aucun signe ne laissant penser que le mélange pourrait gélifier n'a été observé que ce soit à 35°C, 50°C ou 80°C. Le GNL possédant un lien pyrrole ne semble donc pas avoir de propriétés gélatrices.

Son analogue précurseur **147**, possédant un lien de type dicétone-1,4 a alors été étudié. En effet, il a notamment été observé un phénomène de gélation du milieu réactionnel au cours de la déprotection de la position 3' par TBAF (Schéma 92). Cette observation laisserait supposer que ce type de composé peut se révéler intéressant dans ce contexte. Suivant le

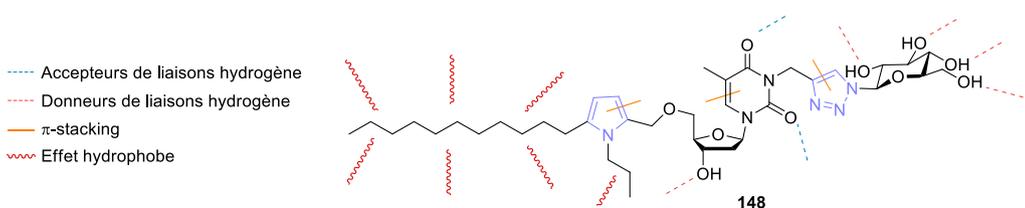


Schéma 94 - Structure du GNL 148 et interactions supramoléculaires possibles

même protocole, il a donc été placé à une concentration de 5% m/m dans l'eau puis chauffée à 60°C. Mais après retour à température ambiante, la formation de gel n'est pas observée et le produit a précipité. Le même résultat a été obtenu à 80°C. Ce protocole a également été réalisé dans le solvant de la réaction de déprotection, le THF, mais la formation de gel n'a pas été obtenue. Ce composé n'est donc pas non plus un précurseur de gel dans ces conditions. Le gel observé pendant la réaction est probablement obtenu à partir du sel de tétrabutylammonium formé avant l'hydrolyse du produit. Cependant, la dicétone-1,4 apparaît comme un type de lien intéressant pour la conception de molécules gélatrices. De plus, encore une fois, le composé ne semble pas se dégrader, contrairement à son analogue pyrrole. Finalement, aucun hydrogel n'a été obtenu à partir des GNLs hybrides synthétisés. Ce résultat montre donc que le choix de la nature du lien entre le nucléoside et le lipide a une importance capitale sur les propriétés d'organisation supramoléculaire des nucléolipides. On peut aussi supposer que le fait d'utiliser des composés hybrides, portant deux liens différents et donc moins homogènes, perturbe les interactions entre les molécules. La synthèse d'un GNL possédant deux liens de type pyrrole amènerait peut-être des réponses complémentaires à ces observations.

Conclusion

En résumé, la synthèse de nucléolipides originaux a été réalisée *via* une réaction organocatalysée bioinspirée et a permis l'introduction de liens de type pyrrole. Cette même approche synthétique a permis d'obtenir des nucléosides portant les lipides sur trois positions différentes. Des lipides variés ont été utilisés et laissent entrevoir un effet de leur nature et de leur position sur les propriétés physico-chimiques des nucléolipides. Ensuite, le fait d'utiliser la réaction de Stetter pour réaliser le couplage entre les nucléosides et les lipides permet également de synthétiser des composés bioinspirés de façon bioinspirée, organocatalysée et avec une économie d'atome totale. Cette réaction possède donc certains des critères nécessaires pour être complémentaire des réactions click comme la réaction de Huisgen. Elle a notamment montré son adéquation avec des biomolécules, les nucléosides et les lipides, composés pouvant comporter de nombreuses fonctions, pouvant se révéler fragiles et montrant une réactivité particulière. **L'optimisation des conditions réactionnelles utilisées pourrait donc permettre de considérer cette stratégie comme un complément des méthodes de conjugaison de biomolécules connues à ce jour.**

Des phénomènes de migration et une réaction secondaire inattendue impliquant potentiel-

lement les groupements protecteurs silylés ont également été mis en lumière. Cette réaction secondaire a contribué à diminuer les rendements des réactions de Stetter, mais elle représente un aspect mécanistique intéressant. Une réaction d'élimination dans un contexte d'"internal redox" dans un cas qui serait à priori défavorable sans la présence du silicium a été mise en évidence.

Par ailleurs, les dicétones-1,4 souhaitées ont pu être synthétisées avec des rendements satisfaisants, permettant l'accès au nucléolipides cibles.

Malheureusement, les NLs et GNLS originaux synthétisés n'ont pas montré une capacité à former des organogels ou des hydrogels, ce qui met en évidence l'importance de la structure du lien par comparaison avec les précédents travaux de l'équipe ChemBioPharm. La sensibilité des pyrroles s'est avérée un obstacle à leur utilisation en tant que précurseurs de gels dans les conditions testées. Nous nous sommes alors orientés vers d'autres types de formulation.

Chapitre 3

Oléogels de nucléolipides

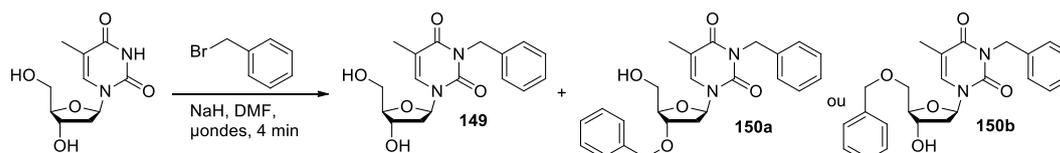
Depuis quelques années, une famille de nucléolipides plus hydrophiles, les GNLs, est développée au laboratoire. Nous avons souhaité explorer les propriétés physico-chimiques de nucléolipides plus lipophiles en incorporant un groupement benzyle comme source de π -stacking différente des motifs triazoles.

I) Exploration du potentiel organogélateur de nucléolipides lipophiles

I.1) Synthèse de Nucléolipides lipophiles benzylés

Pour augmenter les possibilités de π -stacking et faire varier la balance hydrophile/lipophile des nucléolipides, une série de nucléolipides portant un groupement benzyle a été synthétisée. Le motif benzyle a ainsi été placé sur la position N-3 de la thymidine sous activation par micro-ondes dans les mêmes conditions que précédemment décrites pour l'allylation [166](Schéma 95). Le produit **149** a été obtenu avec un rendement moyen en utilisant 1,2

équivalent d'hydrure de sodium et de bromure de benzyle. Les produits secondaires dibenzylés **150** (a ou b) ont, quant à eux, été obtenus en quantité non négligeable, diminuant de ce fait le rendement de la réaction (Tableau 12) Ces composés ont été obtenus en mélange et n'ont pas pu être séparés. Une optimisation de la réaction a été réalisée et finalement, la diminution du nombre d'équivalent de chacun des réactifs à 1 a alors permis d'obtenir le produit désiré avec un rendement quantitatif sans nécessiter de purification ultérieure.



Equivalent BrCH ₂ Ph	Equivalent NaH	Rendement 149	Rendement 150a et/ou 150b
1,2	1,2	55%	28%
1,0	1,0	≥ 95%	≤ 5%

Tableau 12 : *Optimisation des conditions de benzylation*

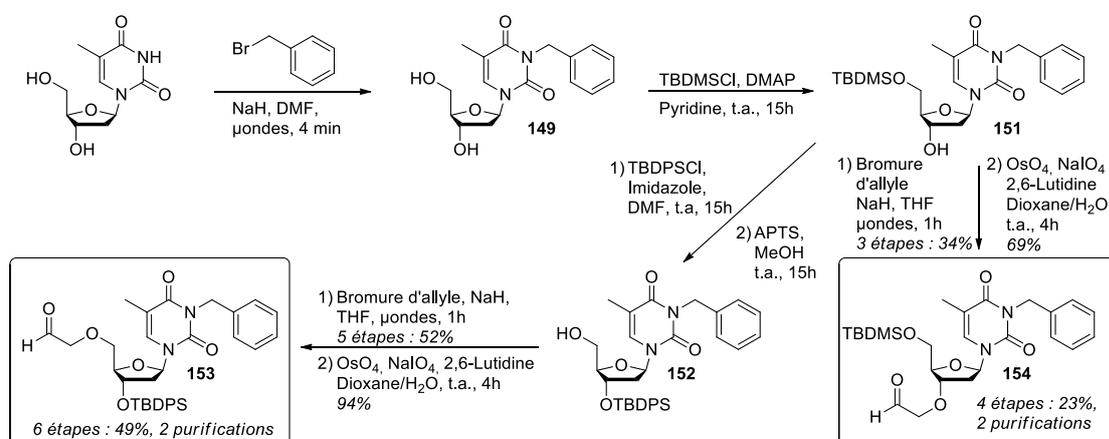
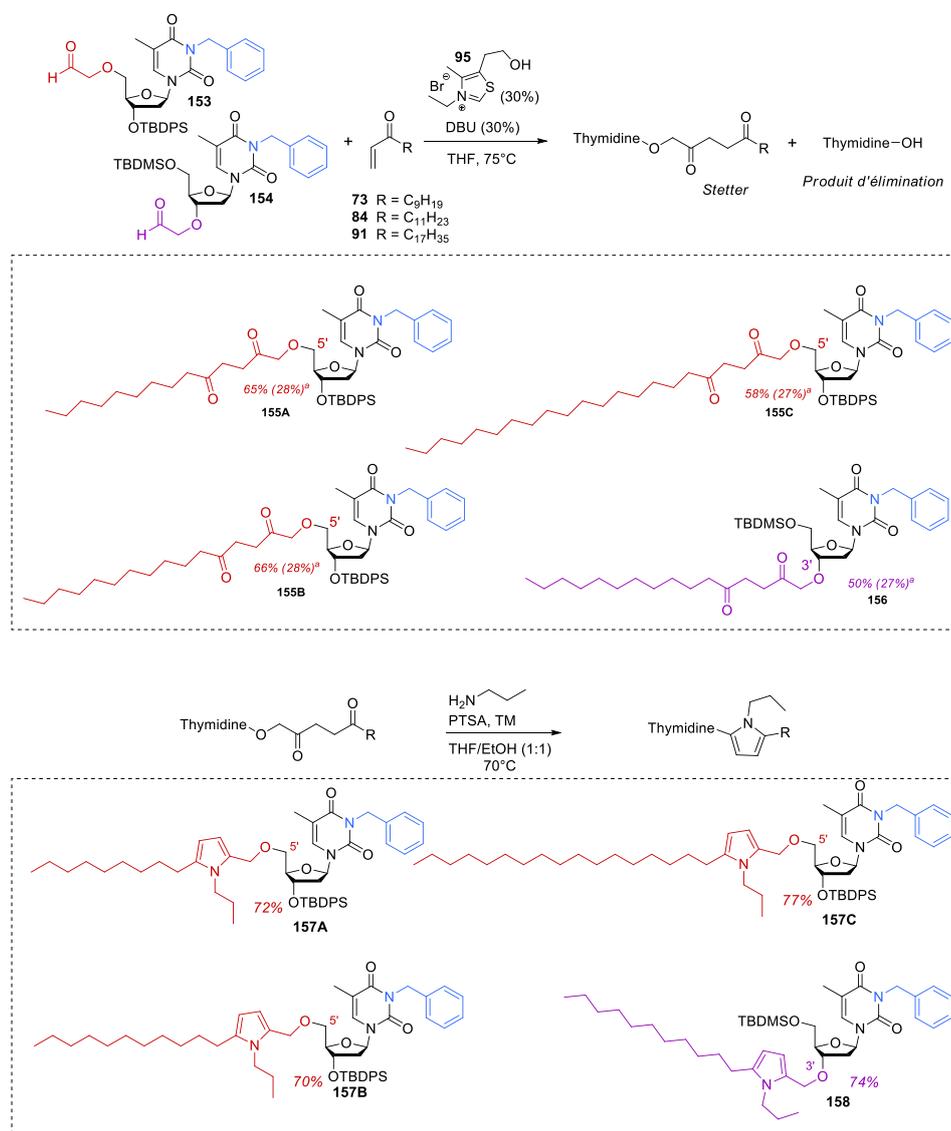


Schéma 95 - *Synthèse de nucléosides benzylés*

La stratégie de synthèse exposée au chapitre précédent a alors été appliquée pour obtenir les aldéhydes **153** et **154** (schéma 95). Il a été possible de réaliser la synthèse des précurseurs allylés sans purifier les intermédiaires, ce qui facilite la procédure de synthèse, la rend plus rapide et plus économique, tout en conduisant à des rendements équivalents ou améliorés. En effet, en purifiant chaque intermédiaire, des rendements globaux de 21% et 24% ont été obtenus pour la synthèse des aldéhydes **153** et **154** respectivement, contre 49% et 23% sans purification.

Ces aldéhydes ont alors pu être engagés dans des réactions de Stetter puis de Paal-Knorr pour former une nouvelle famille de nucléolipides benzylés (Schéma 96). Des rendements

satisfaisants, similaires à ceux observés pour la synthèse des nucléolipides non benzylés, ont alors été obtenus.

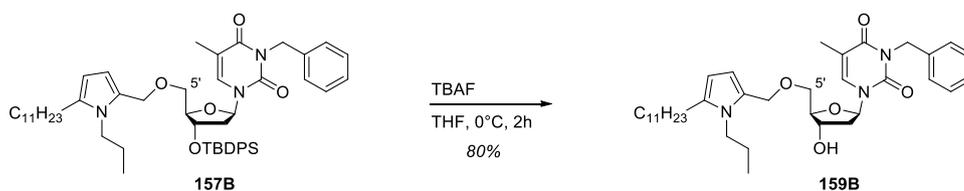


a. Rendements en produits issus de l'élimination de type « internal redox » entre parenthèse

Schéma 96 - Synthèse de nucléolipides benzylés par la séquence Stetter (haut)/Paal Knorr (bas)

Comme dans les cas précédents, la formation du produit issu de l'élimination suivant un processus d'"internal redox" de Stetter a été observée avec des rendements similaires comparé à la série non benzylée (Schéma 96, rendement entre parenthèse). Le composé **157B** a ensuite été déprotégé par le TBAF avec un rendement de 80% pour donner le nucléolipide benzylé **159B** (Schéma 97). Il a donc été obtenu en 9 étapes avec un rendement global de 18%.

Les rendements globaux étant un peu meilleurs, la déprotection du groupement benzyle dans le but d'obtenir des nucléolipides de la première série à partir de cette famille de composé a également été tentée. Le clivage du groupement benzyle n'a pas été possible malgré plusieurs stratégies envisagées. Tout d'abord, le formiate d'ammonium a été utilisé

Schéma 97 - Déprotection de **157B**

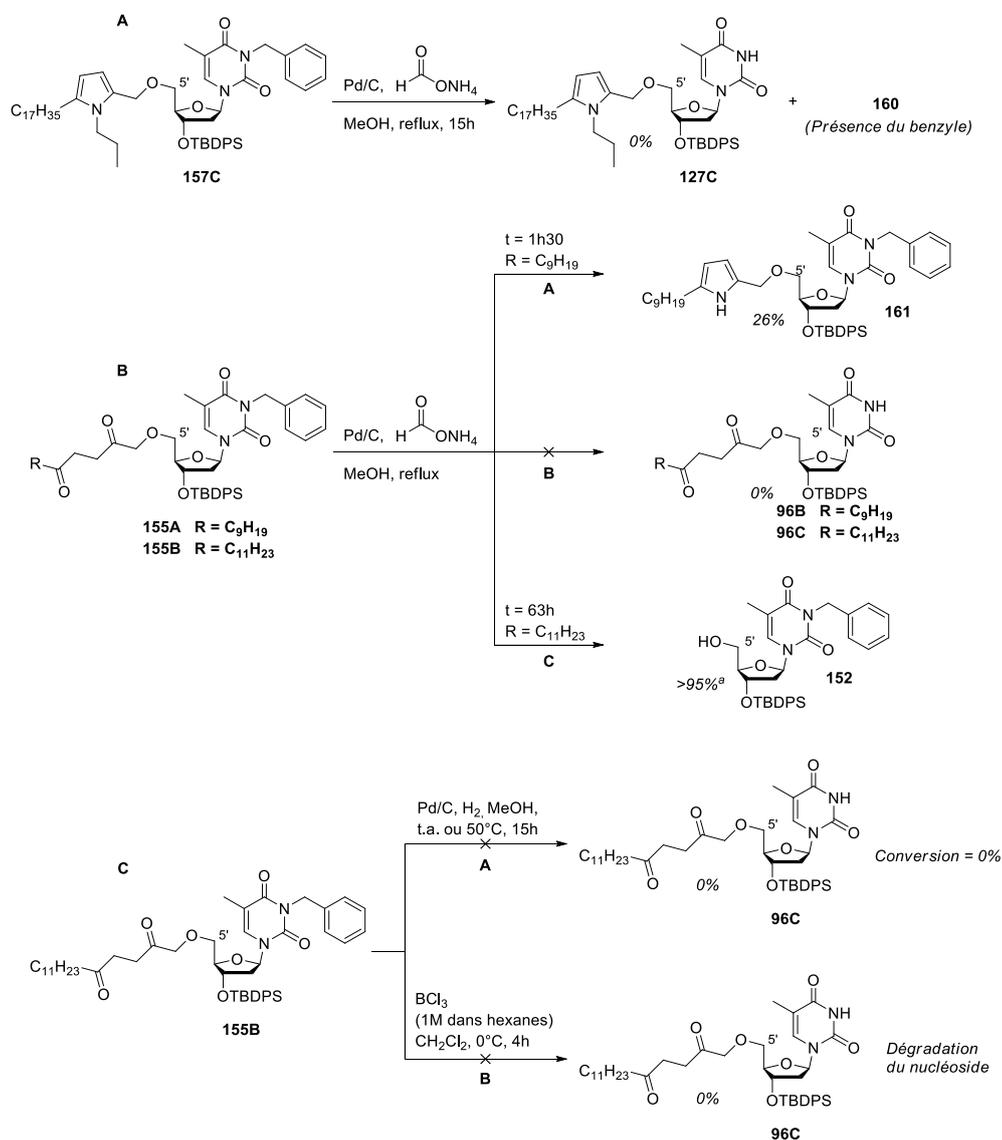
en présence de palladium sur charbon (Schéma 98A). Cependant, ces conditions n'ont pas conduit à la formation du produit **127C** attendu, mais à celle d'un composé benzylé **160** dont la structure n'a pas été élucidée. En RMN ^1H , les signaux correspondant à la chaîne aliphatique et au motif pyrrole ne sont plus visibles, suggérant un clivage au niveau du pyrrole.

Afin d'éviter la dégradation du pyrrole, ces mêmes conditions ont été appliquées sur les intermédiaires dicétone **155A-B**. Mais cette fois encore, la formation des produits **96B-C** n'a pas été observée (Schéma 98B, voie B). Avec un temps de réaction court (1h30), le formiate d'ammonium agit comme source d'amine plutôt qu'agent de transfert d'hydrogène et permet de ce fait de former le dérivé pyrrole **161** (voie A). A l'inverse, un temps de réaction long (63h) mène à la formation du produit d'élimination **152** de façon presque quantitative d'après la RMN du produit brut (voie C). Il semblerait donc que le formiate d'ammonium conduise tout d'abord à la formation du pyrrole, puis à sa dégradation pour donner le produit **152**. Par contre, alors que le pyrrole **161** conduit à la formation de **152**, le pyrrole **157C** conduit à un produit différent. La substitution du pyrrole est donc un facteur déterminant lors de la dégradation de ces nucléolipides.

D'autres conditions de déprotection ont par la suite été appliquées sur l'intermédiaire dicétone **155B**. Or, aucune conversion n'a pu être observée en présence de dihydrogène et de palladium sur charbon (Schéma 98C, voie A). De plus, l'utilisation de trichlorure de bore a conduit à la dégradation de la partie nucléosidique de la molécule (voie B) et n'a donc de ce fait pas été envisagée. Du fait du faible intérêt de cette déprotection en termes de stratégie de synthèse, aucune autre condition n'a été testée. Ces résultats montrent néanmoins une réactivité particulière du groupement benzyle qui n'est pas sensible aux méthodes de déprotection usuelles. Il est donc finalement très robuste, ce qui représente un avantage en termes de stabilité. Les nucléolipides benzylés en position N-3 en mains, leurs capacités de gélation ont été évaluées pour la formation d'organogels.

I.2) Essais de formation d'organogels

Les composés benzylés en position N-3 présentent des opportunités supplémentaires d'interaction par π -stacking par rapport aux nucléolipides présentés dans le chapitre précédent,



a. rendement obtenu sans purification, basé sur la RMN ^1H du produit brut.

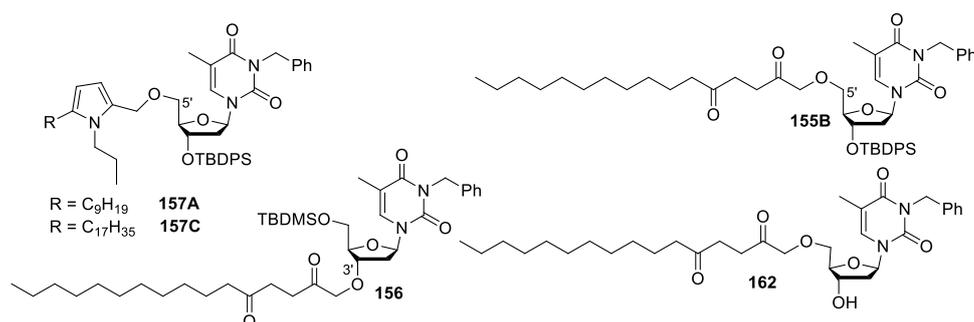
Schéma 98 - Tentatives de déprotection du groupement benzyle

et sont plus lipophiles. Cependant, l'azote de la base n'étant plus libre, ils ont une possibilité en moins d'interaction par liaison hydrogène. L'influence de ces paramètres sur les capacités d'organogélation des composés a été investiguée.

I.2.1) Cas des Nucléolipides protégés

Tout d'abord, les composés protégés **157A** et **157C** ont été utilisés (Tableau 13). Dans les deux cas, les composés se sont révélés solubles dans la quasi-totalité des solvants, les seules exceptions étant le méthanol et l'éthanol. Dans ceux-ci, nous pouvons toutefois remarquer que la longueur de la chaîne lipidique influence le paramètre de solubilité puisque **157A** est soluble dans l'éthanol alors que **157B** ne l'est pas. Par contre, ces deux composés possédant des liens pyrroles ont été sujets à la dégradation et une coloration de la solution a été observée

après chauffage et redescende de la température. Les précurseurs **155B** et **156** ayant des liens de type dicétone-1,4, accepteurs de liaisons hydrogène potentiels, ont alors été étudiés. Ils se sont révélés plus stables et peuvent être récupérées après évaporation des solvants. Par contre, ces composés n'ont pas mené à la formation d'organogels dans les solvants utilisés. De même que pour le cas des pyrroles, ces composés sont solubles dans la plupart des solvants. Ce résultat provient très probablement du fait que ces composés ne possèdent pas de caractère amphiphile puisque les alcools et la nucléobase sont protégés. Ils nous renseignent cependant sur le comportement des liens pyrroles et dicétones, les derniers étant plus stables pendant le protocole de tentative de gélification.



Solvant	157A			157C			155B			156			162			
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
MeOH	I	S	P	I	I	I	PS	S	P	PS	S	S	S	S	S	S
EtOH	S	S	S	I	S	P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
i-PrOH	S	S	S	PS	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-
n-BuOH	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-
Toluène	PS	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-
Pentane	S	S	S	S	S	S	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-
THF	S	S	S	S	S	S	-	-	-	S	S	S	S	S	S	S
MeCN	S	S	S	S	S	S	S	S	S	PS	S	S	S	S	S	S
CHCl ₃	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-
Dioxane	S	S	S	S	S	S	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-
Hexanes	S	S	S	S	S	S	I	S	P	S	S	S	-	-	-	-
Acétone	S	S	S	S	S	S	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-
Et ₂ O	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-
EtOAc	S	S	S	S	S	S	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-
Ether de pétrole	S	S	S	S	S	S	-	-	-	PS	S	S	-	-	-	-
Miglyol [®] 812N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	S	C	-

S = soluble ; PS = Partiellement Soluble ; I = Insoluble ; P = Précipité ; C = Cristaux

Tableau 13 : *Etat des mélanges des nucléolipides dans différents solvants organiques (8% m/m) pendant les trois phases du protocole de gélification : A- à température ambiante ; B- après chauffage à température d'ébullition ; C- après retour à température ambiante*

I.2.2) Cas Nucléolipides déprotégés : propriétés oléogélatrices

Le nucléolipide benzylé déprotégé **162**, portant un lien de type dicétone-1,4, a donc ensuite été étudié. Il a été obtenu à partir du composé **155B** par désilylation en présence de TBAF avec un très bon rendement de 98% (Schéma 99). Ses propriétés de gélation ont été testées dans différents solvants organiques usuels mais aucun d'eux n'a mené à la formation d'un gel (Tableau 13). Le dérivé déprotégé possède une meilleure solubilité dans les alcools, sans doute grâce à la présence du groupement hydroxyle en 3', et se retrouve finalement soluble dans les solvants classiques testés. L'utilisation du Miglyol[®] 812N, une huile utilisée pour la formulation de certains produits pharmaceutiques, a alors été envisagée. La formation d'un solide blanc se propageant au sein de l'échantillon a été observée. Le mélange initialement limpide devient alors en partie opaque, très visqueux et s'écoule lorsque le tube est retourné. Il ne s'agit donc pas d'un gel, mais il semble toutefois que la molécule se soit en partie organisée.

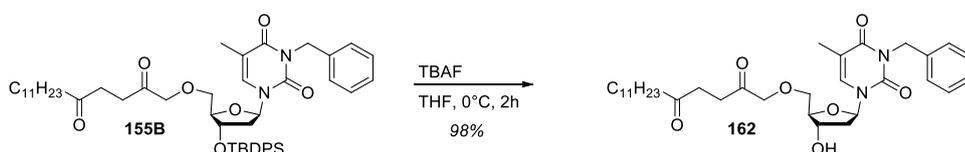


Schéma 99 - Déprotection de *155B*

L'influence de la position du groupement benzyle sur ce phénomène a donc été étudiée. Celui-ci a été introduit en position 3' par activation micro-ondes à partir du nucléoside **54** dans le but d'obtenir le nucléolipide **163** (Schéma 100). La déprotection du groupement TBDMS a pu être réalisée en milieu acide directement sur le produit brut. Un rendement de 81% a été obtenu pour ces deux étapes. L'allylation de la position 5' a alors été réalisée avec un rendement de 87%. Nous pouvons remarquer que, dans ce cas, un meilleur rendement est obtenu par rapport aux composés silylés décrits dans le chapitre 2. Cela est dû au fait qu'aucun produit de migration n'est observé, ce qui corrobore l'hypothèse de l'activation par assistance électrophile par le silicium proposée. En effet, le seul produit secondaire obtenu est le produit bis-allylé (en positions 5' et N-3). L'allyl **165** a alors été engagé dans une oxydation de type Johnson-Lemieux pour donner l'aldéhyde **166** avec un rendement optimal de 94%. Il est à noter que le motif benzyle a par contre montré une certaine sensibilité aux conditions d'oxydation. Si le temps de réaction est allongé d'une heure, le rendement descend à 79%, et s'il est allongé de deux heures, il est drastiquement réduit à la valeur de 57%. Cette sensibilité peut représenter une difficulté lors de la synthèse de l'aldéhyde sur de plus grande quantité, qui demande alors un temps de réaction plus long. Pour pallier cet inconvénient, plusieurs lots de réaction ont été réalisés dans des quantités plus faibles (< 1g), puis combinés avant de réaliser le traitement final de la réaction.

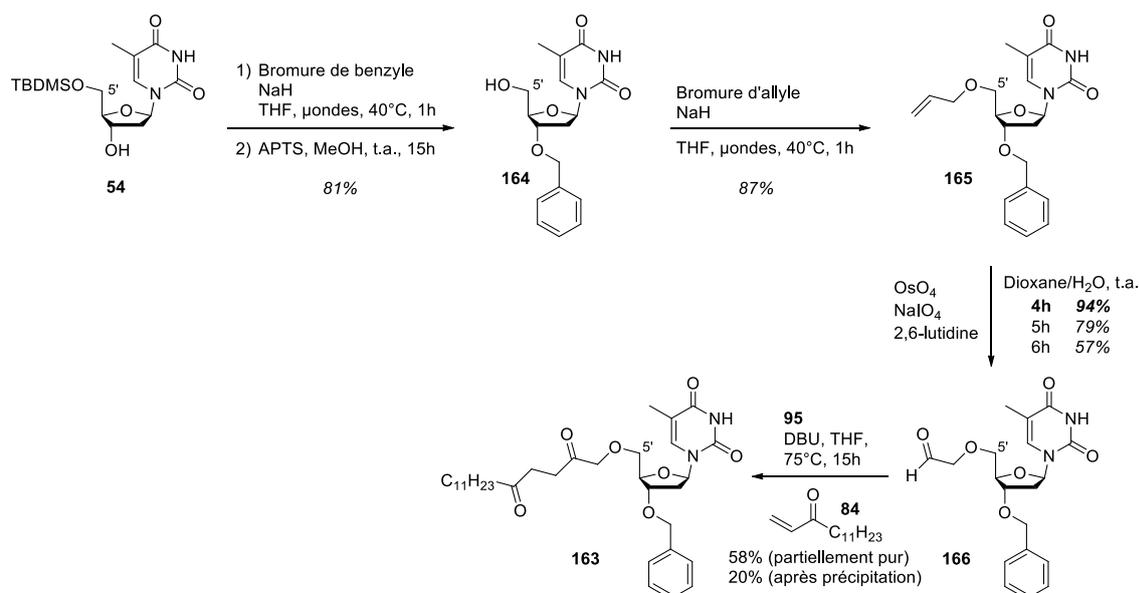


Schéma 100 - Synthèse de l'analogue benzylé en position 3'

L'aldéhyde **166** a ensuite été engagé dans une réaction de Stetter avec l'énone **84** pour conduire au nucléolipide **163**. Un rendement moyen de 58% a alors été obtenu et le produit reste en mélange avec un produit secondaire, inséparable par colonne de silice. Ce sous-produit n'a pas pu être isolé et n'a donc pas été identifié. Cependant, il semble qu'une réaction secondaire, différente de celle décrite avec les dérivés silylés, soit en compétition avec la réaction de Stetter et contribue à diminuer le rendement. Pour obtenir le produit pur, une cristallisation, tout d'abord par évaporation lente de dichlorométhane, a été tentée sans succès. L'ajout de pentane dans une solution d'acétate d'éthyle contenant le produit a alors été réalisé. Malheureusement, la cristallisation n'a dans ce cas non plus pas été observée mais la précipitation d'une poudre blanche a été obtenue. Après filtration, celle-ci s'est révélée être le produit pur après analyse RMN et spectrométrie de masse. Plusieurs précipitations successives ont été réalisées et un rendement faible de 20% a pu être atteint. Jusqu'à présent, aucune technique de purification n'a donné de résultat plus satisfaisant. Une optimisation des conditions de purification serait donc nécessaire pour améliorer le protocole. En collaboration avec le Professeur Sylvie Crauste-Manciet du pôle galénique de notre équipe, la capacité de gélotion du dérivé benzylé **163** a été testée dans le Miglyol[®] 812N et l'huile de soja de qualité pharmaceutique. Le nucléolipide a été placé dans celles-ci de sorte à obtenir une concentration de 5% m/m, chauffé sous agitation jusqu'à dissolution, à 70°C et 90°C respectivement, puis laissé redescendre à température ambiante. Dans les deux cas, la formation d'un gel opaque a alors été observée en environ 4 minutes (Figure 18). Lorsque le tube est retourné il ne s'écoule pas, prouvant son comportement solide. Pendant la gélotion, l'apparition de points opaques qui se propagent ensuite dans tout l'échantillon a pu être observée, suggérant un processus de nucléation.



Figure 18 - Oléogel formé par **163** (5% m/m) A- dans le Miglyol[®] 812N B- dans l'huile de soja

La concentration minimale de gélification (CMG) a été déterminée par dilution d'un échantillon à partir d'une concentration de 5% m/m du nucléolipide **163** dans le Miglyol[®] 812N (Tableau 14). Le moment à partir duquel des points de nucléation ont été observés (début de la nucléation), puis le moment à partir duquel aucune évolution n'a été observée et que le gel s'est formé (fin de la nucléation) ont été relevés. Un impact important sur le temps de gélification a alors été remarqué. Alors que la nucléation a commencé à partir de 3 minutes pour se finir 1 minute plus tard à 5% m/m, ces temps ont augmenté de façon significative jusqu'à atteindre 11h pour une concentration de 1,9% m/m. En dessous de cette concentration, la formation d'objets blancs a été observée mais le mélange obtenu s'écoule si le tube est retourné. La CMG a donc été définie à 1,9%.

Concentration	m _{Miglyol[®]812N} (mg)	Début de la nucléation	Fin de la nucléation
5%	120	3 min	4 min
4%	150	15 min	30 min
3%	200	50 min	3h 40 min
2%	300	3 h 45 min	7 h
1,9%	210	4 h	11 h
1,8%	222	5 h	-
1%	600	23 h	-

Tableau 14 - Détermination de la CMG pour le mélange **163** dans Miglyol[®] 812N

Le type de gel obtenu possédant une phase liquide huileuse, alors appelé oléogel, présente un intérêt grandissant pour le domaine pharmaceutique. Nous nous sommes donc intéressés à cette propriété étonnante du nucléolipide **163**

II) Oléogels de nucléolipide lipophile

Les oléogels sont un type d'organogel particulier[196] et se distinguent des autres gels par la nature de la phase liquide qui est une huile plutôt qu'un solvant organique. Cette phase

est alors plus complexe car les huiles sont souvent composées d'un mélange de molécules, les principales étant les triglycérides qui peuvent avoir des longueurs de chaîne différentes. Ils résultent de l'addition de trois acides gras sur une molécule de glycérol. On y trouve également, en plus faible quantité, des diglycérides, des monoglycérides et des acides gras[197]. La composition des huiles peut donc varier suivant leur nature et leur provenance, ce qui représente de nombreuses opportunités d'optimisation des formulations réalisées. Dans le cas du Miglyol[®] 812N, l'huile est composée de triglycérides à chaîne moyenne (TCM). Dans certains cas, l'introduction en faible quantité de molécules extérieures, alors dites oléogélatrices, entraîne la formation d'un réseau organisé en trois dimensions qui confère au mélange les propriétés physiques d'un gel[198]. Pour être considéré comme tel, il doit être composé en majorité de la fraction liquide tout en possédant les caractéristiques d'un solide, le réseau supramoléculaire formé piégeant alors la phase liquide. De plus, il doit avoir une microstructure continue et une macrostructure stable dans l'échelle de temps d'une expérience.

II.1) Les oléogels : des biomatériaux pour le domaine pharmaceutique

Les oléogels ont éveillé un grand intérêt ces dernières années, notamment pour le développement de nouvelles textures dans le domaine agroalimentaire[199]. Ils représentent une alternative de choix pour réduire la quantité des graisses considérées comme « mauvaises pour la santé » tout en conservant des caractéristiques physico-chimiques performantes, une bonne biocompatibilité et des caractéristiques gustatives intéressantes. Cependant, les normes agroalimentaires strictes réduisent considérablement le nombre de molécules gélatrices qu'il est possible d'utiliser. Ensuite, tout comme les autres organogels, les huiles gélifiées ont un intérêt pour le développement de formulations dans les domaines biomédical et pharmaceutique, en particulier pour des applications de type transdermales, parentérales et orales[200]. En effet, l'utilisation d'une phase lipophile plutôt qu'aqueuse permet d'améliorer la diffusion des principes actifs au travers des « barrières lipidiques » du corps humain. Les exemples d'oléogels sont moins nombreux que les autres organogels existants, mais ils possèdent l'avantage de conférer une meilleure biocompatibilité aux formulations avec l'utilisation par exemple d'huiles approuvées par la pharmacopée européenne. Leur utilisation s'est donc révélée très pertinente dans le cadre du développement d'organogels pour la délivrance de molécules thérapeutiques. La présence de lipides dans l'huile permet alors une bonne dispersion de molécules liposolubles et améliore leur biodisponibilité en apportant une protection contre la dégradation et en favorisant l'absorption vers le système sanguin. Ils sont aussi pour la plupart thermoréversibles. Ces gels offrent donc des perspectives remarquables pour le développement de formulation complémentaires à celles réalisées sur la base d'hydrogels.

II.2) Familles d'oléogélateurs et structure microscopique

De façon analogue aux hydrogels et aux autres organogels, les oléogels sont en général formés par dissolution de la molécule gélatrice à chaud, suivie d'une redescende en température permettant l'auto-organisation d'un réseau tridimensionnel qui va maintenir le matériau et lui conférer un caractère solide. Les températures de dissolution et de refroidissement constituent alors un premier facteur d'optimisation des propriétés des huiles gélifiées. Celles-ci sont en général classées tout d'abord en deux grandes catégories, en fonction de la taille des molécules gélatrices, tout comme les hydrogels. On retrouve donc des gels contenant des molécules organogélatrices dites de masse moléculaire importante (*High Molecular mass OrganoGelator*, HMOG, $M > 3000$ Da) ou faible (*Low Molecular mass OrganoGelator*, LMOG, $M < 3000$ Da)[201][197]. Dans chacun des cas, des exemples pertinents ont été développés, mais étant donné la complexité des systèmes formés, les mécanismes de formation des oléogels restent difficiles à prédire et leur développement provient principalement d'exemples de sérendipité. C'est d'ailleurs le cas de notre étude. Etant donné qu'il s'agit d'une petite molécule, notre attention sera ici portée essentiellement aux LMOGs. Ceux-ci peuvent ensuite être classés suivant le type de structure tridimensionnelle qu'ils adoptent au sein du gel. Deux types d'architecture supramoléculaire sont principalement reportées : cristalline ou fibrillaire[197].

Parmi les molécules gélatrices les plus communes, on retrouve tout d'abord principalement des lipides comme les acides et alcools gras ou les phospholipides qui forment des systèmes cristallins. Les stérols et les céramides forment quant à eux préférentiellement des réseaux fibrillaires. Certains triglycérides conduisent également à des gels cristallins, alors que des monoglycérides conduisent préférentiellement à la formation de fibres. Des molécules issues de familles proches, possédant des similarités structurales, peuvent donc adopter des comportements différents. De la même manière, l'acide hydroxystéarique est connu pour former des fibres[202], alors que l'acide stéarique adopte une structure cristalline[203][204] (Figure 19). La simple présence d'un groupement hydroxyle suffit donc à changer l'organisation supramoléculaire de ce lipide. Le dérivé hydroxylé présente d'ailleurs l'avantage d'induire une gélation à une concentration minimale de 0,5%, ce qui représente la valeur minimale pour un système fibrillaire[202]. Une approche intéressante a également montré la possibilité d'altérer la microstructure du gel obtenu en modifiant la méthode de préparation, et notamment la vitesse de refroidissement[205]. A 30°C/min des cristaux à structure rayonnante, appelés sphérolites, sont obtenus (Figure 19A), alors qu'un réseau de fibres est obtenu à 1°C/min (Figure 19B).

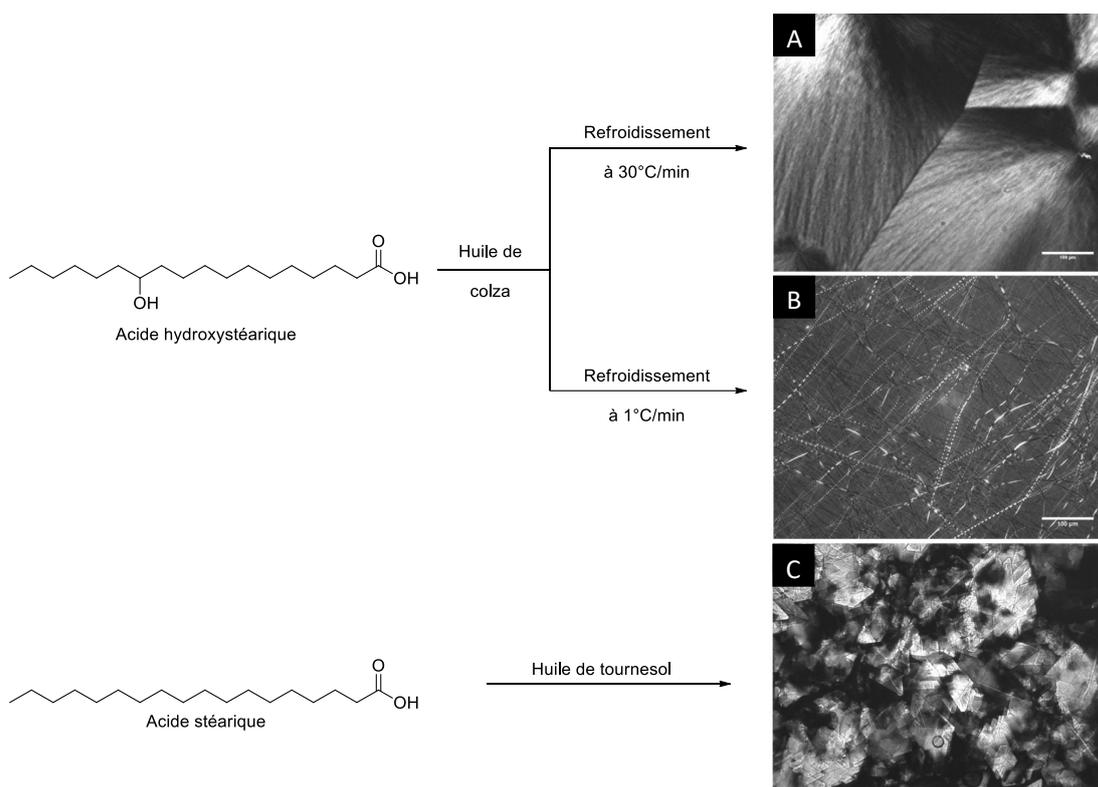


Figure 19 - Structure microscopique des oléogels d'acides stéarique et hydroxystéarique en fonction du processus de gélation et de l'huile

Ces observations laissent donc deviner que chaque partie de la structure du LMOGs considéré, ainsi que le procédé utilisé, peuvent avoir une influence importante sur le type de gel et sur ses propriétés, même dans le cas de molécules simples. En effet, l'étude de l'influence de la longueur des chaînes aliphatiques des acides gras montre par exemple que l'augmentation de la longueur du lipide augmente la température de liquéfaction du gel, jusqu'à un certain palier[203] (Figure 20). Il est donc possible de faire varier, et subséquemment d'optimiser finement les propriétés des oléogels en apportant des variations structurales sur les LMOGs.

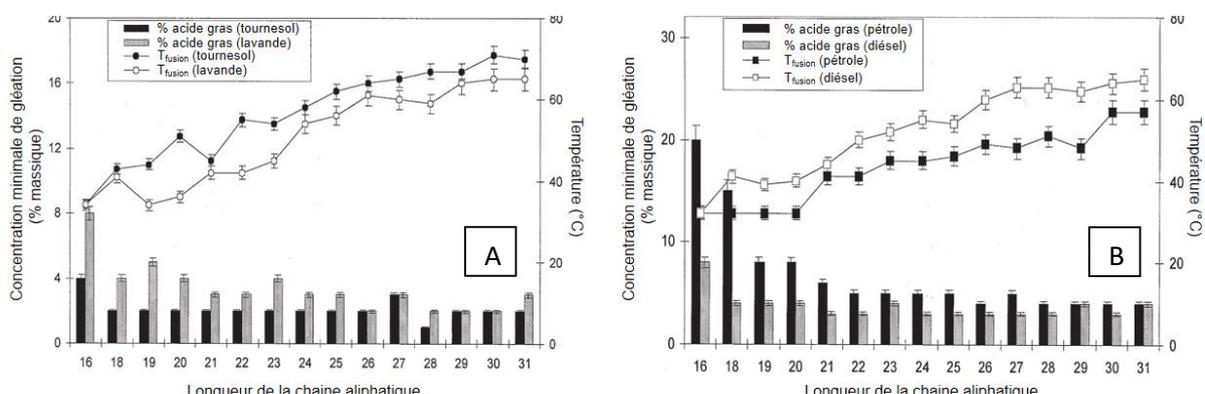


Figure 20 - Evolution de la concentration minimale de gélation et de la température de fusion des gels en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique A- pour des gels d'huile de tournesol et d'huile de lavande ; B- pour des gels de pétrole et de diésel

D'autres types de composés à chaînes grasses ont alors été considérés pour leurs propriétés gélatrices. Des gels thixotropes ont notamment été développés par Ohstedo à partir d'alkylamide[206]. Pour cela, un mélange 1/1 m/m de Behenamamide et d'Erucamide, deux alkylamides à chaîne longue, a été utilisé (Schéma 101).

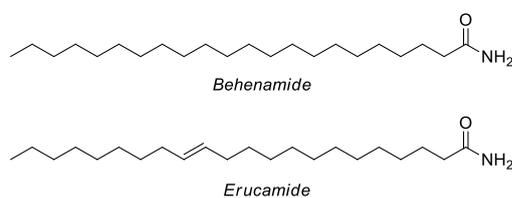


Schéma 101 - Structures de la Béhénamide et de l'Erucamide

Il s'agit de molécules simples et commerciales, ce qui représente un avantage important pour le développement d'éventuelles formulations à grande échelle. Ce mélange a permis la gélification de l'huile d'olive à une concentration de 2% m/m et l'encapsulation de la phénazone, un composé reconnu pour ses propriétés analgésiques et antipyrétiques. Le relargage dans l'eau de la molécule active piégée dans le gel au bout de 7h est alors de 30% (Figure 21A), alors qu'il atteint 60% (Figure 21B) pour une solution d'huile d'olive fluide.

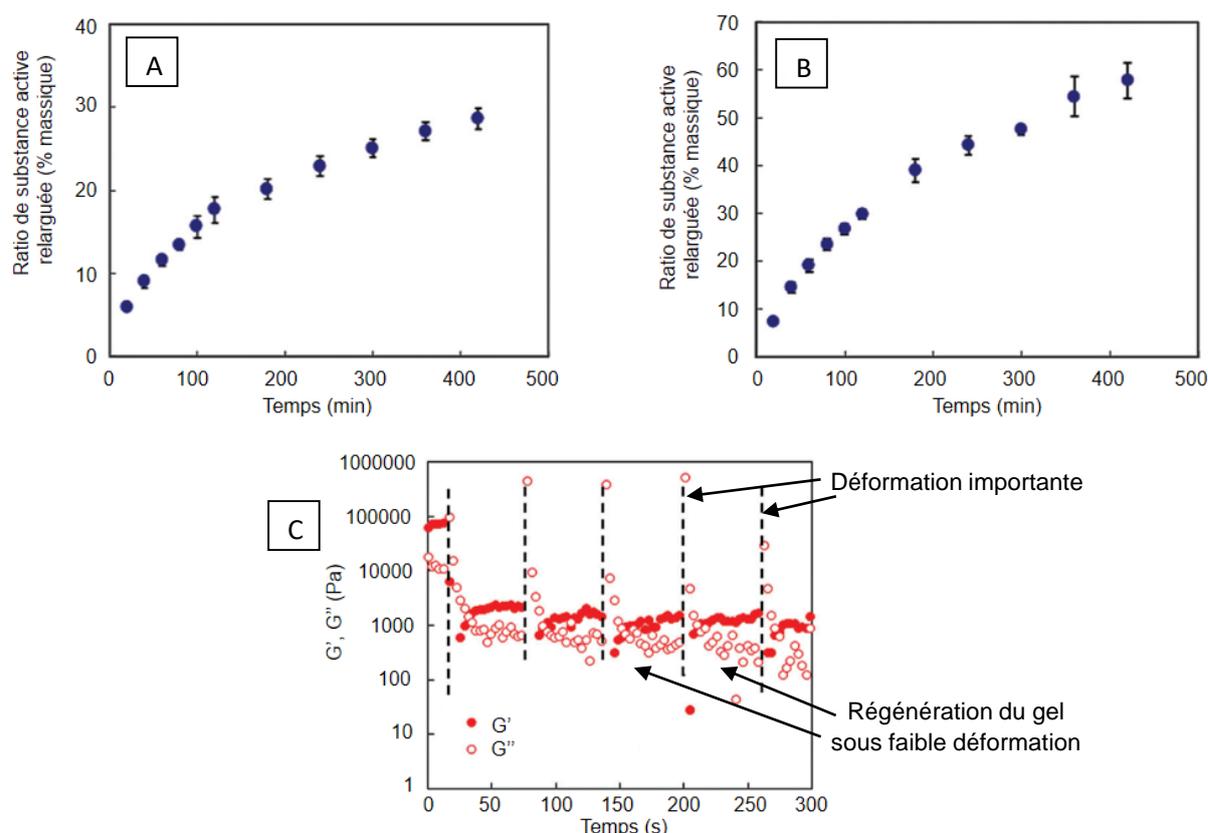


Figure 21 - Relargage dans l'eau d'antipyrine A- depuis l'oléogel ; B- depuis une solution d'huile d'olive (0,5 % massique). C- Evolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction du temps lors d'une expérience de thixotropie

En plus du caractère thixotrope du gel et de la simplicité des composés utilisés, ce résultat fait de cette formulation un exemple prometteur pour la délivrance retardée et contrôlée de

substances actives. Toutefois, il est à noter que même si ce gel est qualifié de thixotrope, une baisse importante des modules G' et G'' est observée après la reformation du gel faisant craindre une fragilité pour de futures applications.

D'autres familles de molécules oléogélatrices, permettant de mettre en jeu des types d'interactions supramoléculaires différentes lors de la formation des réseaux tridimensionnels, ont également été développées. Des associations de molécules naturelles avec des lipides permettent de former des molécules amphiphiles dont la tête polaire apporte une originalité structurale. On retrouve notamment des acides aminés greffés sur une chaîne lipidique, capables d'interagir par liaisons hydrogène[207]. Certains dérivés de sucres se sont de même révélés intéressants[197][199], en particulier des dérivés du D-sorbitol et du D-mannitol[208]. Dans cet exemple, des chaînes lipidiques ont été introduites sur les alcools situés aux extrémités des formes ouvertes des sucres (Schéma 102). Ces glycolipides ont alors été capables de former des gels dans différents milieux à des concentrations allant de 5% à 1% (Tableau 15).

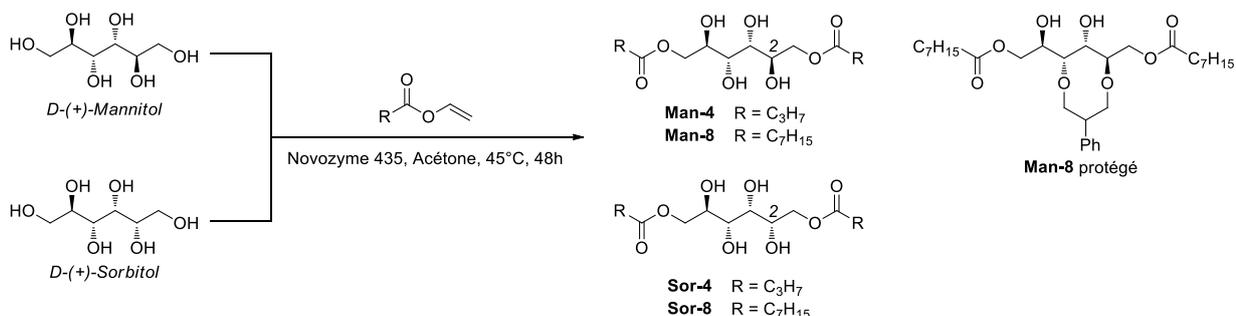


Schéma 102 - Synthèse de glycolipides gélateurs

Huile	Man-4	Man-8	Sor-4	Sor-8
Huile de noix de coco	G (4.0)	G (1.3)	G (5.0)	G (3.0)
Huile d'olive	G (2.5)	G (1.0)	G (3.0)	G (1.5)
Huile de soja	G (4.0)	G (1.3)	G (5.0)	G (3.0)
Huile de pépin de raisin	G (4.0)	G (1.3)	G (5.0)	G (3.0)
Huile de colza	G (4.0)	G (1.0)	G (5.0)	G (3.0)
Huile de tournesol cuite	G (4.0)	G (1.0)	G (5.0)	G (3.0)
Diésel	-	G (2.5)	-	G (3.5)
Huile minérale	-	G (1.2)	-	G (1.5)
Huile de paraffine	-	G (2.0)	-	G (2.5)
Huile de pompe	-	G (4.0)	-	G (5.0)
Huile de silicone	-	TG (5.0)	-	TG (5.0)
Mélange d'hydrocarbures	-	G (2.5)	-	G (3.5)

G = gel opaque ; TG = gel transparent ; la CMG est indiquée entre parenthèses

Tableau 15 - Propriétés gélatrices des glycolipides **Man-4**, **Man-8**, **Sor-4** et **Sor-8**

La seule différence entre les deux glycolipides est l'orientation du groupement hydroxyle en position C². Or, des écarts sont observables entre les concentrations minimales de gélation (Tableau 15). Cet exemple met donc en valeur l'importance de la chiralité sur les propriétés de gélation. De plus, l'utilisation du dérivé **Man-8** protégé (Schéma 102) ne conduit pas à la formation d'un gel. Il démontre alors le rôle crucial des liaisons hydrogène du composé dans son habilité à s'auto-organiser, et donc l'intérêt d'utiliser un sucre. Rogers déplorait d'ailleurs récemment le manque d'exemple d'oléogélateur dérivant de sucres dans une revue consacrée aux oléogels comestibles :

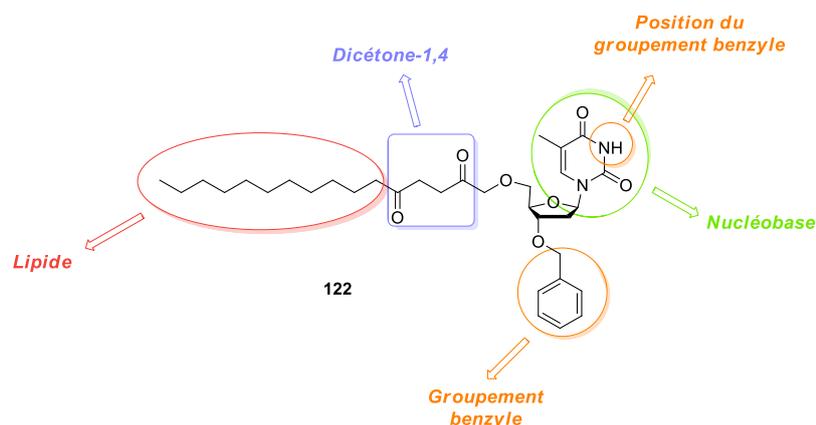
“Carbohydrate-based oleogelators are thus far an under-researched area, with high potential in providing edible gelators, capable of structuring oil in the presence of water.”

En effet, leur utilisation est bien décrite dans le cadre des hydrogels et des autres types d'organogels, et leur capacité à engendrer des liaisons hydrogènes ainsi qu'à influencer sur la balance hydrophilie/lipophilie des gélateurs en fait un motif structural intéressant. De plus les sucres ne posent en général aucun problème de biocompatibilité. En allant plus loin dans cette idée, l'utilisation de nucléosides apparaît alors pertinente. Ils possèdent également un motif de type sucre, fonctionnalisé par une nucléobase qui apporte des possibilités de liaisons hydrogènes fortes et spécifiques. Les dérivés de nucléosides n'étant pas répertoriés comme précurseurs d'oléogels, l'utilisation de nucléolipides constitue donc une approche innovante. Pour tenter de comprendre le mécanisme de formation du gel obtenu avec le nucléolipide **163** et évaluer ses propriétés, une étude de la relation structure/activité a été réalisée, basée sur la synthèse d'analogues structuraux, et sa structure microscopique a été observée. Le rôle et l'influence de la position des différentes parties du nucléolipide ont été investigués et les propriétés rhéologiques du gel ont ensuite été évaluées.

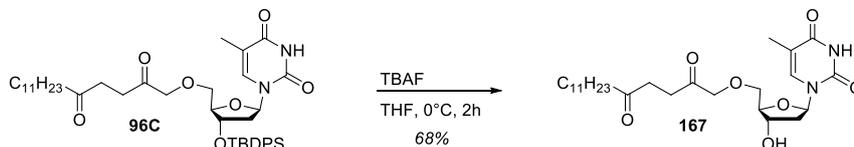
II.3) Structure et propriétés de l'oléogel issu du composé **163**

II.3.1) Relation structure/propriétés de l'oléogélateur

L'étude de la relation entre la structure du précurseur de gel **163** et ses propriétés a été réalisée au travers de l'analyse du comportement d'analogues structuraux (Schéma 103). L'importance des différents motifs de la molécule ainsi que leur position a été mise en valeur par comparaison des capacités de gélation de molécules similaires présentant des variations structurales. L'influence du groupement benzyle, de la base azotée et de la fonction dicétone-1,4 a notamment été évaluée.

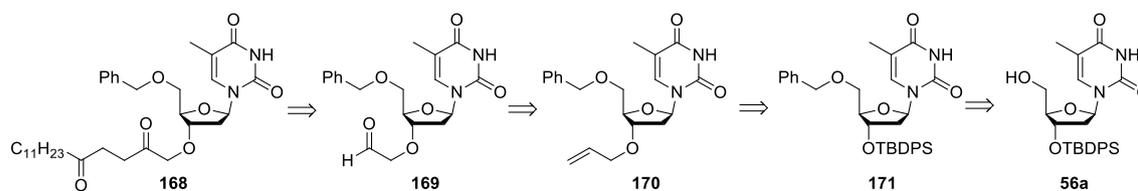
Schéma 103 - *Eléments de structure principaux de l'oléogélateur 163**Synthèse d'un analogue sans substituant benzyle*

Bien que la présence du groupement benzyle se soit révélée cruciale pour solubiliser les nucléolipides en phase huileuse dans le cas des liens de type pyrrole, son rôle a été évaluée dans le cas du lien dicétone par la synthèse d'un analogue du composé **163** comprenant la position 3' libre par déprotection du composé **96C** décrit dans le chapitre précédent (Schéma 104). En présence de TBAF, le nucléolipide **167** a alors été obtenu avec un rendement de 68%.

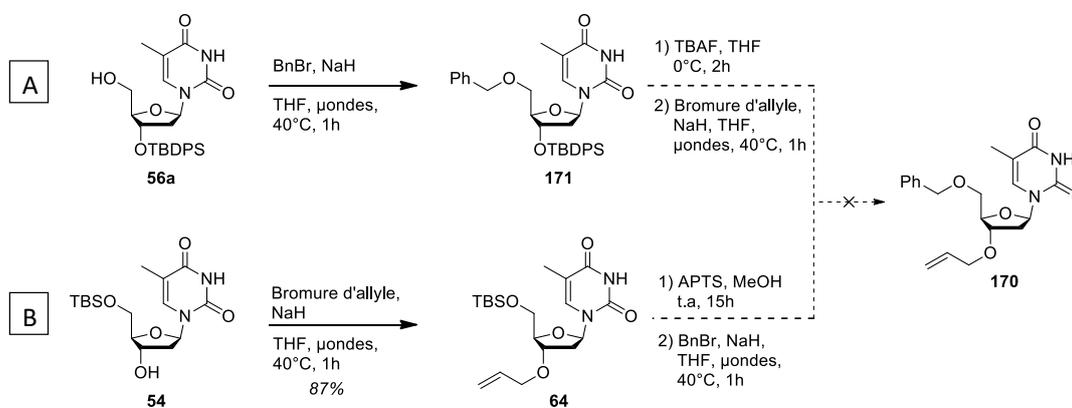
Schéma 104 - *Synthèse d'un analogue sans groupement benzyle**Variation de la position du groupement benzyle*

L'influence de la position du groupement benzyle sur les propriétés physico-chimiques du nucléolipide résultant a été évaluée pour voir si le positionnement en position 3' était déterminant. Comme cela a été évoqué précédemment, le composé **162** portant le benzyle en position N-3 a conduit à la formation de cristaux mais pas à la formation d'un oléogel. La synthèse d'un analogue portant le motif benzyle en position 5' et le lipide en position 3' a alors été envisagée. Pour y parvenir, une stratégie de synthèse similaire à celle appliquée à la synthèse du composé **163** a été mise en place (Schéma 105).

L'introduction du groupement benzyle en position 5' par activation micro-ondes a été réalisée avec succès avec un rendement de 41% (Schéma 106, voie A). Cependant, après déprotection de la position 3', il n'a pas été possible d'obtenir le composé allylé en 3' dans nos conditions habituelles. Un mélange complexe a alors été obtenu, probablement causé par le manque de réactivité de la position 3' qui subit l'encombrement stérique du motif

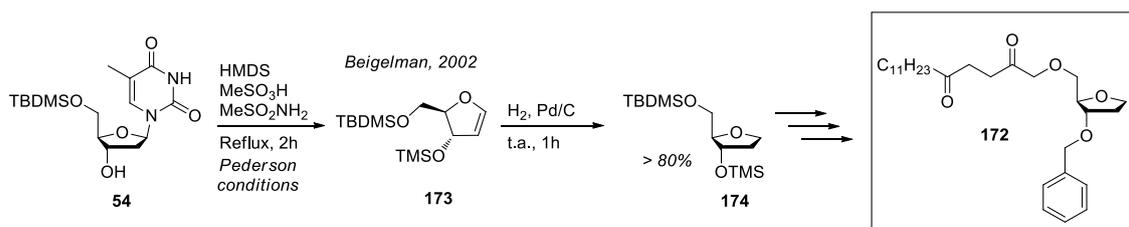
Schéma 105 - *Approche rétrosynthétique du nucléolipide 168*

phényle. Il a alors été tenté d'inverser les étapes en insérant d'abord le groupement allyle moins encombrant à partir du composé **64** décrit dans le chapitre précédent (Schéma 106, voie B). Cependant, le composé soumis à la benzoylation n'a pas conduit au produit **170** souhaités quelles que soient les conditions testées. La synthèse du nucléolipide **168** n'a donc malheureusement pas pu être réalisée.

Schéma 106 - *Tentative de synthèse du nucléoside allylé 170*

Synthèse d'un analogue sans nucléobase

L'importance de la présence de la nucléobase, et donc l'intérêt d'utiliser un nucléolipide, a ensuite été considérée. Dans ce but, la synthèse du dérivé **172** dépyrimidinisé (Schéma 107) a alors été envisagée. Plusieurs méthodes d'accès à des tétrahydrofuranes sont alors possibles, cependant la stéréochimie des positions 3' et 5' devant être respectée, la synthèse d'un analogue possédant la même configuration par des méthodes de synthèse classiques représentait dans ce cas un défi synthétique délicat. Il a donc été envisagé d'utiliser un composé de départ possédant déjà la bonne configuration.

Schéma 107 - *Synthèse d'un tétrahydrofurane par dépyrimidination de Pederson*

Beigelman a décrit la synthèse du dihydrofurane **173** à partir de la thymidine protégée en position 5' **54**, par dépyrimidination dans les conditions de Pederson[209] (Schéma 107). Le tétrahydrofurane **174** a ensuite été obtenu par hydrogénation en présence de palladium sur charbon. La configuration de la thymidine de départ est ainsi conservée. Dans cet exemple, un groupement triméthylsilyle (TMS) indésirable a été introduit en position 3' pendant la première étape, à cause de l'utilisation du HMDS nécessaire à l'étape de dépyrimidination. Il a ensuite pu être retiré sélectivement en présence d'acide trifluoroacétique avec un bon rendement. Comme le composé final porte un groupement benzyle en position 3', il a été choisi de réaliser cette même stratégie de synthèse à partir du composé **180** déjà benzylé afin de s'affranchir de l'étape de déprotection (Schéma 108). Le composé **179** obtenu après dépyrimidination est alors un précurseur du tétrahydrofurane benzylé **178**, à partir duquel la stratégie développée pour la synthèse de dicétone-1,4 en position 5' peut être appliquée pour mener au composé cible **172**.

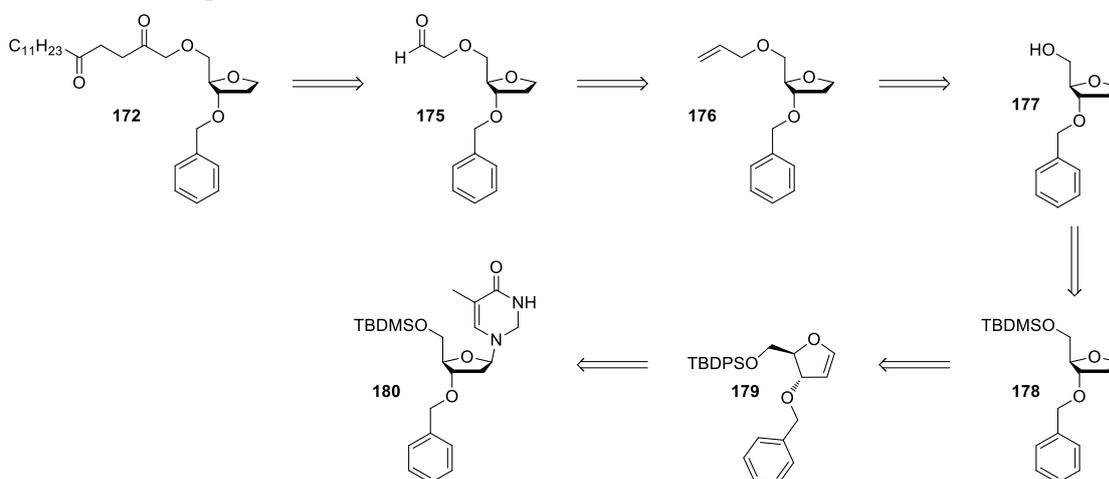


Schéma 108 - *Approche rétrosynthétique du composé sans nucléobase 172*

La dépyrimidination du nucléoside **180** a ainsi été réalisée avec succès et un rendement satisfaisant de 62% (Schéma 109). L'hydrogénation du produit **179** a ensuite été effectuée en présence de formiate d'ammonium et de palladium sur charbon. La déprotection de la position 5' a été réalisée sur le produit brut pour obtenir le tétrahydrofurane **178** avec un rendement en produit pur de 57% sur les deux étapes.

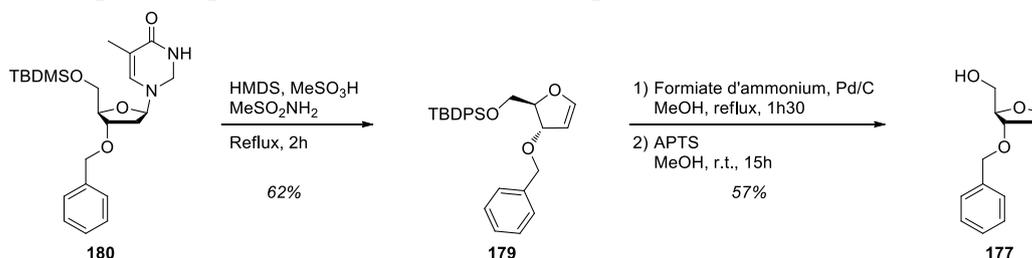


Schéma 109 - *Synthèse d'un tétrahydrofurane benzylé*

L'allylation activée par micro-ondes a ensuite été réalisée avec un bon rendement de 80% (Schéma 110). Le dérivé allylé **176** obtenu a alors été soumis aux conditions de clivage oxydatif de type Johnson-Lemieux pour conduire à l'aldéhyde **175** avec un rendement moyen de 56%. Une réaction de Stetter avec l'énone **84** a mené avec succès à la molécule cible

172. De façon inexplicable, un rendement assez faible de 26% a été obtenu. Cependant, le composé **172** ayant été obtenu en quantité suffisante pour réaliser les expériences souhaitées, la réaction n'a pas été optimisée.

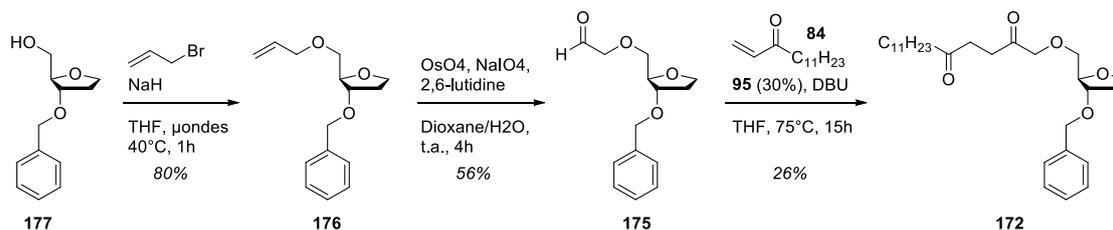


Schéma 110 - Synthèse de l'analogue **172** ne portant pas de nucléobase

Synthèse d'analogues sans dicétone

Enfin, la pertinence de la fonction dicétone-1,4 a été évaluée. Pour cela, la synthèse de l'analogue **181** (Schéma 111) possédant une chaîne lipidique portant le même nombre de carbone sans cette fonction a été réalisée. La méthode développée pour l'alkylation sous activation par micro-ondes a alors été appliquée sur le nucléoside **164** en présence de 1-iodohexadécane de façon à obtenir l'éther en position 5' correspondant. Compte tenu de la faible réactivité du composé iodé, une faible conversion a été observée. De plus, le milieu réactionnel s'est figé pendant l'activation par micro-ondes contribuant de ce fait à réduire fortement la conversion. Finalement, un rendement très faible de 7% a été obtenu conduisant au produit en quantité suffisante pour réaliser les tests nécessaires. Comme précédemment, le protocole n'a donc pas été optimisé.

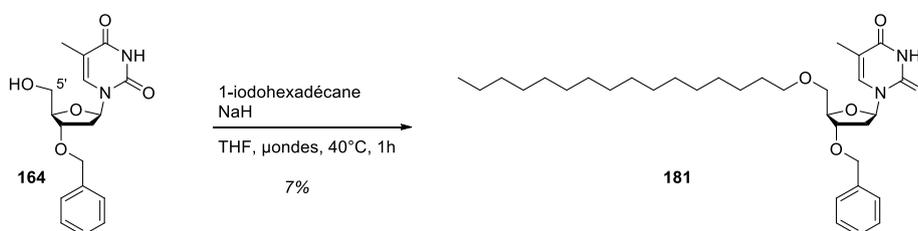


Schéma 111 - Synthèse d'un nucléolipide alkylé sans dicétone-1,4

Un nucléolipide obtenu par estérification de la position 5' (Schéma 112) a également été étudié (synthétisé par Anthony Cuhna dans le cadre de son stage de master 2). Le couplage entre l'acide palmitique et le nucléoside benzylé **164** a mené à la formation de l'ester **182** avec un rendement de 81%.

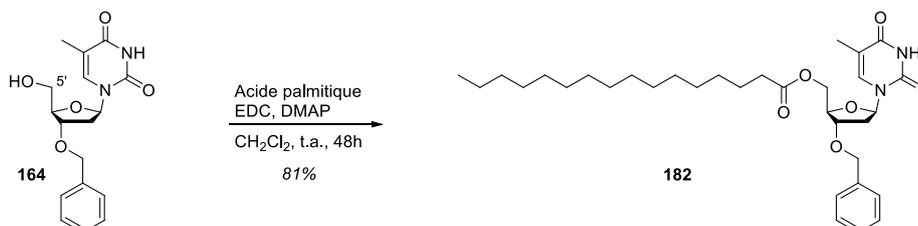


Schéma 112 - Synthèse d'un nucléolipide par estérification de la position 5'

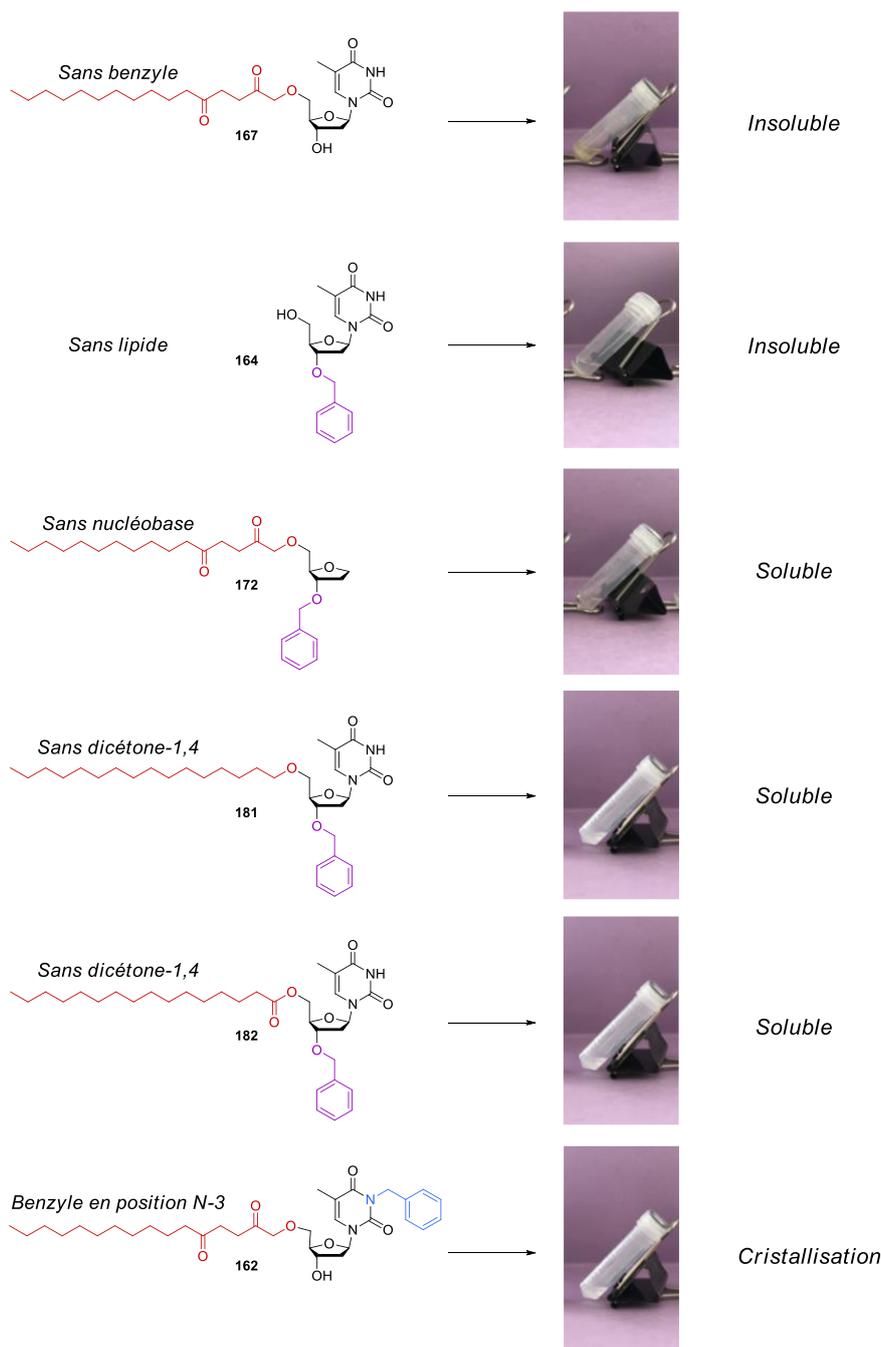
Etude des propriétés de gélation des analogues benzylés

Figure 22 - Comportement des analogues de l'oléogélateur **163** soumis aux conditions de gélation (5% m/m dans Mygliol® 812N; chauffage à 70°C pendant 15 minutes puis retour à température ambiante)

Une fois les différentes variations structurales réalisées, les composés synthétisés ont été placés dans du Miglyol® 812N à une concentration de 5% m/m et le protocole de gélation a été appliqué. Dans tous les cas, aucun gel n'a été obtenu (Figure 22). Tout d'abord, les composés **167** et **164** ne portant pas de groupement benzyle et lipide respectivement n'ont pas pu être solubilisés dans l'huile, même à chaud. Ils mettent donc en évidence l'importance de ces deux parties lipophiles du gélateur en termes de solubilité. Leur absence impacte considérablement la balance hydrophile/lipophile. Ensuite, les dérivés **172**, **181** et **182** ne

comprenant pas de base ou pas de fonction dicétone-1,4, ont pu être solubilisés à chaud mais des solutions huileuses ont été obtenues après retour à température ambiante.

Enfin, comme cela a été décrit précédemment, le composé **162** possédant le groupement benzyle sur la position N-3 n'a pas formé de gel mais la formation de cristaux par nucléation a été observée. Cependant, contrairement au cas de l'oléogélateur **163**, il n'en résulte pas la formation d'un gel. Toutefois, **162** étant le seul analogue qui possède tous les éléments présents dans l'oléogélateur **163**, il apparait que la présence du groupement benzyle, de la base azotée, du lipide et de la fonction dicétone-1,4 est nécessaire à la formation du réseau solide observé. De plus, la position du benzyle influe sur le type de structure formée et subséquemment sur la capacité de gélation du composé.

II.3.2) Caractérisation de l'oléogel

II.3.2.1) Microscopie optique

La structure microscopique de l'oléogel formé par le nucléolipide **163** a été observée à l'aide d'un microscope optique par Geoffrey Prévot pour déterminer le type de réseau formé (Figure 23). L'observation du gel à une concentration de 5% m/m a alors révélé la présence d'un réseau de fibres denses et enchevêtrées dans tout le volume alloué ainsi que des points de nucléation, concomitant aux observations macroscopiques (Figure 23A). Les fibres ont une taille importante, leur épaisseur étant de l'ordre du micromètre et leur longueur atteignant plusieurs dizaines de micromètres. Le même type de réseau a pu être observé dans l'huile de soja (Figure 23B).

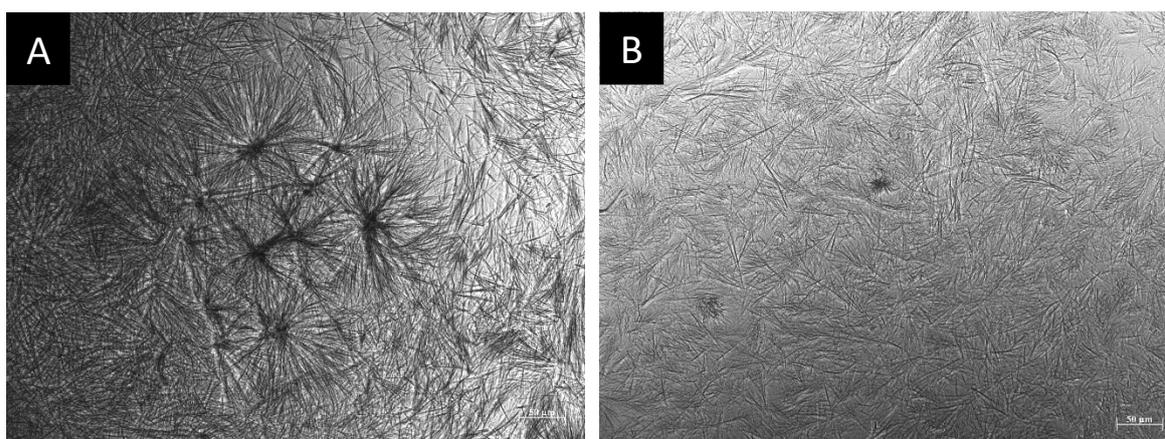


Figure 23 - Observation des oléogels (**163**, 5% m/m) par microscopie optique. A- Miglyol[®] 812N, grossissement $\times 10$; B- Huile de soja, grossissement $\times 10$

L'influence de la concentration sur la structure microscopique a ensuite été évaluée. Un échantillon à une concentration inférieure à la concentration de gélation (1% m/m) a été observé. Dans ce cas, un réseau beaucoup moins dense est observé (Figure 24). En revanche,

les fibres sont très longues et peuvent atteindre plusieurs centaines de micromètre. Cette observation est cohérente avec le processus de nucléation observé macroscopiquement pendant la gélation, les fibres ayant plus de place et de temps pour se développer. Elles sont alors très souples et ne sont plus droites. La souplesse du réseau devient alors probablement trop importante pour mener à la formation d'un gel. Finalement, d'après les exemples précédents, les conditions permettant l'obtention d'un oléogel correspondent à un équilibre entre la rigidité nécessaire au maintien de la structure, et la souplesse permettant sa formation spontanée.

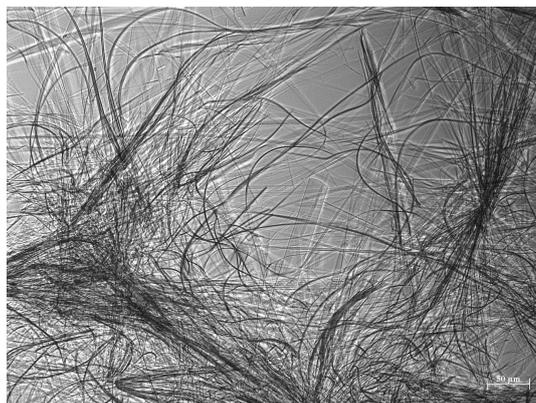


Figure 24 - Observation de l'oléogel contenant **163** (1% m/m), dans le Mygliol® 812 N par microscopie optique, grossissement $\times 10$

Notre intérêt s'est ensuite porté sur le réseau formé par le composé **162** portant le benzyle en position N-3. Les observations au microscope optique ont mis en évidence des cristaux longs et épais (Figure 25).

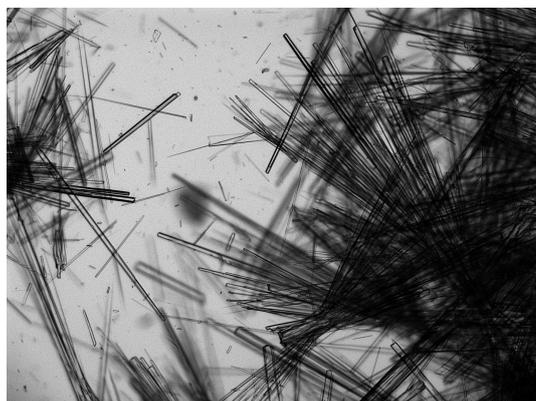


Figure 25 - Observation de l'oléogel contenant **162** (5% m/m), dans le Mygliol® 812N par microscopie optique, grossissement $\times 5$

II.3.2.2) Spectroscopie infrarouge

Pour tenter d'élucider quelles fonctions du nucléolipide **163** étaient engagées dans la structuration microscopique du réseau tridimensionnel de fibres observé, le gel a été analysé par spectroscopie infrarouge. Tout d'abord, le composé a été déposé pur sous forme solide. L'oléogel a ensuite été analysé en soustrayant le signal du Mygliol® 812N. Étonnamment,

deux spectres presque identiques ont été obtenus (Tableau 16). Il semble donc que le réseau formé dans le gel n'influe pas sur les bandes de vibration des fonctions principales présentes dans le gélateur.

Produit pur (cm ⁻¹)	Oléogel (cm ⁻¹)
3186	3168
3052	3052
2924	2919
2855	2849
	1705
1687 (large)	1692
1463	1473
1275	1262
1087	-
1057	1054
741	746
699	696

Tableau 16 - *Comparaison des valeurs des pics principaux observés par spectroscopie infrarouge pour le produit **163** pur et l'oléogel (5% m/m, Miglyol[®] 812N)*

II.3.2.3) Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Le nucléolipide **163** a été soumis à une expérience de DSC, tout d'abord sous forme pure, pour observer les transitions de phase du matériau par échange de chaleur entre l'échantillon et une référence (ici l'air). Les autres dérivés benzylés **162**, **172**, **181** et **182** ont également été analysés à titre de comparaison et ont apporté des informations intéressantes (Tableau 17). En effet, des transitions de phase endothermiques correspondant à des phénomènes de fusion ont pu être observées. Une transition à 102°C est observée dans le cas du gélateur **163**, alors qu'elle est largement plus faible pour des composés possédant des structures proches comme le composé estérifié **182** (53°C), le dérivé étheré **181** (65°C) et l'analogue de position du benzyle **162** (70°C). Le composé **172** sans base possède quant-à-lui une température de fusion drastiquement plus faible de 22°C ce qui est cohérent avec une masse molaire plus faible. La différence très significative de température entre le gélateur **163** et les autres composés met tout d'abord en valeur l'importance de tous les éléments de sa structure. S'ils sont absents ou placés à un autre endroit, un changement important de propriétés est observé. Ce résultat est cohérent avec ceux obtenus lors des essais de gélification, le dérivé **163** étant le seul à former un gel. Ensuite, cet écart avec des molécules pourtant très similaires suggère que le nucléolipide puisse réaliser des interactions à l'état solide, avant même son introduction dans

la formation de gels. Ce produit étant plus organisé a alors une température de transition de phase plus élevée.

Composé	Température de transition de phase
163	102°C
162	70°C
181	65°C
182	53°C
172	22°C

Tableau 17 - *Températures de transition de phase observées par DSC*

L'étude calorimétrique a été poursuivie sur les oléogels de **163** à 5% et 10% m/m pour potentiellement observer des transitions de phase au sein du matériau. La faible sensibilité de l'appareillage aux concentrations de molécules gélatrices étudiées n'a pas permis d'obtenir de résultats probant. L'utilisation d'un appareil de micro-DSC, plus sensible, est à envisager.

II.3.2.4) Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

L'oléogel a été analysé par RMN du solide en collaboration avec l'équipe du Dr. Antoine Loquet (Institut de Chimie et de Biologie des Membranes et des Nano-objets CBMN, UMR5248). Les expériences de RMN ^{13}C CP (Cross polarization) et INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfert) ont notamment fourni des informations structurales très intéressantes. Elles ont permis de mettre en évidence respectivement les parties « figées » et « mobiles » de la molécule. Dans le spectre RMN CP, seuls des signaux correspondant aux parties lipidique et nucléosidique de la molécule gélatrice **163** ont été observables, ceux-ci disparaissant sur le spectre INEPT dans lequel les signaux de l'huile ont été majoritairement observés (Figure 26). De façon plus surprenante, le benzyle est apparu également dans le spectre INEPT, donc la partie fluide, mais pas dans le spectre CP indiquant qu'il a une certaine liberté de mouvement dans l'oléogel. Il peut notamment être supposé que les rotations autour des liaisons entre le phényle et l'oxygène en position 3' soient permises. Ces résultats indiquent donc que les parties nucléoside et chaîne grasse dicétone appartiennent à la partie rigide du système alors que le groupement benzyle n'est pas impliqué dans des interactions supramoléculaires de type π -stacking, ce qui aurait pu être à l'origine de la structuration en gel. L'huile constitue la phase fluide ou mobile qui comprend également une partie du groupement benzylique.

Au regard de ces données, il a été supposé que les nucléolipides adoptaient dans ce cas une organisation « tête bêche » dans laquelle les chaînes lipidiques s'alignent en feuillet pour maximiser les interactions de Van der Waals en plaçant le nucléoside vers l'extérieur, celui-ci

et ne présentent pas la même intensité (Figure 28 gauche). Cette différence de contribution des deux CO (ratio évalué à 4/1) pourrait vouloir dire que l'un des carbones a un caractère CO plus faible que l'autre. Or, cette dissymétrie n'est pas observée en RMN ^{13}C -liquide du produit pur (Figure 28 droite) alors qu'une variation du déplacement chimique est également observée.

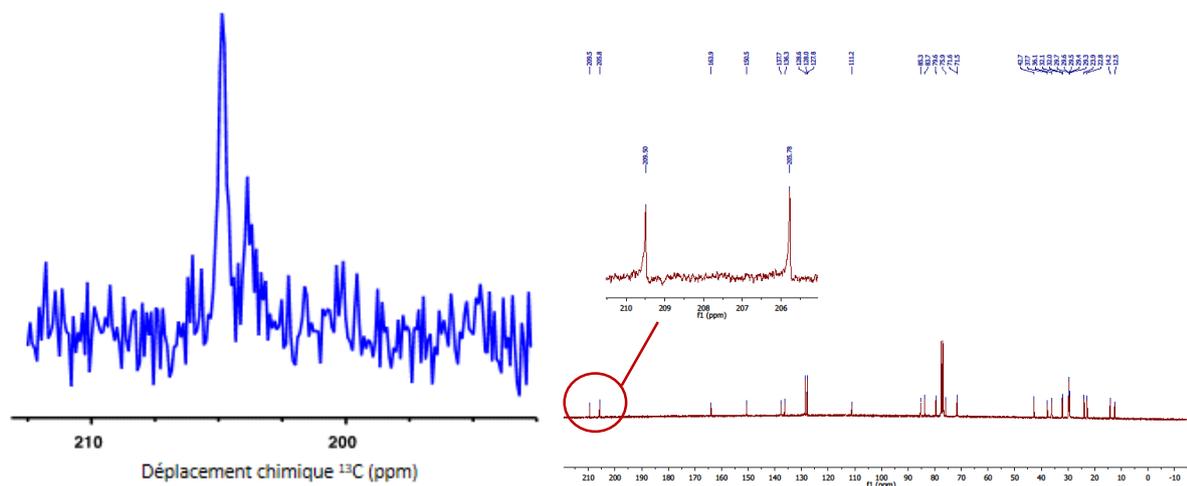


Figure 28 - Signaux des CO de la dicétone-1,4 en RMN ^{13}C -CP de l'oléogel (gauche) et en RMN ^{13}C -liquide (droite)

Une hypothèse cohérente avec cette observation serait la présence d'une forme énol à la place d'une des deux cétones, donnant alors la possibilité de former des liaisons hydrogènes (Schéma 113). La présence de cette composante énol pourrait expliquer les interactions du solide avec l'huile. L'apparition d'un signal correspondant à la double liaison de l'énol devrait alors être observée. Le signal présent à 130 ppm dans le spectre RMN ^{13}C -CP (Figure 26) pourrait correspondre. Une analyse plus approfondie par RMN du solide, impliquant une visualisation des carbones au contact de la partie fluide (ici l'huile) est en cours pour le mettre clairement en évidence et prouver l'apparition de la forme énol.

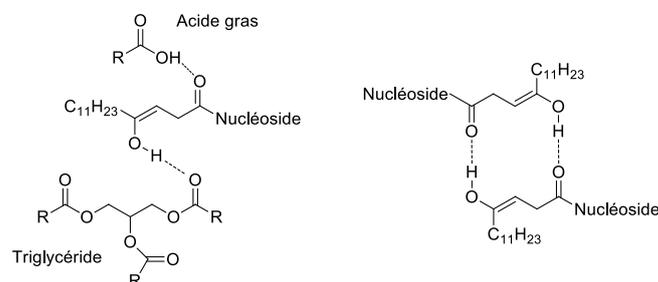


Schéma 113 - Hypothèse de la formation d'un énol à partir de la dicétone-1,4

Des analyses de l'oléogel par diffraction des rayons X (WAXS) ont également été effectuées, l'échantillon a notamment été analysé au synchrotron. Les données collectées pourraient apporter des informations cruciales et directes sur l'organisation des molécules dans le gel, cependant ces analyses générant localement une augmentation de la température, une

dénaturation du gel a été observée et des séquences fusion/gélification ont été observées ce qui gêne l'exploitation des données. .

II.3.3) Propriétés rhéologiques des oléogels

Les propriétés rhéologiques des oléogels formés par le nucléolipide **163** dans le Miglyol[®] 812N à 5% m/m et 2% m/m ainsi que dans l'huile soja à 5% m/m ont été déterminées en collaboration avec Julie Baillet.

Tout d'abord, le domaine linéaire de viscoélasticité (LVER) a été évalué (Figure 29). Il peut être défini comme la zone dans laquelle les modules G' et G'' sont indépendants quel que soit le pourcentage de déformation appliqué. Au-delà du LVER, la microstructure ainsi que la macrostructure du matériau sont endommagées, ce qui se traduit en règle générale par l'effondrement du gel et donc un module G'' supérieur à G' . La limite du LVER a alors été déterminée à 0,02% pour les échantillons formés dans le Miglyol[®] 812N et 0,03% dans l'huile de soja.

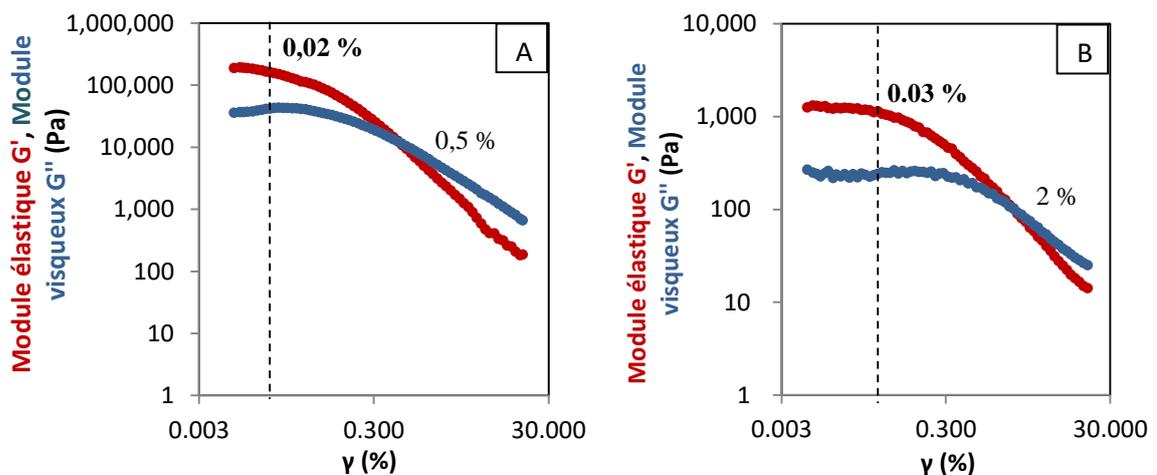


Figure 29 - Evolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction du pourcentage de déformation γ appliqué des oléogels à A- 5% m/m dans le Mygliol[®] 812N ; B- 5% m/m dans l'huile de soja

Les valeurs des LVER sont faibles mettant de ce fait en évidence une résistance à la déformation et donc une élasticité faible du matériau. Ceci corrobore la nature cristalline et donc cassante des oléogels formés. Au-delà de ces pourcentages de déformation, les valeurs des modules G' et G'' diminuent jusqu'à atteindre une inversion des modules et donc un effondrement du gel pour des déformations de 0,5% (5% m/m dans le Miglyol[®] 812N), 1% (2% m/m dans le Miglyol[®] 812N) et 2% (5% m/m dans l'huile de soja). Il est intéressant de noter que dans le cas du Miglyol[®] 812N, l'oléogel formé à 2% m/m expose une inversion des modules à une déformation plus élevée que celui à 5% m/m, traduisant une meilleure

souplesse du matériau. Ces résultats sont cohérents avec les observations réalisées en microscopie optique pour lesquelles un réseau de fibres cristallines plus longues et plus souples était observé pour de plus faibles concentrations en oléogélateur **163**.

Puis, la variation des modules G' et G'' en fonction de la fréquence a été étudiée dans le LVER du matériau (Figure 30). Dans le cas du Miglyol[®] 812N, l'oléogel à 5% m/m présentait des modules G' et G'' ($G' = 1,20 \cdot 10^5$ Pa, $G'' = 2,36 \cdot 10^4$ Pa à 1 Hz) plus élevés que celui à 2% m/m ($G' = 1,33 \cdot 10^4$ Pa, $G'' = 2,97 \cdot 10^3$ Pa à 1 Hz), corroborant la formation d'un réseau plus dense et plus dur lorsque la concentration en oléogélateur **163** est augmentée. De plus, l'oléogel réalisé dans le Miglyol[®] 812N a présenté des modules rhéologiques plus importants par rapport à l'oléogel de même concentration dans l'huile de soja ($G' = 1,67 \cdot 10^3$ Pa, $G'' = 3,15 \cdot 10^2$ Pa à 1 Hz). Dans les trois cas, les expériences ont mis en évidence l'indépendance des modules ainsi qu'un comportement élastique dominant ($G' > G''$) sur la plage de fréquence étudiée, ce qui est caractéristique d'un gel.

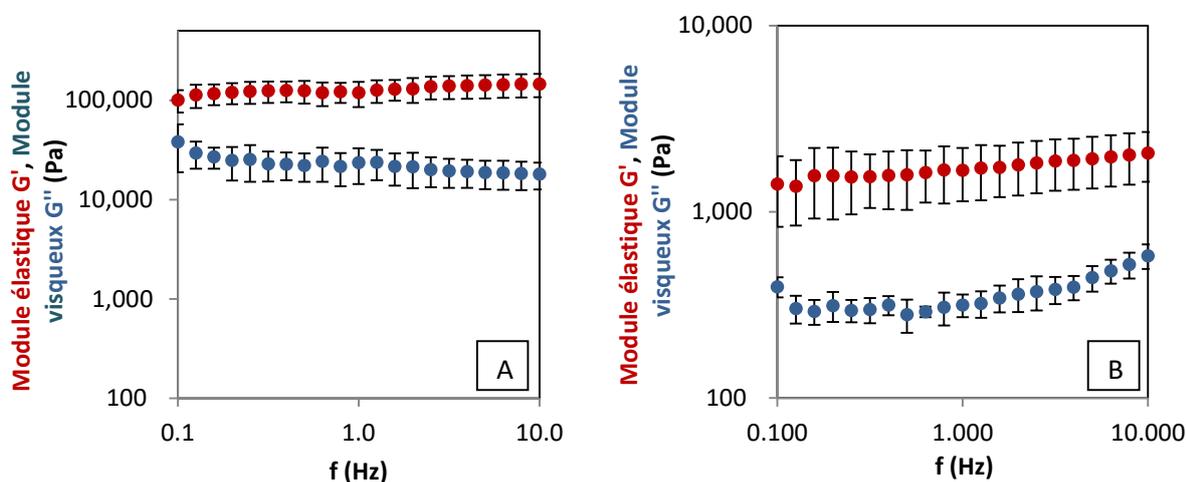


Figure 30 - Evolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction de la fréquence f appliquée des oléogels à A- 5% m/m dans le Miglyol[®] 812N; B- 5% m/m dans l'huile de soja. Pourcentage de déformation de 0,01% appliqué

De par leur nature de gel physique, les températures de transition gel-sol c'est-à-dire le passage de l'état gel à liquide ont ensuite été déterminées pour les oléogels à 5% m/m dans le Miglyol[®] 812N et l'huile de soja. Pour cela, les matériaux ont été soumis à une augmentation de température de 25 à 75 °C, la transition sol-gel correspondant à la température pour laquelle une inversion des modules est observée (Figure 31). Dans le cas de l'oléogel formé dans le Miglyol[®] 812N, un premier changement de comportement a pu être observé de 31°C à 52°C pour lequel les modules G' et G'' sont quasiment identiques (Figure 31A). Ceci peut être attribué à la mobilité des chaînes grasses présentes dans l'huile au-delà de 30°C. La structure de l'oléogel reste donc très fragile sur cette plage de température et une inversion des modules rhéologiques a pu être observée à 52°C, définissant ainsi la température sol-gel. Dans le cas de l'oléogel formé dans l'huile de soja, un comportement similaire a pu être noté avec une première transition de 29°C à 32°C (Figure 31B). A contrario, une température de transition sol-gel nettement plus faible a été observée à 32°C.

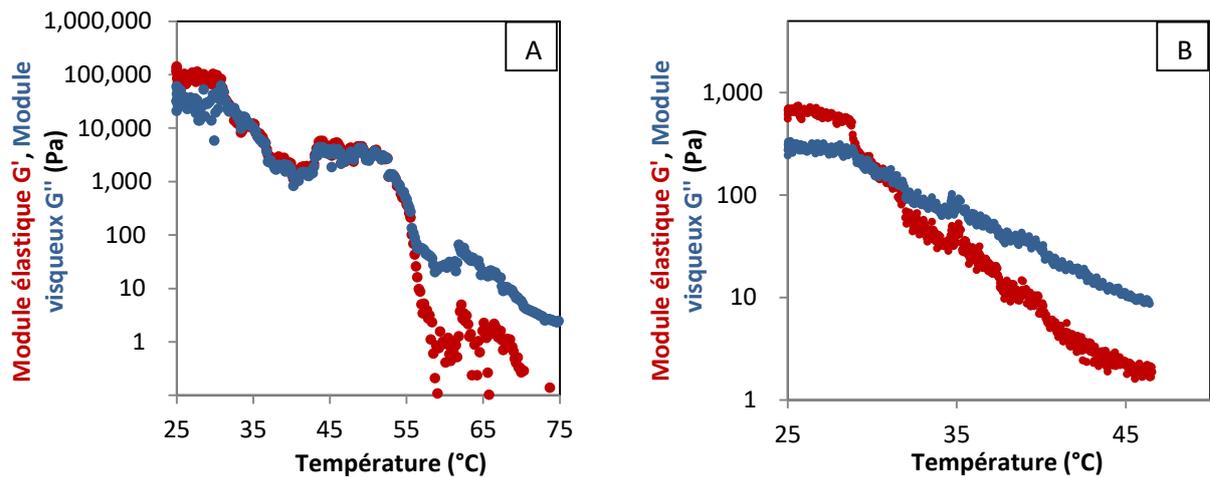


Figure 31 - Evolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction de la température appliquée des oléogels à 5% m/m formés dans A- le Mygliol® 812N B- l'huile de soja

Finalement, le caractère thixotrope des oléogels à 5% m/m et 2% m/m dans le Mygliol® 812N a été étudié. Cette propriété permet à un matériau de se liquéfier sous l'action d'une forte déformation puis de retrouver ses propriétés initiales de gel lorsque celle-ci est stoppée. La thixotropie peut se révéler importante pour la conception de formulations de type transdermales par exemple, puisque les oléogels pourraient alors être injectés directement sous la peau. Ce phénomène peut être observé en rhéologie en étudiant l'évolution du module G' pour différents cycles successifs de petites et fortes déformations (dans et au-delà du LVER respectivement, Figure 32). La première phase maintient le matériau dans le LVER, le module G' étant alors supérieur à G'' pour les deux oléogels testés. Ensuite, la deuxième phase impose une déformation plus importante en dehors du LVER dans le but de détruire le gel. Il est alors possible de constater dans les deux cas une inversion des modules rhéologiques ($G'' > G'$), démontrant un caractère liquide et donc l'effondrement du gel. Enfin, la troisième phase soumet à nouveau le matériau à une faible déformation située dans le LVER, lui permettant de ce fait de recouvrer ses propriétés. Le gel produit dans l'huile de soja s'est révélé trop fragile pour cette expérience. La régénération du gel n'a pas été observée, même après 2 heures sous une faible déformation. Mais dans les deux autres cas étudiés, le module G' redevient supérieur à G'' immédiatement après la deuxième phase, indiquant une reformation quasi instantanée du gel après sa déstructuration. Le même cycle a alors été répété et la même observation a pu être réalisée. Ces expériences mettent donc en exergue le caractère thixotrope des oléogels à 5% m/m et 2% m/m dans le Miglyol® 812N.

Toutefois, une légère baisse du module G' a pu être observée, traduisant un affaiblissement du matériau lorsque la forte déformation est stoppée. Cette baisse est moins prononcée dans le cas d'une concentration à 2% m/m. Il est donc possible que la souplesse plus importante du réseau à cette concentration permette un meilleur recouvrement des propriétés rhéologiques initiales. De plus, dans les deux cas, une baisse plus faible du module G' a pu être observée après le deuxième cycle de forte déformation. Le gel peut donc subir plusieurs cycles de

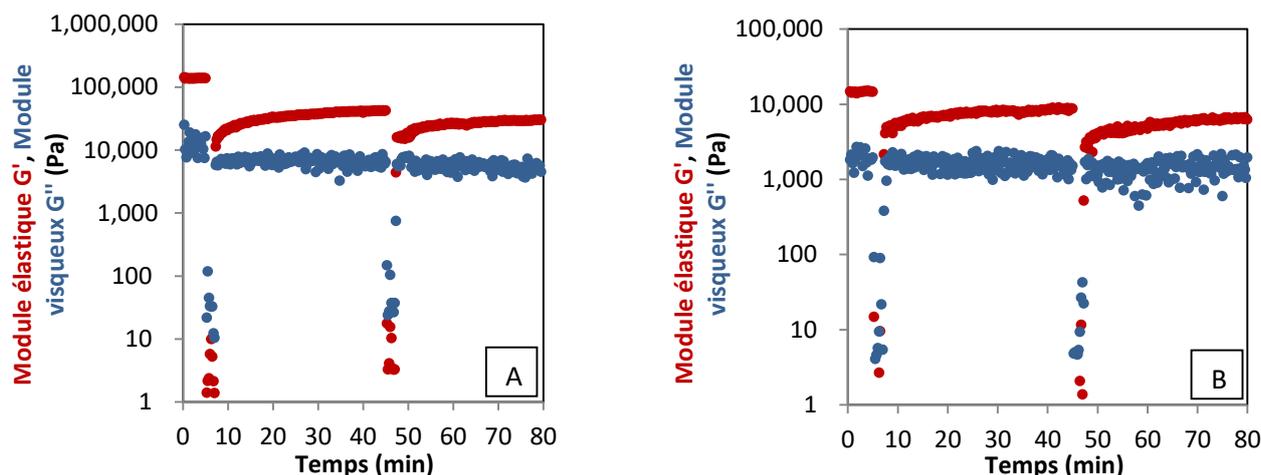


Figure 32 - Evolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction du pourcentage de déformation γ appliquée des oléogels formés dans le Miglyol[®] 812N au cours du temps à A- 5% m/m B- 2% m/m. Phase 1 : $\gamma = 0,01\%$, $t = 5 \text{ min}$; Phase 2 : $\gamma = 15\%$, $t = 2 \text{ min}$; Phase 3 : $\gamma = 0,01\%$, jusqu'à stabilisation. Le cycle est répété deux fois

déformation sans perdre ses propriétés mécaniques.

Afin de tester l'injectabilité du matériau en condition réelle, une expérience de thixotropie a été réalisée sur paillasse à l'aide d'une seringue sur l'oléogel à 5% m/m dans le Miglyol[®] 812N (Figure 33). Pour cela, le matériau a tout d'abord été prélevé sous forme liquide à 70°C puis la formation du gel a été observée directement à l'intérieur de la seringue. Un temps de gélification plus long de 2h a été nécessaire comparé à celui de 4 minutes établi dans les tests précédemment réalisés, probablement dû à la forme du contenant. Une fois le matériau totalement gélifié, il a été injecté avec succès dans l'eau, formant une boule de gel remontant à la surface et prouvant de ce fait son caractère thixotrope.

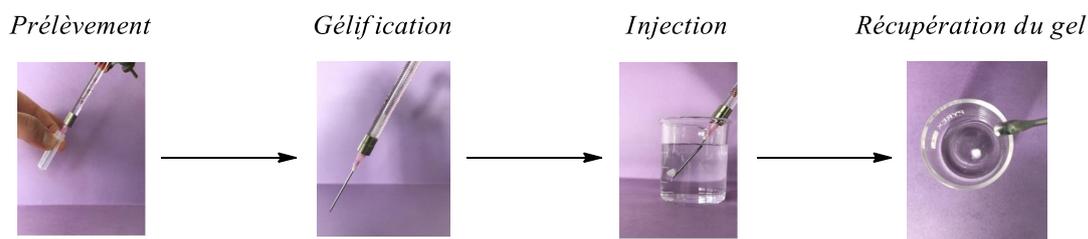


Figure 33 - Injection de l'oléogel dans l'eau

Le caractère thixotrope de ces oléogels les rend alors très intéressants pour le développement de formulations injectables. En effet, même si une légère perte est observée au niveau du module élastique, celle-ci est beaucoup moins importante que celle décrite précédemment dans le cas des alkylamides développés par Ohseido par exemple[206]. L'utilisation de nucléolipides représente donc une innovation pertinente pour le développement de ce type d'oléogels. Ceux-ci seraient notamment intéressants pour la formulation de composés lipophiles destinés à une application parentérale. L'oléogel est alors injecté sous la peau et permet un relargage

contrôlé du principe actif. Ce dernier n'a alors pas à subir le premier passage hépatique. Le relargage de stéroïdes contraceptifs piégés dans un oléogel injectable a par exemple été décrit[211]. Un gel d'huile de noyaux d'abricot formé à partir de palmitostéarate de glycérol s'est révélé biocompatible et biodégradable, tout en permettant un relargage lent du traitement hormonal. Cependant, les auteurs relatent la difficulté rencontrée lors de l'injection des formulations[212]. En effet, l'injection a pu être réalisée pour les plus faibles concentrations en gélateur (5-10%), mais dès que celles-ci augmentent (15-20%) cette opération devient plus difficile. Or, l'étude de la vitesse de relargage du principe actif montre peu de différence entre l'utilisation du gel à 5% m/m et de l'huile liquide. Une différence significative est atteinte à partir de 10% m/m. Il s'agit d'une concentration importante en gélateur, et au-delà l'injection devient délicate. Ce système rencontre donc de fortes contraintes liées aux propriétés physiques du gel. D'autres systèmes permettant une meilleure injectabilité ont été décrits, notamment pour le relargage de principes actifs contre le cancer de la prostate[213] ou la maladie d'Alzheimer[214] (Vintiliu Parmresearch 2008), mais ceux-ci utilisent des gels non thixotropes obtenus à partir de l'ester de N-stéaroyl-L-alanine dans lesquels du N-méthyl-2-pyrrolidone est ajouté pour fluidifier la formulation. Ce solvant étant hydrophile, il est ensuite éliminé après l'injection et le gel est formé in-situ. Cependant, des quantités importantes de gélateur sont également utilisées dans ces cas (10%) et le fait d'utiliser un solvant organique dans une formulation est un paramètre pouvant augmenter sa toxicité. L'injection du gel formé avec **163** dans le Miglyol[®] 812N ayant été réalisée avec succès au travers d'une aiguille, développer des oléogels avec de meilleures propriétés thixotropes et de faibles concentrations de gélation apparait comme une piste pertinente pour développer des formulations destinées à une application parentérale. De plus, la faible CMG (1,9%) laisse envisager une optimisation des propriétés du matériau sans atteindre de fortes concentrations en gélateur.

Cependant, le changement de comportement à partir de 31°C met en valeur une certaine fragilité du matériau face à une température légèrement plus faible que la température physiologique. Cette propriété pourrait se révéler gênante pour une application *in vivo*. Mais celui-ci garde tout de même un comportement de gel jusqu'à 52°C, bien au-delà de la température physiologique, ce qui est encourageant. De plus, l'oléogel étant thermoréversible, une réactivité face à une stimulation par la température peut représenter une opportunité intéressante pour le développement de gels dynamiques.

La conception de formulations visant d'autres voies d'administration ne nécessitant pas d'injection est également envisageable, notamment la voie transdermale. Elle présente l'avantage d'être non-invasive et de ne pas subir le premier passage hépatique. La difficulté rencontrée lors du développement de ce type de formulation est le passage au travers de la peau. En effet, celle-ci forme une barrière lipidique difficile à franchir. Or, très peu de composés actifs sont capables de la traverser[200]. L'utilisation de « véhicules » est alors nécessaire. Parmi, les solutions envisageables, de nombreux composés sont connus pour créer

une perméabilité dans la peau, mais beaucoup d'entre eux sont toxiques. Les oléogels se révèlent donc intéressants puisqu'ils sont en général moins toxiques que d'autres organogels et les huiles possèdent de plus une bonne capacité de perméation au travers des barrières lipidiques. Des gels de Miglyol[®] 812N obtenus avec du monostéarate de glycérol ont notamment été utilisés pour la délivrance de piroxicam, un anti-inflammatoire[215]. Le gel a alors permis une très bonne délivrance du principe actif au travers d'une membrane lipidique dans un modèle *in vitro*, alors qu'une très faible pénétration est obtenue avec des crèmes classiques. Des modules élastique et visqueux similaires à ceux obtenus avec le nucléolipide **163** pour une concentration de 5% m/m sont décrits par les auteurs ($G' \simeq 105$ Pa et $G'' \simeq 104$ Pa à 1Hz), mais avec une concentration beaucoup plus élevée de 13% m/m en monostéarate de glycérol. L'utilisation de nucléolipides pourrait donc permettre de réduire la teneur en oléogélateur de ce type de formulation. De plus, le Miglyol[®] 812N est connu pour favoriser la diffusion des principes actifs pour des applications transdermales[216].

Enfin, accéder à des formulations plus complexes peuvent être intéressant, notamment pour l'administration de vaccins par voie parentérale. Des émulsions de type eau dans huile capables d'augmenter la réponse immunitaire à l'hémagglutinine ont été décrites[217]. La phase huileuse protège d'une part les protéines utilisées de la dégradation enzymatique, et permet d'autre part de ralentir son relargage pour augmenter la réponse immunitaire. De façon plus générale, les émulsions sont très largement utilisées dans le domaine pharmaceutique. Parmi elles, les nanoémulsions attirent l'attention en procurant des exemples stables et pertinents pour la formulation de molécules lipophiles. Nous nous sommes donc intéressés à l'emploi des nucléolipides benzylés dans des nanoémulsions pour le développement de formulations originales.

III) Nanoémulsions : vers une nouvelle voie de transport des nucléolipides

III.1) Définition et applications des nanoémulsions

Une émulsion consiste en la dispersion d'un liquide en fines gouttelettes (phase dispersée) dans un autre liquide (phase dispersante) non miscibles[218]. Les 2 phases sont stabilisées grâce à des molécules amphiphiles, les tensioactifs ou agents de surface, qui vont abaisser la tension de surface. En fonction de la nature de la phase dispersée et de la phase dispersante, il existe différentes catégories d'émulsion : eau dans huile (E/H) (ou hydrophile dans lipophile (H/L)), huile dans l'eau (H/E) (ou lipophile dans hydrophile (L/H)) (Figure 34) ou encore huile dans huile (H/H) (lipophile dans lipophile (L/L)). Les émulsions sont dites « simples » quand elles sont constituées de 2 phases mais il est aussi possible d'avoir des émulsions doubles ou multiples, constituées de 3 phases : interne/intermédiaire/externe (H/E/H ou

E/H/E). Ensuite, elles sont classées en fonction de la taille des gouttelettes et de leur stabilité thermodynamique : nous allons distinguer les émulsions grossières (les macroémulsions) des nanoémulsions et des microémulsions dont les caractéristiques sont regroupées dans le Tableau 18.

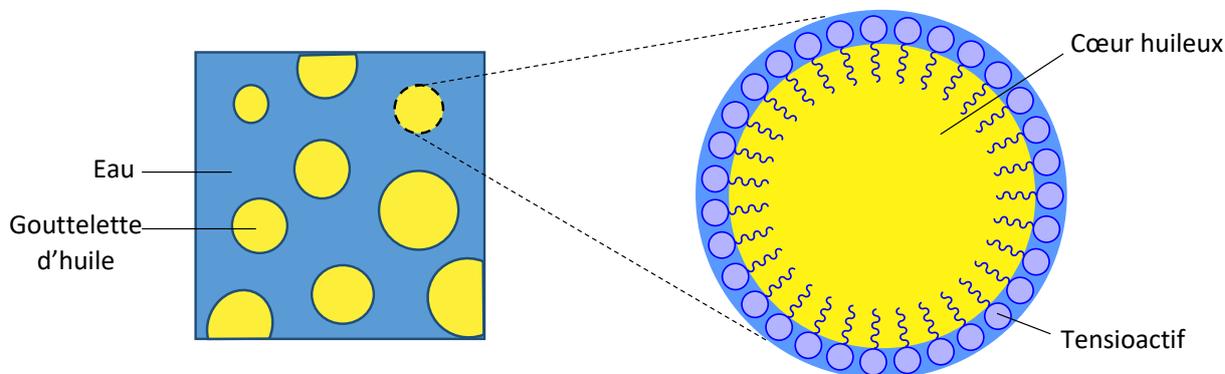


Figure 34 - Schéma d'une émulsion huile dans eau (H/E)

	Macroémulsion	Nanoémulsion	Microémulsion
Taille	2 – 20 μm	0,1 – 0,3 μm	$\leq 0,1 \mu\text{m}$
Polydispersité	Élevée	Faible	Faible
Stabilité thermodynamique	Instable	Instable	Stable

Tableau 18 - Macroémulsions, nanoémulsions et microémulsions

Parmi elles, les nanoémulsions présentent un intérêt particulier pour les applications pharmaceutiques[219]. Elles sont blanches, opaques et thermodynamiquement instables, mais la petite taille de leurs globules, comprise entre 0,1 et 0,3 μm , leur permet d'avoir une stabilité colloïdale jusqu'à plusieurs années. En effet, si les globules ont tendance à se rapprocher avec le temps selon la loi de Stocke[220], la faible taille de ces derniers leur confère une longue stabilité cinétique. Cet avantage a été mis à profit depuis de nombreuses années pour la formulation de préparations pour nutrition parentérale et ces systèmes sont actuellement utilisés comme vecteur de substances actives hydrophobes[221].

En raison de leur caractère métastable, des tensioactifs sont ajoutés aux formulations : il s'agit de molécules amphiphiles catégorisées en fonction de leur tête hydrophile (neutre, cationique, anionique ou zwitterionique) et de leur queue hydrophobe (chaînes hydrocarbonnées aliphatiques linéaires, ramifiées, saturées, insaturées...). Ils peuvent également être classés en fonction de la valeur traduisant leur balance hydrophile/lipophile (HLB) : plus elle est élevée (> 10), plus ils ont un caractère hydrophile et plus elle est faible (< 6), plus ils ont un caractère hydrophobe. Le choix des tensioactifs est alors réalisé en fonction du type

de nanoémulsion développé. Ils améliorent la stabilité des nanoémulsions par la diminution de la tension interfaciale.

Ces formulations présentent alors plusieurs avantages pour la délivrance de substances actives : elles peuvent améliorer leur stabilité *in vivo* en les protégeant contre des phénomènes d'hydrolyse ou d'oxydation. Elles permettent également une solubilisation accrue des substances actives lipophiles et une haute capacité d'encapsulation comparativement à d'autres formulations constituées d'un cœur aqueux comme les liposomes. L'utilisation des nanoémulsions comme véhicules de substances actives permet de limiter les effets indésirables tout en limitant l'utilisation d'agents solubilisants. Du fait des avantages que présentent les nanoémulsions en termes de stabilité colloïdale, d'encapsulation et de vectorisation des substances actives lipophiles, il a été envisagé d'étudier le comportement de nucléolipides lipophiles au sein de telles formulations. En effet, comme cela a été discuté dans le chapitre 1, de nombreux nucléolipides possèdent une activité biologique intéressante. Or, le transport des substances actives *in vivo* pour une action locale au plus proche du site d'action est aujourd'hui considéré comme un des paramètres principaux à considérer pour améliorer leur activité et réduire leurs effets secondaires. Les nanoémulsions apparaissent dans ce cas comme un véhicule pertinent.

III.2) Formulation de nucléolipides lipophiles

En s'appuyant sur l'expertise et l'expérience du laboratoire, la possibilité de formuler des nucléolipides benzylés sous forme de nanoémulsions de type L/H, dont la composition est présentée dans le tableau 19, a été évaluée. La lécithine d'oeuf (Lipoid[®] E80) et un ester de sorbitane polyoxyéthyléné (polysorbate 80) ont été utilisés comme agents de surfaces lipophile et hydrophile respectivement. Les nanoémulsions ont été formulées selon le procédé suivant : les composés lipophiles (nucléolipide et Lipoid[®] E80) et hydrophiles (polysorbate 80) ont été introduits dans les phases huileuse et aqueuse respectivement. Celles-ci ont été chauffées séparément à 70°C, puis la phase aqueuse a été ajoutée à la phase huileuse. Pendant ce processus, le mélange a été soumis à une agitation mécanique pour former des émulsions primaires dont les globules micrométriques ont ensuite été fragmentés grâce à un sonicateur pour obtenir des nanoémulsions.

Composant	Pourcentage massique
Mygliol [®] 812N	20 %
Eau purifiée(eau Milli-Q [®])	75 %
Polysorbate 80	2.5 %
Lipoid E80 [®]	1.5 %
Nucléolipide	1 %

Tableau 19 - Composition des nanoémulsions développées

Des nanoémulsions blanches présentant une granulométrie moyenne d'environ 170 nm ont été obtenues à partir des nucléolipides **benzylés 159A** et **159B** (Figure 35). De plus, l'intérêt du groupement benzyle en termes de lipophilie a été démontré de par l'absence de solubilisation du nucléolipide **130C** dans l'huile, même à 70°C.

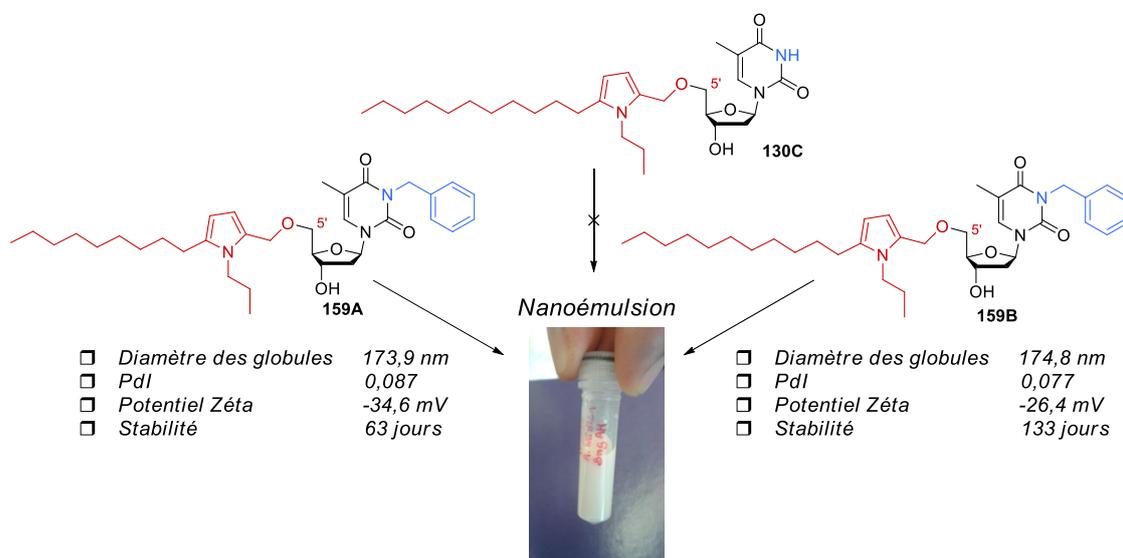


Figure 35 - Formulation de nanoémulsions contenant des nucléolipides benzylés

La stabilité et l'homogénéité des formulations ont alors été évaluées par diffusion dynamique de la lumière (DLS) et par mesure du potentiel Zéta. Une seule population de globules possédant un diamètre moyen inférieur à 200 nm a pu être observée pour les composés **159A** et **159B**, montrant qu'il s'agit bien de nanoémulsions. De plus, les indices de polydispersité (Pdl) de 0,087 et 0,077 respectivement ont permis de vérifier la monodispersité des formulations, la limite étant inférieure à 0,2. Ensuite, un potentiel Zéta inférieur à -20 mV a pu être mesuré, assurant de ce fait une bonne répulsion électrostatique entre les globules et donc une meilleure stabilisation du système. Enfin, la stabilité colloïdale au cours du temps en termes de diamètre moyen et de potentiel Zéta a pu être évaluée (Figure 36). La stabilité colloïdale a été vérifiée sur 80 jours par l'absence d'évolution des caractéristiques granulométriques diamètre moyen hydrodynamique et indice de polydispersité lorsqu'elles sont stockées à +4°C. De plus, aucune séparation de phase ou perte d'homogénéité n'ont été observées macroscopiquement.

Toutefois, une couleur rouge brique est apparue peu à peu au fil du temps rappelant celle obtenue lors des tentatives de formation d'organogels et due à la dégradation des motifs pyrrole. Même si une stabilité colloïdale a été mise en évidence sur 83 jours, une dégradation chimique a rapidement été observée en raison de l'acidité du Lipoid® E80 E80.

L'intérêt des nucléolipides **159A** et **159B** est donc limité par l'instabilité des liens de type pyrrole. Cependant, ils démontrent l'aptitude des nucléolipides à être incorporés dans des nanoémulsions grâce à la présence du groupement benzyle. En partant de ce constat, l'utili-

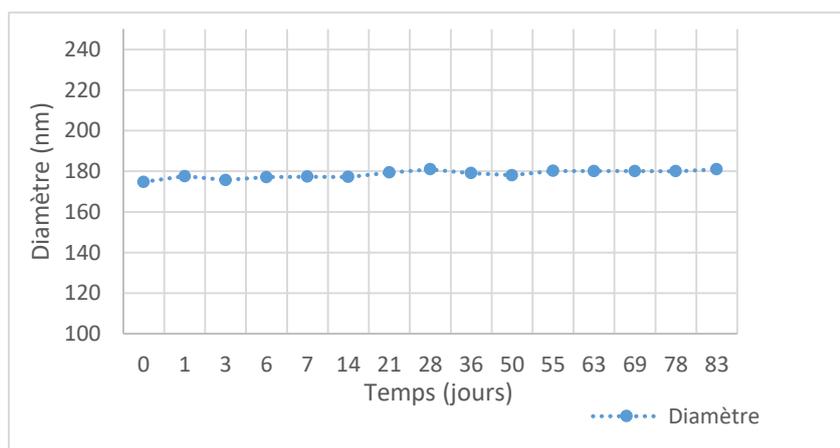


Figure 36 - *Stabilité colloïdale de la nanoémulsion contenant le nucléolipide 159B : Evolution du diamètre moyen en fonction du temps*

sation d'autres nucléolipides benzylés a été envisagée et a donné naissance à un projet visant à formuler des nucléolipides pour favoriser le passage de la barrière hématoencéphalique dont le filtre sélectif empêche le passage du compartiment sanguin vers le cerveau. La formulation de nanoémulsions capables de franchir cette barrière pour permettre une action cérébrale lèverait une des plus importantes problématiques de la nanomédecine, notamment dans le cadre d'une thérapie contre la maladie de Parkinson. Ce projet est aujourd'hui en cours de développement.

Dans un autre contexte, pour aller plus loin dans la conception de nanoémulsions et contrecarrer les problèmes dus au lien de type pyrrole, il a envisagé de combiner la capacité d'incorporation des nucléolipides benzylés dans les nanoémulsions avec les propriétés gélatrices et la stabilité du composé **163** possédant un lien de type dicétone-1,4. Il a été supposé qu'il permettrait notamment de faire gélifier les gouttelettes d'huile pour former des émulsions gélifiées.

III.3) Développement d'émulgels : résultats préliminaires

Les émulsions, voire nanoémulsions, dont la phase huileuse est gélifiée, sont appelées émulgels ou le cas échéant nanoémulgels[222][223]. Ces systèmes attirent de plus en plus l'attention dans le domaine des innovations galéniques. En effet, figer ces systèmes sous la forme de gels permettrait de combiner les avantages des nanoémulsions (stabilité colloïdale, forte capacité d'encapsulation) et des gels (libération retardée ou déclenchée par stimulus) pour permettre un relargage contrôlé des substances actives. D'où l'intérêt de l'étude d'émulsions formulées avec le précurseur de gel **163** dans le Mygliol® 812N. La même technique de préparation a été employée et une fois revenue à température ambiante et laissée au repos pendant 30 minutes, la formulation ne s'écoule pas caractérisant le comportement de gel

(Figure 37). Cependant cette structure, qui peut être qualifiée d'émulgel, reste fragile car elle se casse sous l'effet de chocs légers.

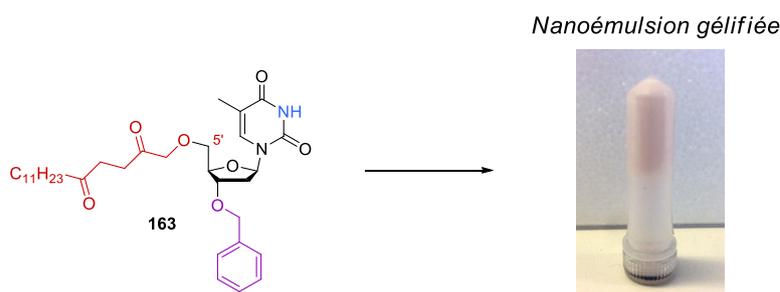


Figure 37 - Nanoémulsion gélifiée par **163**

Cette fragilité du système n'a pas permis une caractérisation rhéologique. Une analyse microscopique a alors été envisagée pour obtenir des informations structurales sur le système obtenu. En microscopie optique, des fibres ont été observées (Figure 38A). Celles-ci semblent beaucoup plus fines que celles obtenues dans le cas de l'oléogel et piègent des globules en formant un réseau interconnecté.

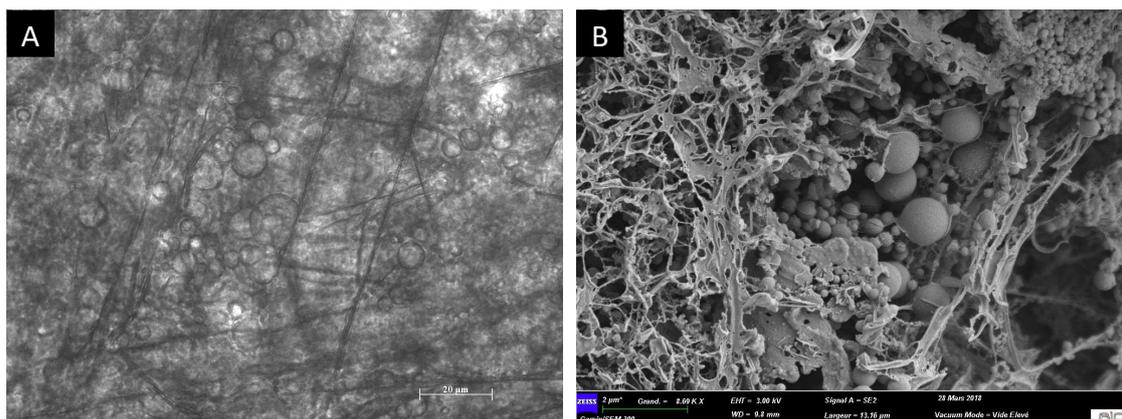


Figure 38 - Observation de la nanoémulsion contenant le nucléolipide **163** A- par microscopie optique (grossissement $\times 20$) ; B- par microscopie électronique à balayage

Pour aller plus loin dans la caractérisation morphologique, l'émulgel a été étudiée par cryo-microscopie électronique à balayage (MEB). Après sublimation de l'eau, un vaste réseau de fibres est observé dans lequel sont emprisonnées des gouttelettes d'huile (Figure 38B). Le réseau maintiendrait donc la phase aqueuse de la nanoémulsion et piègerait la phase huileuse. Différents tests ont alors été réalisés pour déterminer quels composants de l'émulsion étaient responsables de la formation d'un tel réseau dans la phase aqueuse. Dans un premier temps, le système a été préparé sans les tensioactifs, Lipoid[®] E80 E80 et polysorbate 80, donnant lieu à un mélange liquide. La formulation a ensuite été réalisée dans l'eau et en présence du polysorbate 80 uniquement (sans huile et sans Lipoid[®] E80 E80) et cette fois-ci, le même aspect que l'émulgel a été obtenu. Il semblerait donc que le réseau observé en microscopie optique et électronique soit dû à la présence du nucléolipide et du polysorbate 80 dans la phase aqueuse. Ce résultat est d'autant plus surprenant qu'il signifie que dans

ce cas, le nucléolipide forme préférentiellement un réseau dans la phase aqueuse, alors qu'il est également capable de former un réseau dans l'huile. Il est probable que le polysorbate 80 entraîne le nucléolipide dans la phase aqueuse par interaction avec la partie hydrophile de la molécule. Le composé **163** présente donc un caractère amphiphile lui permettant de s'auto-organiser dans une phase huileuse et d'interagir avec d'autres tensioactifs en milieu aqueux pour donner un réseau fibrillaire. De plus, un contact est observé entre certaines gouttelettes d'huile et le réseau de fibres qui s'enroule autour, ce qui pourrait provenir d'interactions hydrophobes avec la chaîne carbonée du nucléolipide. Des analyses complémentaires sont cependant nécessaires pour élucider le mécanisme à l'origine de la formation du réseau tridimensionnel piégeant des gouttelettes d'huiles au sein de la nanoémulsion et pour tenter d'optimiser et de mettre en valeur cette propriété.

Chapitre 4

Synthèse bioinspirée de dicétones-1,4 : réaction de Stetter en milieu aqueux

L'intérêt porté aujourd'hui à la conception de matériaux bioinspirés a été déterminant dans notre choix d'utiliser des voies de synthèse elles-mêmes bioinspirées ainsi que des conditions de réaction répondant aux critères de la chimie verte. Pour cela, nous avons décidé d'aller plus loin dans notre approche en développant des conditions de réaction en milieu aqueux pour la réaction de Stetter, des exemples ayant montré cette possibilité, notamment en présence d'enzymes. De telles conditions réactionnelles permettraient alors d'étendre le champ d'application de cette réaction à des biomolécules sensibles comme l'ADN en particulier. Ce chapitre décrit l'étude modèle effectuée pour trouver des conditions plus éco-compatibles à la réaction de Stetter et ce malgré les fortes contraintes dues la réactivité et la sensibilité des carbènes.

I) Synthèse organique en milieu aqueux

I.1) L'eau : un solvant vert ?

Le potentiel de la réaction de Stetter en tant qu'approche bioinspirée et plus verte a déjà été évoqué. En effet, son mécanisme organocatalysé et procédant avec une économie d'atome optimale, lui confère des atouts majeurs dans le cadre du développement d'une chimie plus respectueuse de l'environnement[224]. En outre, cette réaction a été largement décrite et procède avec de bons rendements dans de nombreux cas. La réduction de la production de déchets par ces différents critères constitue, en plus d'une solution environnementale, une approche économiquement intéressante puisqu'elle réduit le coût lié à l'utilisation de substrats supplémentaires et au traitement des déchets. A ce jour, la réaction de Stetter est réalisée communément dans un solvant organique (souvent le tétrahydrofurane mais d'autres solvants sont possibles), ce qui constitue une source de déchets non négligeable. De façon évidente, lorsque l'on parle de chimie plus propre, on pense à la chimie dans l'eau. En 2007, une analyse critique des alternatives possibles à l'utilisation des solvants organiques usuels par Clark et Tavener[225] place l'eau, aux côtés des réactions sans solvant, comme la solution réunissant le plus de critères positifs au niveau pratique et environnemental. Cette analyse est basée sur le cycle de vie du solvant lui-même divisé en quatre points :

- **La production** : l'obtention d'eau ne nécessite pas d'étapes de synthèse et des équipements spécifiques et efficaces ont été développés pour réaliser sa condensation et sa purification. L'utilisation d'eau engendre donc un faible coût et est réalisable efficacement.

- **La distribution** : l'eau étant disponible dans toutes les régions du monde, les coûts et impacts sur l'environnement liés au transport sont très réduits.

- **Le devenir du solvant** : C'est un des points noirs de l'eau car elle est difficile à purifier une fois contaminée. Toutefois, son implication dans des procédés optimisés permet de la recycler.

- **L'application du solvant** : Si l'on considère l'eau comme un simple solvant, sa mauvaise capacité à solubiliser les composés organiques et les difficultés liées à son évaporation et à sa purification n'en font pas un solvant de choix pour la réalisation de réactions organiques. Cependant, la facilité d'utilisation de l'eau, son faible impact sur l'environnement et son caractère non inflammable et non toxique lui confèrent un avantage important.

L'eau présente donc de nombreux avantages qui ont été considérés par les auteurs comme contrebalançant très largement ses inconvénients. Cette prise de position semble d'autant plus pertinente que ces aspects négatifs peuvent être évités voire inversés. En effet, dans le

cas de la réaction de Stetter par exemple, aucun déchet n'est produit (si on la considère d'un point de vue idéal) puisqu'elle procède avec une économie d'atome optimale et est catalysée. De plus, dans le cas de la synthèse de composés organiques hydrophobes, les produits peuvent le plus souvent être purifiés par précipitation[226]. De son côté, l'eau peut être recyclée puisque débarrassée de ses contaminants. Le choix concerté de la méthodologie de synthèse et du solvant peut donc mener à des conditions de réactions pratiques et respectueuses de l'environnement.

Un inconvénient important de l'eau reste sa faible capacité à solubiliser des composés organiques. Elle peut être améliorée en chauffant à des températures importantes mais l'énergie à apporter est alors coûteuse et cette solution est peu respectueuse de l'environnement. Par contre, en adoptant un autre point de vue, cette propriété de l'eau ne constitue pas nécessairement un inconvénient. Au contraire, de nombreuses études rapportent aujourd'hui la capacité de l'eau à améliorer la réactivité des composés par effet hydrophobe ou liaisons hydrogène notamment[227][228][229]. Plusieurs cas sont alors décrits[230] : les réactions réalisées dans un mélange solvant/eau sont appelées « **with water** » soit « **avec de l'eau** ». Ensuite, une distinction est faite entre les réactions réalisées entièrement dans l'eau suivant que les états de transitions soient formés du côté organique de l'interface organique-eau, auquel cas elles sont dites « **on water** » soit « **à l'interface avec l'eau** », ou bien dans la phase aqueuse, et sont dans ce cas appelées « **in water** » soit « **dans l'eau** ». En regardant une nouvelle fois du côté de la nature, pour laquelle la chimie dans l'eau n'est pas une nouveauté, il est à noter que les réactions organiques sont réalisées dans des conditions très douces et de façon très efficace.

I.2) Réactions « In- » et « on- » water

Il est indéniable que l'eau constitue un solvant à part. Elle dissout un grand nombre de corps ioniques, comme les sels, ainsi que la plupart des molécules polaires. Ce phénomène de dissolution résulte du caractère également polaire des molécules d'eau et elles se lient aux molécules polaires par liaisons hydrogène. Elle possède un point d'ébullition élevé et une grande inertie thermique. Molécule amphotère, elle peut être à l'origine de réactions acido-basiques et d'hydrolyse.

On s'intéresse depuis des décennies à l'influence d'un milieu aqueux sur les réactions organiques. Le rôle de l'eau sur la sélectivité de la réaction de Diels-Alder entre l'acide maléique et le furane a été reporté dès 1948 par Woodward et Baer[231]. C'est cependant bien plus tard, en 1980, que Breslow et Rideout décrivent pour la première fois de façon quantitative l'effet positif lié à l'utilisation de l'eau comme solvant, sur les réactions de Diels-Alder également[232]. La réaction entre le cyclopentadiène et la buténone, dans un milieu dilué et homogène, est par exemple plus de 700 fois plus rapide dans l'eau que dans l'isooctane

et environ 60 fois plus rapide que dans le méthanol (Schéma 114). Un effet hydrophobe est alors invoqué, consistant en la minimisation de la surface d'interface eau-organique et forçant les interactions entre les composés hydrophobes.

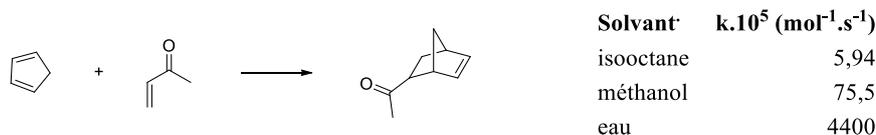
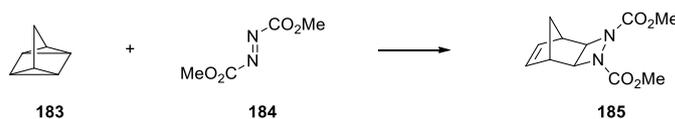


Schéma 114 - Réaction de Diels-Alder entre le cyclopentadiène et la buténone

Toutefois, d'autres exemples ont plus tard montré qu'il ne s'agit pas du seul effet pouvant être à l'origine de l'amélioration des rendements. C'est en 2005 que Sharpless fait apparaître pour la première fois le terme de chimie « **on water** ». Un premier constat est celui que la solubilisation des composés n'est pas nécessaire au bon déroulement d'une réaction. Il est même bénéfique de les réaliser dans un milieu hétérogène dans un certain nombre de cas pour lesquels l'eau est le solvant. Par exemple, la cycloaddition de l'azodicarboxylate **184** sur le quadricyclane **183** mène à la 1,2-diazetidine **185** avec un rendement de 74 % en 24 heures dans le toluène à 80 °C (Tableau 20). Or, la même réaction est réalisée en 10 minutes à température ambiante dans l'eau pure avec un rendement de 82% et en 1,5 heure à 0 °C avec un rendement de 93%. De plus, la même réaction réalisée sans solvant mène à un rendement similaire de 85% à température ambiante mais celui-ci est atteint au bout de 2 jours. De plus, le produit **185** n'est pas obtenu au bout de 2 heures à 0 °C, démontrant que l'accélération de la réaction n'est pas seulement due à l'augmentation de la concentration effective des composés.



Solvant	Température (°C)	Temps de réaction	Rendement (%)
Aucun	0	2 h	0
Aucun	23	48 h	85
Toluène	80	24 h	74
Eau	0	1,5 h	93
Eau	23	10 min	82
MeOH/H ₂ O (3/1) ^a	23	4 h	-
MeOH/H ₂ O (1/1) ^b	23	10 min	-
Perfluorohexane	23	36 h	-

a - milieu homogène ; b - milieu hétérogène

Tableau 20 - Rendement de la réaction de cycloaddition entre **183** et **184** en fonction du milieu réactionnel

Il a ensuite été observé que l'ajout de méthanol dans le milieu n'a pas eu d'influence sur le temps de réaction jusqu'à ce que le milieu devienne homogène. Le temps de réaction est alors significativement allongé (Tableau 20), prouvant l'importance de l'hétérogénéité du milieu. Toutefois, celle-ci n'est pas elle-même responsable de l'accélération de la réaction puisque l'utilisation d'autres conditions de réactions hétérogènes (perfluorohexane, Tableau 20) ne mène pas à un temps de réaction aussi court. Les auteurs proposent alors l'implication de liaisons hydrogène, d'effets de stabilisation de charge et d'effets dipolaires pour expliquer ce phénomène. Aujourd'hui, le rôle de l'eau dans ce type de réaction n'est pas totalement élucidé, mais trois paramètres principaux sont avancés : l'effet hydrophobe, les liaisons hydrogènes ou transferts de protons et la polarité du solvant[227]. Alors que l'effet hydrophobe semble jouer un rôle majeur dans les réactions « **in water** », les liaisons hydrogènes et le transfert de protons sont plus impliqués dans les réactions « **on water** ». Toutefois, le type de réaction dépend des substrats et le mécanisme n'est pas clair dans tous les cas. Il peut correspondre à l'une ou l'autre des possibilités, ou bien aux deux de façon simultanée.

De nombreuses réactions organiques ont été développées dans l'eau, les principales étant les cycloadditions et les réactions aldol[227]. Dash a par exemple décrit la synthèse des produits **188** et **189** par une réaction aldol sans catalyseur entre la thiazolidinedione **186** et l'isatine **187** en 2 heures avec un rendement de 98 % et une sélectivité anti/syn de 98 :2[233] (Schéma 115 haut). Le produit est récupéré par simple filtration avec une pureté supérieure à 99%, démontrant d'une part l'efficacité du procédé et son avantage pratique. Un tel constat a notamment amené Novartis à développer la synthèse « **on water** » du triazole **192**, intermédiaire dans la synthèse industrielle du rufinamide[234] (Schéma 115 bas). Un rendement de 98 % a été obtenu dans l'eau contre 40 % dans les solvants organiques.

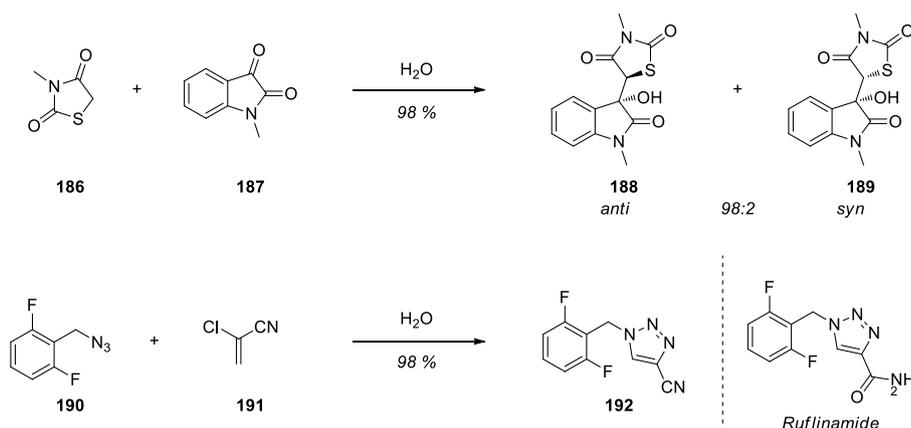


Schéma 115 - Réactions aldol (haut) et de Huisgen (bas) « on water »

Récemment, un intérêt particulier a également été porté aux réactions « **on water** » organocatalysées[228][229]. En effet, la plus grande stabilité des organocatalyseurs face à l'humidité et à l'air par rapport aux catalyseurs métalliques en fait des candidats de choix pour ce type de réaction. On trouve notamment parmi les exemples décrits des additions de Michael. Celles-ci nous intéressent particulièrement car la réaction de Stetter est elle-même

une addition 1,4. Les premières ont été développées sur des dérivés de l'acrylonitrile, très bons accepteurs de Michael. De nombreux cas ont mené à l'obtention des produits désirés avec des rendements supérieurs à 93 % et des stéréosélectivités améliorées[228]. Cette réaction a alors été étendue à des cétones α , β -insaturées. Palamo a par exemple réalisé des additions de Michael catalysées par la proline sur l'énal **195** (Schéma 116). Des temps de réactions de plusieurs jours peuvent être nécessaires, mais de bons rendements sont ainsi obtenus à température ambiante.

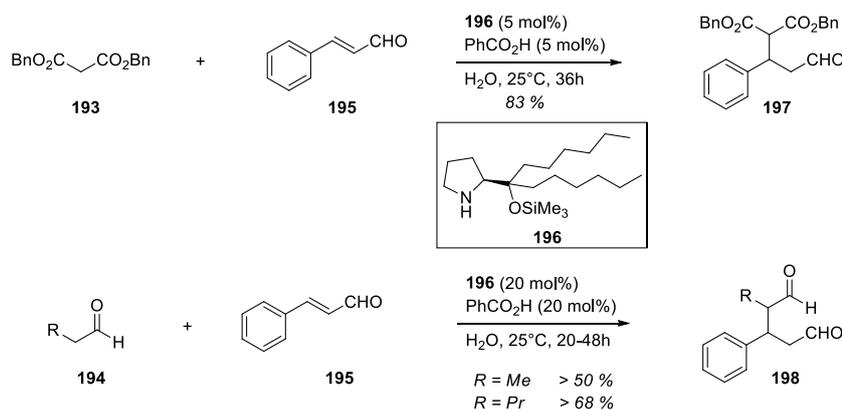


Schéma 116 - Additions de Michael « *on water* » sur des carbonyles α , β -insaturés

La réalisation de réactions entre composés hydrophobes dans l'eau présente donc de nombreux avantages. Les réactions organocatalysées s'y prêtent particulièrement bien et l'intérêt ne cesse de grandir à leur sujet. En effet, elles combinent les avantages de l'eau et de l'organocatalyse en termes de réduction des coûts, d'impact sur l'environnement, ainsi que de praticité et d'efficacité des procédés mis en jeu. Dans ce contexte et même si cela est assez contre-intuitif compte tenu de la nature carbène *N*-hétérocyclique du catalyseur, nous avons décidé d'explorer l'étude de la réaction de Stetter en milieu aqueux plus éco- et bio-compatible.

I.3) Stabilité des NHCs dans l'eau

La problématique majeure à la réalisation d'une réaction de Stetter dans l'eau provient de la nécessaire génération d'un carbène qui est le catalyseur dans ce cas. Comme nous l'avons évoqué précédemment (chapitre 2), les NHCs sont des espèces nucléophiles neutres connues pour leur réactivité et leur sensibilité à l'humidité.

I.3.1) Sensibilité des NHCs en milieu aqueux

En plus de l'équilibre de Wanzlick qui réduit leur réactivité[235] (Schéma 117A) les NHC sont connus pour se dégrader rapidement par oxydation[236] (Schéma 117B) ou en présence d'humidité par protonation ou clivage hydrolytique[237][238][239][157] (Schéma 117C).

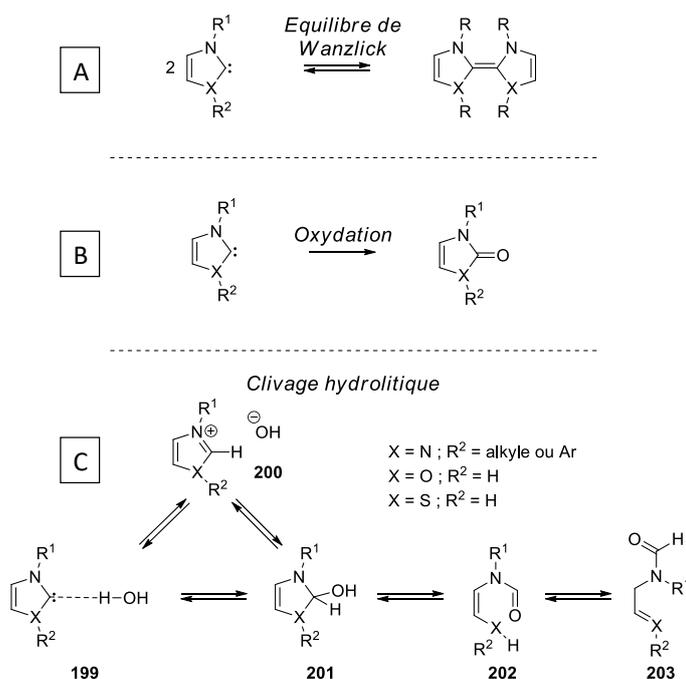


Schéma 117 - Désactivation et dégradation des NHC par A- équilibre de Wanzlick; B- oxydation et C- Clivage hydrolytique

L'étude de la dégradation par clivage hydrolytique a notamment été réalisée en détail au sujet des imidazole-2-ylidènes ($X = N$) par une mise en parallèle des résultats expérimentaux et des prédictions théoriques[239]. Celle-ci a notamment permis la détection par RMN, dans un solvant organique et en présence d'une faible quantité d'eau, du produit de clivage hydrolytique **202** et de son tautomère **203** ($X = N$; $R^1 = R^2 = 2,6\text{-diisopropylphenyl}$ (DIPP)). La vitesse de cette réaction augmente avec la concentration en eau du milieu (de 0,5 à 4 équivalents). Les signaux observés suggèrent alors un équilibre très rapide entre les formes **199** et **200** menant ensuite au produit de clivage après addition d'un ion hydroxyle.

Il est intéressant de noter que des résultats différents sont observés en présence d'une quantité d'eau plus importante (solvant < 40 %) en milieu basique. Ces conditions se rapprochent du milieu réactionnel classique pour la réaction de Stetter puisque celle-ci est réalisée en présence d'une base et d'un sel d'azolium de façon à générer le carbène *in situ*. L'étude de Holloczki *et al.* a mis en évidence la présence prédominante du cation **200** en équilibre avec le carbène **199** et l'absence des produits de clivage hydrolytique **202** et **203**. Ce résultat peut être en partie expliqué par le fait qu'en présence d'une faible quantité d'eau, l'ion hydroxyle isolé ($pK_a = 32$ dans le DMSO) est plus basique que le carbène ($pK_a = 22$ dans le DMSO), alors qu'en présence d'une grande quantité d'eau, la basicité de l'ion hydroxyle est fortement diminuée et son pK_a devient inférieure à celui du carbène ($pK_a = 16$ dans le DMSO). Il en résulte que l'imidazolium **200** est dans ce cas la forme prédominante et que l'ion hydroxyle se retrouve stabilisé par la présence des nombreuses molécules d'eau du milieu réactionnel, diminuant la probabilité de formation de l'intermédiaire **201** et subséquemment de la réaction de clivage.

Ces observations semblent indiquer que de façon contre-intuitive, la présence d'une quantité d'eau importante favorise la stabilité des NHCs face au clivage hydrolytique par rapport à une quantité faible d'eau. Toutefois, le catalyseur est alors majoritairement sous forme protonée (azolium) et il peut être supposé qu'il perde en activité dans ces conditions. De plus, ces résultats sont à considérer de façon prudente puisqu'ils font référence au seul cas où le carbène est stabilisé par des groupements aromatiques ($R^1 = R^2 = \text{DIPP}$). Dans les autres cas connus ($R^1 = R^2 = \text{alkyle}$), le clivage hydrolytique est systématiquement observé pour les imidazole-2-ylidènes. Cette étude fournit néanmoins des informations cruciales sur le mécanisme de la réaction de dégradation des NHCs dans l'eau qui permettent alors d'envisager leur utilisation dans un milieu totalement aqueux.

I.3.2) Catalyse par les NHCs en milieu aqueux

L'aspect biomimétique de la réaction de Stetter est une seconde raison qui encourage l'utilisation de NHCs dans l'eau. Comme cela a été évoqué précédemment (Chapitre 1 IV-3), la thiamine, comprenant un motif thiazole, est impliqué dans un cycle catalytique similaire et certains cas de formation de dicétones-1,4 sont reportés dans des biosynthèses. Or, ces dernières sont réalisées en milieu physiologique, donc dans l'eau. Les NHCs obtenus à partir de sels de thiazolium semblent donc actifs dans l'eau dans certaines conditions. La raison de la sélection réalisée par la nature envers la thiamine a été étudiée par Duclos et Haake[237], en particulier par rapport au clivage hydrolytique. Trois espèces ont été comparées : les oxazoliums, les thiazoliums et les imidazoliums. En accord avec l'étude plus récente décrite précédemment, si les imidazoliums sont très stables face au clivage hydrolytique dans l'eau, ils sont néanmoins majoritairement présents sous forme de cations et sont les moins propices à la formation de carbènes à un pH de 7,4. L'espèce la plus performante et alors l'oxazolium qui semble très propice à la formation de carbènes. Cependant, elle est également extrêmement sensible au clivage hydrolytique ce qui la rend inutilisable dans l'eau. Ce sont finalement les thiazoliums, moins sensibles au clivage hydrolytique, qui procurent le meilleur compromis entre réactivité et stabilité. Les auteurs proposent également que la capacité des thiazoliums à s'ouvrir leur permettrait de passer au travers des membranes cellulaires de façon plus efficace, ce qui constitue un argument supplémentaire en faveur de leur présence dans le vivant.

Ce sont pourtant des imidazoliums qui ont été utilisés lors de la première description, en 2006, d'une réaction de condensation benzoin catalysée par un NHC dans l'eau[236]. L'utilisation des sels de benzimidazolium **204a-g** substitués sur les positions N-1 et N-3 a conduit à la formation d' α -hydroxycétones avec des rendements allant jusqu'à 99 % (Tableau 21). La nature des substituants s'est alors révélée cruciale : alors que le produit de condensation n'est pas observé pour de petits substituants alkyles (**204a-b**), il est obtenu dès qu'une chaîne plus longue est placée sur l'azote N-1 (**204d**, rendement = 45%). Une

augmentation du rendement est ensuite observée parallèlement à l'augmentation de la longueur de la chaîne (**204e-f**) jusqu'à atteindre 99 %. Par contre, le fait d'ajouter une autre chaîne aliphatique sur l'azote N-3 (**204c** et **204g**) n'a ici pas d'influence sur le rendement. Le catalyseur **204g** s'est toutefois révélé être le plus efficace lors de l'extension de la réaction à d'autres substrats aromatiques. Le paramètre de solubilité du catalyseur a donc une importance cruciale sur sa capacité à réaliser la réaction. Il peut être supposé qu'un catalyseur plus hydrophobe sera préférentiellement en contact avec les réactifs et moins avec l'eau, réduisant sa dégradation. Les auteurs font également part du fait que l'utilisation d'un sel de 1-*N*-alkyle-3-méthylimidazolium ne conduit pas à la formation du produit de condensation benzoïne. La présence du cycle aromatique permet donc probablement d'apporter la stabilité nécessaire au carbène, comme cela a été exposé lors de l'étude de la dégradation des imidazoliums présentée précédemment.

204	R ¹	R ²	Rendement (%)
a	Me	Me	0
b	Et	Et	0
c	(CH ₂) ₂ Me	(CH ₂) ₂ Me	43
d	Me	(CH ₂) ₂ Me	45
e	Me	(CH ₂) ₃ Me	76
f	Me	(CH ₂) ₁₁ Me	99
g	(CH ₂) ₁₁ Me	(CH ₂) ₁₁ Me	98

Tableau 21 - Rendements de la réaction de condensation benzoïne dans l'eau catalysée par des sels de benzimidazolium

D'autres exemples de réactions de condensation benzoïne ont par la suite été développés, que ce soit avec des sels d'imidazolium[235][240] ou de thiazolium [241][242]. La fonctionnalisation de surfaces de silice a également été reportée[243]. Très récemment, une condensation benzoïne énantiosélective dans l'eau a aussi été rapportée par Zhong[244]. Dans cet exemple, l'utilisation du sel de triazolium chiral **205** (Schéma 118) comme précatalyseur a mené à l'obtention de différentes α -hydroxycétones avec des bons rendements et une très bonne sélectivité.

La condensation benzoïne, inspirée de biosynthèse du 2-acétolactate (Chapitre 1 IV-3), a donc été adaptée avec succès à des conditions aqueuses et sans additifs. Par contre, à ce jour, il n'est pas reporté d'exemple de réaction de Stetter dans de telles conditions.

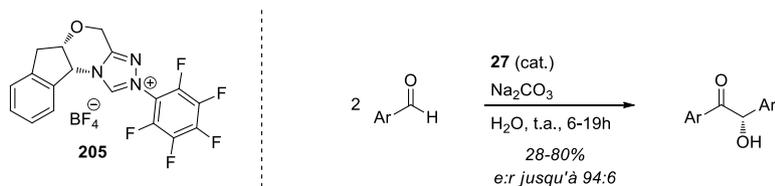


Schéma 118 - Condensation benzoin asymétrique dans l'eau

Pourtant, celle-ci procède selon un mécanisme similaire et intervient aussi dans certaines biosynthèses, notamment celle de la prodigiosine (Chapitre 1 IV-3) catalysée par l'enzyme PigD. Ce constat a tout de même inspiré en 2014 l'utilisation de la réaction de Stetter dans le contexte de la biocatalyse[116]. Ce cas est différent de ceux présentés précédemment puisque la réaction est ici catalysée par une enzyme qui isole les réactifs du milieu. Il constitue toutefois un premier exemple de réaction de Stetter dans l'eau. MenD, une enzyme de la même famille que PigD responsable de la synthèse du 2-succinyl-5-enolpyruvyl-6-hydroxy-3-cyclohexadiène-1-carboxylate (SEPHCHC)[245][246] (Schéma 119A) a mené à des résultats encourageants sur des substrats synthétiques (Schéma 119B). De très bonnes conversions sont notamment observées avec des accepteurs de Michael comme l'acide acrylique, l'acrylonitrile et l'acrylate de méthyle.

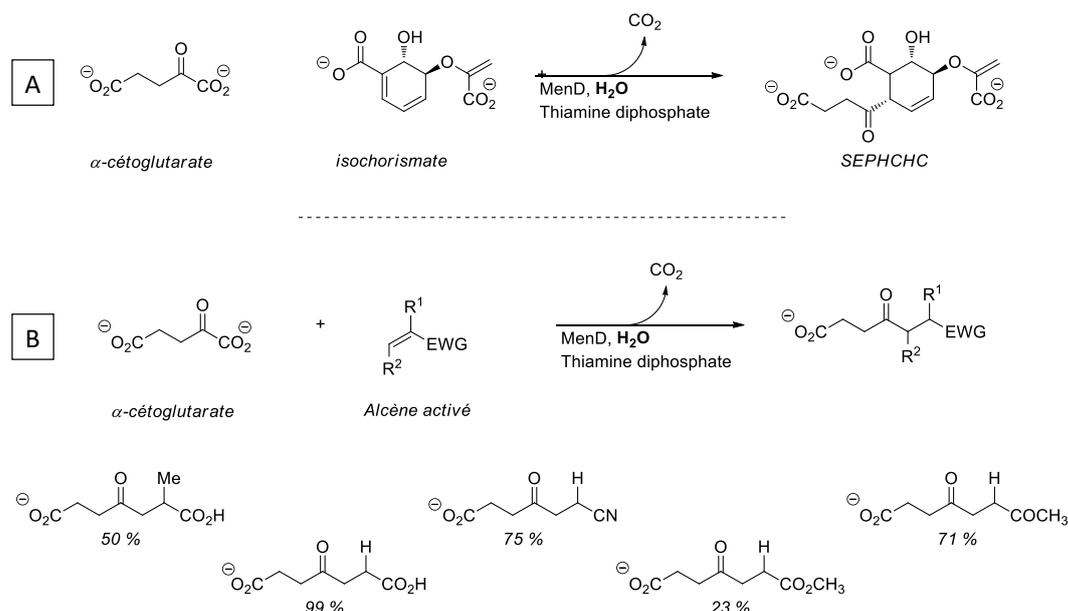


Schéma 119 - A- Biosynthèse de SEPHCHC; B- Additions de Michael en milieu aqueux catalysées par la thiamine et l'enzyme MenD (conversion indiquée en pourcentages)

Il est à noter que ces conditions ne fonctionnent pas avec de nombreux substrats (Schéma 120). En effet, dès que le fragment R² est différent de H sur l'énone, qu'il soit linéaire, cyclique, saturé ou insaturé, la réaction n'opère pas. De plus, la présence d'un groupement méthyle en position R1 conduit à une conversion nettement diminuée dans le cas des dérivés acides acryliques (de 99% à 50%) ou empêche même la réaction dans le cas des groupements acrylonitriles. Ce résultat est très probablement dû à la spécificité inhérente à l'utilisation

d'enzymes et restreint énormément de fait l'application de la biocatalyse à des synthèses plus diversifiées.

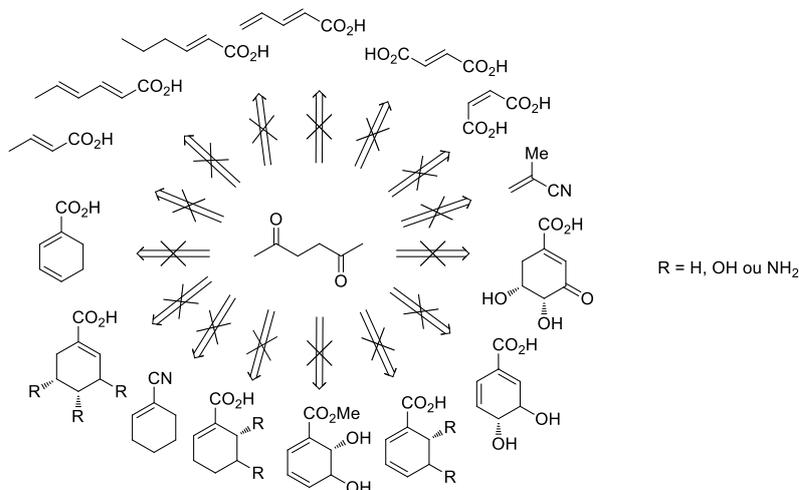


Schéma 120 - *Substrats ne menant pas à la formation du produit de Stetter par biocatalyse*

La réaction entre l'acide pyruvique et l'accepteur de Michael **206** catalysée par le sel de thiazolium **207** avait toutefois été reportée plus tôt par Scheidt (Schéma 121) dans des conditions impliquant la présence d'eau et sans enzyme[247]. L'utilisation d'un mélange méthanol/eau tamponnée 1,3 :1 comme milieu réactionnel a conduit à la formation d'une dicétone-1,4 avec de bons rendements. De façon intéressante, c'est avec une solution aqueuse avec un pH à 7,2, proche du pH physiologique, que le meilleur rendement est obtenu (91%). De plus, seul un sel de thiazolium a conduit à la formation du produit de Stetter, les imidazoliums et triazoliums se révélant inefficaces. Or, ce sont les conditions qui se rapprochent le plus de celles des biosynthèses impliquant la thiamine. Ce constat donne une dimension bioinspirée encore plus importante à cette étude. Par contre, le milieu réactionnel n'est que partiellement aqueux et reste en majorité constitué de méthanol. De plus, si la réaction a été étendue à différents analogues d'acide pyruvique, un seul accepteur de Michael a été testé. Mais malgré ces limites, les deux études précédentes démontrent la possibilité de réaliser la réaction de Stetter de façon efficace dans des conditions impliquant une présence importante d'eau.

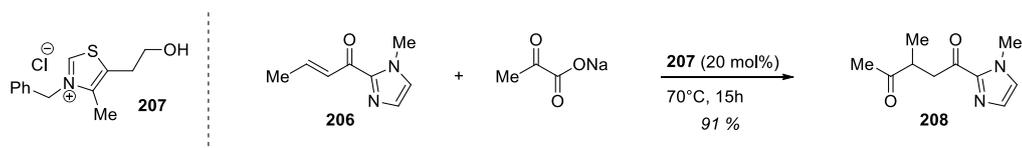


Schéma 121 - *Réaction de Stetter dans un milieu partiellement aqueux (mélange 1,3 :3 de MeOH et d'une solution de tampon phosphate 100 mM à un pH de 7,2)*

II) Développement de la réaction de Stetter en conditions aqueuses

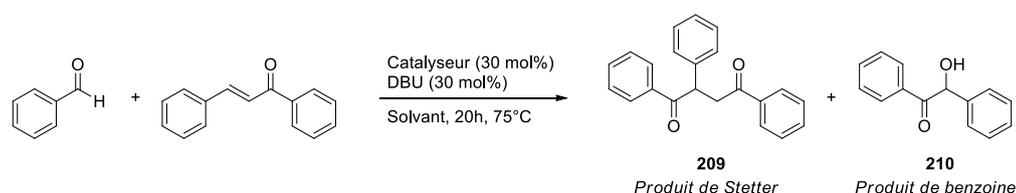
II.1) Etude modèle : cas de la chalcone et du benzaldéhyde

Ce constat, associé à l'intérêt porté aujourd'hui à l'utilisation de l'eau comme solvant, nous a mené à conduire une étude visant à adapter la réaction de Stetter à un milieu aqueux et simple. Pour cela, des modèles simples et connus pour leur réactivité ont été utilisés. La réaction entre le benzaldéhyde et la chalcone a ainsi été étudiée comme modèle pour déterminer les meilleures conditions de réaction. Les premiers essais ont été effectués dans le but de conduire au choix du catalyseur qui serait le plus adapté à des conditions aqueuses.

II.1.1) Etude du système catalytique

Ce travail a été initié par Mégane Debiais-Corbière au cours de son stage de master 2. Comme le montrent les exemples déjà exposés, la structure du catalyseur a une très forte influence sur sa capacité à former un carbène puis à initier et maintenir le cycle catalytique. Des conditions très variées sont rapportées dans la littérature. Aussi, de très nombreux essais impliquant des combinaisons de solvants, sels d'azolium et bases, ont été menés en suivant des exemples décrits dans la littérature. Les résultats de Mégane Debiais ont montré que le système azolium/DBU dans le THF était le plus performant. Il a été retenu pour la suite de l'étude et le tableau 3 rassemble des essais effectués dans les conditions de réaction précédemment utilisées au laboratoire pour la synthèse des nucléolipides, c'est-à-dire, 30 mol% de sel d'azolium, 30 ml% de DBU dans le THF durant 20h à 75 °C. Les mêmes essais ont été faits en présence ou non d'une faible quantité d'eau (10%) pour évaluer la stabilité et l'efficacité des carbènes (Tableau 22).

Une conversion de la chalcone, réactif limitant, a été observée dans la majorité des cas. Les rendements en dicétone-1,4 **209** et benzoïne **210** ont alors été évalués. Le précatalyseur **211** utilisé par Scheidt dans l'exemple cité précédemment a conduit dans le THF (entrée 1) à la formation du produit **209** avec un rendement moyen (33%) et la présence du produit **210** a été observée avec un rendement légèrement inférieur (24%). Par contre, une fois l'eau introduite dans le milieu (entrée 2), ce rapport s'inverse pour donner en majorité le produit **210** avec un bon rendement de 76% contre 24% seulement pour le produit de Stetter. Le produit de Stetter ayant tout de même été observé, le sel de thiazolium **212** dont la structure est proche a été testé. Avec et sans ajout d'eau, de meilleurs résultats ont été obtenus (entrées 3 et 4). Dans le THF la conversion a même dépassé 90%. Une diminution drastique de la conversion et du rendement a cependant été observée lorsque 10% d'eau sont introduits (86% à 42%). Il est important de noter que dans ce cas, le produit **210** a été obtenu en quantité légèrement inférieure à la dicétone mais relativement importante alors que dans le THF pur (entrée 3), aucune trace de benzoïne n'a été détectée.



Entrée	Catalyseur	Solvant	Conversion	Rendement 209	Rendement 210
1		THF	50 %	33 %	24 %
2		THF/H ₂ O (90 :10)	38 %	24 %	76 %
3		THF	90 %	86 %	0 %
4		THF/H ₂ O (90 :10)	45 %	42 %	31 %
5		THF	23 %	13 %	10 %
6		THF/H ₂ O (90 :10)	0 %	0 %	61 %
7		THF	0 %	0 %	0 %
8		THF	0 %	0 %	0 %
9		THF	>95 %	90 %	0 %
10		THF/H ₂ O (90 :10)	76 %	62 %	13 %

Tableau 22 - Rendements en produits de Stetter (**209**) et de benzoïne (**210**) pour différents catalyseurs dans le THF ou avec 10% d'eau. La conversion est basée sur l'intégration des signaux de la chalcone (réactif limitant) sur le spectre RMN ¹H du produit brut

Le thiazolium **214** a ensuite été engagé dans la réaction mais s'est révélé très peu efficace (entrées 5 et 6). D'autres sels d'azoliums ont ensuite été testés. Cependant, que ce soit dans le cas de l'imidazole **215** et du triazole **216**, aucune conversion n'a été observée. Il est intéressant de relever qu'ici, seuls les sels de thiazolium, analogues de la thiamine, se sont

révélés efficaces. Cela fait écho aux résultats cités précédemment obtenus par Scheidt dans un mélange MeOH/H₂O.

Finalement, ces résultats ont orienté le choix du précatalyseur vers un sel de thiazolium. La meilleure efficacité des précatalyseurs **211** et **212** par rapport au **214** semble montrer que la fonctionnalisation de la position 4 par le groupement hydroxyéthyle a un effet bénéfique sur le déroulement de la réaction. Le composé **212** étant le plus performant, nous avons décidé de synthétiser et tester son analogue benzylé **217**, décrit par Tsuda comme résistant à l'hydrolyse dans des conditions basiques aqueuses[248]. Il a été aisément synthétisé en deux étapes par benzylation du thiazole **218** suivie de la quaternarisation de l'azote (Schéma 122).

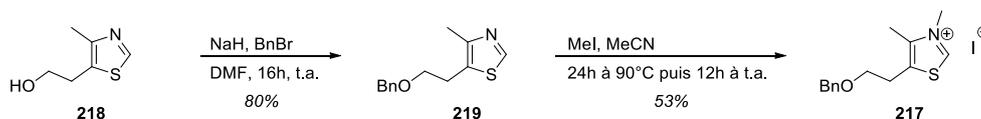


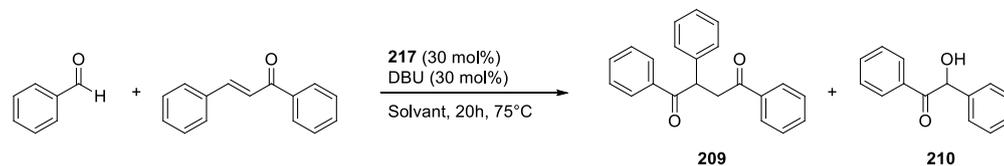
Schéma 122 - Synthèse du précatalyseur **217**

Celui-ci s'est alors révélé très performant dans le THF (entrée 9) et en présence d'eau (entrée 10), avec un rendement de 62% en produit de Stetter et 13% en produit de benzoïne. Ce précatalyseur a donc été retenu pour la suite de l'étude.

II.1.2) Influence de la quantité d'eau sur la réactivité

La quantité d'eau a ensuite été augmentée graduellement jusqu'à obtenir un milieu entièrement aqueux. La conversion en chalcone et les rendements en produits **209** et **210** sont détaillés dans le tableau 23. En passant à un mélange 50 :50 THF/H₂O (entrée 3), une diminution importante de la conversion a été observée, entraînant des rendements plus faibles. Par contre, cette tendance s'inverse de façon surprenante lorsqu'une quantité d'eau plus importante est introduite (10 :90, entrée 4), ce qui se confirme dans un milieu totalement aqueux (entrée 5) où la conversion atteint 90% pour un rendement de 74% en produit de Stetter alors très majoritaire. Ce résultat peut être corrélé avec les résultats de l'étude de la dégradation des catalyseurs de type imidazole évoquée plus tôt. En effet, dans les deux cas, augmenter la quantité d'eau semble améliorer le rendement. Le milieu réactionnel étant biphasique, il peut également être supposé que la réaction se produise à l'interface entre l'eau et la phase organique. Si tel est le cas, cette réaction peut être assimilée à une réaction « **on water** » et l'interaction avec l'eau par liaisons hydrogène, effet de stabilisation de charge, effet dipolaire ou effet hydrophobe pourrait également participer à l'augmentation du rendement. Toutefois, les raisons de ce résultat n'ont pas clairement été identifiées dans notre cas. L'utilisation du précatalyseur **217** a permis néanmoins d'atteindre l'objectif fixé : réaliser la réaction de Stetter dans un milieu totalement aqueux avec un bon rendement et sans additif. Il est à noter que dans notre cas, la chalcone porte un groupement phényle

sur la double liaison alors que dans la réaction enzymatique citée précédemment faisant intervenir MenD, aucune conversion n'était observée pour les énones substituées. Ce résultat confère un avantage certain à la méthode présentée ici qui apparaît de fait moins sensible à l'encombrement stérique.



Entrée	Solvant (THF :H ₂ O)	Conversion	Rendement 209	Rendement 210
1	100 :0	≥95%	90%	0%
2	90 :10	76%	62%	13%
3	50 :50	59%	58%	6%
4	10 :90	84%	69%	12%
5	0 :100	90%	74%	12%

Tableau 23 - Rendements en produits de Stetter (**209**) et de benzoïne (**210**) dans différents mélange THF/H₂O. La conversion est basée sur l'intégration des signaux de la chalcone (réactif limitant) sur le spectre RMN ¹H du produit brut

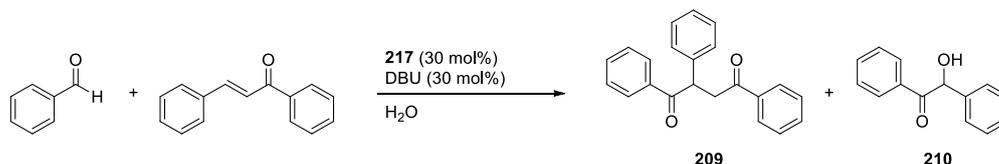
Il est particulièrement intéressant de remarquer que dans tous les cas où l'eau est présente, le produit de condensation benzoïne **210** est observé, alors qu'il ne l'est pas dans le THF pur. L'eau a donc clairement une influence sur le cycle catalytique de la réaction, en particulier sur l'étape qui régit l'équilibre entre les deux mécanismes impliqués. Motivés par ces résultats très encourageants, nous avons exploré l'influence de la température sur la réaction de façon à voir si celle-ci pouvait avoir lieu dans des conditions plus compatibles avec des biomolécules souvent thermosensibles.

II.1.3) Influence de l'eau sur le mécanisme réactionnel

II.1.3.1) Effet de la température

La réaction ayant été initialement réalisée à 75 °C, des températures de 40 °C et 95 °C ont été appliquées (Tableau 24). Comme on pouvait s'y attendre, une meilleure conversion a été obtenue à 95 °C (entrée 3) en un temps très réduit. L'augmentation de la température

influe également sur le ratio **209/210** obtenu en favorisant la production de la dicétone-1,4. A l'inverse, une conversion très lente a été observée à 40 °C (entrée 1), de seulement 30% après 20h de réaction, et cette fois la condensation benzoïne s'est avérée fortement favorisée.



Entrée	Température	Temps	Conversion	Ratio 209/210
1	40 °C	20h	30%	29 :71
2	75 °C	20h	90%	81 :19
3	95 °C	7h	>90%	86 :14
4	40 °C	72h	58%	54 :46

Tableau 24 - Influence de la température sur la réaction. La conversion est basée sur l'intégration des signaux de la chalcone (réactif limitant) sur le spectre RMN ^1H du produit brut

Pour mieux comprendre les effets de la température, des suivis cinétiques ont été effectués par RMN ^1H aux deux températures extrêmes. A 95 °C (Figure 39A), la dicétone (ligne bleue) est le produit majoritaire dès le début de la réaction et l'aldéhyde (ligne verte) a été très rapidement consommé. Le produit de benzoïne (ligne rouge) s'est également formé rapidement au départ puis a ensuite rapidement diminué de façon symétriquement opposée à la formation de la dicétone (axe de symétrie en noir), les équilibres du cycle catalytique de la condensation benzoïne étant déplacés par la formation irréversible de la dicétone.

En comparaison, à 40 °C (Figure 39B), l'aldéhyde est également consommé dès le départ mais cette fois-ci, c'est le produit de benzoïne qui est formé de façon très majoritaire. De la même façon, l'équilibre est ensuite déplacé par la formation de la dicétone mais plus lentement dans ce cas, et cette dernière ne devient le produit majoritaire qu'après plus de 48h de réaction. Après 72h, une grande quantité de benzoïne est encore présente (42%) et on peut imaginer qu'à cette température, il sera difficile d'obtenir exclusivement la dicétone 1,4. Dans l'eau et quelle que soit la température, la formation de la dicétone est principalement limitée par la réaction de condensation benzoïne qui entre en compétition avec la réaction de Stetter, l'aldéhyde étant lui converti très rapidement. Par contre, la condensation benzoïne étant réversible, le chauffage à 95 °C a une influence majeure sur la formation de la dicétone 1,4. Etant donné les différences importantes de ratios **209/210** entre les deux cas, la température a un impact très marqué sur le déroulement de la réaction.

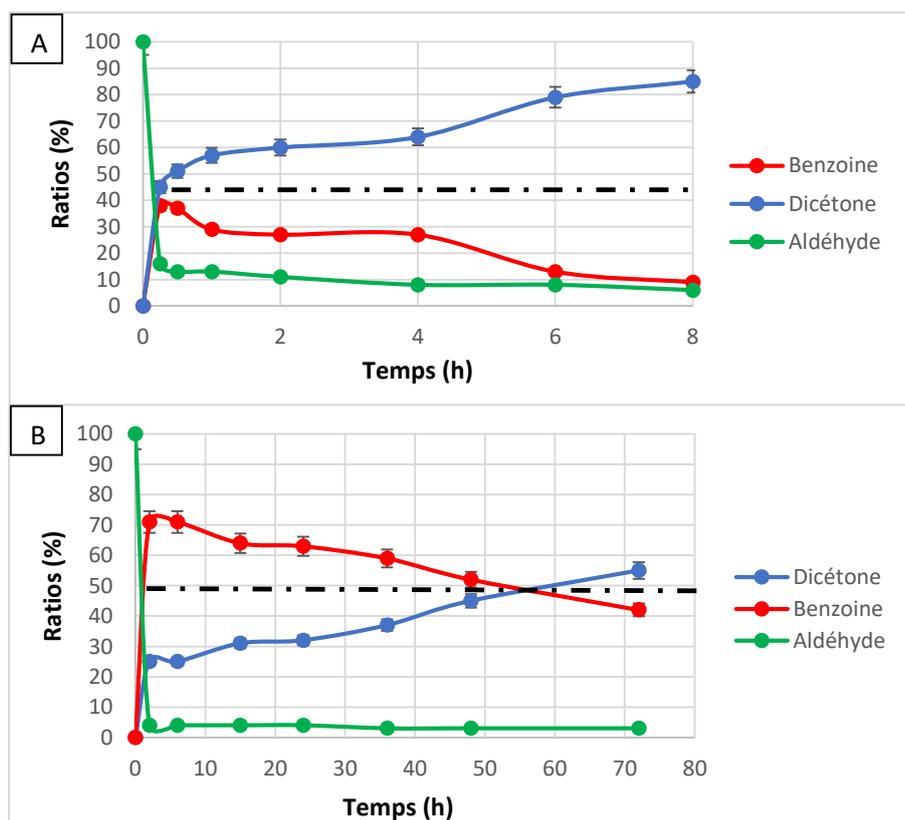


Figure 39 - Suivi de la réaction : ratio des réactifs et produits en fonction du temps A- à 95 °C et B- à 40 °C

II.1.3.2) Influence du solvant sur la cinétique de réaction

Dans le THF à 75 °C, le produit de condensation benzoïne n'a pas été observé. (Tableau 23, entrée 1). La nature du solvant joue donc également un rôle très important dans le déroulement de la réaction. En considérant les mécanismes concurrents impliquant la formation de chaque produit (Schéma 123), au moins deux hypothèses peuvent être proposées pour expliquer cette différence de réactivité. Premièrement, dans des conditions organiques classiques, il est admis que l'étape cinétiquement limitante dans la réaction de Stetter et de condensation benzoïne est le transfert de proton 1,2 [249]. Or, l'eau étant une source abondante de protons, cette étape ne peut plus être limitante en milieu aqueux. Ensuite, les étapes d'addition-1,4 sur l'énone ① et de rétrobenzoïne ② semblent plus lentes dans l'eau. Elles représenteraient alors les étapes cinétiquement limitantes.

Pour mieux comprendre laquelle de ces étapes pose problème dans l'eau et savoir si l'on peut espérer rendre cette réaction plus performante en milieu aqueux ce, et à une température compatible avec des molécules organiques plus sensibles, il a été envisagé d'étudier la réaction en utilisant la benzoïne comme réactif respectivement dans l'eau et dans le THF. En effet, la benzoïne génère *in situ* de l'aldéhyde par rétrobenzoïne. La benzoïne joue le rôle d'un aldéhyde masqué et peut conduire à l'intermédiaire de Breslow.

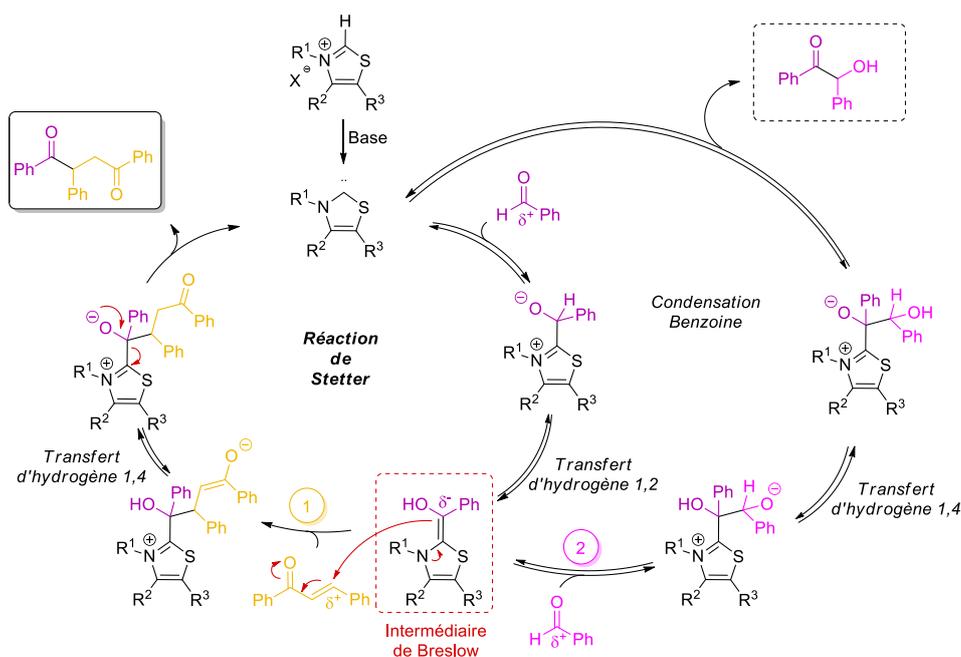


Schéma 123 - Mécanismes de la réaction de Stetter et de la condensation benzoïne

L'utilisation de produits de condensation acyloïne comme substitut aux cinnamaldéhydes a ainsi été décrite par Bode pour des réactions d'annélation[250] (Schéma 124). Dans cette étude visant à contourner les inconvénients liés à la synthèse et à la stabilité de tels aldéhydes, des réactions catalysées par des sels de triazoliums en conditions douces ont été réalisées.

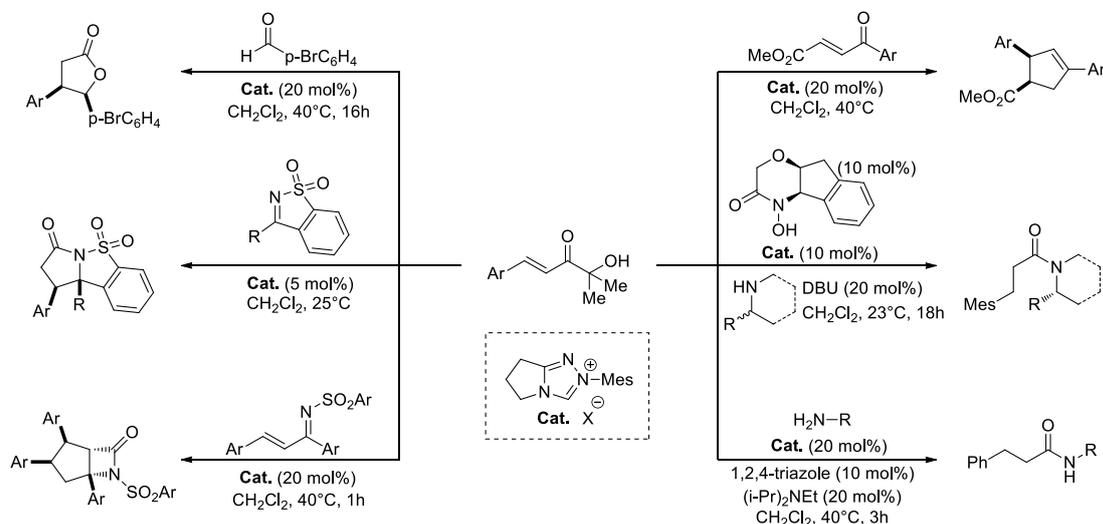


Schéma 124 - Utilisation d' α -hydroxyénones dans des réactions catalysées par des NHCs (Bode et al.)

L'étude comparative de différents catalyseurs a alors dans un premier temps mis en évidence que le rendement de la réaction est fortement lié à l'encombrement stérique imposé par le catalyseur. Ensuite, il a été déduit de l'absence de stéréosélectivité et de certains produits de réaction que l'aldéhyde correspondant n'est pas formé dans le milieu. Ces exemples ont toutefois été uniquement développés dans des solvants organiques, il est donc probable que des paramètres différents influent sur la réaction dans l'eau. Les auteurs ont

par ailleurs élégamment démontré l'utilité de ce réactif lors d'amidations co-catalysées en série racémique[251] ou asymétriques[252] (Schéma 124).

Par analogie avec ces travaux, la benzoïne a été engagée dans une réaction avec le partenaire accepteur chalcone en présence du catalyseur **217** dans le THF et dans l'eau (Schéma 125). Les ratios en benzoïne, dicétone et aldéhyde ont été suivis par RMN ^1H au cours du temps. Pour pouvoir observer la réaction sur une échelle de temps acceptable dans l'eau, la réaction a été réalisée à 95 °C. Dans le THF, une conversion très rapide de la benzoïne (ligne rouge) a été observée et après seulement 2h, la dicétone-1,4 (ligne bleue) étant fortement majoritaire (Figure 40A). De plus, la RMN nous a donné la preuve fiable de la formation de l'aldéhyde (ligne verte) en petite quantité, même s'il est consommé immédiatement après.

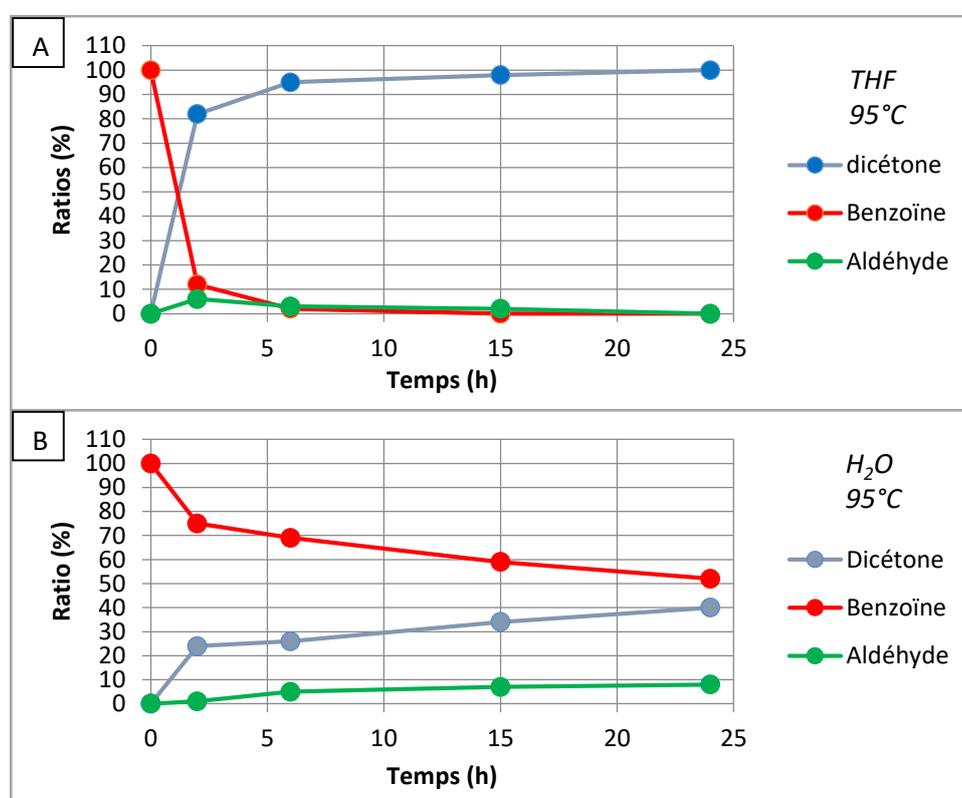


Figure 40 - Suivi de la réaction entre la benzoïne et la chalcone : ratio des réactifs et produits en fonction du temps à 95 °C A- dans le THF et B- dans l'eau

D'autre part, le suivi de la réaction dans l'eau montre l'impact drastique du changement de solvant sur la conversion de la benzoïne (ligne rouge) (Figure 40B). Elle est plus lente que dans le THF pendant les deux premières heures puis ralentit ensuite de façon drastique, si bien qu'au bout de 24h le réactif de départ est toujours majoritaire. Une quantité relativement constante d'aldéhyde (ligne verte) est également présente dans le milieu jusqu'à la fin du temps observé. La conversion de l'aldéhyde semble donc également plus lente. Cette observation peut être due soit à une réactivité moins importante du benzaldéhyde vis-à-vis du catalyseur dans l'eau, soit au fait que la benzoïne n'étant en majorité pas convertie, une partie du catalyseur "est occupée" par l'étape de rétrobenzoïne.

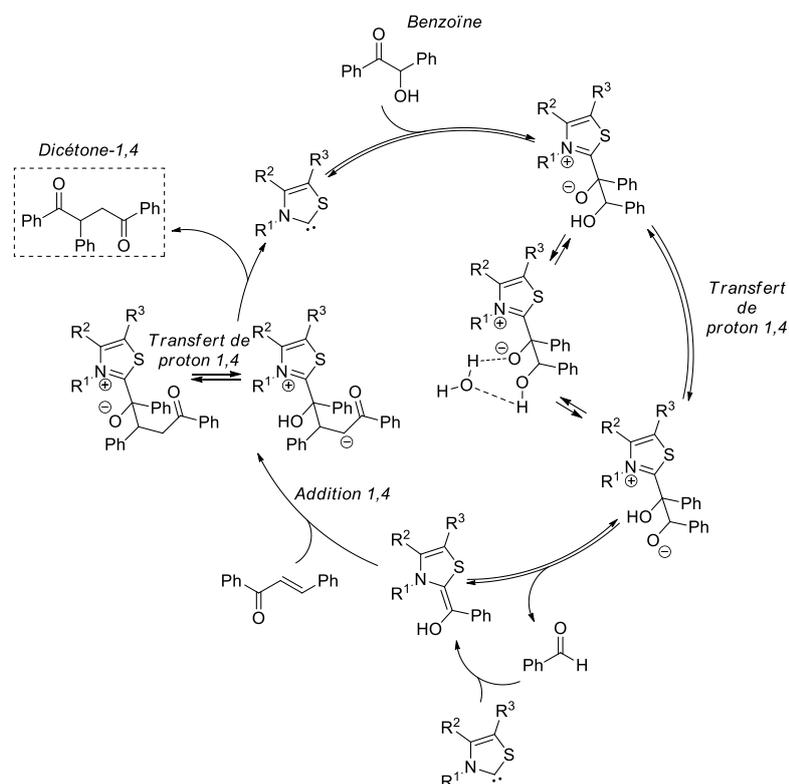


Schéma 125 - Cycle catalytique de la réaction de Stetter entre la benzoïne et la chalcone

D'après ces observations, l'étape de rétrobenzoïne semble donc bien une étape limitante pour la réaction de Stetter en conditions aqueuses.

Il est à noter que l'étude ayant été réalisée à 95 °C, ces observations seraient probablement encore plus marquées à des températures inférieures et notamment à 40 °C où un temps de réaction très long est nécessaire pour observer une conversion acceptable de l'énone. Ce constat représente un obstacle majeur à l'utilisation de conditions plus éco-compatibles pour la réaction de Stetter ce qui nous a conduits à envisager une méthode d'activation alternative.

II.1.4) Activation alternative : réaction sous micro-ondes

Pour tenter d'améliorer la réactivité, la réaction a été réalisée sous activation par micro-ondes à 40 °C (Figure 41). En comparaison d'une activation par chauffage classique à la même température, l'aldéhyde est consommé plus rapidement et laisse place à la formation de la dicétone-1,4 et de la benzoïne en quantité nettement plus importante. De plus, à partir d'une heure de réaction, une baisse de la quantité de benzoïne est observée démontrant l'intérêt de l'activation par micro-ondes pour favoriser la réaction de rétrobenzoïne. Après 3h, la dicétone est légèrement majoritaire (52%) alors qu'elle est très minoritaire par chauffage classique (25%). Sans activation micro-ondes, il faut un temps de 72h pour arriver au même résultat (Tableau 5). L'activation par micro-ondes réduit donc drastiquement le temps de réaction en apportant l'énergie nécessaire au passage des étapes limitantes du processus.

Cependant, au-delà de 3h, une dégradation des réactifs est observée et le rendement en dicétone n'a pas pu être amélioré. Cela constitue la limite de cette méthode, d'autant plus si elle devait être appliquée à des composés plus sensibles. Elle démontre toutefois la possibilité d'activer la réaction par d'autres moyens qu'un chauffage classique et laisse supposer que l'optimisation des conditions de réaction pourrait permettre d'obtenir de meilleurs rendements en dicétone 1,4.

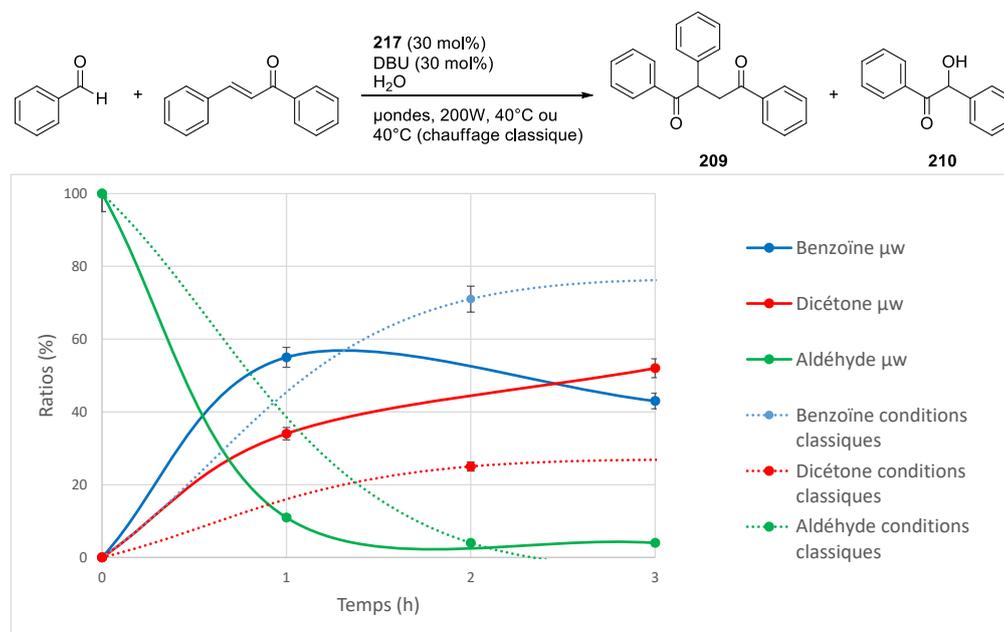


Figure 41 - Suivi de la réaction de Stetter dans l'eau avec ou sans activation micro-ondes à 40°C

L'activation par micro-ondes tendant à dégrader les produits et ne permettant pas d'atteindre un rendement assez satisfaisant, les conditions classiques ont été utilisées pour tenter d'étendre la réaction de Stetter dans l'eau à d'autres substrats. Une étude plus approfondie serait nécessaire pour permettre de la réaliser dans des conditions plus douces.

II.2) Extension à d'autres substrats

Pour évaluer la généralité de la faisabilité de cette réaction dans l'eau, le benzaldéhyde a été remplacé par des aldéhydes variés, activés ou non (Tableau 25). Une réactivité très différente a été observée en fonction des composés utilisés. Par exemple, parmi les composés activés l'indole-3-carboxaldéhyde (entrée 2) ne conduit ni à la formation de la dicétone, ni à celle de l'acyloïne. En revanche, l'ansaldéhyde (entrée 3) et le pyrrole-2-carboxaldéhyde (entrée 4) conduisent à la formation de la dicétone avec des rendements respectifs de 20% et 25%. L'augmentation du temps de réaction a permis d'améliorer significativement le rendement jusqu'à 68% après 60h de réaction dans le cas du pyrrole, mais seulement jusqu'à 30% pour l'ansaldéhyde.

Entrée	Aldéhyde	Temps	Rendement dicétone-1,4	Rendement acyloïne
1		20h	72%	15 %
2		20h	Traces	Traces
3		20h/60h	20%/30%	Traces
4		20h/60h	25%/68%	0%
5		20h	89%	0%
6		20h	65%	0%
7		20h	47%	0%
8		20h	37%	0%
9		20h	13%	36% ^a
10		20h	70%	0%
11		20h	Traces	0%
12		20h	Très majoritaire	0%

a- Rendement en produit d'élimination rédox interne ; b- d'après la RMN ¹H du produit brut.

Tableau 25 - *Extension des conditions de réaction à d'autres aldéhydes*

Les résultats encourageants sur certains dérivés aromatiques nous ont ensuite conduits à considérer le cas d'analogues de petites biomolécules. Des analogues de lipides (entrée 5 et 6) ont été engagés dans des réactions de Stetter. De très bons rendements ont alors été obtenus et la formation du produit secondaire n'a pas été observée. La longueur de la chaîne aliphatique semble par contre avoir une influence significative sur la réactivité de l'aldéhyde. En effet, le rendement chute de 89% à 65% lorsque l'on passe de l'octanal au dodécanal. Ce dernier étant plus hydrophobe, il est probable que la solubilité des réactifs ait un impact important sur leur réactivité. Toutefois, des essais supplémentaires seraient nécessaires pour établir clairement un lien.

Des aldéhydes aminés (dérivés d'acides aminés) ont ensuite été utilisés (entrées 7 et 8). Les dicétones correspondantes ont été formées avec succès mais avec un rendement plus moyen. Ce résultat est tout de même encourageant car une fois encore, la formation du produit de condensation acyloïne n'est pas observée. Le dérivé de nucléoside **69** (entrée 9) synthétisé précédemment a également été engagé dans une réaction de Stetter avec la chalcone. La dicétone a été obtenue mais avec un rendement plus décevant de 13%. De façon surprenante, le produit d'élimination de type « internal redox » (décrit dans le chapitre 2 IV-2) a été obtenu avec un rendement beaucoup plus élevé de 36% alors qu'il était très minoritaire dans le THF. Ce constat met donc tout d'abord en évidence la formation de l'intermédiaire de Breslow dans ce cas. Cependant, il semble que l'addition sur l'énone soit bien moins favorable que l'élimination sur l'énaminal dans ces conditions. Plusieurs hypothèses peuvent alors être proposées. L'eau pourrait tout d'abord favoriser la formation de l'intermédiaire pentavalent du silicium par stabilisation de charges. Le manque d'homogénéité du milieu réactionnel peut aussi être mis en cause. En effet, l'aldéhyde **69** étant introduit sous la forme d'une mousse sèche, le milieu est très hétérogène après son addition. Une agitation vigoureuse a pu être instaurée et une légère coloration est observée après l'ajout du sel de thiazolium et du DBU, suggérant la formation de l'intermédiaire de Breslow. Il peut alors être supposé que ce dernier entre plus difficilement en contact avec l'énone ce qui favoriserait l'élimination intramoléculaire. Une optimisation des conditions et une étude plus précise de la réactivité des intermédiaires seraient nécessaires pour mieux comprendre ce résultat. Il a tout de même été tenté de réaliser la synthèse d'un nucléolipide dans l'eau à partir de l'énone **84** (Schéma 126). Cependant, la formation du produit n'a pas été observée en présence des précatalyseurs **217** ou **95**. Il est à noter que compte tenu des résultats observés entrées 5 et 6, il serait pertinent d'effectuer la même réaction en inversant les partenaires, c'est-à-dire, l'énone sur le nucléoside et l'aldéhyde sur la chaîne grasse. Malheureusement ces essais n'ont pas pu être réalisés par manque de temps.

Avec l'idée de fonctionnaliser d'autres types de biomolécules, notre intérêt s'est ensuite porté sur l'utilisation de sucres comme source d'aldéhydes masqués. En effet, les sucres existent sous deux formes en équilibre, l'aldéhyde sous forme ouverte et l'hémiacétal sous forme cyclisée. Même si la forme aldéhyde est minoritaire dans le milieu (0.0032 à 0.09%

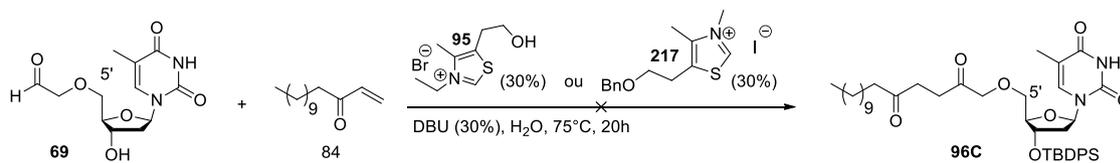


Schéma 126 - Tentative de synthèse d'un nucléolipide dans l'eau par la réaction de Stetter

pour des hexoses[253], il a été supposé que le catalyseur pourrait la piéger en formant l'intermédiaire de Breslow et ainsi déplacer petit à petit l'équilibre vers la formation de la dicétone. Un exemple basé sur cette hypothèse a ainsi été reporté par Chi en 2013[254]. Différents sucres mis en réaction avec un NHC ont constitué une source efficace d'équivalents de formaldéhyde (Schéma 127). Dans ce cas particulier, une réaction de type rétrobenzoïne entraîne le clivage de la liaison C¹-C² du sucre pour donner un équivalent d'anion acyle (**Voie rouge**). La formation d'un sucre fonctionnalisé avec une dicétone-1,4 (**Voie bleue**) n'est pas décrite par les auteurs.

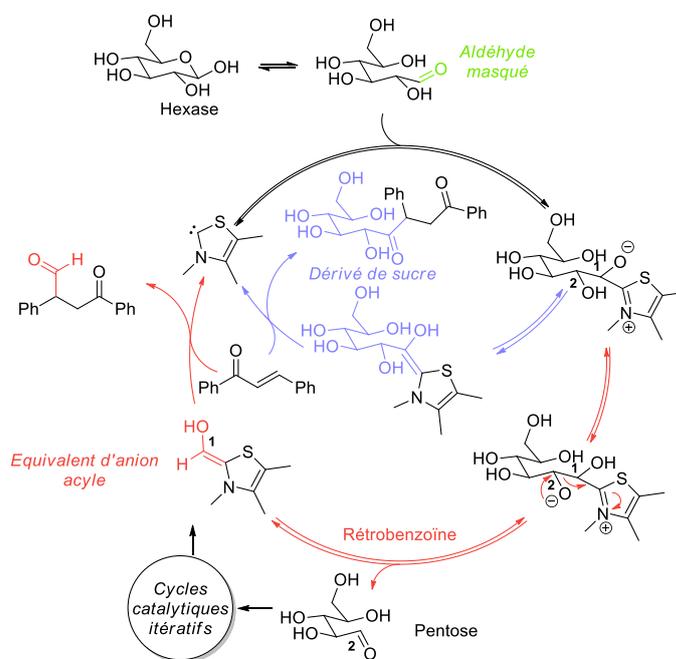


Schéma 127 - Activation de sucres par des NHCs

Pour notre étude, le lactol a tout d'abord été utilisée en tant que mime très simplifié de sucre (Tableau 25, entrée 10). Ne possédant pas de fonction hydroxyle en α de l'aldéhyde, la réaction de rétrobenzoïne décrite par Chi ne peut pas se produire dans ce cas. Un rendement très satisfaisant de 70% en dicétone a été obtenu, démontrant la possibilité de piéger l'aldéhyde dans ces conditions. De plus, le produit de condensation acyloïne n'est pas observé ce qui est logique étant donné que la concentration en aldéhyde est sans doute faible dans le milieu. Suite à ce résultat encourageant, le glucose a été placé dans les mêmes conditions (entrée 11). Cependant, seules des traces de sucre portant une dicétone ont été observées. De plus, la réaction décrite par Chi n'a pas été observée. Il est donc probable que le sucre se soit décomposé sous l'action du carbène. Finalement, le sucre protégé **89** (entrée 12) por-

teur d'une fonction aldéhyde en dehors du cycle a été mis en réaction et la RMN ^1H du produit brut a montré la formation très majoritaire du produit de Stetter correspondant. Cependant, le produit s'est avéré difficile à purifier et n'a pas pu être isolé. La formation d'un sucre fonctionnalisé par une dicétone a ainsi tout de même pu être réalisée.

Premiers pas vers une nouvelle méthode de bioconjugaison

D'après les résultats obtenus, les conditions réactionnelles aqueuses développées pour l'étude modèle se sont révélées adaptées pour la fonctionnalisation de plusieurs aldéhydes. Cependant, la réactivité est très dépendante du substrat dans ces conditions, ce qui pose une limite à leur utilisation. Des conditions plus fiables doivent donc être développées pour obtenir une méthode moins spécifique aux substrats. Les résultats préliminaires obtenus constituent alors une base pertinente dans cette approche puisqu'ils se sont révélés très positifs dans plusieurs cas, précisément dans le cas de petites biomolécules comme les acides aminés. Evidemment, compte tenu des résultats obtenus en 60h (entrée 4), la première disposition à prendre serait d'augmenter les temps de réaction puisque l'exemple du pyrrole carboxaldéhyde montre que cela peut avoir un effet drastique sur les rendements.

Le but de cette étude modèle était de mettre au point des conditions de réaction plus douces et éco-compatibles pour la réaction de Stetter. A notre connaissance ce travail constitue le premier exemple de réaction de Stetter dans l'eau dans des conditions non enzymatiques. Etant donné l'influence de l'eau sur les étapes de transfert d'hydrogène, le mécanisme semble s'apparenter à celui d'une réaction « **on water** » par analogie avec les exemples présentés plus tôt dans ce chapitre. Toutefois, un effet hydrophobe n'est pas écarté et comme cela est souvent le cas pour les réactions organocatalysées[228][229], il n'est pas possible à ce jour d'identifier clairement s'il s'agit d'un processus « **on water** », « **in water** » ou combinant les deux approches.

Dans le contexte du domaine d'activité de l'équipe ChemBioPharm et en collaboration avec le Dr. Arnaud Gissot et Brune Vialet, l'un des projets a été d'appliquer cette réaction à des oligonucléotides notamment dans le cadre de la "DNA Templated Synthesis". Un autre objectif a été d'appliquer cette réaction dans l'eau à des substrats de type biomolécules ou des molécules d'intérêt. Dans ce but, nous avons tenté de fonctionnaliser la biotine et la rhodamine pour en faire des partenaires énonés de cette réaction (Schéma 128). Ces composés possédant une fonction acide, des essais préliminaires ont été réalisés en les plaçant dans les conditions de formation d'un amide de Weinreb, de façon analogue à la synthèse de l'énone fluorée **81**. Cependant, les substrats étant insolubles dans le solvant de réaction, la formation des produits **220** et **221** n'a pas été observée et les énonés **222** et **223** correspondantes n'ont donc pas pu être obtenues. Le développement de conditions de réaction adaptées serait donc nécessaire pour y parvenir, mais par manque de temps ces études n'ont pu être menées à leur terme. Compte tenu des spécificités de cette réaction d'addition 1,4 non réversible, une

telle réaction constituerait à notre avis, une alternative d'intérêt pour réaliser des réactions de bioconjugaison.

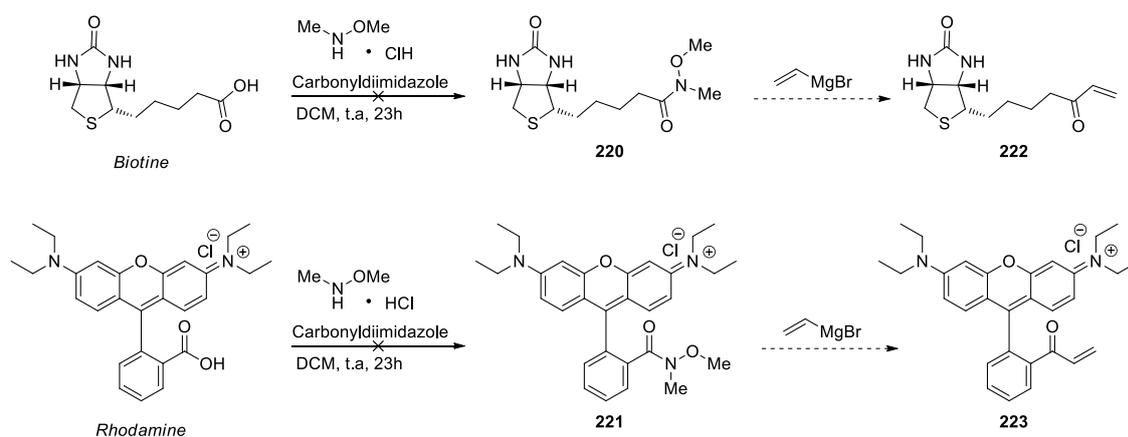


Schéma 128 - Tentative de synthèse d'énones sur la biotine et la rhodamine

La bioconjugaison s'agit d'un domaine d'intérêt en plein essor pour la biologie et la biochimie et qui concerne aussi bien la découverte d'interaction entre macrobiomolécules, que l'étude des réactions biochimiques, le diagnostic, l'imagerie médicale, ou encore l'introduction de groupements PEGs ou l'immobilisation des enzymes. La capacité de réaliser des réactions de bioconjugaison efficaces et propres représente donc un enjeu académique et économique important.

Des réactions capables de procéder en conditions physiologiques et par conséquent aqueuses sont nécessaires pour fonctionnaliser des biomolécules. Plusieurs types de réactions permettant de réaliser des bioconjugaisons sont aujourd'hui connus[255] dont celles impliquant des thiols. Ces espèces ont un attrait particulier pour la fonctionnalisation des protéines puisque les résidus cystéines peuvent être utilisés comme réactifs. Dans l'eau, ces nucléophiles peuvent réaliser des réactions d'additions, notamment de type 1,4 sur des maléimides (Schéma 129A). Celles-ci ont été réalisées de façon efficace sur de nombreux substrats biologiques mais présentent néanmoins l'inconvénient d'être réversibles. Il est alors difficile de quantifier la conjugaison entre les biomolécules ce qui peut représenter un frein à leur utilisation. De plus, des réactions secondaires avec les résidus histidines et lysine ou une dégradation par hydrolyse peuvent être observées. La formation de ponts disulfures peut être réalisée par les thiolates de façon plus sélective, mais cette réaction est également réversible et cette fonction est sensible à la présence de glutathion *in vivo* ce qui limite son application à des études *in vitro*.

La formation de liaisons amides est également attrayante puisqu'elles sont très stables en milieu aqueux. Le challenge réside alors dans la régiosélectivité de la bioconjugaison, objectif qui a été atteint de façon élégante grâce à la réaction de Staudinger entre un azoture et un réactif couplant une phosphine et un groupement donneur d'acyl (Schéma 129B). L'utilisation d'un phosphinotioester permet d'éviter la présence de l'oxyde de phosphine formé dans le produit final.

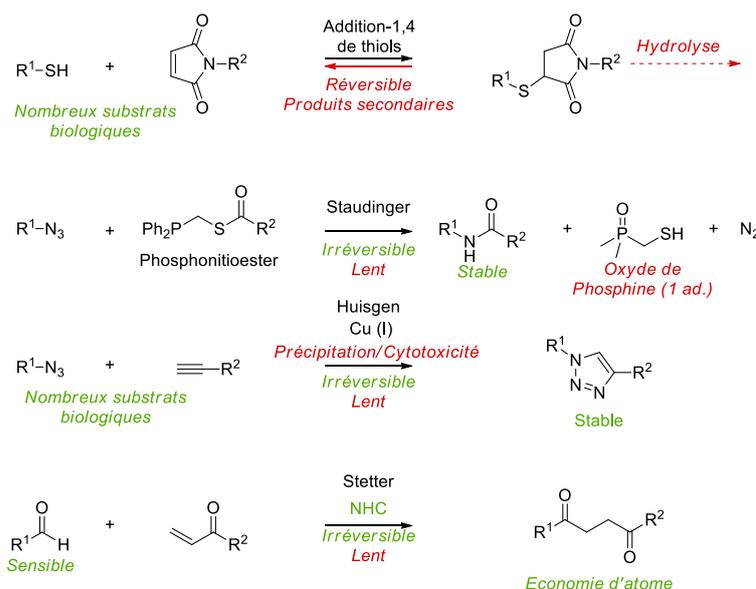


Schéma 129 - Comparaison des principales réactions de chimie « click » avec la réaction de Stetter

L'utilisation d'azotures pour la réaction de cycloaddition de Huisgen a également été largement explorée dans le contexte de la bioconjugaison (Schéma 129C). Son irréversibilité et la stabilité du produit formé s'ajoutent à tous les autres avantages de cette réaction de chimie « click » pour en faire l'une des méthodes de bioconjugaison les plus performantes. Toutefois, l'utilisation de cuivre peut engendrer une cytotoxicité et/ou la précipitation des biomacromolécules limitant son utilisation dans certains cas. La sensibilité des azotures aux électrophiles, très présents en milieu physiologique, ainsi que la cinétique lente des réactions de Staudinger et de Huisgen représentent également d'autres limites pour les réactions basées sur l'utilisation d'azotures. Finalement, les méthodes de bioconjugaisons doivent être adaptées au type de biomolécules et au sujet de l'étude réalisée. Le développement de nouvelles réactions complémentaires à celles reportées jusqu'à aujourd'hui revêt donc un intérêt particulier.

Les résultats obtenus lors de la réalisation de réactions de Stetter dans l'eau ont mis en évidence certaines limites de réactivité mais la formation de dicétones-1,4 a été observée dans certains cas avec de bons rendements. Ce constat est très encourageant et laisse entrevoir qu'une étude plus approfondie permettra de la rendre plus efficace. En se projetant dans le contexte de biomolécules complexes, l'utilisation d'aldéhydes pourrait se révéler problématique du fait de leur forte réactivité. Toutefois, ces fonctions sont déjà utilisées pour la bioconjugaison[161][255] et elles ne représentent donc pas un obstacle pour la réaction de Stetter. L'utilisation de la réaction de Stetter pour la bioconjugaison semble donc envisageable et elle présenterait dans ce contexte plusieurs avantages majeurs dont le fait d'être irréversible. De plus, un mécanisme différent de ceux des méthodes déjà décrites, et notamment de la cycloaddition de Huisgen, ajouterait des relations d'orthogonalité. Cela a par ailleurs été illustré par la synthèse du GNL hybride **148** portant un lien triazole et un lien

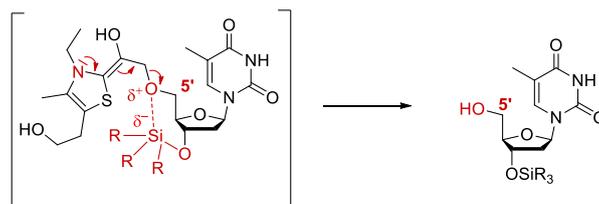
dicétone-1,4 ou pyrrole dans le chapitre 2. Enfin, en qualité de réaction organocatalysée procédant avec une économie d'atome totale elle pallie le problème inhérent à l'utilisation de cuivre dans la réaction de Huisgen ou la formation de produits secondaires contaminants comme dans le cas de la réaction de Staudinger (oxyde de phosphine produit en quantité stoechiométrique). Ces avantages font de cette alternative une solution très attrayante, encouragée par les résultats préliminaires positifs décrits dans ce chapitre. Ils font ainsi écho aux caractéristiques des réactions de chimie « click » dont l'intérêt n'est plus à démontrer. Le développement de la réaction de Stetter en conditions aqueuses est donc aujourd'hui poursuivi avec intérêt et nous espérons qu'il permettra de valoriser cette approche complémentaire aux réactions « click » déjà connues.

Conclusion et perspectives

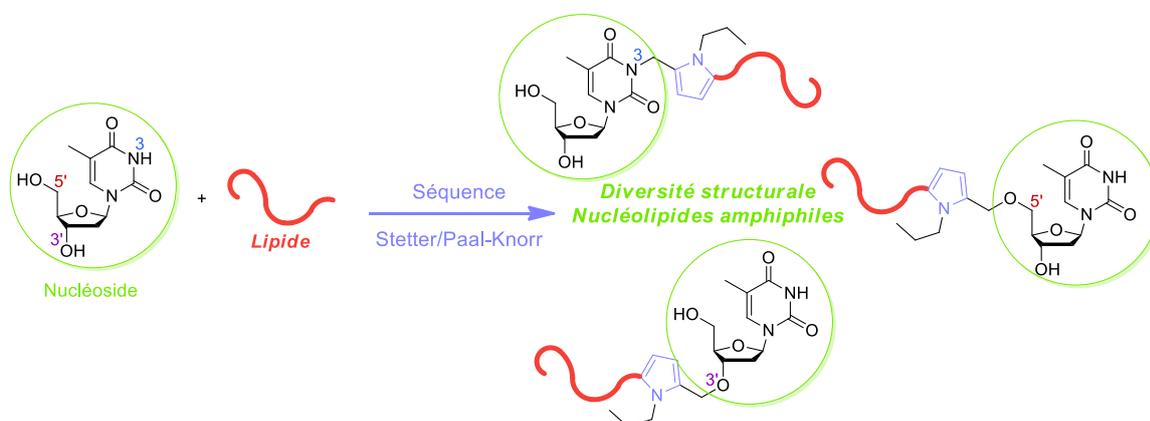
Dans le contexte de la synthèse de nucléolipides dérivés de la thymidine, nous avons choisi une stratégie basée sur la réaction bioinspirée et organocatalysée de Stetter. En effet, la structure de type thiazolium du catalyseur carbène *N*-hétérocyclique et son mécanisme réactionnel, analogues à la Thiamine diphosphate (cofacteur de la vitamine B1), font de la réaction de Stetter une réaction bioinspirée. Notre approche a été conçue de sorte à procurer un maximum de diversité structurale en fonctionnalisant les trois positions 3', 5' et N-3 réactives de la thymidine. Elle a permis l'obtention de bioconjugués originaux en formant un lien de type dicétone-1,4 entre les parties lipide et nucléoside.

Au cours de différentes étapes, des réactions secondaires inhérentes au composé étudié ont mis en évidence des interactions entre le silicium d'un groupement protecteur et les oxygènes en positions 3' et 5' (relation *trans*) jusqu'alors non décrites à notre connaissance. Une réaction d'élimination de type « internal redox » a notamment été observée sur l'intermédiaire de Breslow de type énaminol au cours de la réaction de Stetter. Notre étude appuie l'hypothèse d'une activation inédite par assistance électrophile d'un groupement protecteur silylé.

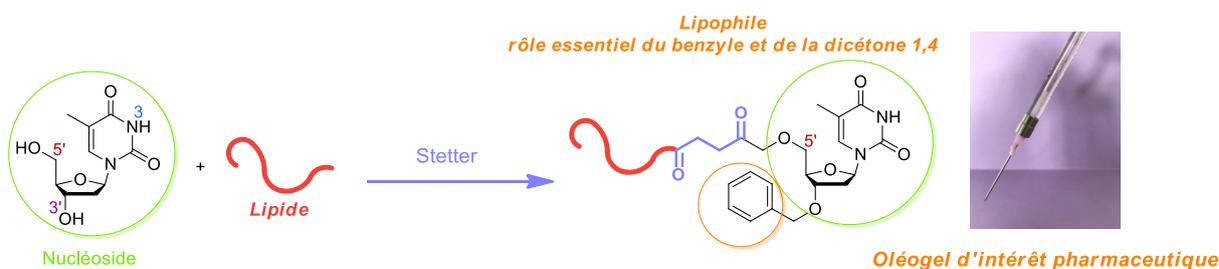
Elimination sur l'énaminol en position 5'



Des nucléolipides liés par une fonction dicétone-1,4 ont été obtenus avec de bons rendements. Soumis à des conditions de type Paal-Knorr, ils ont conduit à la formation de pyrroles dont l'étude des propriétés de gélation ont mis en évidence l'importance de la nature du lien introduit dans les nucléolipides et subséquemment de la stratégie de synthèse employée pour les obtenir.

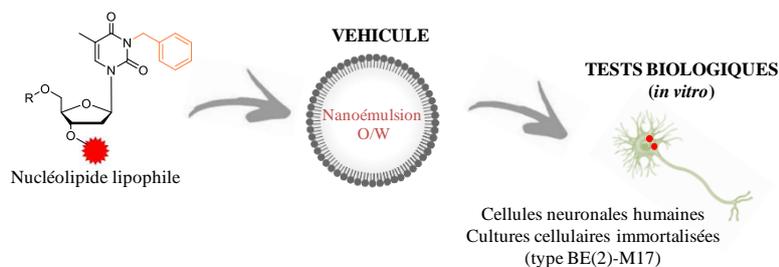


L'importance de ce lien a de même été mise en évidence par la capacité d'un nucléolipide lipophile à former des oléogels. La fonction dicétone 1,4 s'est avérée cruciale pour l'obtention d'un réseau moléculaire, menant à un biomatériau aux propriétés rhéologiques intéressantes. Le gel obtenu possède notamment un caractère thixotrope qui a permis de réaliser l'injection du gel dans une solution aqueuse. Issu de biomolécules naturelles (nucléoside et lipide), ce matériau issu d'une organisation supramoléculaire est donc bioinspiré par nature et a été synthétisé de façon bioinspirée.

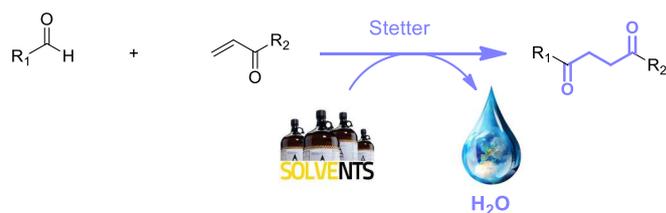


Un axe de recherche du laboratoire porte sur les propriétés remarquables de nucléolipides hydrophiles et celles des GlycoNucléolipides en particulier. Au cours de ce projet, de nouveaux nucléolipides, lipophiles cette fois, ont montré une capacité à se solubiliser dans une phase huileuse. D'autre part, des résultats non publiés du laboratoire ont récemment montré le rôle de promoteur d'absorption de certains nucléolipides et leur intérêt dans le cadre du passage de la barrière hématoencéphalique. En s'appuyant sur les résultats rapportés dans le chapitre 3 de ce manuscrit, et dans le cadre d'une collaboration avec le pôle galénique de l'équipe (Prof. Sylvie Crauste-Manciet) et un neurobiologiste spécialiste de la maladie de Parkinson (Dr. Benjamin Dehay, Institut des Maladies Neurodégénératives, Bordeaux), nous avons initié un projet de développement d'un nanovecteur original visant le système nerveux central. L'une des perspectives de ce travail est donc la conception et la synthèse de nucléolipides lipophiles construits comme une plateforme où seront accrochées des molécules d'intérêt (ligand, prodrogue, fluorophore...). Ce nucléolipide original serait transporté au sein d'une nanoémulsion huileuse. Des travaux préliminaires, effectués au cours d'un stage de master au laboratoire, ont montré qu'un tel nucléolipide portant un fluorophore pouvait passer les membranes de cellules neuronales humaines au cours de tests préliminaires *in vitro*. Ces résultats très encourageants ouvrent des perspectives fascinantes pour l'utilisation de tels nucléolipides lipophiles et ce travail se poursuit au laboratoire.

Le dernier volet de cette étude a concerné le développement de conditions aqueuses pour la réaction de Stetter. Une réaction modèle entre le benzaldéhyde et la chalcone a été explorée alors que la sensibilité des NHCs à l'humidité semblait pourtant incompatible avec le milieu aqueux. La structure du catalyseur s'est révélée très importante pour la faisabilité de la réaction, et un catalyseur simple basé sur une structure de type thiazolium a été synthétisé et utilisé avec succès. Cette étude a également mis en lumière l'influence drastique que peut

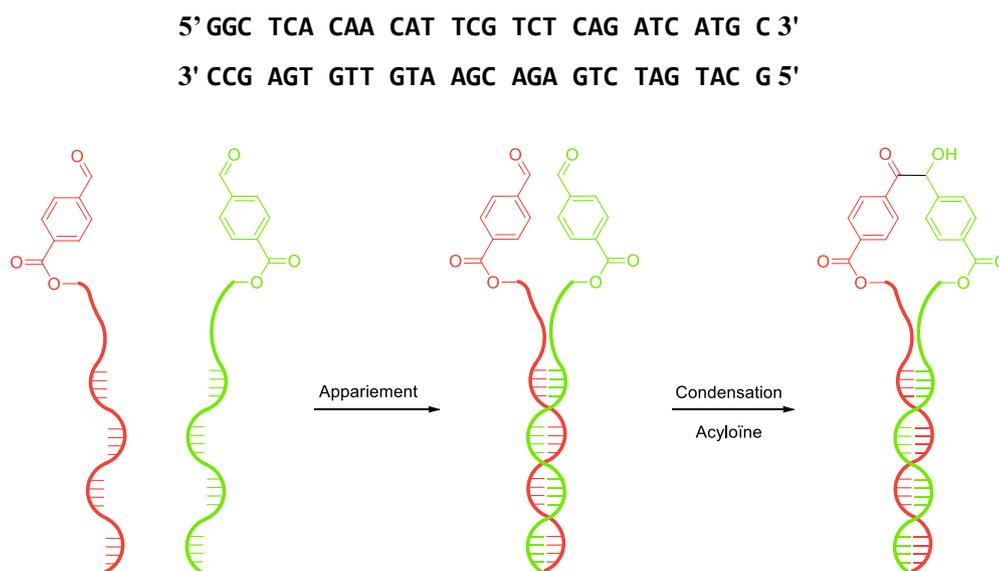


avoir le solvant sur la cinétique de réaction et notamment sur les étapes limitantes, changeant de fait l'issue de la réaction. Ce travail constitue une étude préliminaire et l'extension de la réaction à d'autres substrats a laissé entrevoir des résultats très encourageants qui constitue un pas vers le développement de conditions de réactions bioinspirées plus éco-compatibles. Ils laissent par ailleurs entrevoir le potentiel de cette réaction comme méthode éventuelle de bioconjugaison si elle s'avère généralisable à plusieurs familles de biomolécules, les fonctions aldéhyde et énone étant aisées à obtenir.



Compte tenu des thématiques de l'équipe en lien avec les acides nucléiques et dans ce but d'aller également plus loin, l'utilisation de la réaction de Stetter dans le cadre de la « DNA-Templated Synthesis » (DTS) a été envisagée[256]. Cette approche constitue une autre perspective de ce travail en collaboration avec le Dr. Arnaud Gissot. Elle répond à une problématique de la chimie bioinspirée : alors que la chimie est pratiquée en laboratoire à des concentrations élevées et en présence du minimum de substrats possible, la Nature réalise la synthèse de biomolécules de façon très sélective au sein de milieux extrêmement complexes à de très faibles concentrations. Or, la synthèse séquencée et programmée de composés organiques à de faibles concentrations attire singulièrement l'attention dans les domaines de la synthèse multi-étapes, de la chimie combinatoire et des assemblages programmés de nanostructures conjuguées. Dans le milieu biologique, le déroulement des réactions est organisé *via* des macromolécules qui catalysent et agissent comme des gabarits ou « templates » en rapprochant et orientant les substrats. En exploitant ce principe, il a été imaginé que l'appariement des brins d'ADN pouvait placer les composés dans l'espace de façon contrôlée et ainsi favoriser une réaction parmi d'autres. De surcroit, la synthèse aujourd'hui bien maîtrisée et automatisée des brins d'ADN permet de produire des séquences facilement.

Si de nombreux exemples de DTS sont rapportés avec des réactions organiques variées (couplage Pd catalysé, amination, réactions de Michael), très peu à notre connaissance utilise l'organocatalyse. Dans l'optique d'évaluer la possibilité de réaliser une réaction catalysée par un NHC, la condensation acyloïne a tout d'abord été envisagée pour des raisons de simplicité. En effet, procédant selon un mécanisme analogue à la réaction de Stetter, elle pouvait permettre d'évaluer la faisabilité en s'affranchissant de la difficulté de placer deux centres réactionnels différents (aldéhyde et énone). Pour cela, il a été tenté de greffer des fonctions aldéhydes aux extrémités d'une séquence comprenant 28 unités nucléotides déterminées en s'appuyant sur des travaux antérieurs du laboratoire[257].



Séquence d'oligonucléotide utilisée (haut) et stratégie de condensation benzoïne par DTS (bas)

Plusieurs stratégies de synthèse des oligos modifiés ont été envisagées. Les premiers essais de post synthèse s'étant avérés peu concluants, la stratégie en cours est basée sur l'utilisation d'un phosphoramidite précurseur d'aldéhyde et commercial. Brune Vialet poursuit cette étude au laboratoire.

Partie expérimentale

General information

All reactions were carried out under an argon atmosphere (except for Jonhson-Lemieux oxidation). THF was dried over activated molecular sieves (3Å). EtOH was distilled from magnesium. Yields refer to chromatographically and spectroscopically (¹H-NMR) homogeneous materials, unless otherwise stated. All reagent-grade chemicals were obtained from commercial suppliers and were used as received, unless otherwise stated. ¹H- and ¹³C-NMR were recorded on a Bruker Avance 300 (¹H : 300 MHz, ¹³C : 75.5 MHz) spectrometer using CDCl₃ as internal reference and at 293K unless otherwise indicated. The chemical shifts (δ) and coupling constants (J) are expressed in ppm and Hz respectively. The following abbreviations were used to explain the multiplicities : s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, br. = broad. FT-IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer FT spectrometer Spectrum two (UATR two). HRMS were recorded with a Waters Q-TOF 2 spectrometer in the electrospray ionization (ESI) mode, a Bruker maxis 4G or Thermo Fisher Q-Exactive. Analytical thin layer chromatography was performed using silica gel 60 F254 pre-coated plates (Merck) with visualization by ultraviolet light, potassium permanganate or sulfuric acid. Flash chromatography was performed on silica gel (0.043-0.063 mm).

General procedures

Thymidine Protection

Compounds **54**, **56a**, **56b** and **152** were synthesized following a procedure described in the literature [258]. Data of **54** and **56a** were in agreement.

General procedure A for microwaves assisted alkylation step adapted from the literature[166]

NaH (60% dispersion in oil) was added by portions to a solution of the alcohol in the corresponding solvent (0.1 g/mL) in a suitable vial and the reaction mixture was activated under microwaves at 40°C, 200 Watts during 2 minutes. Alkyl halide was then added at a time followed by a second activation under microwaves at 40°C, 200 Watts (6 to 60 minutes depending on the substrate). After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with NH₄Cl and dichloromethane was added. The aqueous layer was extracted three times with dichloromethane. The combined organic extracts were then dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel.

General procedure B for the Johnson-Lemieux oxidation step

OsO₄ (2.5 w% in t-BuOH, 0.03 eq.) was added to a stirred solution of the allylated compound (1 eq.) in a dioxane/water mixture (2/1, 0,1 M) followed by NaIO₄ (3 eq.) and 2,6-lutidine (2 eq.) under air conditions. The resulting white precipitate was stirred at r.t. during 4-5 hours. After addition of water, the mixture was extracted 3 times with CH₂Cl₂. The combined extracts were treated with Na₂S₂O₅, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc).

Synthesis of enones partners

Enones were synthesized from the corresponding aldehydes (except for **81**) by a vinylation-oxidation two-step sequence. Commercially available aldehydes were used when possible and the others were synthesized.

General procedure C for the Vinylation step

Vinylmagnesium bromide (1 M in THF, 2 eq.) was added dropwise to a stirred solution of the aldehyde (1 eq.) in THF (0.3 M) at -78°C and the reaction mixture was stirred at this temperature during 4h. After quenching by aq. sat. NH₄Cl, it was allowed to warm up at room temperature and CH₂Cl₂ was added. The organic layer was recovered and the aqueous layer was extracted two times with CH₂Cl₂. The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

General procedure D for the Swern oxidation step

At -60°C, anhydrous DMSO (2.4 eq.) was added dropwise to a stirred solution of oxalyl chloride (1.2 eq.) in anhydrous CH₂Cl₂ (1 M) and the reaction mixture was stirred at -60°C during 30 minutes. Then, a solution of the crude allylic alcohol (1 eq.) in CH₂Cl₂ (6 M) was added dropwise and stirring was continued for 2h at -60°C before addition of Et₃N (3.8 eq.). The reaction mixture was stirred 2h at -60°C and then allowed to warm up at 0°C. Water was added and the reaction mixture was allowed to warm up at room temperature. CH₂Cl₂ was added and the organic layer was recovered before being washed successively with aq. HCl (1 M), water and aq. sat. NaHCO₃, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1).

General procedure E for Stetter reaction

The catalyst (0.3 eq.) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of the aldehyde (1.5 eq.) in THF (0,5 M) was added followed by DBU (0.3 eq.). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. The enone (1 eq.) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75°C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc).

General procedure F for Knorr-Paal pyrrole synthesis

A solution of the 1,4-diketone (1 eq.) in THF (0.6 M) was poured into a Schlenk tube containing activated molecular sieves (3Å) under argon atmosphere. Propylamine (3 eq.) was added to the reaction mixture followed by a solution of PTSA monohydrate (2 eq.) in ethanol (1.1 M) and the reaction mixture was stirred at 70°C during 5-8h. After complete consumption of the diketone (TLC control), water was added and the aqueous layer was extracted three times with CH₂Cl₂. The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc).

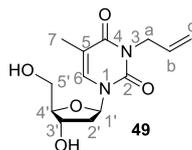
General procedure G for silyl ethers deprotection

TBAF (1 eq, 1 M in THF solution) was added to a stirred solution of the silylated compound (1 eq) in THF (0.09 mol/L) at 0°C and stirred at this temperature to completion (TLC control). The reaction was then quenched with water and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted three times with CH₂Cl₂ and the combined organic extracts were dried over Na₂SO₄. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc).

General procedure H for the Stetter reaction in water

Thiazolium precatalyst salt was dissolved in water (0.6 mL) then the aldehyde and distilled DBU were added. The solution colour changed from brown to black and chalcone was then added. Reaction medium was then stirred at the selected temperature until completion (chalcone disappearance was monitored by TLC). Concentration under reduced pressure afforded the crude product. It was purified by flash chromatography over silica gel.

Compound 49

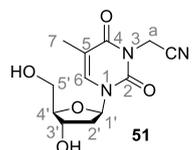


Chemical Formula: C₁₃H₁₈N₂O₅
Molecular Weight: 282,29

Synthesized according to the general procedure **A** from thymidine (500 mg, 2.06 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 95 mg, 2.37 mmol) and allyl bromide (214 μ L, 2.47 mmol) in DMF (5 mL) with a 3 minutes microwave activation. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/EtOAc 90/10) to afford the title compound as a colorless gum (575 mg, 98%).

R_f = 0.64 (CH₂Cl₂/MeOH : 90/10); ¹H-NMR (300 MHz, MeOD) δ (ppm) : 7.86 (s, 1H, H₆), 6.30 (t, J = 6.9 Hz, 1H, H_{1'}), 5.93-5.78 (m, 1H, H_b), 5.20-5.08 (m, 2H, H_c), 4.51 (d, J = 5.7 Hz, 2H, H_a), 4.39 (td, J = 3.6, 6 Hz, 1H, H_{3'}), 3.91 (dd, J = 3.3, 6.6 Hz, 1H, H_{4'}), 3.76 (ddd, J = 3, 12, 23.4 Hz, 2H, H_{5'}), 2.33-2.13 (m, 2H, H_{2'}), 1.90 (d, J = 0.9 Hz, 3H, H₇); ¹³C-NMR (75.5 MHz, MeOD) δ (ppm) : 165.0 (C₄), 152.1 (C₂), 136.6 (C₆), 133.1 (C_b), 117.7 (C_c), 110.7 (C₅), 88.9 (C_{4'}), 87.1 (C_{1'}), 72.1 (C_{3'}), 62.7 (C_{5'}), 44.2 (C_a), 41.3 (C_{2'}), 13.2 (C₇).

Compound 51

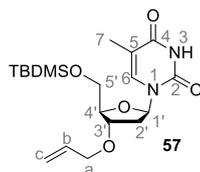


Molecular Weight: 281,26

Synthesized according to the general procedure **A** from thymidine (500 mg, 2.06 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 95 mg, 2.37 mmol) and bromoacetonitrile (172 μ L, 2.47 mmol) in DMF (5 mL) with a 7 minutes microwave activation. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH 95/5) to afford the title compound as a brown solid (465 mg, 80%).

R_f = 0.4 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5); IR (ATR cm⁻¹) 3346, 2929, 2498, 1707, 1645, 1467, 1409, 1387, 1327, 1254; ¹H-NMR (300 MHz, MeOD) δ (ppm) : 7.81 (s, 1H, H₆), 6.23 (t, J =6.6Hz, 1H, H_{1'}), 4.68 (s, 2H, H_a), 4.45-4.20 (m, 1H, H_{3'}), 3.96-3.81 (m, 1H, H_{4'}), 3.80-3.54 (2H, H_{5'}), 2.36-2.02 (m, 2H, H_{2'}), 1.88 (s, 3H, C₇); ¹³C-NMR (75.5 MHz, MeOD) δ (ppm) 163.7 (C₄), 151.1 (C₂), 137.0 (C₆), 116.2 (CN), 110.4 (C₅), 88.6 (C_{4'}), 87.0 (C_{1'}), 71.7 (C_{3'}), 62.5 (C_{5'}), 41.0 (C_{2'}), 29.2 (C_a), 13.0 (C₇).

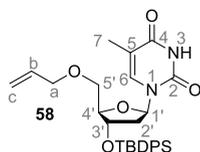
Compound 57



Chemical Formula: $C_{19}H_{32}N_2O_5Si$
Molecular Weight: 396,55

Synthesized according to the general procedure **A** from **54** (500 mg, 1.40 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 140 mg, 3.51 mmol) and allyl bromide (303 μ L, 3.51 mmol) in THF (5 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a colorless gum (417 mg, 75%). $R_f = 0.6$ (Pentane/EtOAc 50/50); Analytical data were consistent with the literature.¹²

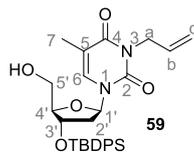
Compound 58



Chemical Formula: $C_{29}H_{36}N_2O_5Si$
Molecular Weight: 520,69

Synthesized according to the general procedure **A** from **56a** (500 mg, 1.04 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 104 mg, 2.60 mmol) and allyl bromide (225 μ L, 2.60 mmol) in THF (5 mL) with with 60 minutes microwave activation time. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a colorless gum (330 mg, 61%). $R_f = 0.45$ (PE/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3183, 3071, 2933, 2894, 1690, 1471, 1428, 1365, 1329, 1276, 1199, 1109, 1069, 1033, 1007, 966, 931, 900, 859, 823, 778, 742, 704, 611, 559, 508; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 9.90 (s, 1H, NH-3), 7.71-7.59 (m, 4H, H_{Ar} -TBDPS), 7.56 (s, 1H, H_6), 7.51-7.34 (m, 6H, H_{Ar} -TBDPS), 6.52 (dd, $J = 6.3, 7.8$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.83 - 5.66 (m, 1H, H_b), 5.20 - 5.07 (m, 2H, H_c), 4.51-4.39 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.07-3.97 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.90-3.72 (m, 2H, H_a), 3.46 (dd, $J = 2.1, 10.5$, 1H, $H_{5'b}$), 2.97 (dd, $J = 2.4, 10.8$, 1H, $H_{5'a}$), 2.35 (ddd, $J = 2.4, 5.7, 13.2$ Hz, 1H, $H_{2'b}$), 2.08-1.88 (m, 1H, $H_{2'a}$), 1.84 (s, 3H, H_7), 1.09 (s, 9H, $(CH_3)_3$ -TBDPS); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 164.3 (C_4), 150.7 (C_2), 136.0 (C_{Ar} -TBDPS), 135.8 (C_{Ar} -TBDPS), 135.7 (C_{Ar} -TBDPS), 133.9 (C_b), 133.3 (C_{Ar} -TBDPS), 133.1 (C_{Ar} -TBDPS), 130.0 (C_6), 127.9 (C_{Ar} -TBDPS), 117.3 (C_c), 110.8 (C_5), 86.7 ($C_{4'}$), 85.0 ($C_{1'}$), 73.7 ($C_{3'}$), 72.1 (C_a), 69.6 ($C_{5'}$), 41.2 ($C_{2'}$), 26.9 ($(CH_3)_3$ -TBDPS), 19.0 (C_q -TBDPS), 12.5 (C_7); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{29}H_{36}N_2O_5SiNa$ $[M+Na]^+$ 543.2286, found 543.2288.

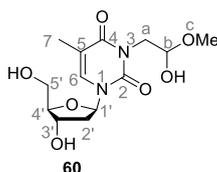
Compound 59



Chemical Formula: $C_{29}H_{36}N_2O_5Si$
Molecular Weight: 520,69

Synthesized according to the general procedure **A** from **56a** (500 mg, 1.04 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 50 mg, 1.25 mmol) and allyl bromide (108 μ L, 1.25 mmol) in DMF (5 mL) with a 6 minutes microwave activation. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a colorless gum (457 mg, 84%). $R_f = 0.39$ (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3460, 3073, 2932, 2859, 1702, 1666, 1633, 1590, 1466, 1428, 1398, 1363, 1334, 1274, 1242, 1193, 1158, 1103, 1064, 1024, 998, 932, 823, 772, 740, 701, 651, 622, 609, 577, 544, 506, 486; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.72-7.57 (m, 4H, H_{Ar} -TBDPS), 7.49-7.29 (m, 7H, H_{Ar} -TBDPS+ H_6), 6.39-6.28 (m, 1H, $H_{1'}$), 5.93 - 5.71 (m, 1H, Hb), 5.29 - 5.07 (m, 2H, Hc), 4.57-4.39 (m, 3H, H_a + $H_{4'}$), 4.02-3.92 (m, 1H, $H_{3'}$), 3.67-3.52 (m, 1H, $H_{5'b}$), 3.30-3.14 (m, 1H, $H_{5'a}$), 2.74-2.59 (m, 1H, OH), 2.37-2.20 (m, 1H, $H_{2'b}$), 2.15-1.95 (m, 1H, $H_{2'a}$), 1.84 (brs, 3H, H_7), 1.08 (brs, 9H, $(CH_3)_3$ -TBDPS); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 163.2 (C_4), 150.7 (C_2), 135.7 (C_{Ar} -TBDPS), 135.7 (C_{Ar} -TBDPS), 134.0 (C_{Ar} -TBDPS), 133.3 (C_{Ar} -TBDPS), 133.1 (C_{Ar} -TBDPS), 131.6 (C_{Ar} -TBDPS), 130.1 (C_b - C_6), 130.1 (C_b - C_6), 127.9 (C_{Ar} -TBDPS), 118.0 (C_c), 110.1 (C_5), 87.8 ($C_{4'}$), 87.1 ($C_{1'}$), 73.3 ($C_{3'}$), 62.1 ($C_{5'}$), 43.3 (C_a), 40.6 ($C_{2'}$), 26.9 ($(CH_3)_3$ -TBDPS), 19.0 (C_q -TBDPS), 13.2 (C_7); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{29}H_{39}N_2O_5SiNa$ $[M+Na]^+$ 543.2285, found 543.2285.

Compound 60

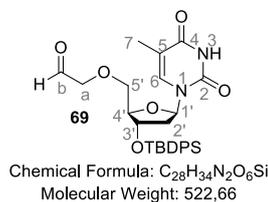


Chemical Formula: $C_{13}H_{20}N_2O_7$
Molecular Weight: 316,31

Synthesized according to the general procedure **B** from **49** (377 mg, 1.33 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 340 μ L, 0.05 mmol), sodium periodate (113 mg, 5.31 mmol) and 2,6-lutidine (309 μ L, 2.67 mmol) in a dioxane/water mixture (3/1, 8 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (CH_2Cl_2 /MeOH 92/8) to afford the title compound as white foam (132 mg, 31%). $R_f = 0.23$ (CH_2Cl_2 /MeOH : 92/8); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3385, 2926, 1695, 1669, 1625, 1370, 1325, 1267, 1195, 1092, 1044, 918; 1H -NMR (300 MHz, MeOD) δ (ppm) 7.85 (br. s, 1H, H_6), 6.3 (br. s, 1H, $H_{1'}$), 4.90 (br. s, 1H, Hb), 4.40 (br. s, 1H, $H_{3'}$), 4.03 (br. s, 2H, H_a), 3.92 (br. s, 1H, $H_{4'}$), 3.77 (d, $J = 11.1$ Hz, 2H, $H_{5'}$), 3.34 (br.s, 3H, Hc), 2.37-2.08 (br.s, 2H, $H_{2'}$), 1.91 (s, 3H, H_7); ^{13}C -NMR (75.5

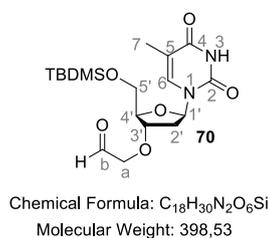
MHz, MeOD) δ (ppm) 165.4 (C_4), 152.5 (C_2), 136.5 (C_6), 110.6 (C_5), 95.8 (C_b), 88.8 ($C_{4'}$), 87.1 ($C_{1'}$), 72.0 ($C_{3'}$), 62.7 ($C_{5'}$), 54.9 (C_c), 46.1 (C_a), 41.3 ($C_{2'}$), 13.2 (C_7).

Compound 69



Synthesized according to the general procedure **B** from **58** (1 g, 2.92 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 658 μ L, 0.065 mmol), sodium periodate (1.232 g, 5.76 mmol) and 2,6-lutidine (444 μ L, 3.83 mmol) in a dioxane/water mixture (2/1, 19 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as white foam (772 mg, 77%). R_f = 0.5 (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3192, 3062, 2934, 2895, 2860, 1691, 1469, 1429, 1370, 1324, 1276, 1249, 1198, 1109, 1081, 1032, 1008, 962, 901, 823, 777, 740, 704, 611, 560, 509, 490; 1H -NMR (300 MHz, benzene- d_6 , 353K) δ (ppm) 9.07 (brs, 2H, H_b+NH-3), 7.73-7.63 (m, 4H, H_{Ar}-TBDPS), 7.29-7.19 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 7.14-7.09 (m, 1H, H₆), 6.53-6.4 (m, 1H, H_{1'}), 4.52-4.44 (m, 1H, H_{4'}), 4.00-3.93 (m, 1H, H_{3'}), 3.26-3.23 (m, 2H, H_a), 3.21 (dd, J = 3.0, 10.6 Hz, 1H, H_{5'a}), 2.97 (dd, J = 3.0, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.21 (ddd, J = 3.1, 6.0, 10.6, 13.4 Hz, 1H, H_{2'b}), 1.91-1.71 (m, 4H, H_{2'a}+H₇), 1.13 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, benzene- d_6 , 353K) δ (ppm) 197.9 (C_b), 163.6 (C_4), 150.4 (C_2), 136.0 (C_{Ar} -TBDPS+ C_6), 136.0 (C_{Ar} -TBDPS+ C_6), 135.9 (C_{Ar} -TBDPS+ C_6), 133.4 (C_{Ar} -TBDPS+ C_6), 133.1 (C_{Ar} -TBDPS+ C_6), 130.3 (C_{Ar} -TBDPS+ C_6), 128.1 (C_{Ar} -TBDPS+ C_6), 111.2 (C_5), 86.3 ($C_{4'}$), 85.1 ($C_{1'}$), 76.6 (C_a), 73.7 ($C_{3'}$), 71.1 ($C_{5'}$), 41.0 ($C_{2'}$), 27.0 ((CH₃)₃-TBDPS), 19.2 (C_q -TBDPS), 12.6 (C_7); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{28}H_{34}N_2O_6SiNa$ [M+Na]⁺ 545.2078, found 545.2078.

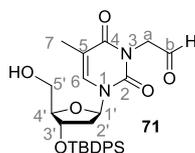
Compound 70



Synthesized according to the general procedure **B** from **57** (810 mg, 2.04 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 700 μ L, 0.068 mmol), sodium periodate (131 mg, 6.13 mmol) and 2,6-lutidine (473 μ L, 4.08 mmol) in a dioxane/water mixture (2/1, 20 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 30/70) to afford the title compound as white foam (619 mg, 76%). R_f = 0.3 (Pentane/EtOAc 30/70);

IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3418, 3196, 3066, 2954, 2931, 2859, 1689, 1469, 1364, 1323, 1258, 1201, 1223, 1073, 1004, 960, 937, 834, 779, 733, 672, 606, 559, 492; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.70 (s, 1H, H_b), 8.84 (s, 1H, NH-3), 7.45 (brs, 1H, H₆), 6.30 (dd, J = 5.4, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 4.24-4.07 (m, 3H, H_a+H_{3'}+H_{4'}), 3.85 (ddd, J = 2.7, 11.1, 24.9 Hz, 2H, H_{5'}), 2.46 (ddd, J = 1.5, 5.4, 13.5 Hz, 1H, H_{2'b}), 2.05-1.79 (m, 4H, H_{2'a}+H₇), 0.91 (brs, 9H, (CH₃)₃-TBDMS), 0.11-0.10 (m, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 199.4 (C_b), 163.8 (C₄), 150.4 (C₂), 135.3 (C₆), 111.1 (C₅), 85.1 (C_{4'}/C_{1'}), 85.0 (C_{4'}/C_{1'}), 81.1 (C_a), 74.6 (C_{3'}), 63.7 (C_{5'}), 37.8 (C_{2'}), 26.0 ((CH₃)₃-TBDMS), 18.5 (C_q-TBDMS), 12.7 (C₇), -5.2 (CH₃-TBDMS), -5.4 (CH₃-TBDMS).

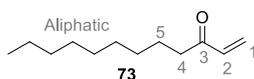
Compound 71



Chemical Formula: C₂₈H₃₄N₂O₆Si
Molecular Weight: 522,66

Synthesized according to the general procedure **B** from **59** (580 mg, 1.11 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 340 μ L, 0.033 mmol) sodium periodate (715 mg, 3.34 mmol) and 2,6-lutidine (258 μ L, 2.23 mmol) in a dioxane/water mixture (2/1, 11 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford the title compound as white foam (448 mg, 77%). R_f = 0.13 (pentane/AcOEt 50/50) IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3186, 3060, 2953, 2929, 2857, 1683, 1470, 1257, 1068, 831; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.51 (brs, 1H, H_b), 7.72-7.54 (m, 4H, H_{Ar}-TBDPS), 7.52-7.30 (m, 7H, H_{Ar}-TBDPS+H₆), 6.57-6.21 (m, 1H, H_{1'}), 4.78-4.30 (m, 2H, H_{4'}+H_{3'}), 4.11-3.87 (m, 2H, H_a), 3.86-3.12 (m, 2H, H_{5'}), 2.89-2.46 (m, 1H, OH), 2.41-2.13 (m, 1H, H_{2'b}), 2.05-1.73 (m, 4H, H_{2'a}+H₇), 1.09 (brs, 9H, (CH₃)₃-TBDPS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 194.6 (m, C_b), 162.9 (m, C₄), 162.9 (m, C₂), 150.5 (m, C_{Ar}-TBDPS), 135.7 (C_{Ar}-TBDPS), 135.7 (m, C_{Ar}-TBDPS), 133.1 (m, C_{Ar}-TBDPS), 130.1 (C_{Ar}-TBDPS), 127.9 (C_{Ar}-TBDPS), 109.9 (m, C₅), 87.7 (C_{4'}), 87.1 (m, C_{1'}), 77.4, 73.1 (m, C_{3'}), 67.1 (m), 62.0 (m, C_{5'}), 53.5, 50.1 (C_a), 45.2, 40.6 (m, C_{2'}), 26.9 ((CH₃)₃-TBDPS), 18.9 (C_q-TBDPS), 13.1 (C₇). HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₈H₃₄N₂O₆SiNa [M+Na]⁺ 545.2078, found 545.2080.

Compound 73

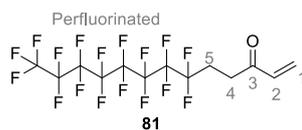


Chemical Formula: C₁₂H₂₂O
Molecular Weight: 182,30

The allylic alcohol was synthesized according to the general procedure **C** from decanal (0.83 g, 5.31 mmol) and vinylmagnesium bromide (1M in THF, 10.62 mL, 10.62 mmol) in

THF (15.5 mL). It was oxidized without further purification following procedure **D**, using oxalyl chloride (547 μL , 6.37 mmol), dimethylsulfoxide (905 μL , 12.75 mmol) and triethylamine (2.8 mL, 20.18 mmol) in dichloromethane (7.7 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to afford the title compound as a yellow oil (422 mg, 44%). $R_f = 0.5$ (Pentane/EtOAc 99/1); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 2926, 2856, 1701, 1684, 1617, 1464, 1402, 1377, 1200, 1130, 1086, 987, 961, 723; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.35 (dd, $J = 10.3, 17.7$ Hz, 1H, H_{1b}), 6.20 (dd, $J = 1.4, 17.7$ Hz, 1H, H_{1a}), 5.81 (dd, $J = 1.5, 10.3$ Hz, 1H, H_2), 2.57 (appearing t, $J = 7.2, 7.6$ Hz, H_4), 1.66-1.55 (m, 2H, H_5), 1.35-1.21 (m, 12H, CH_2 -aliphatic), 0.91-0.83 (m, 3H, CH_3 -aliphatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 201.3 (C_3), 136.7 (C_1), 128.0 (C_2), 39.8 (C_4), 32.0 (CH_2 -aliphatic), 29.6 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 24.2 (C_5), 22.8 (CH_2 -aliphatic), 14.2 (CH_3 -aliphatic); HRMS (ESI) : Calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{ONa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 205.1563, found 205.1562.

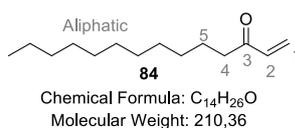
Compound 81



Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{F}_{17}\text{O}$
Molecular Weight: 502.17

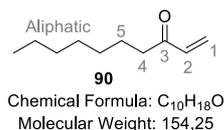
4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluoroundecanoic acid (250 mg, 0.51 mmol) was dissolved in THF (5 mL) before addition of carbonyldiimidazole (132 mg, 0.81 mmol). After 10 minutes of stirring, N,O-dimethylhydroxylamine hydrochloride (124 mg, 1.27 mmol) was introduced and the reaction mixture was stirred at room temperature during 23h. After this period, the reaction was quenched with 1M aq. HCl. Water was added and the aqueous layer was extracted three times using dichloromethane. The combined organic extracts were dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure, affording a yellow oil. The crude product was engaged in the vinylation reaction without further purification and following general procedure **C**. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to afford the title compound as a white foam (80 mg, 31%). $R_f = 0.5$ (Pentane/EtOAc 99/1); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) = 2959, 2926, 2856, 1704, 1680, 1625, 1465, 1440, 1406, 1372, 1336, 1198, 1146, 1103, 1057, 1033, 985, 969, 868, 833, 800, 735, 704, 652, 617, 606, 577, 558, 524; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.40 (ddd, $J = 1.5, 9.9, 17.7$ Hz, 1H, H_{1b}), 6.33-6.25 (m, 1H, H_{1a}), 5.96-5.90 (m, 1H, H_2), 2.96-2.88 (m, 2H, H_4), 2.57-2.37 (m, 2H, H_5); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 196.9 (C_3), 136.0 (C_1), 129.4 (C_2), 121.8 (appearing t, $J = 32.1, 32.7$ Hz, CF_2/CF_3), 119.7-118.0 (m, CF_2/CF_3), 115.8-114.5 (m, CF_2/CF_3), 30.4 (C_4), 25.3 (t, $J = 22$ Hz, C_5); $^{19}\text{F-NMR}$ (282.4 MHz, CDCl_3) δ (ppm) -80.73 (t, $J = 9.9$ Hz, 3F), -114.02-114.44 (m, 2F), -121.45-122.08 (m, 6F), -122.54-122.88 (m, 2F), -123.27-123.64 (m, 2F), -125.93-126.24 (m, 2F); HRMS (ESI) : Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{OF}_{17}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 525.0118, found 525.0119.

Compound 84



The allylic alcohol was synthesized according to the general procedure **C** from dodecyl aldehyde (1 g, 5.42 mmol) and vinylmagnesium bromide (1M in THF, 10.85 mL, 10.85 mmol) in THF (16 mL). It was oxidized without further purification following procedure **D**, using oxalyl chloride (558 μ L, 6.50 mmol), dimethylsulfoxide (924 μ L, 13.01 mmol) and triethylamine (2.9 mL, 20.60 mmol) in dichloromethane (7.9 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to afford the title compound as a yellow oil (936 mg, 82%). *R_f* = 0.5 (Pentane/EtOAc 99/1); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) = 2924, 2854, 1702, 1684, 1616, 1464, 1401, 1376, 1301, 1195, 1131, 986, 961, 722, 655, 558, 488; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.36 (dd, *J* = 6.2, 10.4 Hz, 1H, H_{1b}), 6.17 (dd, *J* = 1.2, 1.6 Hz, 1H, H_{1a}), 5.79 (dd, *J* = 1.2, 1.6 Hz, 1H, H₂), 2.56 (t, *J* = 7.5, 1H, H₄), 1.66-1.53 (m, 2H, H₅), 1.33 – 1.19 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 0.88-0.82 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 201.3 (C₃) 136.7 (C₁), 128.0 (C₂), 39.8 (C₄), 37.2 (CH₂-aliphatic), 32.1 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 25.5 (C₅), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.3 (CH₃-aliphatic); HRMS (ESI) : Calcd. for C₁₄H₂₆ONa [M+Na]⁺ 233.1876, found 233.1873.

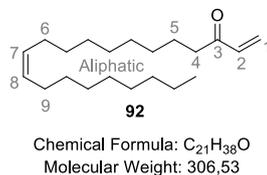
Compound 90



The allylic alcohol was synthesized according to the general procedure **C** from octanal (0.821 g, 6.40 mmol) and vinylmagnesium bromide (1M in THF, 12.81 mL, 12.81 mmol) in THF (19 mL). It was oxidized without further purification following procedure **D**, using oxalyl chloride (659 μ L, 7.68 mmol), dimethylsulfoxide (1.092 mL, 15.37 mmol) and triethylamine (3.4 mL, 24.33 mmol) in dichloromethane (9.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to afford the title compound as a yellow oil (389 mg, 39%). *R_f* = 0.5 (Pentane/EtOAc 99/1); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 2956, 2927, 2857, 1701, 1682, 1616, 1463, 1402, 1377, 1299, 1264, 1206, 1186, 1131, 1082, 986, 961, 775, 724, 655, 558, 489; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.34 (dd, *J* = 10.3, 17.7 Hz, 1H, H_{1b}), 6.19 (dd, *J* = 1.5, 17.7 Hz, 1H, H_{1a}), 5.80 (dd, *J* = 1.4, 10.2 Hz, 1H, H₂), 2.56 (appearing t, *J* = 7.3, 7.6 Hz, 2H, H₄), 1.67-1.54 (m, 2H, H₅), 1.35-1.19 (m, 8H, CH₂-aliphatic), 0.90-0.82 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

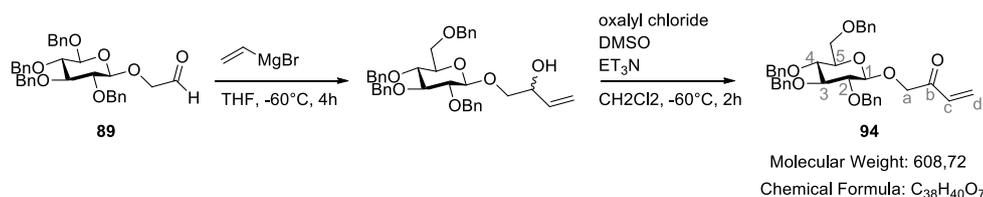
201.0 (C₃), 136.6 (C₁), 127.7 (C₂), 39.6 (C₄), 31.7 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 29.1 (CH₂-aliphatic), 24.0 (C₅), 22.6 (CH₂-aliphatic), 14.1 (CH₃-aliphatic); HRMS (ESI) : Calcd. for C₁₀H₁₈ONa [M+Na]⁺ 177.1250, found 177.1250.

Compound 92



Oleyl alcohol (285 mg, 1.06 mmol) was oxidized following procedure **D**, using oxalyl chloride (109 μ L, 1.27 mmol), dimethylsulfoxide (181 μ L, 2.55 mmol) and triethylamine (0.56 mL, 4.03 mmol) in dichloromethane (1.5 mL). The crude aldehyde **85** was then vinylated without further purification to afford the allylic alcohol according to the general procedure **C** using vinylmagnesium bromide (1M in THF, 2.12 mL, 2.12 mmol) in THF (3 mL). It was then submitted to oxidation step without further purification following procedure **D**, using oxalyl chloride (109 μ L, 1.27 mmol), dimethylsulfoxide (181 μ L, 2.55 mmol) and triethylamine (0.56 mL, 4.03 mmol) in dichloromethane (1.5 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to afford the title compound as a yellow oil (87 mg, 28%). *R_f* = 0.5 (Pentane/EtOAc 99/1); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) = 3005, 2924, 2855, 1728, 1702, 1685, 1617, 1461, 1403, 1374, 1276, 1195, 1104, 1074, 986, 960, 808, 722; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.33 (ddd, *J* = 10.2, 17.4 Hz, 1H, H_{1b}), 6.19 (ddd, *J* = 1.5, 17.7 Hz, 1H, H_{1a}), 7.79 (ddd, *J* = 1.5, 10.2 Hz, 1H, H₂), 5.39-5.27 (m, 2H, H₇+H₈), 2.56 (appearing t, *J* = 7.3, 7.5 Hz, 2H, H₄), 2.05-1.93 (m, 4H, H₆+H₉), 1.67 – 1.54 (m, 2H, H₅), 1.37-1.19 (m, 20H, CH₂-aliphatic), 0.89-0.83 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 201.2 (C₃), 136.7 (C₁), 130.1 (C₇/C₈), 129.9 (C₇/C₈), 127.9 (C₂), 39.8 (C₄), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.9 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 27.3 (CH₂-aliphatic), 27.3 (C₅), 24.1 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 22.2 (CH₂-aliphatic), 14.23 (CH₃-aliphatic); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₀H₃₆ONa [M+Na]⁺ 315.2658, found 315.2661.

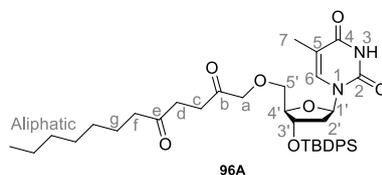
Compound 94



Aldehyde **89** was synthesized according to the general procedure **B** from the corresponding allylated compound (395 mg, 1.59 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 485 μ L, 0.048 mmol), sodium periodate (1.021 g, 4.77 mmol) and 2,6-lutidine (369 μ L, 3.18 mmol) in

a 2/1 dioxane/water mixture (16 mL). The crude product was engaged in the vinylation step without further purification according to the general procedure **C** from aldehyde **89** (1,847 g, 3.17 mmol) and vinylmagnesium bromide (1M in THF, 6.34 mL, 6.34 mmol) in THF (16 mL). It was oxidized without further purification following procedure **D**, using oxalyl chloride (326 μ L, 3.80 mmol), dimethylsulfoxide (540 μ L, 7.61 mmol) and triethylamine (1.679 mL, 12.05 mmol) in dichloromethane (4.6 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 90/10) to afford the title compound as a white solid (696 mg, 36%). *Rf* = 0.3 (Pentane/EtOAc 90/10); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.47-7.25 (m, 18H, H-Ar), 7.22-7.15 (m, 2H, H-Ar), 6.73-6.60 (m, 1H, Hc), 6.37 (dd, *J* = 1.5, 17.7 Hz, 1H, Hdb), 5.81 (dd, *J* = 1.5, 10.8 Hz, 1H, Hda), 5.07-4.77 (m, 5H, Ha+H_{1'}+CH₂-Bn), 4.70-4.38 (m, 6H, CH₂-Bn), 3.78-3.44 (m, 6H, H_{2'}+H_{3'}+H_{4'}+H_{5'}); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 196.3 (C_b), 138.6 (C_{Ar}), 138.4 (C_{Ar}), 138.1 (C_{Ar}), 138.1 (C_{Ar}), 132.4 (C_{Ar}), 129.4 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 103.5 (C_{1'}), 84.6 (C-carbohydrate), 82.1 (C-carbohydrate), 77.7 (C-carbohydrate), 75.8 (C-carbohydrate/CH₂-Bn), 75.2 (C-carbohydrate/CH₂-Bn), 75.1 (C-carbohydrate/CH₂-Bn), 75.0 (C-carbohydrate/CH₂-Bn), 73.6 (C-carbohydrate/CH₂-Bn), 73.0 (C-carbohydrate/CH₂-Bn), 68.8 (C-carbohydrate); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₈H₄₀O₇Na [M+Na]⁺ 631.2666, found 631.2659.

Diketone 96A

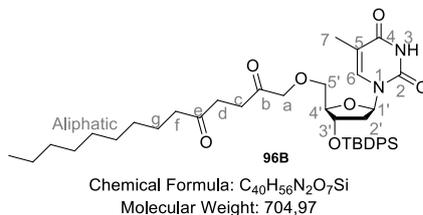


Chemical Formula: C₃₈H₅₂N₂O₇Si
Molecular Weight: 676.91

Synthesized according to the general procedure **E** from **69** (200 mg, 0.38 mmol), **90** (39 mg, 0.26 mmol), catalyst **95** (19 mg, 0.08 mmol) and DBU (11 μ L, 0.08 mmol) in THF (0.7 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40) to afford the title compound as a yellow gum (80 mg, 46%). *Rf* = 0.4 (Pentane/EtOAc 60/40); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3184, 3071, 2930, 2858, 1691, 1469, 1428, 1402, 1368, 1325, 1276, 1247, 1198, 1107, 1033, 962, 893, 823, 778, 742, 704, 611, 559, 508, 490; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.27 (s, 1H, NH-3), 7.67 - 7.58 (m, 5H, H_{Ar}-TBDPS+H₆), 7.48 - 7.33 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 6.52 (dd, *J* = 5.7, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 4.48 - 4.43 (m, 1H, H_{3'}), 4.05 - 3.95 (m, 3H, Ha+H_{4'}), 3.46 (dd, *J* = 2.1, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}b), 2.93 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}a), 2.69 (dd, *J* = 5.1, 7.5 Hz, 2H, Hc), 2.49 - 2.36 (m, 4H, Hf+Hd), 2.29 (ddd, *J* = 1.8, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'}b), 2.08 - 1.96 (m, 1H, H_{2'}a), 1.79 (s, 3H, H₇), 1.59 - 1.46 (m, 2H, Hg), 1.24 (brs, 8H, CH₂-aliphatic), 1.07 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.90 - 0.80 (m, 3H, CH₃-aliphatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 209.3 (Ce), 205.4 (C_b), 164.2 (C₄), 150.7 (C₂), 136.3 (Ar-TBDPS), 135.9 (Ar-TBDPS), 135.8 (Ar-TBDPS), 135.7 (Ar-TBDPS), 133.4 (C₆), 133.1 (Ar-TBDPS), 130.1 (Ar-TBDPS), 128.0 (Ar-TBDPS),

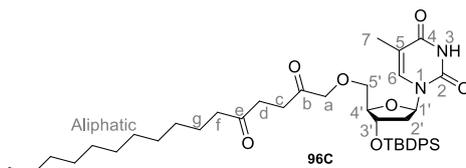
128.0 (Ar-TBDPS), 127.9 (Ar-TBDPS), 111.1 (C₅), 86.4 (C_{4'}), 85.1 (C_{1'}), 75.8 (C_a), 74.0 (C_{3'}), 70.9 (C_{5'}), 42.7 (Cf), 40.9 (C_{2'}), 35.8 (C_c), 32.1 (Cd), 31.7 (Cg), 29.2 (CH₂-aliphatic), 29.1 (CH₂-aliphatic), 26.9 ((CH₃)₃-TBDPS), 26.9 (CH₂-aliphatic), 23.8 (CH₂-aliphatic), 22.6 (C_q-TBDPS), 19.1 (CH₂-aliphatic), 14.1 (CH₃-aliphatic), 12.3 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₈H₅₂N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 699.3436, found 699.3433.

Diketone **96B**



Synthesized according to the general procedure **E** from **69** (200 mg, 0.38 mmol), **73** (46 mg, 0.26 mmol), catalyst **95** (19 mg, 0.08 mmol) and DBU (11 μ L, 0.08 mmol) in THF (0.7 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 65/35) to afford the title compound as a yellow gum (115 mg, 64%). *R_f* = 0.7 (Pentane/EtOAc 60/40); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3188, 3071, 2928, 2857, 1687, 1466, 1428, 1402, 1368, 1324, 1275, 1198, 1104, 1032, 961, 899, 822, 741, 702, 611, 558, 507, 489; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.37 (s, 1H, NH-3), 7.70 - 7.57 (m, 5H, H_{Ar}-TBDPS+H₆), 7.48 - 7.31 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 6.52 (dd, *J* = 5.7, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.49 - 4.42 (m, 1H, H_{3'}), 4.04 - 3.95 (m, 3H, H_a+H_{4'}), 3.46 (dd, *J* = 2.1, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}b), 2.93 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}a), 2.74-2.65 (m, 2H, H_c), 2.49-2.36 (m, 4H, H_f+H_d), 2.31 (ddd, *J* = 1.8, 6.0, 13.5 Hz, 1H, H_{2'}b), 2.08-1.97 (m, 1H, H_{2'}a), 1.79 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.60-1.45 (m, 2H, H_g), 1.24 (br. s, 12H, CH₂-aliphatic), 1.07 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.89-0.80 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.3 (C_e), 205.4 (C_b), 164.2 (C₄), 150.7 (C₂), 136.3 (C_{Ar}-TBDPS), 135.8 (C_{Ar}-TBDPS), 135.8 (C_{Ar}-TBDPS), 135.7 (C_{Ar}-TBDPS), 133.4 (C₆), 133.1 (C_{Ar}-TBDPS), 130.1 (C_{Ar}-TBDPS), 127.9 (C_{Ar}-TBDPS), 111.1 (C₅), 86.4 (C_{4'}), 85.1 (C_{1'}), 75.8 (C_a), 74.1 (C_{3'}), 70.9 (C_{5'}), 42.6 (Cf), 40.9 (C_{2'}), 35.8 (C_c), 32.0 (Cd), 31.9 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 26.9 ((CH₃)₃-TBDPS), 23.8 (CH₂-aliphatic), 22.7 (C_q-TBDPS), 19.0 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₂-aliphatic), 12.3 (CH₃-aliphatic), 12.3 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₀H₅₆N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 727.3749, found 727.3746.

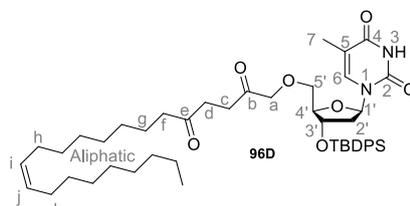
Diketone 96C



Chemical Formula: C₄₂H₆₀N₂O₇Si
Molecular Weight: 733,02

Synthesized according to the general procedure **E** from **69** (177 mg, 0.34 mmol), **84** (47 mg, 0.23 mmol), catalyst **95** (17 mg, 0.07 mmol) and DBU (9 μ L, 0.07 mmol) in THF (0.6 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40) to afford the title compound as a yellow gum (113 mg, 68%). *Rf* = 0.4 (Pentane/EtOAc 60/40); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3183, 3071, 2928, 2857, 1691, 1468, 1428, 1402, 1368, 1324, 1276, 1247, 1198, 1107, 1033, 961, 893, 823, 778, 742, 704, 611, 559, 508, 490; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.49 (s, 1H, NH-3), 7.65 - 7.60 (m, 5H (H_{Ar}-TBDPS+H₆), 7.46 - 7.34 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 6.52 (dd, *J* = 5.4, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.48 - 4.43 (m, 1H, H_{3'}), 4.03 - 3.93 (m, 3H, H_a+H_{4'}), 3.46 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.93 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 2.72 - 2.64 (m, 2H, H_c), 2.49 - 2.35 (m, 4H, H_f+H_d), 2.30 (ddd, *J* = 1.8, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'b}), 2.08 - 1.95 (m, 1H, H_{2'a}), 1.79 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.59 - 1.44 (m, 2H, H_g), 1.24 (br. s, 16H, CH₂-aliphatic), 1.07 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.90 - 0.78 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.3 (C_e), 205.4 (C_b), 164.3 (C₄), 150.7 (C₂), 136.3 (C_{Ar}-TBDPS), 135.8 (C_{Ar}-TBDPS), 135.7 (C_{Ar}-TBDPS), 135.7 (C_{Ar}-TBDPS), 133.4 (C₆), 133.1 (C_{Ar}-TBDPS), 130.0 (C_{Ar}-TBDPS), 127.9 (C_{Ar}-TBDPS), 111.1 (C₅), 86.4 (C_{4'}), 85.1 (C_{1'}), 75.7 (C_a), 74.0 (C_{3'}), 70.8 (C_{5'}), 42.6 (C_f), 40.8 (C_{2'}), 35.8 (C_c), 32.0 (C_d), 31.6 (C_g), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.1 (CH₂-aliphatic), 29.0 (CH₂-aliphatic), 26.9 (CH₂-aliphatic), 23.8 (C_q-TBDPS), 22.6 (CH₂-aliphatic), 19.0 (CH₂-aliphatic), 14.1 (CH₃-aliphatic), 12.3 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₂H₆₀N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 755.4062, found 755.4063.

Diketone 96D

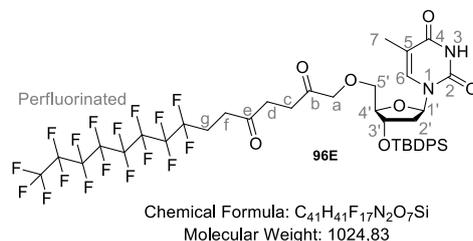


Chemical Formula: C₄₈H₇₀N₂O₇Si
Molecular Weight: 815,16

Synthesized according to the general procedure **E** from **69** (174 mg, 0.33 mmol), **92** (65 mg, 0.22 mmol), catalyst **95** (17 mg, 0.07 mmol) and DBU (9 μ L, 0.07 mmol) in THF (0.6 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 65/35) to afford the title compound as a yellow gum (79 mg, 44%). *Rf* = 0.5 (Pentane/EtOAc 65/35); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3186, 3060, 3006, 2927, 2856, 1693, 1466,

1428, 1402, 1368, 1324, 1276, 1247, 1198, 1107, 1033, 962, 939, 892, 856, 823, 778, 741, 704, 611, 559, 508, 490; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.17 (s, 1H, NH-3), 7.67-7.58 (m, 5H, H_{Ar}-TBDPS+H₆), 7.48-7.33 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 6.52 (dd, *J* = 5.7, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 5.38-5.28 (m, 2H, H_i+H_j) 4.49-4.42 (m, 1H, H_{3'}), 4.04-3.95 (m, 3H, H_a+H_{4'}), 3.47 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}b), 2.94 (dd, *J* = 2.7, 10.5 Hz, 1H, H_{5'}a), 2.73-2.67 (m, 2H, H_c), 2.49-2.37 (m, 4H, H_f+H_d), 2.30 (ddd, *J* = 1.8, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'}b), 2.10-1.92 (m, 5H, H_h+H_k+H_{2'a}), 1.80 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.60-1.47 (m, 2H, H_g), 1.39-1.17 (m, 20H, CH₂-aliphatic), 1.08 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.91-0.81 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.3 (C_e), 205.4 (C_b), 164.1 (C₄), 150.7 (C₂), 136.3 (C_{Ar}-TBDPS), 135.9 (C_{Ar}-TBDPS), 135.8 (C_{Ar}-TBDPS), 135.7 (C_{Ar}-TBDPS), 133.4 (H₆), 133.2 (C_{Ar}-TBDPS), 130.1 (C_i/C_j), 130.0 (C_i/C_j), 129.8 (C_{Ar}-TBDPS), 128.0 (C_{Ar}-TBDPS), 127.9 (C_{Ar}-TBDPS), 111.1 (C₅), 86.4 (C_{4'}), 85.1 (C_{1'}), 75.8 (C_a), 74.1 (C_{3'}), 70.9 (C_{5'}), 42.7 (C_f), 40.9 (C_{2'}), 35.8 (C_c), 32.1 (C_d), 32.0 (C_g), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 27.3 (CH₂-aliphatic), 27.2 (CH₂-aliphatic), 27.0 ((CH₃)₃-TBDPS), 23.8 (C_q-TBDPS), 22.8 (CH₂-aliphatic), 19.1 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.3 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₈H₇₀N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 837.4844, found 837.4847.

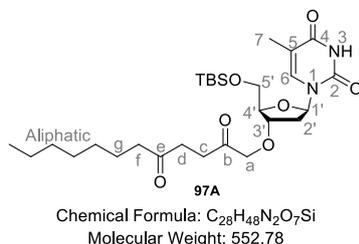
Diketone **96E**



Synthesized according to the general procedure **E** from **69** (87 mg, 0.17 mmol), **81** (56 mg, 0.11 mmol), catalyst **95** (8 mg, 0.03 mmol) and DBU (5 μL, 0.03 mmol) in THF (0.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 55/45) to afford the title compound as a yellow gum (52 mg, 46%). *R_f* = 0.3 (Pentane/EtOAc 60/40); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3178, 3065, 2928, 2858, 1694, 1470, 1429, 1366, 1242, 1208, 1150, 1112, 1033, 963, 893, 824, 778, 742, 705, 657, 612, 563, 510, 491, 465; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.87 (s, 1H, NH-3), 7.69 - 7.59 (m, 4H, H_{Ar}-TBDPS), 7.56 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 7.49 - 7.32 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 6.50 (dd, *J* = 5.7, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.51 - 4.41 (m, 1H, H_{3'}), 4.04 - 3.95 (m, 3H, H_a+H_{4'}), 3.47 (dd, *J* = 2.1, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}b), 2.95 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}a), 2.85 - 2.68 (m, 4H, H_f+H_c), 2.59 - 2.50 (m, 2H, H_d), 2.48 - 2.26 (m, 3H, H_g+H_{2'b}), 2.09-1.93 (m, 1H, H_{2'a}), 1.80 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.08 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 205.4 (C_e/C_b), 205.3 (C_e/C_b), 164.0 (C₄), 150.6 (C₂), 136.2 (C₆), 135.9 (C_{Ar}-TBDPS), 135.9 (C_{Ar}-TBDPS), 133.5 (C_{Ar}-TBDPS), 133.2 (C_{Ar}-TBDPS), 130.2 (C_{Ar}-TBDPS), 128.0 (C_{Ar}-TBDPS), 111.2 (C₅), 86.4 (C_{4'}), 85.2 (C_{1'}), 75.8 (C_a), 74.0 (C_{3'}), 71.0 (C_{5'}), 40.9 (C_{2'}), 35.8 (C_c), 33.3 (C_f), 32.3 (C_d), 27.0 ((CH₃)₃-TBDPS), 25.1 (t, *J* = 90 Hz, C_g), 19.1 (C_q-TBDPS), 12.3 (C₇);

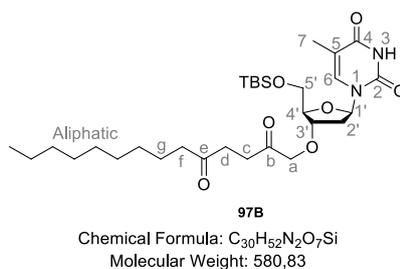
¹⁹F-NMR (282.4 MHz, CDCl₃) δ (ppm) -80.73 (t, *J* = 9.9 Hz, 3F), -114.04 - -114.48 (m, 2F), -121.50 - -122.13 (m, 6F), -122.57 - -122.88 (m, 2F), -123.26 - -123.64 (m, 2F), -125.92 - -126.23 (m, 2F); HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₁H₄1N₂O₇F₁₇SiNa [M+Na]⁺ 1047.2304, found 1047.2300.

Diketone 97A



Synthesized according to the general procedure **E** from **70** (216 mg, 0.54 mmol), **90** (56 mg, 0.36 mmol), catalyst **95** (27 mg, 0.11 mmol) and DBU (15 μL, 0.11 mmol) in THF (1 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a yellow gum (88 mg, 47%). *R_f* = 0.4 (Pentane/EtOAc 50/50); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3186, 3062, 2953, 2929, 2857, 1686, 1465, 1402, 1365, 1323, 1274, 1256, 1200, 1125, 1105, 1077, 1003, 960, 936, 834, 779, 723, 671, 605, 558, 491; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.56 (s, 1H, NH-3), 7.46 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 6.27 (dd, *J* = 5.4, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 4.23 - 4.02 (m, 4H, H_a+H_{4'}+H_{3'}), 3.82 (ddd, *J* = 2.4, 11.4, 24.9 Hz, 2H, H_{5'}), 2.77 - 2.56 (m, 4H, H_c+H_d), 2.48 - 2.34 (m, 3H, H_f+H_{2'}b), 1.99 - 1.87 (m, 4H, H_{2'a}+H₇), 1.57 - 1.45 (m, 2H, H_g), 1.32-1.14 (m, 8H, CH₂-aliphatic), 0.87 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDMS), 0.87 - 0.75 (m, 3H, CH₃-aliphatic), 0.06 (d, *J* = 2.1 Hz, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.5 (C_e), 207.0 (C_b), 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 135.3 (C₆), 111.0 (C₅), 85.1 (C_{4'}/C_{1'}), 85.0 (C_{4'}/C_{1'}), 80.8 (C_{3'}), 74.2 (C_a), 63.7 (C_{5'}), 42.7 (C_f), 37.9 (C_{2'}), 36.0 (C_c), 32.3 (C_d), 31.7 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 29.1 (CH₂-aliphatic), 26.0 ((CH₃)₃-TBDMS), 23.9 (C_g), 22.6 (CH₂-aliphatic), 17.1 (C_q TBDMS), 14.1 (CH₃-aliphatic), 12.6 (C₇/(CH₂-aliphatic)), 12.5 (CH₂-aliphatic/C₇), -5.4 (CH₃-TBDMS), -5.5 (CH₃-TBDMS); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₈H₄₈N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 575.3123, found 575.3128.

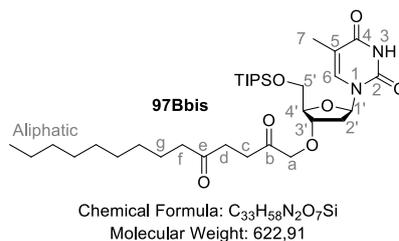
Diketone 97B



Synthesized according to the general procedure **E** from **70** (165 mg, 0.41 mmol), **73** (58 mg, 0.28 mmol), catalyst **95** (21 mg, 0.08 mmol) and DBU (12 μL, 0.08 mmol) in

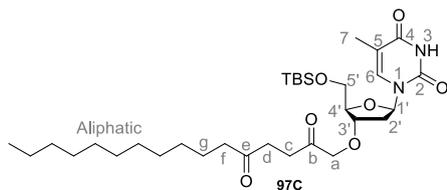
THF (0.8 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a yellow gum (98 mg, 61%). $R_f = 0.5$ (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3188, 3052, 2958, 2927, 2857, 1701, 1687, 1467, 1408, 1359, 1324, 1272, 1255, 1196, 1122, 1081, 1004, 955, 938, 837, 777, 715, 669, 603, 561, 488; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.57 (s, 1H, NH-3), 7.46 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H₆), 6.28 (dd, $J = 5.4, 8.7$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.23 - 4.02 (m, 4H, Ha+H_{3'}+H_{4'}), 3.82 (ddd, $J = 2.4, 11.4, 25.2$ Hz, 2H, H_{5'}), 2.77 - 2.56 (m, 4H, Hc+Hd), 2.49 - 2.33 (m, 3H, Hf+H_{2'}b), 1.99 - 1.87 (m, 4H, H_{2'a}+H₇), 1.57 - 1.45 (m, 2H, Hg), 1.34-1.07 (m, 12H, CH₂-aliphatic), 0.91-0.76 (m, 12H, (CH₃)₃-TBDMS+CH₃-aliphatic), 0.06 (d, $J = 2.1$ Hz, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.5 (C_c), 207.0 (C_b), 164.1 (C₄), 150.6 (C₂), 135.4 (C₆), 111.0 (C₅), 85.1 (C_{4'}/C_{1'}), 85.0 (C_{4'}/C_{1'}), 80.8 (C₃), 74.2 (C_a), 63.7 (C_{5'}), 42.7 (Cf), 37.8 (C_{2'}), 36.0 (C_c), 32.3 (Cd), 31.9 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 26.0 ((CH₃)₃-TBDMS), 23.9 (CH₂-aliphatic), 22.7 (CH₂-aliphatic), 18.4 (C_q-TBDMS), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.6 (C₇), -5.4 (CH₃-TBDMS), -5.5 (CH₃-TBDMS); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₀H₅₂N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 603.3436, found 603.3443.

Diketone **97Bbis**



Synthesized according to the general procedure **E** from **110** (196 mg, 0.44 mmol), **73** (54 mg, 0.30 mmol), catalyst **95** (22 mg, 0.09 mmol) and DBU (13 μ L, 0.09 mmol) in THF (0.8 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40) to afford the title compound as a yellow gum (92 mg, 50%). $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 60/40); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3421, 3188, 3065, 2927, 2866, 1692, 1466, 1404, 1370, 1325, 1275, 1200, 1126, 1105, 1068, 998, 961, 920, 883, 804, 780, 721, 685, 558, 492; ¹H-NMR (300 MHz, benzene-d₆, 353 K) δ (ppm) 8.88-8.63 (m, 1H, NH-3), 7.13-7.08 (m, 1H, H₆), 6.30-6.22 (m, 1H, H_{1'}), 4.15-4.09 (m, 1H, H_{3'}), 4.08-4.03 (m, 1H, H_{4'}), 3.88-3.83 (m, 2H, Ha), 3.83-3.73 (m, 2H, H_{5'}), 2.48 -2.38 (m, 4H, Hc+Hd), 2.30 (ddd, $J = 2.4, 5.9, 13.7$ Hz, 1H, H_{2'}b), 2.15 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H₇), 1.94-1.80 (m, 4H, H_{2'a}), 1.60-1.47 (m, 2H, Hg), 1.37-1.17 (m, 12H, CH₂-aliphatic), 1.09-1.01 (m, 21H, CH₃+CH-TIPS), 0.93-0.86 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, benzene-d₆, 353 K) δ (ppm) 207.7 (Ce), 206.0 (C_b), 163.3 (C₄), 150.5 (C₂), 135.2 (C₆), 110.8 (C₅), 85.9 (C_{1'}/C_{4'}), 85.5 (C_{1'}/C_{4'}), 80.7 (C_{3'}), 74.7 (C_a), 64.3 (C_{5'}), 42.8 (Cf), 38.0 (C_{2'}), 36.1 (C_c), 32.7 (Cd), 32.3 (Cg), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 24.3 (CH₂-aliphatic), 23.0 (CH₂-aliphatic), 18.2 (CH₃-TIPS), 14.1 (CH₃-aliphatic), 12.5 (CH-TIPS), 12.3 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₃H₅₈N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 645.3905, found 645.3903.

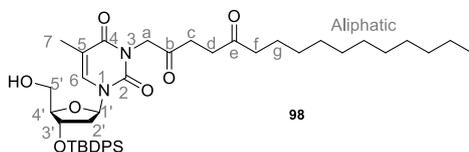
Diketone 97C



Chemical Formula: C₃₂H₅₆N₂O₇Si
Molecular Weight: 608,88

Synthesized according to the general procedure **E** from **70** (295 mg, 0.74 mmol), **84** (104 mg, 0.49 mmol), catalyst **95** (37 mg, 0.15 mmol) and DBU (21 μ L, 0.15 mmol) in THF (1.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford the title compound as a yellow gum (189 mg, 63%). R_f = 0.5 (Pentane/EtOAc 50/50); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3186, 3055, 2926, 2856, 1689, 1465, 1403, 1367, 1323, 1277, 1256, 1200, 1125, 1079, 1002, 960, 935, 883, 834, 779, 722, 672, 606, 558, 490; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.70 (s, 1H, NH-3), 7.45 (d, J = 0.9 Hz, 1H, H₆), 6.27 (dd, J = 5.4, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.23 - 4.03 (m, 4H, H_a+H_{3'}+H_{4'}), 3.81 (ddd, J = 2.7, 11.4, 24.6 Hz, 2H, H_{5'}), 2.76 - 2.56 (m, 4H, H_c+H_d), 2.48 - 2.33 (m, 3H, H_f+H_{2'}b), 1.98 - 1.86 (m, 4H, H_{2'a}+H₇), 1.57 - 1.44 (m, 2H, H_g), 1.27-1.11 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 0.85 - 0.74 (m, 12H, (CH₃)₃-TBDMS+CH₃-aliphatic), 0.06-0.04 (m, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.4 (C_e), 206.9 (C_b), 164.1 (C₄), 150.6 (C₂), 135.3 (C₆), 110.9 (C₅), 85.1 (C_{4'}/C_{1'}), 85.0 (C_{4'}/C_{1'}), 80.8 (C_{3'}), 74.2 (C_a), 63.7 (C_{5'}), 42.6 (C_f), 37.8 (C₂), 35.9 (C_c), 32.3 (C_d), 31.9 (C_g), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 25.9 ((CH₃)₃-TBDMS), 23.8 (CH₂-aliphatic), 22.7 (CH₂-aliphatic), 18.3 (C_q-TBDMS), 14.1 (CH₃-aliphatic), 12.5 (C₇), -5.4 (CH₃-TBDMS), -5.5 (CH₃-TBDMS); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₂H₅₆N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 631.3749, found 631.3754.

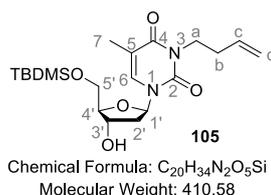
Diketone 98



Chemical Formula: C₄₂H₆₀N₂O₇Si
Molecular Weight: 733,02

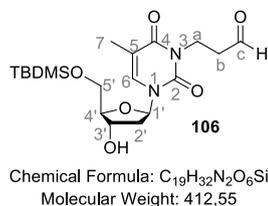
Synthesized according to the general procedure **E** from **71** (396 mg, 0.76 mmol), **84** (106 mg, 0.51 mmol), catalyst **95** (38 mg, 0.15 mmol) and DBU (21 μ L, 0.15 mmol) in THF (1.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40) to afford the title compound as a yellow gum as a non separable mixture with an impurity. Yield was based on ¹H-NMR spectra. Compound **98** was submitted to subsequent Knorr-Paal reaction without further purification.

Compound 105



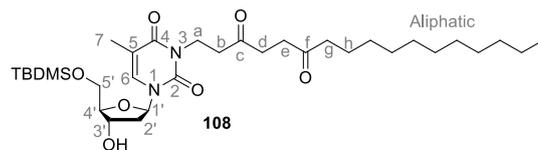
Synthesized according to the general procedure **A** from **54** (500 mg, 1.40 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 67 mg, 1.68 mmol) and 4-bromo-1-butene (171 μ L, 1.68 mmol) in DMF (5 mL) with a 6 minutes microwave activation. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a colorless gum (215 mg, 29%). R_f = 0.3 (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}); 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.53-7.47 (m, 1H, C_6), 6.34 (dd, J = 5.7, 8.1 Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.85-5.67 (m, 1H, Hc), 5.06-4.90 (m, 2H, Hd), 4.45-4.37 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.06-3.74 (m, 5H, $H_a+H_{3'}+H_{5'}$), 3.50 (br. s, 1H, OH), 2.40-2.27 (m, 3H, $H_b+H_{2'}b$), 2.08-1.98 (m, 1H, $H_{2'}a$), 1.90-1.85 (m, 3H, H_7), 0.87 (s, 9H, $(CH_3)_3$ -TBDMS), 0.09-0.02 (m, 6H, CH_3 -TBDMS); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 163.6 (C_4), 150.9 (C_2), 134.9 (C_6), 133.7 (C_c), 116.9 (Cd), 110 (C_5), 87.3 ($C_{4'}$), 85.8 ($C_{1'}$), 72.3 ($C_{3'}$), 63.6 ($C_{5'}$), 41.3 (C_a), 40.6 ($C_{2'}$), 32.0 (C_b), 26.0 ($(CH_3)_3$ -TBDMS), 18.4 (C_q -TBDMS), 13.3 (C_7), -5.3 (CH_3 -TBDMS), -5.4 (CH_3 -TBDMS).

Compound 106



Synthesized according to the general procedure **B** from **105** (471 mg, 1.14 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 348 μ L, 0.034 mmol) sodium periodate (733 mg, 3.42 mmol) and 2,6-lutidine (265 μ L, 2.28 mmol) in a dioxane/water mixture (2/1, 11.5 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as colorless gum (327 mg, 69%). Because of the presence of rotameres, NMR had to be performed at 353K and only 1H -NMR experiment was done. R_f = 0.4 (pentane/AcOEt 40/60); 1H -NMR (300 MHz, benzene d_6) δ (ppm) 9.47 (s, 1H, Hc), 7.27 (s, 1H, H_6), 6.35 (dd, J = 6.0, 7.2 Hz, 1H, $H_{1'}$), 4.22-4.11 (m, 3H), 3.85-3.79 (m, 1H), 3.65 (dd, J = 2.7, 11.1 Hz, 1H), 3.53 (dd, J = 2.4, 11.1 Hz, 1H), 2.42-2.33 (m, 2H), 2.19-2.09 (m, 1H), 2.00-1.82 (m, 5H), 0.93-0.82 (br. s, 9H, $(CH_3)_3$ -TBDMS), 0.01 (br. s, 6H, CH_3 -TBDMS).

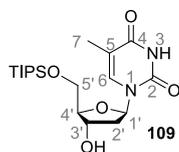
Diketone 108



Chemical Formula: $C_{33}H_{58}N_2O_7Si$
Molecular Weight: 622,91

Synthesized according to the general procedure **E** from **106** (211 mg, 0.51 mmol), **84** (72 mg, 0.34 mmol), catalyst **95** (26 mg, 0.10 mmol) and DBU (14 μ L, 0.10 mmol) in THF (1 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 65/35 to 60/40) to afford the title compound as a yellow gum (129 mg, 61%). R_f = 0.6 (Pentane/EtOAc 60/40); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3454, 2927, 2856, 1705, 1641, 1468, 1410, 1366, 1277, 1256, 1191, 1126, 1005, 939, 900, 835, 774, 675, 537; 1H -NMR (300 MHz, benzene- d_6 , 353 K) δ (ppm) 7.50-7.47 (m, 1H (H_6)), 6.33 (dd, J = 5.7, 8.1 Hz, 1H, $H_{1'}$), 4.44-4.38 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.20-4.10 (m, 2H, H_a), 4.03-3.98 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.83 (ddd, J = 2.7, 11.4, 21.6 Hz, 2H, $H_{5'}$), 3.18-3.12 (m, 1H, OH), 2.80-2.60 (m, 6H, $H_d+H_e+H_b$), 2.44-2.25 (m, 4H, $H_{2'b}+H_g$), 2.10-1.99 (m, 1H, $H_{2'a}$), 1.90-1.85 (m, 3H, H_7), 1.60-1.45 (m, 2H, H_h), 1.28-1.15 (br. s, 16H, CH_2 -aliphatic), 0.91-0.80 (m, 12H, $(CH_3)_3$ -TBDMS+ CH_3 -aliphatic), 0.11-0.03 (m, 6H, CH_3 -TBDMS); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, benzene- d_6 , 353 K) δ (ppm) 209.8 (C_f), 207.3 (C_c), 163.4 (C_4), 150.8 (C_2), 133.8 (C_6), 110.0 (C_5), 87.3 ($C_{4'}$), 85.7 ($C_{1'}$), 72.3 ($C_{3'}$), 63.6 ($C_{5'}$), 42.9 (C_d), 41.3 ($C_{2'}$), 40.4 (C_e), 36.7 (C_a), 36.2 (C_b), 36.0 (CH_2 -aliphatic), 32.0 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.5 (CH_2 -aliphatic), 29.5 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 29.3 (CH_2 -aliphatic), 26.0 (CH_2 -aliphatic), 23.9 (CH_2 -aliphatic), 22.7 ($(CH_3)_3$ -TBDMS), 18.4 (C_q -TBDMS), 14.2 (CH_3 -aliphatic), 13.2 (C_7), -5.3 (CH_3 -TBDMS), -5.4 (CH_3 -TBDMS).

Compound 109

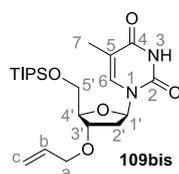


Chemical Formula: $C_{19}H_{34}N_2O_5Si$
Molecular Weight: 398,57

Thymidine (1 g, 4.13 mmol) was dissolved in pyridine (20 mL) under an argon atmosphere and TIPSCl (1.060 mL, 4.95 mmol) was added, followed by a spatula tip of 4-dimethylaminopyridine. The reaction mixture was agitated overnight at room temperature. It was then concentrated under reduced pressure and dichloromethane and water were added. The aqueous layer was extracted three times with dichloromethane and the combined organic extracts were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a white foam (839 mg, 51%). R_f

= 0.36 (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹); 3475, 3167, 3032, 2942, 2895, 2866, 1683, 1664, 1467, 1434, 1404, 1384, 1367, 1316, 1272, 1203, 1122, 1091, 1055, 1002, 960, 940, 919, 882, 800, 778, 733, 717, 680, 664, 634, 612, 557, 493, 464; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 10.18 (s, 1H, NH-3), 7.48 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H₆), 6.35 (dd, $J = 5.7, 8.1$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.50 (brs, 1H, H_{4'}), 4.08-4.02 (m, 2H, H_{3'}+OH), 3.96-3.84 (m, 2H, H_{5'}), 2.40 (ddd, $J = 1.2, 5.1, 12.9$ Hz, 1H, H_{2'}b), 2.12-2.00 (m, 1H, H_{2'}a), 1.85 (d, $J = 0.6$ Hz, 3H, H₇), 1.16-0.98 (m, 21H, CH₃+CH TIPS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.4 (C₄), 150.9 (C₂), 135.6 (C₆), 110.9 (C₅), 87.5 (C_{4'}), 85.0 (C_{1'}), 72.0 (C_{3'}), 63.7 (C_{5'}), 41.1 (C_{2'}), 18.0 (CH₃-TIPS), 12.4 (CH-TIPS), 12.4 (CH-TIPS), 11.9 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₁₉H₃₄N₂O₅SiNa [M+Na]⁺ 421.2129, found 421.2132.

Compound 109bis

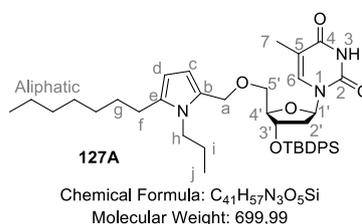


Chemical Formula: C₂₂H₃₈N₂O₅Si
Molecular Weight: 438.63

Synthesized according to the general procedure **A** from **109** (500 mg, 1.25 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 125 mg, 3.14 mmol) and allyl bromide (271 μ L, 3.14 mmol) in THF (5 mL) with 60 minutes microwave activation time. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a colorless gum (484 mg, 88%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3180, 3049, 2944, 2867, 1689, 1466, 1383, 1367, 1323, 1274, 1200, 1127, 1097, 1065, 995, 960, 920, 883, 803, 720, 685, 608, 557, 492; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.98 (s, 1H, NH-3), 7.41 (s, 1H, H₆), 6.25 (dd, $J = 5.7, 8.1$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.92 - 5.75 (m, 1H, H_b), 5.28 - 5.10 (m, 2H, H_c), 4.21-4.14 (m, 1H, H_{3'}), 4.07 - 3.77 (m, 5H, H_a+H_{4'}+H_{5'}), 2.40 (ddd, $J = 2.1, 5.7, 13.5$ Hz, 1H, H_{2'}b), 2.00-1.85 (m, 1H, H_{2'}a), 1.87 (s, 3H, H₇), 1.23-0.91 (m, 21H, CH₃+CH-TIPS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.3 (C₄), 150.6 (C₂), 135.2 (C_b), 134.1 (C₆), 117.4 (C_c), 110.8 (C₅), 85.1 (C_{4'}), 84.8 (C_{1'}), 78.3 (C_{3'}), 70.2 (C_a), 63.5 (C_{5'}), 38.0 (C_{2'}), 18.0 (CH₃-TIPS), 12.4 (CH₂-TIPS), 11.8 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₈H₃₈N₂O₅SiNa [M+Na]⁺ 461.2442, found 461.2440.

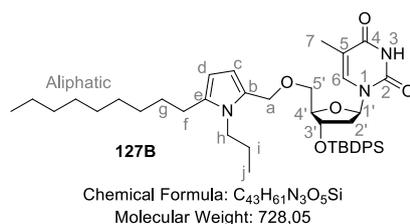
mg, 19%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) = 2953, 2928, 2856, 1702, 1666, 1643, 1539, 1496, 1464, 1451, 1401, 1350, 1323, 1255, 1195, 1103, 1076, 1001, 932, 832, 779, 767, 735, 699, 669, 614, 536, 494, 464; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.52-7.42 (m, 3H, H_{Ar}/H_6), 7.34-7.22 (m, 3H, H_{Ar}/H_6), 6.59-6.48 (m, 1H, Hc), 6.40-6.30 (m, 2H, Hd), 5.87 (dd, $J = 1.2, 10.5$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.11 (s, 2H, Ha'), 4.37-4.18 (m, 3H, Ha+ $H_{3'}$), 4.15-4.09 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.85 (ddd, $J = 3, 11.4, 24.6$ Hz, 2H, $H_{5'}$), 2.47 (ddd, $J = 1.5, 5.4, 13.5$ Hz, 1H, $H_{2'b}$), 1.95-1.90 (m, 4H, $H_7+H_{2'a}$), 0.90 (s, 9H), 0.11-0.06 (m, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 196.5 (C_b), 163.5 (C_4), 151.0 (C_2), 137.0 (Cd), 133.5 (H_6), 132.3 (C_{Ar}), 129.9 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 127.7 (C_c), 126.7 (C_{Ar}), 110.4 (C_5), 85.7 ($C_{4'}$), 85.2 ($C_{1'}$), 80.8 ($C_{3'}$), 73.1 (C_a), 63.7 ($C_{5'}$), 44.6 (C'_a), 37.9 ($C_{2'}$), 26.0 ($(\text{CH}_3)_3\text{-TBDMS}$), 18.4 ($C_q\text{-TBDMS}$), 13.4 (C_7), -5.3 ($\text{CH}_3\text{-TBDMS}$), -5.4 ($\text{CH}_3\text{-TBDMS}$).

Pyrrole 127A



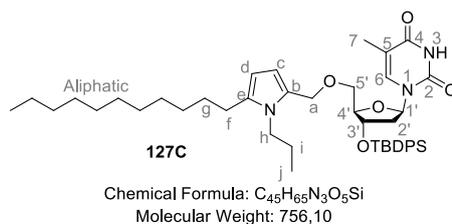
Synthesized according to the general procedure **F** from **96A** (81 mg, 0.12 mmol), propylamine (30 μL , 0.36 mmol) and monohydrated PTSA (46 mg, 0.24 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly orange gum (37 mg, 44%). $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3183, 3059, 2956, 2929, 2857, 1685, 1503, 1466, 1429, 1401, 1363, 1275, 1248, 1197, 1105, 1065, 1023, 966, 894, 855, 823, 796, 771, 740, 703, 645, 611, 559, 539, 508, 489; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.83 (s, 1H, NH-3), 7.64 – 7.59 (m, 4H, $H_{Ar}\text{-TBDPS}$), 7.48 – 7.34 (m, 7H, $H_{Ar}\text{-TBDPS}+H_6$), 6.46 (dd, $J = 5.8, 7.9$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.95 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, Hc), 5.79 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, Hd), 4.36 – 4.17 (m, 3H, Ha+ $H_{4'}$), 4.04 – 4.00 (m, 1H, $H_{3'}$) 3.63 – 3.54 (m, 2H, Hh), 3.40 (dd, $J = 2.5, 10.7$, 1H, $H_{5'b}$), 3.00 (dd, $J = 2.9, 10.7$ Hz, 1H, $H_{5'a}$), 2.44 (appearing t, $J = 7.4, 8.2$, 2H, Hf), 2.33 (ddd, $J = 2.4, 5.8, 13.3$ Hz, 1H, $H_{2'b}$), 1.92 – 1.82 (m, 1H, $H_{2'a}$) 1.72 (d, $J = 1$ Hz, 3H, H_7) 1.68 – 1.45 (m, 4H, Hg+Hi), 1.45 – 1.20 (m, 8H, $\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 1.08 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{-TBDPS}$), 1.95 – 0.85 (m, 3H, $\text{CH}_3\text{-aliphatic}/H_j$), 0.78 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-aliphatic}/H_j$); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 163.9 (C_4), 150.5 (C_2), 136.0 ($C_{Ar}\text{-TBDPS}$), 135.9 (Ce), 135.8 (C_6), 135.3 ($C_{Ar}\text{-TBDPS}$), 133.4 ($C_{Ar}\text{-TBDPS}$), 133.2 ($C_{Ar}\text{-TBDPS}$), 130.2 ($C_{Ar}\text{-TBDPS}$), 128.0 ($C_{Ar}\text{-TBDPS}$), 126.5 (C_b), 111.0 (C_5), 109.9 (C_c), 104.3 (Cd), 86.7 ($C_{4'}$), 85.0 ($C_{1'}$), 74.0 ($C_{3'}$), 68.9 ($C_{5'}$), 65.4 (C_a), 45.3 (Ch), 41.2 ($C_{2'}$), 31.9 ($\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 29.8 ($\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 29.7 ($\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 29.3 ($\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 27.0 ($(\text{CH}_3)_3\text{-TBDPS}$), 26.6 (Ci), 24.7 ($\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 22.8 ($\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 19.1 ($\text{CH}_2\text{-aliphatic}$), 14.2 ($\text{CH}_3\text{-aliphatic}$), 12.5 (C_7), 11.4 (Cj); HRMS (ESI) : Calcd. for $\text{C}_{41}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_5\text{NaSi}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 722.3960, found 729.3962.

Pyrrole 127B



Synthesized according to the general procedure **F** from **96B** (55 mg, 0.078 mmol), propylamine (19 μ L, 0.23 mmol) and monohydrated PTSA (27 mg, 0.16 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly orange gum (38 mg, 67%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3180, 3052, 2956, 2928, 2856, 1686, 1590, 1503, 1466, 1429, 1401, 1364, 1275, 1247, 1199, 1106, 1065, 1026, 965, 911, 895, 854, 823, 737, 702, 647, 611, 558, 539, 507, 489; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.76 (s, 1H, NH-3), 7.67 – 7.56 (m, 4H, H_{Ar}-TBDPS), 7.49 – 7.30 (m, 7H, H_{Ar}-TBDPS+H₆), 6.46 (dd, $J = 5.9, 7.9$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.94 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H_c), 5.79 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, H_d), 4.36 – 4.16 (m, 3H, H_a+H_{3'}), 4.04 – 3.99 (m, 1H, H_{4'}) 3.66 – 3.53 (m, 2H, H_h), 3.40 (dd, $J = 2.5, 10.8$, 1H, H_{5'b}), 2.99 (dd, $J = 2.8, 10.7$ Hz, 1H, H_{5'a}), 2.43 (appearing t, $J = 7.5$, 8.1, 2H, H_f), 2.28 (ddd, $J = 2.3, 5.9, 13.4$ Hz, 1H, H_{2'b}), 1.93 – 1.76 (m, 1H, H_{2'a}) 1.72 (d, $J = 0.7$ Hz, 3H, H₇) 1.67 – 1.47 (m, 4H, H_g+H_i), 1.43 – 1.18 (m, 12H, CH₂-aliphatic), 1.07 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 1.92 – 0.85 (m, 3H, CH₃-aliphatic/H_j), 0.78 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, CH₃-aliphatic/H_j); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.9 (C₄), 150.5 (C₂), 136.1 (C_{Ar}-TBDPS), 135.9 (C_{Ar}-TBDPS), 135.8 (C_e/C₆), 135.3 (C_e/C₆), 133.3 (C_{Ar}-TBDPS), 133.2 (C_{Ar}-TBDPS), 130.2 (C_{Ar}-TBDPS), 128.0 (C_{Ar}-TBDPS), 126.4 (C_b), 111.0 (C₅), 109.9 (C_c), 104.3 (C_d), 86.7 (C_{4'}), 85.0 (C_{1'}), 74.0 (C_{3'}), 68.9 (C_{5'}), 65.3 (C_a), 45.3 (C_h), 41.2 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 28.7 (CH₂-aliphatic), 27.0 ((CH₃)₃-TBDPS), 26.6 (CH₂-aliphatic), 24.7 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 19.1 (CH₂-aliphatic), 14.3 (CH₃-aliphatic), 12.5 (C₇), 11.4 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₃H₆₁N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 750.4273, found 750.4271.

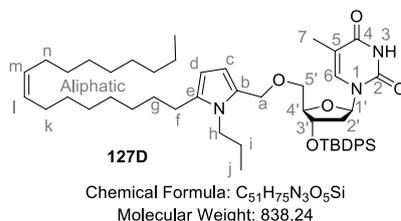
Pyrrole 127C



Synthesized according to the general procedure **F** from **96C** (36 mg, 0.05 mmol), propylamine (12 μ L, 0.15 mmol) and monohydrated PTSA (17 mg, 0.1 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.2 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel

(Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly orange gum (28 mg, 74%). $R_f = 0.5$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3181, 3052, 2927, 2856, 1686, 1590, 1504, 1467, 1428, 1364, 1275, 1247, 1199, 1106, 1065, 1026, 966, 910, 855, 823, 767, 733, 702, 647, 611, 558, 539, 507, 488; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.60 – 8.52 (m, 1H, NH-3), 7.64 – 7.57 (m, 4H, H_{Ar} -TBDPS), 7.49 – 7.34 (m, 7H, H_{Ar} -TBDPS+ H_6), 6.46 (dd, $J = 5.9, 7.9$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 5.94 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, Hc), 5.78 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, Hd), 4.35 – 4.17 (m, 3H, H_a + $\text{H}_{3'}$), 4.04 – 3.99 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 3.63 – 3.53 (m, 2H, Hh), 3.39 (dd, $J = 2.4, 10.7$, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 2.99 (dd, $J = 2.8, 10.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 2.44 (appearing t, $J = 7.5, 8.0$, 2H, Hf), 2.28 (ddd, $J = 2.3, 5.9, 13.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 1.92 – 1.82 (m, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 1.72 (s, 3H, H_7), 1.67 – 1.46 (m, 4H, H_g + H_i), 1.42 – 1.16 (m, 16H, CH_2 -aliphatic), 1.07 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ -TBDPS), 0.91 – 0.84 (m, 3H, CH_3 -aliphatic/ H_j), 0.78 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_3 -aliphatic/ H_j); $^{13}\text{C-NMR}$ (75,5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 163.8 (C_4), 150.4 (C_2), 136.1 (C_{Ar} -TBDPS), 135.9 (C_e/C_6), 135.8 (C_e/C_6), 135.3 (C_{Ar} -TBDPS), 133.4 (C_{Ar} -TBDPS), 133.2 (C_{Ar} -TBDPS), 130.2 (C_{Ar} -TBDPS), 128.0 (C_{Ar} -TBDPS), 128.0 (C_{Ar} -TBDPS), 126.4 (C_b), 111.0 (C_5), 109.9 (C_c), 104.3 (C_d), 86.7 ($\text{C}_{4'}$), 85.0 ($\text{C}_{1'}$), 74.0 ($\text{C}_{3'}$), 68.9 ($\text{C}_{5'}$), 65.4 (C_a), 45.3 (Ch), 41.2 ($\text{C}_{2'}$), 32.1 (CH_2 -aliphatic), 29.8 ($(\text{CH}_3)_3$ -TBDPS), 29.8 (CH_2 -aliphatic), 29.8 (CH_2 -aliphatic), 29.8 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.5 (CH_2 -aliphatic), 28.7 (CH_2 -aliphatic), 27.0 (CH_2 -aliphatic), 26.6 (CH_2 -aliphatic), 24.8 (CH_2 -aliphatic), 22.8 (CH_2 -aliphatic), 19.1 (CH_2 -aliphatic), 14.2 (CH_3 -aliphatic), 12.5 (C_7), 11.4 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for $\text{C}_{45}\text{H}_{65}\text{N}_3\text{O}_5\text{NaSi}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 778.4586, found 778.4595.

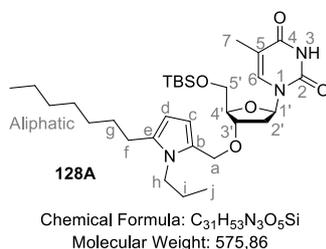
Pyrrole 127D



Synthesized according to the general procedure **F** from **96D** (79 mg, 0.10 mmol), propylamine (24 μL , 0.29 mmol) and monohydrated PTSA (37 mg, 0.19 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly orange gum (44 mg, 54%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3184, 3052, 3004, 2928, 2856, 1691, 1466, 1429, 1365, 1275, 1200, 1111, 1066, 1030, 894, 855, 824, 741, 704, 612, 558, 508, 490; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.64 (s, 1H, NH-3), 7.64 – 7.58 (m, 4H, H_{Ar} -TBDPS), 7.48 – 7.34 (m, 7H, H_{Ar} -TBDPS+ H_6), 6.45 (dd, $J = 5.9, 7.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 5.94 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, Hc), 5.78 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, Hd), 5.41 – 5.29 (m, 2H, H_l + H_m), 4.36 – 4.17 (m, 3H, $\text{H}_{3'}$ + H_a), 4.04 – 3.99 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 3.63 – 3.53 (m, 2H, Hh), 3.39 (dd, $J = 2.3, 10.7$, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 3.00 (dd, $J = 2.8, 10.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 2.44 (appearing t, $J = 7.5, 8.0$, 2H, Hf), 2.28 (ddd, $J = 2.3, 5.8, 13.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 2.07 – 1.97 (m, 4H, H_k + H_n), 1.93 – 1.82 (m, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 1.78 – 1.68 (m, 3H, H_7), 1.67 – 1.47 (m, 4H, H_g + H_i),

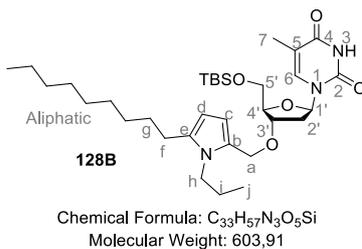
1.43 – 1.21 (m, 18H, CH₂-aliphatic), 1.07 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.92 – 0.85 (m, 3H, CH₃-aliphatic), 0.78 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, Cj); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.8 (C₄), 150.4 (C₂), 136.1 (C_{Ar}-TBDPS), 135.9 (C₆), 135.8 (C_{Ar}-TBDPS), 135.2 (C_e), 133.4 (C_{Ar}-TBDPS), 133.2 (C_{Ar}-TBDPS), 130.2 (C_{Ar}-TBDPS), 130.1 (C_{Ar}-TBDPS), 129.9 (C_{Ar}-TBDPS), 128.0 (C_{Ar}-TBDPS), 126.5 (C_b), 111.0 (C₅), 109.9 (C_c), 104.3 (Cd), 86.7 (C_{4'}), 85.0 (C_{1'}), 74.0 (C_{3'}), 68.9 (C_{5'}), 65.4 (C_a), 45.3 (Ch), 41.2 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.9 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 28.7 (CH₂-aliphatic), 27.3 (CH₂-aliphatic), 27.0 ((CH₃)₃-TBDPS), 26.6 (CH₂-aliphatic), 24.7 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 19.1 (CH₂-aliphatic), 18.6 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.5 (C₇), 11.4 (Cj); HRMS (ESI) : Calcd. for C₅₁H₇₅N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 860.5368, found 860.5366.

Pyrrole 128A



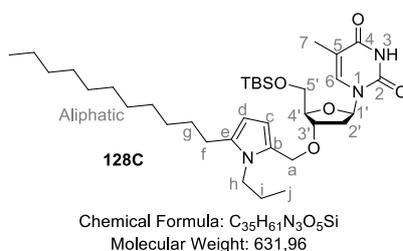
Synthesized according to the general procedure **F** from **97A** (82 mg, 0.16 mmol), propylamine (39 μL, 0.47 mmol) and monohydrated PTSA (54 mg, 0.31 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.6 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly orange gum (46 mg, 51%). *R_f* = 0.4 (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3184, 3055, 2956, 2929, 2858, 1691, 1503, 1466, 1432, 1404, 1362, 1322, 1274, 1257, 1199, 1129, 1088, 1033, 960, 931, 886, 835, 779, 672, 605, 558, 491; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.22 (s, 1H, NH-3), 7.50 – 7.48 (m, 1H, H₆), 6.30 (dd, *J* = 5.6, 7.6 Hz, 1H, H_{1'}), 6.02 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H_c), 5.80 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H_d), 4.45 (dd, *J* = 12.8, 26.8 Hz, 2H, H_a), 4.12 – 4.07 (m, 1H, H_{3'}), 4.00 – 3.96 (m, 1H, H_{4'}), 3.86 – 3.61 (m, 4H, H_{5'}+H_h), 2.50 (appearing t, *J* = 7.5, 8.0, 2H, H_f), 2.33 (ddd, *J* = 1.5, 5.6, 13.4 Hz, 1H, H_{2'}b), 1.96 – 1.85 (m, 4H, H₇+H_{2'a}), 1.74 – 1.58 (m, 4H, H_g+H_i), 1.43 – 1.20 (m, 8H, CH₂-aliphatic), 1.00 – 0.84 (m, 15H, (CH₃)₃-TBDMS+CH₃-aliphatic+H_j), 0.08 – 0.07 (m, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 135.6 (C_e/C₆), 135.5 (C_e/C₆), 126.4 (C_b), 110.9 (C₅), 109.9 (C_c), 104.4 (Cd), 85.2 (C_{1'}/C_{4'}), 85.2 (C_{1'}/C_{4'}), 63.7 (C_{3'}), 63.4 (C_{5'}), 58.5 (C_a), 45.5 (Ch), 38.2 (C_{2'}), 31.9, 29.8, 29.7, 29.3, 28.8, 26.6 (C_f), 26.0 ((CH₃)₃-TBDMS), 24.8, 22.8, 18.5, 18.5, 14.2 (C_j), 12.6 (C₇), 11.5 (CH₃-aliphatic), -5.29 (CH₃-TBDMS), -5.39 (CH₃-TBDMS); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₁H₅₃N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 598.3647, found 598.3652.

Pyrrole 128B



Synthesized according to the general procedure **F** from **97B** (80 mg, 0.17 mmol), propylamine (42 μ L, 0.51 mmol) and monohydrated PTSA (58 mg, 0.34 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.6 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a slightly orange gum (54 mg, 53%). *R_f* = 0.5 (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3183, 3053, 2954, 2927, 2857, 2857, 1686, 1504, 1465, 1432, 1403, 1361, 1322, 1273, 1257, 1199, 1128, 1087, 1070, 1032, 960, 930, 886, 835, 779, 671, 629, 604, 558, 489; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.47 – 9.16 (br. s, 1H, NH-3), 7.50 – 7.48 (m, 1H, H₆), 6.30 (dd, *J* = 5.6, 8.5 Hz, 1H, H_{1'}), 6.01 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H_c), 5.80 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H_d), 4.45 (dd, *J* = 12.7, 27.3 Hz, 2H, H_a), 4.12 – 4.07 (m, 1H, H_{3'}), 4.00 – 3.96 (m, 1H, H_{4'}), 3.86 – 3.60 (m, 4H, H_{5'}+H_h), 2.50 (appearing t, *J* = 7.6, 7.9, 2H, H_f), 2.33 (ddd, *J* = 1.4, 5.6, 13.4 Hz, 1H, H_{2'}b), 1.96 – 1.85 (m, 4H, H₇+H_{2'a}), 1.74 – 1.57 (m, 4H, H_g+H_i), 1.44 – 1.19 (m, 12H, CH₂-aliphatic), 0.99 – 0.83 (m, 15H, (CH₃)₃-TBDMS+CH₃-aliphatic+H_j), 0.08 – 0.07 (m, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 135.6 (C_e/C₆), 135.6 (C_e/C₆), 126.4 (C_b), 110.9 (C₅), 109.9 (C_c), 104.4 (C_d), 85.2 (C_{1'}/C_{4'}), 85.2 (C_{1'}/C_{4'}), 63.7 (C_{3'}), 63.4 (C_{5'}), 58.5 (C_a), 45.5 (C_h), 38.2 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 28.9 (CH₂-aliphatic), 26.6 (C_f), 26.0 ((CH₃)₃-TBDMS), 24.8 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 18.5 (CH₂-aliphatic), 18.4 (CH₂-aliphatic), 14.2 (C_j), 12.6 (C₇), 11.5 (CH₃-aliphatic), -5.3 (CH₃-TBDMS), -5.4 (CH₃-TBDMS); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₃H₅₇N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 626.3960, found 626.3962.

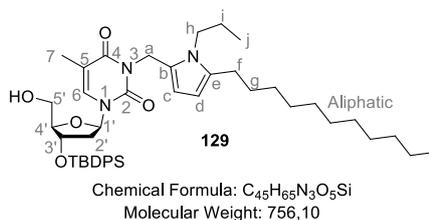
Pyrrole 128C



Synthesized according to the general procedure **F** from **97C** (116 mg, 0.19 mmol), propylamine (47 μ L, 0.57 mmol) and monohydrated PTSA (72 mg, 0.38 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.7 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica

gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly orange gum (72 mg, 60%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3183, 3057, 2955, 2929, 2858, 1690, 1466, 1362, 1274, 1257, 1200, 1129, 1086, 1033, 930, 836, 779, 557, 491; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.42 (s, 1H, NH-3), 7.51 – 7.47 (m, 1H, H₆), 6.30 (dd, $J = 5.5, 8.5$ Hz, 1H, H_{1'}), 6.02 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, H_c), 5.80 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H_d), 4.45 (dd, $J = 12.7, 27.6$ Hz, 2H, H_a), 4.13 – 4.08 (m, 1H, H_{3'}), 4.01 – 3.97 (m, 1H, H_{4'}), 3.87 – 3.61 (m, 4H, H_{5'+Hh}), 2.50 (appearing t, $J = 7.5, 8.0$, 2H, H_f), 2.34 (ddd, $J = 1.5, 5.6, 13.4$ Hz, 1H, H_{2'b}), 1.96 – 1.84 (m, 4H, H_{7'+H2'a}), 1.75 – 1.56 (m, 4H, H_{g+Hi}), 1.44 – 1.18 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 1.00 – 0.82 (m, 15H, (CH₃)₃-TBDMS+CH₂-aliphatic+H_j), 0.08 – 0.07 (m, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.6 (C₄), 150.2 (C₂), 135.7 (C_e/C₆), 135.6 (C_e/C₆), 126.4 (C_b), 110.9 (C₅), 109.9 (C_c), 104.4 (C_d), 85.3 (C_{1'/C4'}), 85.2 (C_{1'/C4'}), 63.8 (C_{5'}), 63.5 (C_a), 45.6 (C_h), 38.2 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 28.9 (CH₂-aliphatic), 26.6 (C_f), 26.1 ((CH₃)₃-TBDMS), 24.9 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 18.5 (CH₂-aliphatic), 14.3 (H_j), 12.7 (C₇), 11.6 (CH₃-aliphatic), -5.2 (CH₃-TBDMS), -5.3 (CH₃-TBDMS); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₅H₆₁N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 654.4263, found 654.4271.

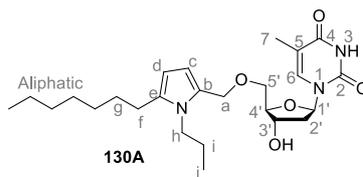
Pyrrole 129



Synthesized according to the general procedure **F**, **98** was used as a non pure mixture (0.05 mmol) with propylamine (13 μ L, 0.16 mmol) and monohydrated PTSA (20 mg, 0.11 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.5 mL). The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly orange gum (23 mg, 57% (12% over two steps from aldehyde **71**). $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3463, 3073, 2927, 2856, 1700, 1667, 1639, 1464, 1429, 1367, 1346, 1296, 1274, 1240, 1293, 1104, 1065, 1024, 1002, 958, 941, 916, 896, 878, 823, 770, 740, 703, 652, 610, 546, 508, 489; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.68 – 7.60 (m, 4H, H_{Ar}-TBDPS), 7.50 – 7.36 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 7.23 – 7.20 (m, 1H, H₆), 6.26 – 6.18 (m, 2H, H_{1'+Hc}), 5.81 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_d), 5.09 – 5.05 (m, 2H, H_a), 4.47 – 4.41 (m, 1H, H_{3'}), 4.06 – 3.98 (m, 2H, H_h), 3.98 – 3.93 (m, 1H, H_{4'}), 3.65 – 3.56 (m, 1H, H_{5'b}), 3.26 – 3.16 (m, 1H, H_{5'a}), 2.48 (appearing t, $J = 7.5, 8.2$, 2H, H_f), 2.32 – 2.09 (m, 3H, H_{2'b}+OH), 1.8 (d, $J = 1.0$ Hz, 3H, H₇), 1.70 – 1.53 (m, 4H, H_{g+Hi}), 1.44 – 1.19 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 1.09 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.98 – 0.85 (m, 6H, CH₃-aliphatic+H_j); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.3 (C₄), 151.0 (C₂), 135.9 (C_{Ar}-TBDPS), 135.8 (C_{Ar}-TBDPS), 134.9 (C₆), 133.5 (C_e), 133.5 (C_{Ar}-TBDPS), 133.3 (C_{Ar}-TBDPS), 130.3

(C_{Ar}-TBDPS), 130.2 (C_{Ar}-TBDPS), 128.0 (C_{Ar}-TBDPS), 126.5 (C_b), 110.4 (C₅), 109.4 (C_c), 104.7 (Cd), 87.8 (C_{1'}), 87.7 (C_{4'}), 73.1 (C_{3'}), 62.3 (C_{5'}), 45.1 (Ch), 40.4 (C_{2'}), 36.6 (C_a), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.8(CH₂-aliphatic), 29.8(CH₂-aliphatic), 29.7(CH₂-aliphatic), 29.7(CH₂-aliphatic), 29.5(CH₂-aliphatic), 28.8(CH₂-aliphatic), 27.0(CH₂-aliphatic), 26.8 ((CH₃)₃-TBDPS), 25.3(CH₂-aliphatic), 22.8(CH₂-aliphatic), 19.2(CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 13.4 (C₇), 11.4 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₅H₆₅N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 778.4586, found 778.4586.

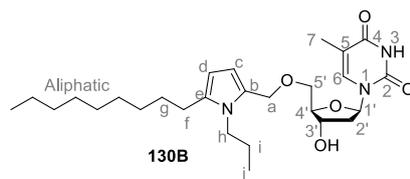
Nucleolipid 130A



Chemical Formula: C₂₅H₃₉N₃O₅
Molecular Weight: 461,59

Synthesized according to the general procedure **G** from **127A** (31 mg, 0.04 mmol) and TBAF (1M in THF, 44 μ L, 0.04 mmol) in THF (0.5 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a slightly orange gum (15 mg, 73%). *R_f* = 0.2 (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3429, 3182, 3064, 2961, 2928, 2857, 1688, 1469, 1366, 1274, 1201, 1096, 1058, 1018, 959, 752, 558, 475; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.91 (s, 1H, NH-3), 7.57 – 7.51 (m, 1H, H₆), 6.34 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H_{1'}), 6.07 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H_c), 5.82 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H, H_d), 4.49 (AB system, *J* = 26.2 Hz, 2H, H_a), 4.40 – 4.31 (m, 1H, H_{3'}) 4.08 – 3.99 (m, 1H, H_{4'}), 3.82 – 3.57 (m, 4H, H_{5'}+H_h), 2.68 – 2.55 (br. s, 1H, OH), 2.50 (appearing t, *J* = 7.6, 8.0 Hz, 2H, H_f), 2.39 – 2.27 (m, 1H, H_{2'}b), 2.21 – 2.08 (m, 1H, H_{2'}a), 1.85 – 1.56 (m, 7H, H₇+H_g+H_i), 1.45 – 1.17 (m, 8H, CH₂-aliphatic), 0.99 – 0.76 (m, 6H, CH₃-aliphatic+H_j); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.9 (C₄), 150.5 (C₂), 136.0 (C₆), 135.6 (C_e), 126.5 (C_b), 111.1 (C₅), 110.1 (C_c), 104.5 (Cd), 85.9 (C_{4'}), 85.0 (C_{1'}), 72.3 (C_{3'}), 69.0 (C₅), 65.6 (C_a), 45.5 (Ch), 40.8 (C_{2'}), 31.9 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7, 29.3 (CH₂-aliphatic), 28.8 (CH₂-aliphatic), 26.7 (C_f), 24.9 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.6 (C₇), 11.6 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₅H₃₉N₃O₅Na [M+Na]⁺ 484.2782, found 484.2785.

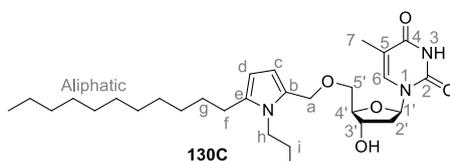
Nucleolipid 130B



Chemical Formula: $C_{27}H_{43}N_3O_5$
Molecular Weight: 489,65

Synthesized according to the general procedure **G** from **127B** (30 mg, 0.04 mmol) and TBAF (1M in THF, 40 μ L, 0.04 mmol) in THF (0.5 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as an orange gum (14 mg, 69%). $R_f = 0.2$ (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3420, 3188, 3062, 2926, 2855, 1688, 1468, 1431, 1365, 1274, 1201, 1095, 1059, 1018, 963, 888, 752, 618, 560, 493; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.91 (s, 1H, NH-3), 7.54 – 7.52 (m, 1H, H_6), 6.35 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 6.07 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, Hc), 5.82 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, Hd), 4.49 (AB system, $J = 24.0$ Hz, 2H, Ha), 4.41 – 4.33 (m, 1H, $H_{3'}$) 4.07 – 4.01 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.80 – 3.73 (m, 2H, $H_{5'}$), 3.72 – 3.60 (m, 2H, Hh), 2.60 – 2.54 (br. s, 1H, OH), 2.50 (appearing t, $J = 7.6, 8.0$ Hz, 2H, Hf), 2.32 (ddd, $J = 3.6, 6.1, 13.6$ Hz, 1H, $H_{2'b}$), 2.19 – 2.08 (m, 1H, $H_{2'a}$), 1.81 – 1.76 (m, 3H, H_7) 1.73 – 1.57 (m, 4H, Hg+Hi) 1.44 – 1.20 (m, 12H, CH_2 -aliphatique), 0.97 – 0.82 (m, 6H, CH_3 -aliphatique+Hj); ^{13}C -NMR (75,5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 163.9 (C_4), 150.5 (C_2), 136.0 (C_6), 135.6 (Ce), 126.5 (C_b), 111.1 (C_5), 110.1 (C_c), 104.4 (Cd), 85.9 ($C_{4'}$), 85.0 ($C_{1'}$), 72.3 ($C_{3'}$), 69.0 ($C_{5'}$), 65.6 (C_a), 45.5 (Ch), 40.8 ($C_{2'}$), 32.0 (CH_2 -aliphatique), 29.8 (CH_2 -aliphatique), 29.8 (CH_2 -aliphatique), 29.7 (CH_2 -aliphatique), 29.7 (CH_2 -aliphatique), 29.5 (CH_2 -aliphatique), 29.5 (CH_2 -aliphatique), 28.8 (CH_2 -aliphatique), 26.7 (Cf), 24.9 (CH_2 -aliphatique), 22.8 (CH_2 -aliphatique), 14.3 (CH_3 -aliphatique), 12.6 (C_7), 11.6 (Cj); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{27}H_{43}N_3O_5Na$ $[M+Na]^+$ 512.3095, found 512.3096.

Nucleolipid 130C

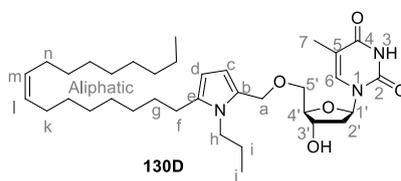


Chemical Formula: $C_{29}H_{47}N_3O_5$
Molecular Weight: 517,70

Synthesized according to the general procedure **G** from **127C** (28 mg, 0.04 mmol) and TBAF (1M in THF, 37 μ L, 0.04 mmol) in THF (0.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a slightly orange gum (14 mg, 73%). $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3420, 3188, 3062, 2926, 2855, 1688, 1468, 1431, 1365, 1274, 1201, 1095, 1059, 1018, 963, 888, 752, 618, 560, 493; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.36 (s, 1H, NH-3), 7.54 – 7.51 (m, 1H, H_6), 6.33 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 6.07 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H,

Hc), 5.82 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, Hd), 4.50 (Ab system, $J = 26.2$ Hz, 2H, Ha), 4.39 – 4.34 (m, 1H, H_{3'}), 4.05 – 4.00 (m, 1H, H_{4'}), 3.81 – 3.73 (m, 2H, H_{5'}), 3.72 – 3.59 (m, 2H, Hh), 2.50 (appearing t, $J = 7.6, 8.0$, 2H, Hf), 2.36 – 2.27 (m, 1H, H_{2'}b), 2.20 – 2.05 (m, 2H, H_{2'}a+OH), 1.82 – 1.76 (m, 3H, H₇), 1.74 – 1.56 (m, 4H, Hg+Hi), 1.34 – 1.19 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 0.97 – 0.84 (m, 6H, CH₃-aliphatic+Hj); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.1 (C₄), 150.7 (C₂), 136.1 (C₆), 135.5 (Ce), 126.6 (C_b), 111.1 (C₅), 110.0 (C_c), 104.4 (Cd), 86.0 (C_{4'}), 85.0 (C_{1'}), 72.2 (C_{3'}), 69.1 (C_{5'}), 65.6 (Ca), 45.4 (Ch), 40.8 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 28.8 (CH₂-aliphatic), 26.7 (Cf), 24.9 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.5 (C₇), 11.5 (Cj); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₉H₄₇N₃O₅Na [M+Na]⁺ 540.3408, found 540.3409.

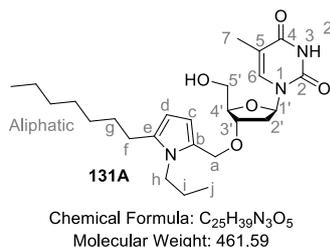
Nucleolipid 130D



Chemical Formula: C₃₅H₅₇N₃O₅
Molecular Weight: 599.84

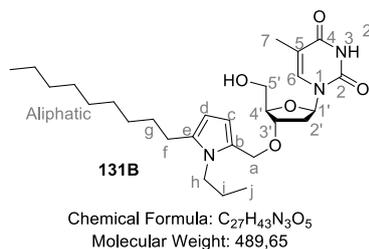
Synthesized according to the general procedure **G** from **127D** (33 mg, 0.04 mmol) and TBAF (1M in THF, 36 μ L, 0.04 mmol) in THF (0.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a slightly orange gum (15 mg, 63%). $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3407, 3191, 3121, 3050, 2924, 2854, 1725, 1656, 1469, 1432, 1363, 1275, 1203, 1114, 1085, 1052, 1019, 963, 890, 748, 659, 608, 555; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.89 (s, 1H, NH-3), 7.55 – 7.51 (m, 1H, H₆), 6.34 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H, H_{1'}), 6.07 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, Hc), 5.82 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, Hd), 5.40 – 5.29 (m, 2H, Hl+Hm), 4.49 (AB system, $J = 24.5$ Hz, 2H, Ha), 4.40 – 4.33 (m, 1H, H_{3'}), 4.08 – 4.00 (m, 1H, H_{4'}), 3.83 – 3.58 (m, 4H, H_{5'}+Hh), 2.70 – 2.57 (br.s, 1H, OH), 2.49 (appearing t, $J = 7.6, 7.9$, 2H, Hf), 2.37 – 2.27 (m, 1H, H_{2'}b), 2.21 – 2.08 (m, 1H, H_{2'}a), 2.06 – 1.96 (m, 4H, Hk+Hn), 1.83 – 1.75 (m, 3H, H₇), 1.73 – 1.57 (m, 4H, Hg+Hi), 1.39 – 1.21 (m, 20H, CH₂-aliphatic), 0.97 – 0.84 (m, 6H, CH₃-aliphatic+Hj); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.8 (C₄), 150.5 (C₂), 136.0 (C₆), 135.5 (Ce), 130.2 (Cl/Cm), 129.9 (Cl/Cm), 126.6 (C_b), 111.1 (C₅), 110.1 (C_c), 104.4 (Cd), 85.8 (C_{4'}), 85.0 (C_{1'}), 72.2 (C_{3'}), 69.0 (C_{5'}), 65.6 (C_a), 58.6 (Ch), 45.5 (C_{2'}), 40.8 (CH₂-aliphatic), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.9 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 28.8 (CH₂-aliphatic), 27.3 (CH₂-aliphatic), 26.7 (CH₂-aliphatic), 24.9 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.6 (C₇), 11.6 (Cj); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₅H₅₇N₃O₅Na [M+Na]⁺ 622.4190, found 622.4193.

Nucleolipid 131A



Synthesized according to the general procedure **G** from **128A** (46 mg, 0.08 mmol) and TBAF (1M in THF, 80 μ L, 0.08 mmol) in THF (0.9 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as an orange gum (22 mg, 60%). R_f = 0.3 (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3423, 3185, 3059, 2953, 2927, 2856, 1683, 1507, 1468, 1431, 1366, 1324, 1274, 1201, 1101, 1060, 1033, 958, 908, 753, 735, 645, 609, 559, 491; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 9.29 (s, 1H, NH-3), 7.39 – 7.37 (m, 1H, H_6), 6.13 (t, J = 6.9 Hz, 1H, $H_{1'}$), 6.04 (d, J = 3.3 Hz, 1H, H_c), 5.81 (d, J = 3.3 Hz, 1H, H_d), 4.46 (AB system, J = 13.2 Hz, 2H, H_a), 4.26 – 4.19 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.02 – 3.96 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.91 – 3.57 (m, 4H, $H_{5'}+H_h$), 2.86 (br. s, 1H, OH), 2.50 (t, J = 7.8 Hz, 2H, H_f), 2.34 – 2.18 (m, 2H, $H_{2'}$), 1.89 (s, 3H, H_7), 1.76 – 1.57 (m, 4H, H_g+H_i), 1.45 – 1.20 (m, 8H, CH_2 -aliphatic), 0.95 (appearing t, J = 7.2, 7.5 Hz, 3H, H_j), 0.88 (appearing t, J = 6.0, 7.2 Hz, 3H, CH_3 -aliphatic); ^{13}C -NMR (75,5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 164.1 (C_4), 150.5 (C_2), 137.0 (C_6), 135.7 (C_e), 126.6 (C_b), 111.1 (C_5), 109.8 (C_c), 104.4 (C_d), 86.9 ($C_{1'}$), 85.1 ($C_{4'}$), 77.4 ($C_{3'}$), 63.8 (C_a), 62.6 ($C_{5'}$), 45.5 (C_h), 37.4 ($C_{2'}$), 31.9 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.3 (CH_2 -aliphatic), 28.8 (CH_2 -aliphatic), 26.6 (CH_2 -aliphatic), 24.8 (C_f), 22.8 (CH_2 -aliphatic), 14.2 (CH_3 -aliphatic), 12.6 (C_7), 11.5 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{25}H_{39}N_3O_5Na$ [$M+Na$] $^+$ 484.2782, found 484.2784.

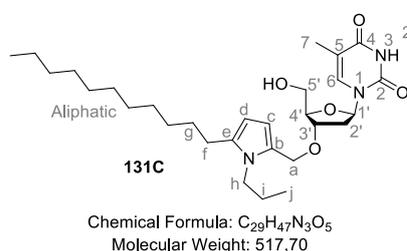
Nucleolipid 131B



Synthesized according to the general procedure **G** from **128** (54 mg, 0.09 mmol) and TBAF (1M in THF, 89 μ L, 0.09 mmol) in THF (1 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as an orange gum (26 mg, 59%). R_f = 0.3 (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3422, 3188, 3060, 2926, 2855, 1690, 1468, 1432, 1366, 1275, 1201, 1103, 1061, 1037, 959, 895, 755, 609, 560, 492; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 9.00 (s, 1H, NH-3), 7.37 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H_6), 6.12 (t, J = 6.9 Hz, 1H, $H_{1'}$), 6.05 (d, J = 3.6 Hz, 1H, H_c), 5.81 (d, J = 3.6 Hz, 1H, H_d), 4.46 (AB system, J = 14.8 Hz, 2H, H_a), 4.25 – 4.19 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.02 – 3.96

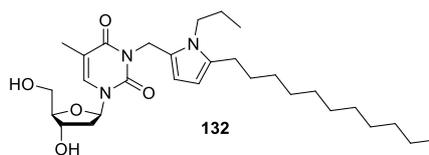
(m, 1H, H_{4'}), 3.89 – 3.59 (m, 4H, H_{5'}+Hh), 2.75 – 2.59 (br. s, 1H, OH), 2.51 (appearing t, *J* = 7.5, 8.1 Hz, 2H, Hf), 2.31 – 2.23 (m, 2H, H_{2'}), 1.89 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.76 – 1.56 (m, 4H, Hg+Hi), 1.45 – 1.20 (m, 12H, CH₂-aliphatic), 0.95 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, Hj), 0.91-0.84 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.9 (C₄), 150.5 (C₂), 137.0 (C₆), 135.8 (Ce), 126.6 (Cb), 111.2 (C₅), 109.9 (C_c), 104.4 (Cd), 87.0 (C_{1'}), 85.1 (C_{4'}), 77.4 (C_{3'}), 63.8 (C_a), 62.7 (C_{5'}), 45.6 (Ch), 37.4 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 28.9 (CH₂-aliphatic), 26.6 (CH₂-aliphatic), 24.9 (Cf), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.6 (C₇), 11.6 (Cj); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₇H₄₃N₃O₅Na [M+Na]⁺ 512.3095, found 512.3093.

Nucleolipid 131C



Synthesized according to the general procedure **G** from **128C** (72 mg, 0.11 mmol) and TBAF (1M in THF, 114 μL, 0.11 mmol) in THF (1.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a slightly orange gum (37 mg, 63%). *R_f* = 0.4 (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3423, 3187, 3059, 2926, 2855, 1695, 1469, 1432, 1366, 1276, 1202, 1104, 1060, 1039, 959, 896, 754, 609, 561, 491; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.31 (s, 1H, NH-3), 7.39 (s, 1H, H₆), 6.13 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, H_{1'}), 6.04 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, Hc), 5.81 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, Hd), 4.46 (AB system, *J* = 13.7 Hz, 2H, Ha), 4.26 – 4.19 (m, 1H, H_{3'}), 4.02 – 3.97 (m, 1H, H_{4'}), 3.89 – 3.60 (m, 4H, H_{5'}+Hh), 2.96 – 2.80 (br. s, 1H, OH), 2.50 (appearing t, *J* = 7.6, 7.9, 2H, Hf), 2.34 – 2.16 (m, 2H, H_{2'}), 1.89 (s, 3H, H₇), 1.78 – 1.55 (m, 4H, Hg+Hi), 1.45 – 1.18 (m, 16H, CH₂-aliphatique), 0.9 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, Hj), 0.87 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃-aliphatique); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 137.0 (C₆), 135.7 (Ce), 126.6 (C_b), 111.1 (C₅), 109.8 (C_c), 104.4 (Cd), 86.9 (C_{1'}), 85.1 (C_{4'}), 77.4 (C_{3'}), 63.8 (C_a), 62.6 (C_{5'}), 45.5 (Ch), 37.4 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatique), 29.8 (CH₂-aliphatique), 29.7 (CH₂-aliphatique), 29.6 (CH₂-aliphatique), 29.4 (CH₂-aliphatique), 28.8 (CH₂-aliphatique), 26.6 (CH₂-aliphatique), 24.8 (Cf), 22.8 (CH₂-aliphatique), 14.2 (CH₃-aliphatique), 12.6 (C₇), 11.5 (Cj); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₉H₄₇N₃O₅Na [M+Na]⁺ 540.3408, found 540.3412.

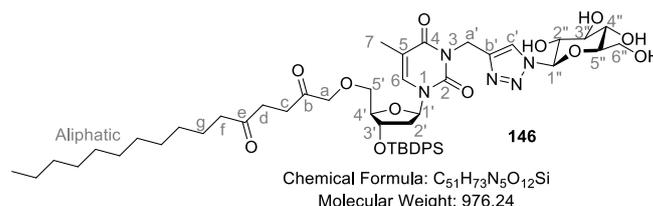
Nucleolipid 132



Chemical Formula: C₂₉H₄₇N₃O₅
Molecular Weight: 517,70

Synthesized according to the general procedure **G** from **129** (20 mg, 0.03 mmol) and TBAF (1M in THF, 26 μ L, 0.03 mmol) in THF (0.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a slightly orange gum (10 mg, 73%). $R_f = 0.2$ (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3422, 3080, 2956, 2924, 1699, 1666, 1634, 1465, 1345, 1272, 1097, 918, 767, 546,; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.31 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, H₆), 6.22 – 6.13 (m, 2H, H_{1'}+H_c), 5.80 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_d), 5.08 (s, 2H, H_a), 4.61 – 4.51 (m, 1H, H_{3'}), 4.09 – 3.94 (m, 3H, H_{4'}+H_h), 3.85 (ddd, $J = 3, 12, 29.1$, 2H, H_{5'}), 2.54-2.22 (m, 5H, H_{2'}+H_f+OH), 1.91 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H, H₇), 1.75 (br. s, 1H, OH), 1.70 – 1.53 (m, 4H, H_g+H_i), 1.45 – 1.16 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 0.95 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, H_j), 0.87 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.3 (C₄), 151.1 (C₂), 134.9 (C₆), 133.6 (C_e), 126.4 (C_b), 110.6 (C₅), 109.3 (C_c), 104.7 (C_d), 87.6 (C_{1'}), 86.9 (C_{4'}), 71.6 (C_{3'}), 62.5 (C_{5'}), 45.1 (C_h), 40.2 (C_{2'}), 36.6 (C_a), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 28.8 (CH₂-aliphatic), 26.8 (CH₂-aliphatic), 25.3 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.3 (CH₃-aliphatic), 13.5 (C₇), 11.4 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₉H₄₇N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 540.3408, found 540.3410.

3'-Protected GNL 146

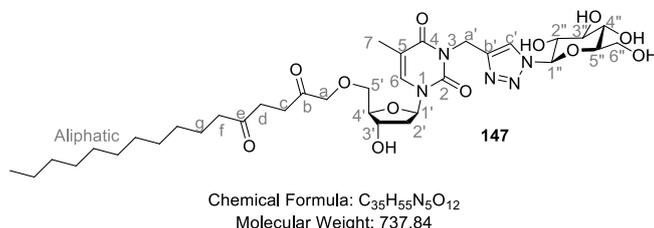


Chemical Formula: C₅₁H₇₃N₅O₁₂Si
Molecular Weight: 976,24

K₂CO₃ (50 mg, 0.36 mmol) was added to a stirred solution of **96C** (176 mg, 0.24 mmol) in DMF (2 mL) under an argon atmosphere. Then TBAI (9 mg, 0.024 mmol) was added followed by propargyl bromide (80% in toluene sol., 40 μ L, 0.36 mmol) and the reaction mixture was stirred at room temperature during 22h. After complete consumption of **96C** (TLC control), the reaction mixture was diluted in EtOAc and washed with water and brine. The organic layer was then dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded **145** as a crude product which was engaged in the CuAAC click reaction without further purification. It was dissolved in t-BuOH (1.2 mL) and water was added (1.2 mL), followed by 1-azido-1-deoxy- β -D-glucopyranoside (49 mg, 0.24 mmol). After degassing

for 10 minutes at room temperature with argon, the reaction mixture was warmed up at 75°C and pentahydrated CuSO₄ (6 mg, 0.024 mmol) was added, followed by sodium ascorbate (10 mg, 0.048 mmol). The reaction medium was stirred overnight at 75°C. After complete conversion of **145** (TLC control), it was allowed to cool down at room temperature and concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH 95/5) to obtain **146** as a yellow gum. (176 mg, 75% over the two steps). *R_f* = 0.3 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3387, 3074, 2926, 2856, 1702, 1665, 1641, 1467, 1428, 1404, 1368, 1273, 1244, 1195, 1093, 1102, 1031, 925, 898, 823, 781, 742, 703, 660, 611, 553, 507, 488, 456; ¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂CO) δ (ppm) 8.00 (s, 1H, Hc'), 7.79 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, H₆), 7.74 - 7.67 (m, 4H, H_{Ar}-TBDPS), 7.53 - 7.41 (m, 6H, H_{Ar}-TBDPS), 6.56 (dd, *J* = 5.6, 8.6 Hz, 1H, H_{1'}), 5.60 (d, *J* = 9.2, 1H, H_{1''}), 5.18 (q, *J* = 14.5 Hz, 2H, Ha'), 4.72-4.61 (m, 2H, H_{3'+OH}), 4.45 (br. s, 1H, OH) 4.15 (s, 2H, Ha) 4.12 - 4.07 (m, 1H, H_{4'}), 3.99 (td, *J* = 6.3, 8.9 Hz, 2H, H_{2''}) 3.92 - 3.80 (m, 2H, H_{6''2+OH}), 3.74 - 3.50 (m, 5H, H_{3''+H_{4''+H_{5''+H_{6''1+H_{5'b}}}), 3.23 (dd, *J* = 2.6, 10.4 Hz, 1H, H_{5'a}), 2.92 (s, 1H, OH), 2.76 - 2.65 (m, 2H, Hc), 2.58 - 2.50 (m, 2H, Hd), 2.44 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, Hf), 2.29 (ddd, *J* = 1.6, 5.6, 13.2 Hz, 1H, H_{2'b}), 2.23 - 2.11 (m, 1H, H_{2'a}), 1.79 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H, H₇), 1.58 - 1.45 (m, 2H, Hg), 1.37-1.21 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 1.11 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.94 - 0.81 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, (CD₃)₂CO) δ (ppm) 209.3 (C_e), 206.7 (C_b), 163.5 (C₄), 151.6 (C₂), 144.3 C'_b, 136.6 (C_{Ar}-TBDPS), 136.6 (C_{Ar}-TBDPS), 135.7 (C₆), 134.2 (C_{Ar}-TBDPS), 134.1 (C_{Ar}-TBDPS), 131.0 (C_{Ar}-TBDPS), 128.9 (C_{Ar}-TBDPS), 123.2 C'_c, 110.4 (C₅), 88.9 (C_{1''}), 87.3 (C_{4'}), 86.5 (C_{1'}), 80.7 (C_{5''}), 78.5 (C_{3''}), 76.3 (C_a), 75.5 (C_{3'}), 73.5 (C_{2''}), 71.6 (C_{5'}), 70.9 (C_{4''}), 62.4 (C_{6''}), 42.8 (Cf), 41.3 (C_{2'}), 37.0 C'_a, 36.3 (Cd), 32.8 (Cd), 32.6 (C_c), 30.3 (CH₂-aliphatic), 30.2 (CH₂-aliphatic), 30.1 (CH₂-aliphatic), 27.3 ((CH₃)₃-TBDPS), 24.5 (Cg), 23.3 (CH₂-aliphatic), 19.6 (C_q-TBDPS), 14.4 (CH₃-aliphatic), 13.2 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₅₀H₇₂N₅O₁₂Si [M+H]⁺ 976.5099, found 976.5104.}}

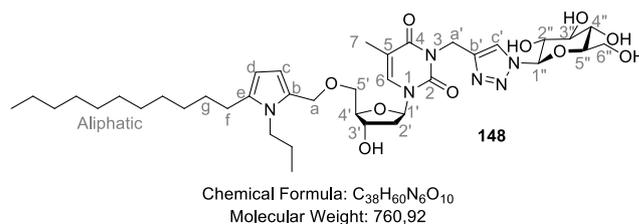
Deprotected GNL 147



A 1M solution of TBAF in THF (180 μ L, 0.18 mmol) was added to a stirred solution of **146** (176 mg, 0.18 mmol) in THF (2 mL) at 0°C and the reaction mixture was stirred at this temperature. After 1h, the medium had become a gel so it was allowed to warm up at room temperature, CH₂Cl₂ was added to break the gel and concentration under reduced pressure afforded the crude product. It was purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH 95/5 to 90/10) to afford the title compound **147** as a white foam (87 mg, 65%). *R_f* = 0.4 (CH₂Cl₂/MeOH 90/10); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3385, 2925, 2855, 1700,

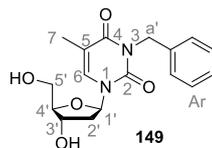
1664, 1638, 1467, 1407, 1371, 1345, 1319, 1271, 1197, 1093, 1076, 1047, 924, 900, 831, 784, 750, 722, 604, 552, 500, 455; ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 8.12 (s, 1H, Hc'), 7.94 (s, 1H, H₆), 6.38 (appearing t, *J* = 6.6, 6.9 Hz, 1H, H_{1'}), 5.57 (d, *J* = 9.3, 1H, H_{1'}), 5.22 (s, 2H, Ha'), 4.50 - 4.44 (m, 1H, H_{3'}), 4.33 (d, *J* = 2.7 Hz, 2H, Ha) 4.07 - 4.00 (m, 1H, H_{4'}) 3.92 - 3.43 (m, 8H, H_{2''}+H_{3''}+H_{4''}+H_{5''}+H_{6''}+H_{5'}), 2.81 - 2.57 (m, 4H, Hc+Hd), 2.47 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, Hf), 2.30 - 2.20 (m, 2H, H_{2'}), 1.87 (s, 3H, H₇), 1.74 - 1.34 (m, 2H, Hg), 1.37-1.22 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 0.96 - 0.84 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 211.9 (C_e), 208.3 (C_b), 164.9 (C₄), 152.2 (C₂), 136.8 (C₆), 110.9 C'_c, 89.6 (C₅), 87.6 (C_{1''}), 87.4 (C_{1'/C_{4'}}), 81.0 (C_{1'/C_{4'}}), 78.4 (C_{2''}), 76.7 (C_{3''}), 73.9 (C_a), 73.0 (C_{5''}), 72.3 (C_{3'}), 70.8 (C_{5'}), 62.4 (C_{4''}), 59.5 (C_{6''}), 43.2 (Cf), 41.2 (C_{2'}), 37.1 C'_a, 36.8 (Cc/Cd), 33.1 (Cc/Cd), 33.0 (CH₂-aliphatic), 30.7 (CH₂-aliphatic), 30.6 (CH₂-aliphatic), 30.5 (CH₂-aliphatic), 30.4 (CH₂-aliphatic), 30.2 (CH₂-aliphatic), 24.9 (CH₂-aliphatic), 24.8 (Cg), 23.7 (CH₂-aliphatic), 20.7 (CH₂-aliphatic), 20.7 (CH₂-aliphatic), 14.4 (CH₂-aliphatic), 13.9 (CH₃-aliphatic), 13.2 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₅H₅₅N₅O₁2Na [M+Na]⁺ 760.3739, found 760.3741.

GNL 148



Synthesized according to the general procedure for Knorr-Paal reaction from **147** (74 mg, 0.10 mmol), propylamine (18 mg, 0.30 mmol) and monohydrated PTSA (39 mg, 0.20 mmol) in a 1/1 THF/EtOH mixture (0.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH 90/10) to afford the title compound **148** as a white foam (74 mg, 97%). *R_f* = 0.3 (CH₂Cl₂/MeOH 90/10); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3382, 2925, 2855, 1697, 1665, 1635, 1467, 1431, 1352, 1306, 1270, 1196, 1095, 1063, 1022, 923, 899, 827, 783, 749, 671, 640, 602, 549, 490, 515, 456; ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 8.10 (s, 1H, Hc'), 7.76 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 6.31 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H_{1'}), 6.02 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, Hc), 5.75 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, Hd), 5.56 (d, *J* = 9.0, 1H, H_{1'}), 5.24-5.14 (m, 2H, Ha'), 4.51 (s, 2H, Ha), 4.38 - 4.32 (m, 1H, H_{3'}), 4.01 - 3.97 (m, 1H, H_{4'}), 3.92 - 3.43 (m, 10H, Hh+H_{5'}+H_{2''}+H_{3''}+H_{4''}+H_{5''}+H_{6''}), 2.53 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, Hf), 2.31 - 2.12 (m, 2H, H_{2'}), 1.74 - 1.55 (m, 7H, H₇+H_g+H_i), 1.46-1.23 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 0.96 - 0.85 (m, 6H, CH₃-aliphatic, H_j); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 164.9 (C₄), 152.1 (C₂), 136.5 (C₆), 136.1 (C_e), 128.2 (C_b), 124.2 C'_c, 110.8 (C_c), 105.4 (C_d), 89.6 (C_{1''}), 87.4 (C_{4'}), 87.1 (C_{1'}), 81.1 (C_{5''}), 78.4 (C_{3''}), 73.9 (C_{2''}), 72.2 (C_{3'}), 70.9 (C_{4''}), 70.0 (C_{5'}), 66.4 (C_a), 62.4 (C_{6''}), 46.2 (Ch), 41.4 (C_{2'}), 37.1 C'_a, 33.0 (CH₃-aliphatic), 30.7 (CH₃-aliphatic), 30.6 (CH₃-aliphatic), 30.6 (CH₃-aliphatic), 30.4 (CH₃-aliphatic), 30.1 (CH₃-aliphatic), 27.4 (Cf), 25.9 (CH₃-aliphatic), 23.7 (CH₃-aliphatic), 14.4 (CH₃-aliphatic), 13.2 (C₇), 11.6 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₈H₆₀N₆O₁₀Na [M+Na]⁺ 783.4263, found 783.4267.

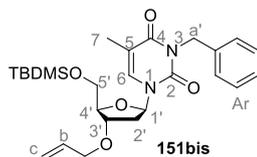
Compound 149



Chemical Formula: C₁₇H₂₀N₂O₅
Molecular Weight: 332.35

Synthesized according to the general procedure **A** from thymidine (1 mg, 4.13 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 165 mg, 4.13 mmol) and benzyl bromide (490 μ L, 4.13 mmol) in DMF (5 mL) with 6 minutes as second microwave activation time. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH 95/5, *R_f* = 0.3) to afford the title compound as a colorless gum (1.357 mg, 99%). Experimental data were in agreement with literature[41].

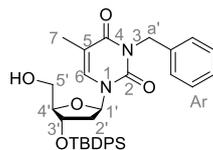
Compound 151bis



Chemical Formula: C₂₆H₃₈N₂O₅Si
Molecular Weight: 486.68

Crude **149** was protected at 5' position following a procedure described in the literature 4c. **151bis** was then synthesized from the resulting crude mixture according to the general procedure **A** using sodium hydride (60% dispersion in oil, 743mg, 31 mmol) and allyl bromide (2.68 mL, 31 mmol) in THF (50 mL) with 60 minutes microwave activation time (divided in five equivalent batches). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a colorless gum (2.049 g, 34% from 3g of thymidine). *R_f* = 0.5 (Pentane/EtOAc 70/30); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.53-7.46 (m, 3H, C_{Ar} + H₆), 7.35-7.22 (m, 3H, C_{Ar}/H₆), 6.35 (dd, *J* = 5.7, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 5.96-5.82 (m, 1H, H_b), 5.33-5.18 (m, 2H, H_c), 5.15-5.11 (m, 2H, H_{a'}), 4.14-3.74 (m, 6H, H_{3'}+H_{4'}+H_{5'}+H_a), 2.44 (ddd, *J* = 1.5, 5.7, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 1.99-1.88 (m, 4H, H₇+H_{2'b}), 0.92 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDMS), 0.13-0.09 (m, 6H, CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.6 (C₄), 151.0 (C₂), 137.1 (C₆), 134.2 (C_b), 133.6 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.53 (C_{Ar}), 127.63 (C_{Ar}), 117.5 (C_c), 110.2 (C₅), 85.8 (C_{4'/C1'}), 85.2 (C_{4'/C1'}), 79.0 (C_{3'}), 70.2 (C_a), 63.7 (C_{5'}), 44.6 (C'_a), 38.1 (C_{2'}), 26.0 ((CH₃)₃-TBDMS), 18.5 (C_q-TBDMS), 13.4 (C₇), -5.2 (CH₃-TBDMS), -5.4 (CH₃-TBDMS).

Compound 152

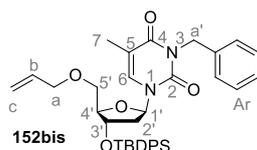


Molecular Weight: 570,75
Chemical Formula: C₃₃H₃₉N₂O₅Si

Compound **152** was synthesized from **149** following a procedure described in the literature [258]. It was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a white foam (1.336 g, 77% for 3 steps).

$R_f = 0.6$ (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3456, 3071, 2932, 2859, 1700, 1666, 1634, 1588, 1495, 1467, 1428, 1399, 1359, 1317, 1271, 1241, 1192, 1103, 1024, 936, 873, 823, 768, 741, 700, 611, 537, 506, 488; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.682 – 7.60 (m, 4H, H_{Ar}/H₆), 7.50 – 7.36 (m, 8H, H_{Ar}/H₆), 7.33 – 7.21 (m, 4H, Ar/H₆), 6.29 (appearing t, $J = 6.6, 7.2$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.09 (AB system, $J = 13.8$ Hz, 2H, Ha'), 4.47 – 4.41 (m, 1H, H_{3'}), 3.99 – 3.94 (m, 1H, H_{4'}), 3.61 (dd, $J = 2.1, 11.7$ Hz, 1H, H_{5'b}), 3.21 (dd, $J = 2.9, 12.0$ Hz, 1H, H_{5'a}), 2.33 – 2.08 (m, 3H, H_{2'}+OH), 1.87 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H, H₇), 1.09 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.5 (C₄), 151.1 (C₂), 136.9 (C₆), 135.8 (C_{Ar}), 134.9 (C_{Ar}), 133.4 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 130.2 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 110.4 (C₅), 87.7 (C_{1'}/C_{4'}), 87.5 (C_{1'}/C_{4'}), 73.2 (C_{3'}), 62.2 (C_{5'}), 44.6 C'_a, 40.5 (C_{2'}), 27.0 ((CH₃)₃-TBDPS), 19.1 (C_q-TBDPS), 13.4 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. For C₃₃H₃₉N₂O₅Si [M+H]⁺ 571.2623, found 571.2622.

Compound 152bis

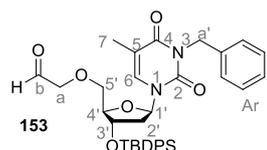


Chemical Formula: C₃₆H₄₂N₂O₅Si
Molecular Weight: 610,81

Synthesized according to the general procedure **A** from **152** (3.553 g, 6.22 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 623 mg, 15.5 mmol) and allyl bromide (1.344 mL, 15.5 mmol) in THF (26.2 mL) with 60 minutes microwave activation time. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a colorless gum (2.711 g, 71%). $R_f = 0.5$ (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3072, 2933, 2892, 2859, 1703, 1669, 1648, 1588, 1466, 1429, 1399, 1351, 1313, 1273, 1242, 1195, 1110, 1032, 934, 823, 767, 742, 702, 535, 508; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.75-7.22 (m, 16H, H_{Ar}+H₆), 6.62 (dd, $J = 6.0, 7.8$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.87 - 5.72 (m, 1H, H_b), 5.26 - 5.07 (m, 4H, H_c+H_{a'}), 4.54 – 4.45 (m, 1H, H_{3'}), 4.09 – 4.02 (br. s, 1H, H_{4'}), 3.93 – 3.76 (m, 2H, H_a), 3.49 (dd, $J = 2.1, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'b}), 3.01 (dd, $J = 1.8, 10.2$ Hz,

1H, H_{5'a}), 2.41 (ddd, *J* = 1.8, 5.4, 12.9 Hz, 1H, H_{2'b}), 2.09 – 1.97 (m, 1H, H_{2'a}), 1.92 (s, 3H, H₇), 1.14 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.4 (C₄), 151.0 (C₂), 137.0 (C_{Ar}), 135.7 (C_{6/Cb}), 135.7 (C_{6/Cb}), 134.0 (C_{Ar}), 133.9 (C_{Ar}), 133.3 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 133.0 (C_{Ar}), 129.0 (C_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 117.2 (C_c), 110.0 (C₅), 86.6 (C_{4'}), 85.7 (C_{1'}), 73.8 (C_{3'}), 72.1 (C_a), 69.6 (C_{5'}), 44.4 C'_a, 41.2 (C_{2'}), 26.8 ((CH₃)₃-TBDPS), 19.0 (C_q-TBDPS), 13.2 (C₇).

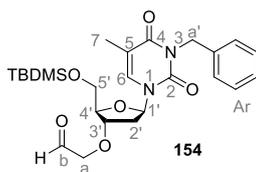
Compound 153



Chemical Formula: C₃₅H₄₀N₂O₆Si
Molecular Weight: 612,79

Synthesized according to the general procedure **B** from **152bis** (746 mg, 1.22 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 77 μL, 0.61 mmol), sodium periodate (784 mg, 3.66 mmol) and 2,6-lutidine (283 μL, 2.44 mmol) in a 2/1 dioxane/water mixture (12 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40, with some drops of Et₃N) to afford the title compound as a white foam (701 mg, 94%). *R_f* = 0.4 (Pentane/EtOAc 60/40); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.525 (s, 1H, H_b), 7.69-7.59 (m, 4H, C_{Ar}/H₆), 7.50 – 7.35 (m, 9H, C_{Ar}/H₆), 7.38 – 7.24 (m, 3H, C_{Ar}/H₆), 6.55 (dd, *J* = 6.0, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 5.12 (AB system, *J* = 13.8, Hz, 2H, H_{a'}), 4.49 – 4.44 (m, 1H, H_{3'}), 4.01 – 3.86 (m, 3H, H_{4'}+H_a), 3.47 (dd, *J* = 2.4, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.97 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 2.36 (ddd, *J* = 2.4, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'b}), 2.08 – 1.97 (m, 1H, H_{2'a}), 1.87 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.081 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 198.0 (C_b), 163.6 (C₄), 151.2 (C₂), 137.1 (C_{Ar}/H₆), 135.9 (C_{Ar}/H₆), 135.9 (C_{Ar}/H₆), 134.0 (C_{Ar}/H₆), 133.5 (C_{Ar}/H₆), 133.1 (C_{Ar}/H₆), 130.2 (C_{Ar}/H₆), 130.2 (C_{Ar}/H₆), 129.2 (C_{Ar}/H₆), 128.5 (C_{Ar}/H₆), 128.0 (C_{Ar}/H₆), 127.7 (C_{Ar}/H₆), 110.5 (C₅), 86.2 (C_{4'}), 85.8 (C_{1'}), 76.6 (C_a), 73.6 (C_{3'}), 77.1 (C_{5'}), 44.6 C'_a, 41.0 (C_{2'}), 27.0 (C_q-TBDPS), 19.1 ((CH₃)₃-TBDPS), 13.4 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₅H₄₁N₂O₆Si [M+H]⁺ 613.2728, found 613.27.

Compound 154

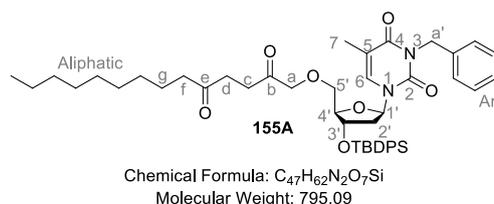


Chemical Formula: C₂₆H₃₆N₂O₆Si
Molecular Weight: 488,65

Synthesized according to the general procedure **B** from **151bis** (746 mg, 1.22 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 77 μL, 0.61 mmol), sodium periodate (784 mg, 3.66

mmol) and 2,6-lutidine (283 μL , 2.44 mmol) in a 2/1 dioxane/water mixture (12 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40, with some drops of Et_3N) to afford the title compound as a white foam (701 mg, 94%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 60/40); ν_{max} (cm^{-1}) 3418, 3196, 3066, 2954, 2931, 2859, 1689, 1588, 1466, 1364, 1351, 1323, 1258, 1242, 1223, 1073, 1010, 960, 937, 834, 779, 767, 672, 606, 559, 492; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.70 (s, 1H, H_b), 7.51-7.44 (m, 3H, C_{Ar}/H₆), 7.33-7.22 (m, 3H, C_{Ar}/H₆), 6.32 (dd, $J = 5.4, 8.7$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.14-5.11 (m, 2H, H_{a'}), 4.24-4.07 (m, 3H, H_a+H_{3'}+H_{4'}), 3.85 (ddd, $J = 2.7, 11.1, 24.9$ Hz, 2H, H_{5'}), 2.46 (ddd, $J = 1.5, 5.4, 13.5$ Hz, 1H, H_{2'b}), 2.05-1.79 (m, 4H, H_{2'a}+H₇), 0.91 (brs, 9H, (CH₃)₃-TBDMS), 0.11-0.10 (m, 6H, CH₃-TBDMS); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 199.2 (C_b), 163.5 (C₄), 150.5 (C₂), 135.7 (C₆), 133.5 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 110.9 (C₅), 85.1 (C_{4'}/C_{1'}), 85.0 (C_{4'}/C_{1'}), 81.3 (C_a), 74.5 (C_{3'}), 63.7 (C_{5'}), 44.2 (C'_a), 37.8 (C_{2'}), 26.1 ((CH₃)₃-TBDMS), 18.7 (C_q-TBDMS), 12.6 (C₇), -5.2 (CH₃-TBDMS), -5.4 (CH₃-TBDMS).

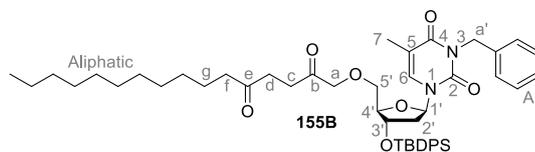
Diketone 155A



Synthesized according to the general procedure **E** from **153** (447 mg, 0.75 mmol), **73** (91 mg, 0.50 mmol), catalyst **95** (38 mg, 0.15 mmol) and DBU (21 μL , 0.15 mmol) in THF (1.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly yellow gum (257 mg, 65%). $R_f = 0.6$ (Pentane/EtOAc 80/20); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3067, 2928, 2856, 1703, 1667, 1646, 1465, 1427, 1401, 1360, 1273, 1241, 1195, 1111, 1027, 936, 823, 768, 742, 702, 613, 536, 508; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.70 - 7.63 (m, 5H, H_{Ar}/H₆), 7.52 - 7.37 (m, 8H, H_{Ar}/H₆), 7.35 - 7.23 (m, 3H, H_{Ar}/H₆), 6.61 (dd, $J = 5.4, 8.4$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.15 (AB system, $J = 10.1$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.52 - 4.46 (m, 1H, 3'), 4.05 - 3.98 (m, 3H, H_{4'}+H_a), 3.47 (dd, $J = 2.4, 10.2$ Hz, 1H, H_{5'b}), 2.94 (dd, $J = 2.4, 10.2$ Hz, 1H, H_{5'a}), 2.77 - 2.66 (m, 2H, H_d), 2.52 - 2.39 (m, 4H, H_c+H_f), 2.34 (ddd, $J = 1.8, 5.7, 13.2$ Hz, 1H, H_{2'b}), 2.12 - 2.00 (m, 1H, H_{2'a}), 1.88-1.84 (m, 3H, H₇), 1.63 - 1.49 (m, 2H, H_g), 1.28 (br. s, 12H, CH₂-aliphatic), 1.10 (br. s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.93 - 0.86 (m, 3H, CH₃-aliphatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 209.2 (C_e), 205.4 (C_b), 163.6 (C₄), 151.2 (C₂), 137.1 (C_{Ar}+C₆), 135.8 (C_{Ar}+C₆), 135.8 (C_{Ar}+C₆), 134.4 (C_{Ar}+C₆), 133.4 (C_{Ar}+C₆), 133.1 (C_{Ar}+C₆), 130.1 (C_{Ar}+C₆), 130.1 (C_{Ar}+C₆), 129.1 (C_{Ar}+C₆), 128.4 (C_{Ar}+C₆), 127.9 (C_{Ar}+C₆), 127.5 (C_{Ar}+C₆), 110.4 (C₅), 86.4 (C_{4'}), 85.8 (C_{1'}), 75.8 (C_a), 74.2 (C_{3'}), 70.9 (C_{5'}), 44.5 (C'_a), 42.7 (C_f), 40.9 (C_{2'}), 35.8 (C_d), 32.1 (C_c), 31.9 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 26.9 (CH₂-aliphatic), 23.8 (C_g), 22.7 ((CH₃)₃-TBDPS), 19.1

(C_q-TBDPS), 14.2 (CH₃-aliphatic), 13.1 (C₇).

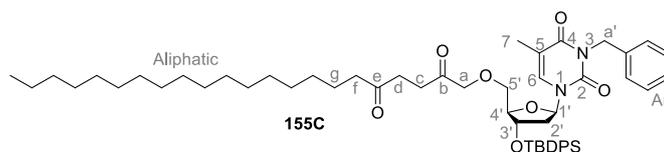
Diketone 155B



Chemical Formula: C₄₉H₆₆N₂O₇Si
Molecular Weight: 823,14

Synthesized according to the general procedure **E** from **153** (630 mg, 1.05 mmol), **84** (148 mg, 0.70 mmol), catalyst **95** (53 mg, 0.21 mmol) and DBU (30 μ L, 0.21 mmol) in THF (2 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a slightly yellow gum (379 mg, 66%). *R_f* = 0.6 (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3072, 2928, 2856, 1704, 1667, 1646, 1588, 1496, 1465, 1429, 1401, 1359, 1293, 1273, 1242, 1195, 1156, 1108, 1028, 936, 823, 768, 742, 613, 536, 508, 490; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.70 - 7.63 (m, 5H, H_{Ar}/H₆), 7.53 - 7.37 (m, 8H, H_{Ar}/H₆), 7.36 - 7.23 (m, 3H, H_{Ar}/H₆), 6.61 (dd, *J* = 5.7, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 5.15 (AB system, *J* = 13.6 Hz, 2H, Ha'), 4.52 - 4.47 (m, 1H, H_{3'}), 4.05 - 3.98 (m, 3H, H_{4'}+Ha), 3.48 (dd, *J* = 2.4, 10.5 Hz, 1H, H_{5'}b), 2.95 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'}a), 2.76 - 2.69 (m, 2H, Hd), 2.52 - 2.40 (m, 4H, Hc+Hf), 2.35 (ddd, *J* = 1.5, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'}b), 2.12 - 2.00 (m, 1H, H_{2'}a), 1.86 (br. s, 3H, H₇), 1.64 - 1.50 (m, 2H, Hg), 1.28 (br. s, 16H, CH₂-aliphatic), 1.11 (br. s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.94 - 0.87 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.3 (C_e), 205.4 (C_b), 163.6 (C₄), 151.3 (C₂), 137.1 (C_{Ar}+C₆), 135.9 (C_{Ar}+C₆), 135.8 (C_{Ar}+C₆), 134.4 (C_{Ar}+C₆), 133.5 (C_{Ar}+C₆), 133.2 (C_{Ar}+C₆), 130.1 (C_{Ar}+C₆), 130.1 (C_{Ar}+C₆), 129.1 (C_{Ar}+C₆), 128.4 (C_{Ar}+C₆), 127.9 (C_{Ar}+C₆), 127.5 (C_{Ar}+C₆), 110.4 (C₅), 86.4 (C_{4'}), 85.9 (C_{1'}), 75.8 (C_a), 74.2 (C_{3'}), 71.0 (C_{5'}), 44.6 (C'_a), 42.7 (C_f), 40.9 (C_{2'}), 35.8 (C_d), 32.1 (C_c), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 27.0 (CH₂-aliphatic), 23.9 (C_g), 22.7 ((CH₃)₃-TBDPS), 19.1 (C_q-TBDPS), 14.2 (CH₃-aliphatic), 13.1 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₉H₆₇N₂O₇Si [M+H]⁺ 823.4712, found 823.4709.

Diketone 155C

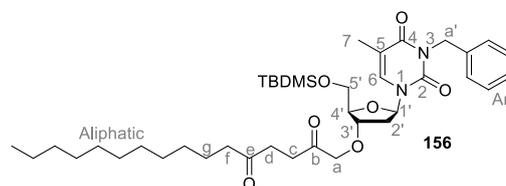


Chemical Formula: C₅₅H₇₈N₂O₇Si
Molecular Weight: 907,30

Synthesized according to the general procedure **E** from **153** (447 mg, 0.75 mmol), **91** (147 mg, 0.50 mmol), catalyst **95** (38 mg, 0.15 mmol) and DBU (21 μ L, 0.15 mmol) in

THF (1.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 75/25) to afford the title compound as a slightly yellow gum (263 mg, 58%). $R_f = 0.5$ (Pentane/EtOAc 75/25); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3072, 2924, 2854, 1704, 1667, 1646, 1465, 1428, 1401, 1361, 1273, 1241, 1195, 1105, 1027, 936, 823, 768, 741, 701, 613, 536, 508; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.74 - 7.63 (m, 5H, H_{Ar}/H_6), 7.56 - 7.39 (m, 8H, H_{Ar}/H_6), 7.37 - 7.25 (m, 3H, H_{Ar}/H_6), 6.63 (dd, $J = 5.7, 8.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 5.16 (AB system, $J = 10.0$ Hz, 2H, Ha'), 4.53 - 4.49 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 4.07 - 3.99 (m, 3H, $\text{H}_{4'} + \text{Ha}$), 3.49 (dd, $J = 2.1, 10.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 2.96 (dd, $J = 2.4, 10.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 2.77 - 2.69 (m, 2H, Hd), 2.53 - 2.41 (m, 4H, $\text{Hc} + \text{Hf}$), 2.36 (ddd, $J = 1.2, 5.4, 13.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 2.14 - 2.02 (m, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 1.88 (s, 3H, H_7), 1.65 - 1.50 (m, 2H, Hg), 1.30 (br. s, 28H, CH_2 -aliphatic), 1.12 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$ -TBDPS), 0.96 - 0.88 (m, 3H, CH_3 -aliphatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 209.2 (C_e), 205.3 (C_b), 163.6 (C_4), 151.2 (C_2), 137.1 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 135.8 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 135.8 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 134.3 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 133.4 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 133.1 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 130.1 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 130.0 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 129.1 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 128.4 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 127.9 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 127.5 ($\text{C}_{Ar} + \text{C}_6$), 110.4 (C_5), 86.4 ($\text{C}_{4'}$), 85.8 ($\text{C}_{1'}$), 75.8 (C_a), 74.1 ($\text{C}_{3'}$), 70.9 ($\text{C}_{5'}$), 44.5 C'_a , 42.6 (Cf), 40.9 ($\text{C}_{2'}$), 35.8 (Cd), 32.0 (C_c), 32.0 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.5 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 29.2 (CH_2 -aliphatic), 26.9 (CH_2 -aliphatic), 22.7 ($(\text{CH}_3)_3$ -TBDPS), 19.0 (C_q -TBDPS), 14.2 (CH_3 -aliphatic), 13.1 (C_7).

Diketone 156

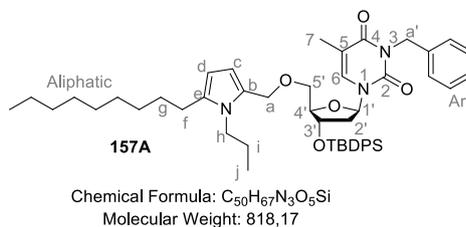


Chemical Formula: $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{N}_2\text{O}_7\text{Si}$
Molecular Weight: 699.00

Synthesized according to the general procedure **E** from **154** (200 mg, 0.41 mmol), **84** (57 mg, 0.27 mmol), catalyst **95** (21 mg, 0.082 mmol) and DBU (12 μL , 0.082 mmol) in THF (0.8 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 75/25) to afford the title compound as a yellow gum (96 mg, 50%). $R_f = 0.45$ (Pentane/EtOAc 75/25); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 2925, 2854, 1705, 1667, 1645, 1496, 1464, 1401, 1360, 1255, 1195, 1104, 1078, 1003, 933, 883, 779, 767, 699, 670, 616, 536, 494, 464; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.52 - 7.46 (m, 3H, H_{Ar}/H_6), 7.35 - 7.21 (m, 3H, H_{Ar}/H_6), 6.36 (dd, $J = 5.4, 8.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 5.128 (s, 2H, Ha'), 4.25 - 4.09 (m, 4H, $\text{H}_{3'} + \text{H}_{4'} + \text{Ha}$), 3.87 (ddd, $J = 2.7, 11.4, 25.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{5'}$), 2.80-2.63 (m, 4H, $\text{Hc} + \text{Hd}$), 2.52 - 2.41 (m, 3H, $\text{Hf} + \text{H}_{2'b}$), 2.03 - 1.91 (m, 4H, $\text{H}_7 + \text{H}_{2'a}$), 1.63 - 1.51 (m, 2H, Hg), 1.33-1.23 (br. s, 16H, CH_2 -aliphatic), 0.95 - 0.85 (m, 12H, $(\text{CH}_3)_3$ -TBDMS+ CH_3 -aliphatic), 0.13-0.09 (m, 6H, CH_3 -TBDMS); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 209.4 (C_e), 206.9 (C_b), 163.4 (C_4), 150.9 (C_2), 136.9 (C_{Ar}/C_6), 133.4 (C_{Ar}/C_6), 129.2 (C_{Ar}/C_6), 128.3 (C_{Ar}/C_6), 127.5 (C_{Ar}/C_6), 110.2 (C_5), 85.6 ($\text{C}_{1'}$), 85.0 ($\text{C}_{4'}$), 80.7 ($\text{C}_{3'}$), 74.1 (C_a), 63.7 ($\text{C}_{5'}$), 44.5 C'_a , 42.6 (Cf), 37.8 ($\text{C}_{2'}$), 35.9 (Cd), 32.3 (C_c), 31.9 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic),

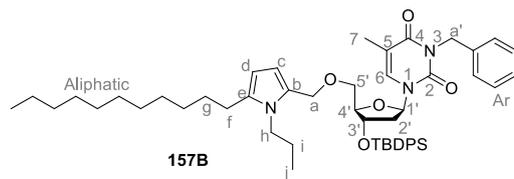
29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 29.2 (CH₂-aliphatic), 25.9 (CH₂-aliphatic), 23.8 (C_g), 22.7 ((CH₃)₃-TBDPS), 18.3 (C_q-TBDPS), 14.1(CH₃-aliphatic), 13.3 (C₇), -5.4 (CH₃-TBDMS), -5.5 (CH₃-TBDMS); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₉H₆₂N₂O₇SiNa [M+Na]⁺ 721.4219, found 721.4222.

Pyrrole 157A



Synthesized according to the general procedure **F** from **155A** (149 mg, 0.19 mmol), propylamine (46 μL, 0.56 mmol) and monohydrated PTSA (72 mg, 0.37 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.7 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 90/10) to afford the title compound as a slightly orange gum (110 mg, 72%). *R_f* = 0.5 (Pentane/EtOAc 90/10); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3067, 2927, 2856, 1703, 1668, 1646, 1588, 1496, 1464, 1428, 1399, 1351, 1294, 1272, 1241, 1194, 1105, 1068, 1026, 934, 895, 823, 767, 741, 700, 613, 507, 488; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.69 – 7.61 (m, 4H, H_{Ar}/H₆), 7.54 – 7.24 (m, 12H, H_{Ar}/H₆), 6.56 (dd, *J* = 5.7, 7.8 Hz, 1H, H_{1'}), 5.98 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, H_c), 5.83 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, H_d), 5.14 (AB system, *J* = 10.0 Hz, 2H, H_{a'}), 4.39 – 4.19 (m, 3H, H₃+H_a), 4.07 – 4.00 (m, 1H, H_{4'}), 3.70 – 3.54 (m, 2H, H_h), 3.41 (dd, *J* = 2.4, 10.8 Hz, 1H, H_{5'b}), 3.01 (dd, *J* = 2.7, 10.8 Hz, 1H, H_{5'a}), 2.48 (appearing t, *J* = 7.5, 7.8 Hz, 2H, H_f), 2.33 (ddd, *J* = 1.8, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'b}), 1.98-1.84 (m, 1H, H_{2'a}), 1.79 (s, 3H, H₇), 1.72–1.24 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 1.11 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.97–0.88 (m, 3H, CH₃-aliphatic/H_j), 0.85-0.76 (m, 3H, CH₃-aliphatic/H_j); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.5 (C₄), 151.1 (C₂), 137.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 135.8 (C_e/C₆/C_{Ar}), 135.8 (C_e/C₆/C_{Ar}), 135.2 (C_e/C₆/C_{Ar}), 134.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 133.3 (C_e/C₆/C_{Ar}), 133.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 130.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 130.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 129.2 (C_e/C₆/C_{Ar}), 128.4 (C_e/C₆/C_{Ar}), 127.9 (C_e/C₆/C_{Ar}), 127.6 (C_e/C₆/C_{Ar}), 126.4 (C_b), 110.3 (C₅), 109.8 (C_c), 104.2 (C_d), 86.6 (C_{4'}), 85.7 (C_{1'}), 74.0 (C_{3'}), 68.8 (C_{5'}), 65.3 (C_a), 45.2 (C_h), 44.5 (C'_a), 41.1 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 28.7 (CH₂-aliphatic), 26.9 ((CH₃)₃-TBDPS), 26.6 (CH₂-aliphatic), 24.7 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 19.1 (C_q-TBDPS), 14.2 (CH₃-aliphatic), 13.3 (C₇), 11.4 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for C₅₀H₆₇N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 840.4742, found 840.4742.

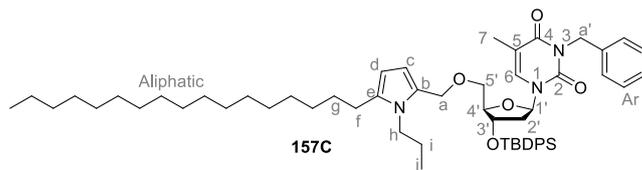
Pyrrole 157B



Chemical Formula: $C_{52}H_{71}N_3O_5Si$
Molecular Weight: 846,22

Synthesized according to the general procedure **F** from **155B** (452 mg, 0.55 mmol), propylamine (135 μ L, 1.65 mmol) and monohydrated PTSA (209 mg, 1.10 mmol) in THF/EtOH (1/1, 2 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 95/5 to 90/10) to afford the title compound as a slightly orange gum (303 mg, 65%). $R_f = 0.2$ (Pentane/EtOAc 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3067, 2923, 2857, 1703, 1668, 1646, 1588, 1496, 1464, 1428, 1399, 1351, 1294, 1272, 1241, 1194, 1105, 1068, 1026, 934, 895, 823, 765, 741, 701, 613, 507, 488; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.75 – 7.64 (m, 4H, H_{Ar}/H_6), 7.57 – 7.23 (m, 12H, H_{Ar}/H_6), 6.58 (dd, $J = 6.0, 8.1$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 6.01 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H_c), 5.85 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_d), 5.17 (AB system, $J = 9.5$ Hz, 2H, $H_{a'}$), 4.43–4.21 (m, 3H, $H_{3'}+H_a$), 4.10 – 4.04 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.73 – 3.57 (m, 2H, H_h), 3.44 (dd, $J = 2.4, 10.5$ Hz, 1H, $H_{5'b}$), 3.05 (dd, $J = 3.0, 10.8$ Hz, 1H, $H_{5'a}$), 2.50 (appearing t, $J = 7.5, 7.8$, 2H, H_f), 2.36 (ddd, $J = 2.1, 5.7, 13.2$ Hz, 1H, $H_{2'b}$), 2.02–1.86 (m, 1H, $H_{2'a}$), 1.85–1.78 (m, 3H, H_7), 1.75–1.52 (m, 4H, H_g+H_i), 1.47–1.22 (br s, 16H, CH_2 -aliphatic) 1.14 (s, 9H, $(CH_3)_3$ -TBDPS), 1.00–0.90 (m, 3H, CH_3 -aliphatic/ H_j), 0.87–0.79 (m, 3H, CH_3 -aliphatic/ H_j); ^{13}C -NMR (75,5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 163.5 (C_4), 151.1 (C_3), 137.1 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 135.8 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 135.2 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 134.0 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 133.4 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 133.2 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 130.1 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 129.1 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 128.4 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 127.9 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 127.5 ($C_e/C_6/C_{Ar}$), 126.4 (C_b), 110.2 (C_5), 109.9 (C_c), 104.3 (C_d), 86.6 ($C_{4'}$), 85.7 ($C_{1'}$), 74.0 ($C_{3'}$), 68.8 ($C_{5'}$), 65.3 (C_a), 45.2 (C_h), 44.5 C'_a , 41.2 ($C_{2'}$), 32.0 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 28.7 (CH_2 -aliphatic), 26.9 ($(CH_3)_3$ -TBDPS), 26.6 (CH_2 -aliphatic), 24.7 (CH_2 -aliphatic), 22.7 (CH_2 -aliphatic), 19.1 (C_g -TBDPS), 14.2 (CH_3 -aliphatic), 13.2 (C_7), 11.3 (C_j).

Pyrrole 157C

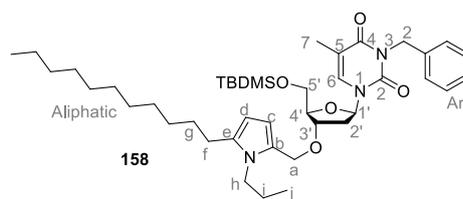


Chemical Formula: $C_{68}H_{83}N_3O_5Si$
Molecular Weight: 930,38

Synthesized according to the general procedure **F** from **155C** (195 mg, 0.21 mmol), propylamine (53 μ L, 0.64 mmol) and monohydrated PTSA (82 mg, 0.43 mmol) in THF/EtOH (1/1, 0.8 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel

(Pentane/EtOAc 96/4) to afford the title compound as a slightly orange gum (154 mg, 77%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 96/4); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3072, 2923, 2853, 1703, 1668, 1647, 1588, 1496, 1464, 1428, 1400, 1351, 1294, 1272, 1241, 1194, 1105, 1068, 1026, 934, 895, 823, 767, 740, 700, 613, 535, 507, 488; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.67 – 7.61 (m, 4H, H_{Ar}/H₆), 7.53 – 7.26 (m, 12H, H_{Ar}/H₆), 6.55 (dd, $J = 5.7, 8.1$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.97 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H_c), 5.82 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H_d), 5.14 (AB system, $J = 10.0$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.38 – 4.19 (m, 3H, H_{3'}+H_a), 4.06 – 4.01 (m, 1H, H_{4'}), 3.69 – 3.52 (m, 2H, H_h), 3.40 (dd, $J = 2.7, 10.8$ Hz, 1H, H_{5'b}), 3.00 (dd, $J = 3.0, 10.8$ Hz, 1H, H_{5'a}), 2.47 (appearing t, $J = 7.2, 8.1$ Hz, 2H, H_f), 2.32 (ddd, $J = 2.1, 5.7, 13.2$ Hz, 1H, H_{2'b}), 1.96-1.84 (m, 1H, H_{2'a}), 1.81-1.77 (m, 3H, H₇), 1.71–1.48 (m, 4H, H_g+H_i), 1.36–1.24 (m, 28H, CH₂-aliphatic), 1.10 (s, 9H, (CH₃)₃-TBDPS), 0.96–0.87 (m, 3H, CH₃-aliphatic/H_j), 0.84-0.76 (m, 3H, CH₃-aliphatic/H_j); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.5 (C₄), 151.1 (C₂), 137.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 135.8 (C_e/C₆/C_{Ar}), 135.8 (C_e/C₆/C_{Ar}), 135.2 (C_e/C₆/C_{Ar}), 134.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 133.3 (C_e/C₆/C_{Ar}), 133.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 130.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 130.1 (C_e/C₆/C_{Ar}), 129.2 (C_e/C₆/C_{Ar}), 128.4 (C_e/C₆/C_{Ar}), 127.9 (C_e/C₆/C_{Ar}), 127.6 (C_e/C₆/C_{Ar}), 126.4 (C_b), 110.3 (C₅), 109.8 (C_c), 104.3 (C_d), 86.6 (C_{4'}), 85.7 (C_{1'}), 74.1 (C_{3'}), 68.9 (C_{5'}), 65.3 (C_a), 45.2 (C_h), 44.5 C'_a, 41.2 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.8 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 28.7 (CH₂-aliphatic), 26.9 ((CH₃)₃-TBDPS), 26.6 (CH₂-aliphatic), 24.7 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 19.1 (C_q-TBDPS), 14.2 (CH₃-aliphatic), 13.3 (C₇), 11.4 (C_j); HRMS (ESI) : Calcd. for C₅₈H₈₃N₃O₅NaSi [M+Na]⁺ 952.5994, found 952.5994.

Pyrrole 158

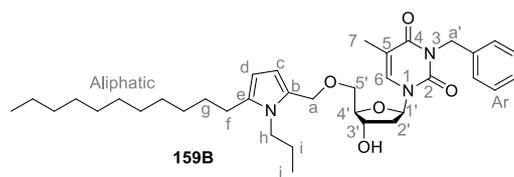


Chemical Formula: C₄₂H₆₇N₃O₅Si
Molecular Weight: 722.08

Synthesized according to the general procedure **F** from **156** (286 mg, 0.41 mmol), propylamine (101 μ L, 1.23 mmol) and monohydrated PTSA (156 mg, 0.82 mmol) in THF/EtOH (1/1, 1.4 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 90/10) to afford the title compound as a slightly orange gum (219 mg, 74%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 90/10); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.56 – 7.49 (m, 3H, H_{Ar}/H₆), 7.37 – 7.24 (m, 3H, H_{Ar}/H₆), 6.39 (dd, $J = 5.7, 8.4$ Hz, 1H, H_{1'}), 6.07 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_c), 5.86 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_d), 5.17 (s, 2H, H_{a'}), 4.50 (q, $J = 12.9$ Hz, 2H, H_a), 4.19 – 4.11 (m, 1H, H_{3'}), 4.06 – 4.01 (m, 1H, H_{4'}), 3.92-3.80 (m, 3H, H_h+H_{5'b}), 3.70 (dd, $J = 2.1, 11.1$ Hz, 1H, H_{5'a}), 2.56 (appearing t, $J = 7.5, 7.8$ Hz, 2H, H_f), 2.40 (ddd, $J = 1.8, 5.7, 13.5$ Hz, 1H, H_{2'b}), 2.01-1.63 (m, 8H, H_g+H_i+H₇+H_{2'a}), 1.48–1.27 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 1.05–0.89 (m, 15H, (CH₃)₃-TBDMS+CH₃-aliphatic+H_j), 0.15-0.10 (m, 6H,

CH₃-TBDMS); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.5 (C₄), 150.9 (C₂), 137.0 (C_e/C₆), 135.5 (C_e/C₆), 133.6 (C_{Ar}), 129.2 (C_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 126.4 (C_b), 110.1 (C₅), 109.8 (C_c), 104.4 (Cd), 85.8 (C_{1'}), 85.1 (C_{4'}), 77.4 (C_{3'}), 63.6 (C_{5'}), 63.3 (C_a), 45.4 (Ch), 44.5 C'_a, 38.2 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 28.8 (CH₂-aliphatic), 26.5 (Cf), 26.0 ((CH₃)₃-TBDMS), 24.8 (CH₂-aliphatic), 22.7 (CH₂-aliphatic), 18.4 (C_q-TBDMS), 14.2 (CH₃-aliphatic), 13.3 (C₇), 11.5 (Cj), -5.4 (CH₃-TBDMS), -5.5 (CH₃-TBDMS).

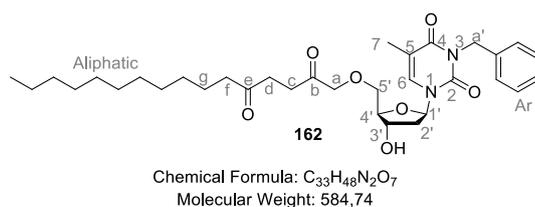
Nucleolipid 159B



Chemical Formula: C₃₆H₅₃N₃O₅
Molecular Weight: 607,82

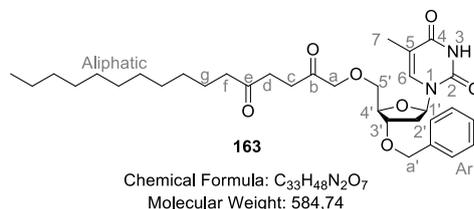
Synthesized according to the general procedure **G** from **157B** (172 mg, 0.20 mmol) and TBAF (1M in THF, 200 μL, 0.20 mmol) in THF (2.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a slightly orange gum (99 mg, 80%). *R_f* = 0.6 (Pentane/EtOAc 90/10); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.60-7.54 (m, 1H, H₆), 7.51 – 7.43 (m, 2H, H_{Ar}), 7.35 – 7.20 (m, 3H, H_{Ar}), 6.38 (appearing t, *J* = 6.3, 6.6 Hz, 1H, H_{1'}), 6.10 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, H_c), 5.85 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H, H_d), 5.12 (s, 2H, H_{a'}), 4.51 (q, *J* = 12.3 Hz, 2H, H_a), 4.38 – 4.30 (m, 1H, H_{3'}), 4.05-3.99 (m, 1H, H_{4'}), 3.85-3.74 (m, 2H, H_h), 3.66 (ddd, *J* = 3.0, 10.5, 20.4, 2H, H_{5'}), 2.96 (br. s, 1H, OH), 2.59-2.43 (m, 2H, H_f), 2.39-2.25 (m, 1H, H_{2'b}), 2.19-2.01 (m, 1H, H_{2'a}), 1.84 (s, 3H, H₇), 1.77 – 1.57 (m, 4H, H_g+H_i), 1.94-1.21 (m, 16H, CH₂-aliphatic), 1.04-0.80 (m, 6H, CH₃-aliphatic+H_j); ¹³C-NMR (75,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.6 (C₄), 151.0 (C₂), 136.9 (C₆), 135.4 (C_e), 134.1 (C_{Ar}), 129.0 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 126.5 (C_b), 110.2 (C₅), 109.9 (C_c), 104.3 (Cd), 85.7 (C_{4'}), 85.5 (C_{1'}), 71.9 (C_{3'}), 68.9 (C_{5'}), 65.5 (C_a), 45.4 (Ch), 44.5 C'_a, 40.8 (C_{2'}), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 28.7 (CH₂-aliphatic), 26.6 (Cf), 24.8 (CH₂-aliphatic), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 13.3 (C₇), 11.5 (Cj).

Diketone 162



Synthesized according to the general procedure **G** from **155B** (95 mg, 0.12 mmol) and TBAF (1M in THF, 115 μ L, 0.12 mmol) in THF (1.3 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford the title compound as a white solid (66 mg, 98%). $R_f = 0.2$ (Pentane/EtOAc 40/60); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3449, 3069, 3034, 2925, 2855, 1701, 1665, 1639, 1586, 1496, 1466, 1453, 1402, 1350, 1314, 1268, 1244, 1195, 1156, 1079, 1001, 917, 879, 825, 768, 732, 699, 647, 620, 585, 536, 495, 465; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.63 – 7.60 (m, 1H, H_6), 7.45 – 7.40 (m, 2H, H_{Ar}), 7.30 – 7.17 (m, 3H, H_{Ar}), 6.38 (appearing t, $J = 6.3, 6.9$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.09 (s, 2H, $H_{a'}$), 4.57 – 4.51 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.26 (s, 2H, H_a), 4.00 (q, $J = 3.0$ Hz, 1H, $H_{4'}$), 3.75 (dd, $J = 3.0, 10.2$ Hz, 1H, $H_{5'b}$), 3.66 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, $H_{5'a}$), 3.35 – 3.12 (br. s, 1H, OH) 2.79 – 2.70 (m, 2H, H_c), 2.58 – 2.49 (m, 2H, H_d), 2.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H_f), 2.35 – 2.11 (m, 2H, $H_{2'}$), 1.87 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H, H_7), 1.59 – 1.45 (m, 2H, H_g), 1.23 (br. s, 16H, CH_2 -aliphatic), 0.89 – 0.82 (m, 3H, CH_3 -aliphatic); ^{13}C -NMR (75,5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 209.8 (C_e), 206.3 (C_b), 163.6 (C_4), 151.2 (C_2), 137.0 (C_6), 134.3 (C_{Ar}), 129.1 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 110.4 (C_5), 85.6 ($C_{4'}$), 85.4 ($C_{1'}$), 75.9 ($C_{3'}$), 71.9 (C_a), 71.0 ($C_{5'}$), 44.5 (C'_a), 42.7 (C_f), 40.5 ($C_{2'}$), 36.1 (C_c), 32.1 (C_d), 32.0 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.5 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 29.3 (CH_2 -aliphatic), 23.9 (CH_2 -aliphatic), 22.8 (C_g), 14.2 (CH_3 -aliphatic), 13.3 (C_7); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{33}H_{49}N_2O_7$ $[M+H]^+$ 585.3534, found 585.3529.

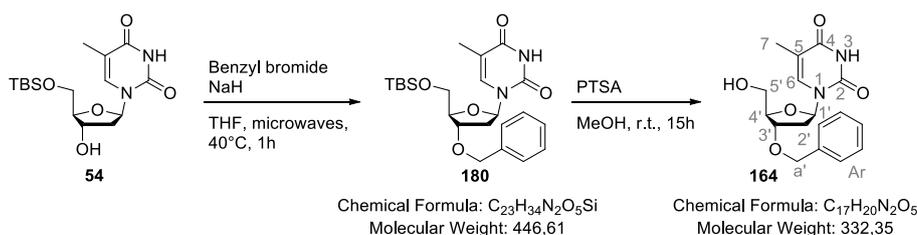
Diketone 163



Synthesized according to the general procedure **E** from **166** (526 mg, 1.40 mmol), **84** (197 mg, 0.94 mmol), catalyst **95** (71 mg, 0.28 mmol) and DBU (40 μ L, 0.28 mmol) in THF (2.7 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford a partially pure compound, which was dissolved in the minimum of EtOAc and precipitated with pentane to afford the title compound as a white solid (110 mg, 20%). $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 50/50); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3409,

3169, 3052, 2954, 2922, 2853, 2815, 1704, 1692, 1472, 1440, 1410, 1368, 1345, 1327, 1285, 1263, 1239, 1206, 1136, 1098, 1054, 1015, 962, 906, 854, 817, 786, 746, 696, 663, 619, 602, 562, 500, 472, 450; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.10 (s, 1H, NH-3), 7.72 - 7.68 (m, 1H, H₆), 7.40 - 7.29 (m, 5H, H_{Ar}), 6.39 (dd, *J* = 6.0, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.55 (dd, *J* = 11.7, 24.3 Hz, 2H, Ha'), 4.35 - 4.20 (m, 4H, H_{3'}+H_{4'}+Ha), 3.79 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.64 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.81 - 2.74 (m, 2H, Hd), 2.59 - 2.51 (m, 2H, Hc), 2.49 - 2.39 (m, 3H, Hf+H_{2'b}), 2.20 - 2.09 (m, 1H, H_{2'a}), 1.88 - 1.83 (m, 3H, H₇), 1.61 - 1.49 (m, 2H, Hg), 1.25 (br. s, 16H, CH₂-aliphatic), 0.91 - 0.83 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.5 (C_e), 205.8 (C_b), 163.9 (C₄), 150.5 (C₂), 137.7 (C_{Ar}), 136.3 (C₆), 128.6 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 111.2 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 83.7 (C_{4'}), 79.6 (C_{3'}), 75.9 (C_a), 71.6 (C_{a'}/C_{5'}), 71.5 (C_{a'}/C_{5'}), 42.7 (Cf), 37.7 (C_{2'}), 36.1 (Cd), 32.1 (C_c), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.7 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.6 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.5 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.4 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.3 32.0 (CH₂-aliphatic), 23.9 (Hg), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.5 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₃H₄₉N₂O₇ [M+H]⁺ 585.3534, found 585.3542.

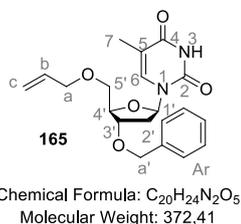
Compounds **164** and **180**



180 was synthesized according to the general procedure **A** from **54** (1 g, 2.80 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 280 mg, 7.01 mmol) and benzyl bromide (833 μL, 7.01 mmol) in THF (10 mL) with 60 minutes as second microwave activation time. The crude product can then be purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford **180** as a colorless gum (1.013 g, 88%, data in agreement with literature). It can also be engaged in the silylether deprotection step without further purification to provide **164**. It was dissolved in MeOH (9 mL) and para-toluenesulfonic acid (monohydrated, 53 mg, 0.28 mmol) was added. The reaction mixture was then stirred at room temperature during 15h before being concentrated under reduced pressure, dissolved in CH₂Cl₂, washed with a sat. aq. solution of NaHCO₃ and brine. The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc /) to give **164** as a white solid (754 mg, 81%). *R_f* = 0.3 (Pentane/EtOAc 30/70); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3422, 3186, 3062, 3038, 2928, 1683, 1471, 1405, 1366, 1324, 1275, 1203, 1132, 1096, 1058, 960, 910, 787, 736, 699, 651, 606, 560, 492; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.99 (s, 1H, NH-3), 7.40 - 7.27 (m, 6H, H_{Ar}+H₆), 6.13 (appearing t, *J* = 6.6, 7.5 Hz, 1H, H_{1'}), 4.55 (AB system, *J* = 11.8 Hz, 2H, Ha'), 4.32 - 4.26 (m, 1H, H_{3'}), 4.19 - 4.13 (m, 1H, H_{4'}), 3.92 (dd, *J* = 2.4, 11.7 Hz, 1H, H_{5'b}), 3.75 (dd, *J* = 3.0, 12 Hz, 1H, H_{5'a}), 2.46 - 2.28 (m, 2H,

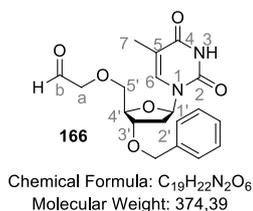
H_{2'}), 1.90 (s, 3H, H₇); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.9 (C₄), 150.5 (C₂), 137.6 (C_{Ar}/C₆), 137.2 (C_{Ar}/C₆), 128.7 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 111.2 (C₅), 87.5 (C₄/C₁), 85.3 (C₄/C₁), 78.7 (C_a), 71.8 (C_{3'}), 62.9 (C_{5'}), 37.3 (C_{2'}), 12.6 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. For C₁₇H₂₀N₂O₅Na [M+Na]⁺ 355.1264, found 355.1265.

Compound 165



Synthesized according to the general procedure **A** from **164** (538 mg, 1.62 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 162 mg, 4.05 mmol) and allyl bromide (350 μL, 4.05 mmol) in THF (5.4 mL) with 60 minutes microwave activation time. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 80/20) to afford the title compound as a colorless gum (523 mg, 87%). *R_f* = 0.25 (Pentane/EtOAc 60/40); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3180, 3064, 3035, 2925, 2861, 1682, 1468, 1434, 1402, 1364, 1329, 1274, 1202, 1096, 1055, 1029, 960, 914, 884, 785, 733, 698, 670, 645, 608, 558, 491; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.28-9.07 (br. s, 1H, NH-3), 7.63 (s, 1H, H₆), 7.40-7.35 (m, 5H, H_{Ar}), 6.39 (dd, *J* = 6.0, 7.8 Hz, 1H, H_{1'}), 5.97 - 5.82 (m, 1H, H_b), 5.32 - 5.18 (m, 2H, H_c), 4.54 (dd, *J* = 12.0, 26.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.28 - 4.21 (m, 2H, H_a), 4.06 - 4.01 (m, 2H, H_{3'}+H_{4'}), 3.74 (dd, *J* = 2.4, 10.8 Hz, 1H, H_{5'}b), 3.58 (dd, *J* = 2.1, 10.5 Hz, 1H, H_{5'}a), 2.47 (ddd, *J* = 1.8, 5.7, 12.9 Hz, 1H, H_{2'}b), 2.16 - 2.04 (m, 1H, H_{2'}a), 1.88 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.6 (C_b), 136.0 (C_{Ar}), 134.1 (C₆), 128.6 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 117.6 (C_c), 111.0 (C₅), 85.3 (C_{4'}), 84.0 (C_{1'}), 79.3 C_{a'}, 77.4 (C_{3'}), 72.4 (C_a), 71.5 (C_{5'}), 38.1 (C_{2'}), 12.7 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₀H₂₄N₂O₅Na [M+Na]⁺ 395.1577, found 395.1581.

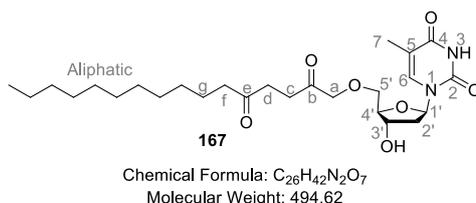
Compound 166



Synthesized according to the general procedure **B** from **165** (591 mg, 1.59 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 484 μL, 0.048 mmol), sodium periodate (1.018 g, 4.76 mmol) and 2,6-lutidine (368 μL, 3.17 mmol) in a 2/1 dioxane/water mixture (16 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 30/70, with some drops of Et₃N) to afford the title compound as a colorless gum (559 mg, 94%). The

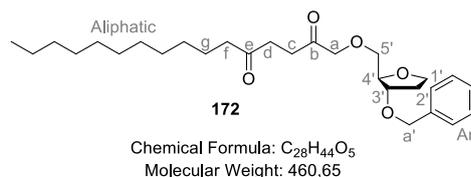
product seems to contain impurities according to NMR spectra, but it is probably because of the presence of rotameres as previously reported for similar compounds. HRMS analysis showed that the product was pure. $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 30/70); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3385, 3202, 3064, 3038, 2920, 2872, 1687, 1468, 1403, 1367, 1329, 1276, 1202, 1134, 1080, 962, 910, 773, 738, 700, 604, 560, 492; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.67 (s, 1H, H_b), 9.31-9.20 (br. s, 1H, NH-3), 7.57 (s, 1H, H₆), 7.41-7.25 (m, 5H, H_{Ar}), 6.37 (dd, $J = 6.0, 7.5$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.55 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, H_a), 4.33 – 4.27 (m, 1H, H_{3'}), 4.26 – 4.16 (br. s, 3H, H_{4'}+H_{a'}), 3.81 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, H_{5'}b), 3.67 (dd, $J = 3.0, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'}a), 2.46 (ddd, $J = 2.7, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, H_{2'}b), 2.22 – 2.08 (m, 1H, H_{2'}a), 1.93 – 1.82 (br. s, 3H, τ); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 198.0 (C_b), 164.1 (C₄), 150.6 (C₂), 137.6 (C₆), 136.0 (C_{Ar}), 128.6 (C_{Ar}), 128.6 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 111.2 (C₅), 85.4 (C_{1'}), 83.6 (C_{4'}), 79.1 C'_a, 77.4 (C_{3'}), 71.7 (C_{5'/Ca}), 71.6 (C_{5'/Ca}), 37.7 (C_{2'}), 12.6 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₁₉H₂₂N₂O₆Na [M+Na]⁺ 397.1370, found 397.1368.

Nucleolipid 167



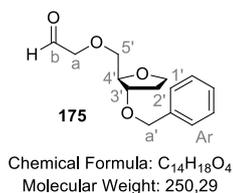
Synthesized according to the general procedure **G** from **96** (50 mg, 0.10 mmol) and TBAF (1M in THF, 101 μL , 0.10 mmol) in THF (1 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5) to afford the title compound as a white solid (23 mg, 68%). $R_f = 0.4$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3404, 3186, 3061, 2924, 2854, 1685, 1468, 1408, 1371, 1322, 1277, 1236, 1199, 1159, 1131, 1094, 1049, 1014, 961, 926, 897, 858, 791, 765, 728, 727, 624, 559, 491; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.94 (s, 1H, NH-3), 7.66 (s, 1H, H₆), 6.34 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.64 – 4.56 (br. s, 1H, H_{3'}), 4.30 (s, 2H, H_a), 4.10 – 4.03 (m, 1H, H_{4'}), 3.85 – 3.66 (m, 2H, H_{5'}), 3.23 – 3.15 (br. s, 1H, OH), 2.82 – 2.74 (m, 2H, H_c), 2.62 – 2.54 (m, 2H, H_d), 2.43 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H_f), 2.39 – 2.17 (m, 2H, H_{2'}), 1.93 – 1.83 (m, 3H, H₇), 1.61 – 1.45 (m, 2H, H_g), 1.34 – 1.14 (br. s, 16H, CH₂-aliphatic), 0.91 – 0.82 (m, 3H, CH₃-aliphatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (75,5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 209.8 (C_e), 206.4 (C_b), 163.9 (C₄), 150.6 (C₂), 136.3 (C₆), 111.2 (C₅), 85.6 (C_{4'}), 85.1 (C_{1'}), 75.9 (C_{3'}), 72.1 (C_a), 71.2 (C_{5'}), 42.8 (C_f), 40.5 (C_{2'}), 36.1 (C_c), 32.2 (C_d), 32.0 (CH₂-aliphatic), 29.7 (CH₂-aliphatic), 29.6 (CH₂-aliphatic), 29.5 (CH₂-aliphatic), 29.4 (CH₂-aliphatic), 29.3 (CH₂-aliphatic), 24.0 (C_g), 22.8 (CH₂-aliphatic), 14.2 (CH₃-aliphatic), 12.5 (C₇); HRMS (ESI) :

Diketone 172



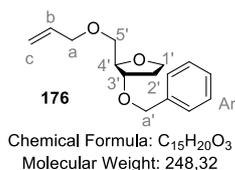
Synthesized according to the general procedure **E** from **175** (223 mg, 0.89 mmol), **84** (125 mg, 0.59 mmol), catalyst **95** (45 mg, 0.18 mmol) and DBU (25 μ L, 0.18 mmol) in THF (1.7 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40) to afford the title compound as a slightly yellow oil (71 mg, 26%). $R_f = 0.3$ (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 2926, 2856, 1715, 1456, 1402, 1366, 1100, 1062, 738, 699; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.36 - 7.22 (m, 5H, H_{Ar}), 4.53 (AB system, $J = 11.8$ Hz, 2H, $H_{a'}$), 4.14 (s, 2H, H_a), 4.12 - 4.03 (m, 2H, $H_{3'}+H_{4'}$), 4.02 - 3.87 (m, 2H, $H_{1'}$), 3.56 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, $H_{5'}$), 2.74 - 2.61 (m, 4H, H_c+H_d), 2.424 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H_f), 2.11 - 1.97 (m, 2H, $H_{2'}$), 1.62 - 1.48 (m, 2H, H_g), 1.31 - 1.19 (br. s, 16H, CH_2 -aliphatic), 0.91 - 0.83 (m, 3H, CH_3 -aliphatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 209.4 (C_e), 207.7 (C_b), 138.2 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 83.0 ($C_{3'}/C_{4'}$), 80.7 ($C_{3'}/C_{4'}$), 76.6 (C_a), 72.3 ($C_{5'}$), 71.4 ($C'_{a'}$), 67.6 ($C_{1'}$), 42.8 (C_f), 35.7 (C_d/C_c), 32.6 ($C_{2'}$), 32.4 (C_d/C_c), 32.0 (CH_2 -aliphatic), 29.7 (CH_2 -aliphatic), 29.5 (CH_2 -aliphatic), 29.5 (CH_2 -aliphatic), 29.4 (CH_2 -aliphatic), 29.3 (CH_2 -aliphatic), 23.9 (C_g), 22.7 (CH_2 -aliphatic), 14.2 (CH_3 -aliphatic); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{28}H_{45}O_5$ $[M+H]^+$ 461.3262, found 461.3268.

Compound 175



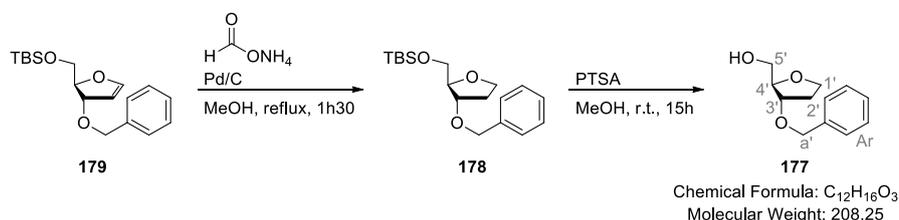
Synthesized according to the general procedure **B** from **176** (395 mg, 1.59 mmol), osmium tetroxide (2.5% in t-BuOH, 485 μ L, 0.048 mmol), sodium periodate (1.021 g, 4.77 mmol) and 2,6-lutidine (369 μ L, 3.18 mmol) in a 2/1 dioxane/water mixture (16 mL). The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40, with some drops of Et_3N) to afford the title compound as a colorless gum (223 mg, 56%). $R_f = 0.4$ (Pentane/EtOAc 50/50); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3400, 3064, 3032, 2870, 1736, 1497, 1455, 1364, 1311, 1264, 1208, 1098, 1064, 1028, 916, 865, 739, 700, 606; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, benzene d-6, 253K) δ (ppm) 9.69 (s, 1H, H_b), 7.39-7.25 (m, 5H, H_{Ar}), 4.42-4.25 (br. s, 2H, $H_{a'}$), 4.07-3.99 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.94 - 3.86 (m, 1H, $H_{1'b}$), 3.85 - 3.66 (m, 2H, $H_{3'}+H_{1'a}$), 3.54 (br. s, 2H, H_a), 3.35-3.20 (m, 2H, $H_{5'}$), 1.84 - 1.61 (m, 2H, $H_{2'}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, benzene d-6, 253K) δ (ppm) 199.2 (C_b), 139.2 (C_{Ar}), 128.6 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 83.6 ($C_{4'}$), 81.4 ($C_{1'}$), 77.1 (C_a), 72.9 ($C_{5'}$), 71.6 ($C'_{a'}$), 67.4 ($C_{3'}$), 32.9 ($C_{2'}$); HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{14}H_{19}O_4$ $[M+H]^+$ 251.1278, found 251.1273.

Compound 176



Synthesized according to the general procedure **A** from **177** (100 mg, 0.48 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 48 mg, 1.20 mmol) and allyl bromide (104 μ L, 1.20 mmol) in THF (1 mL) with 60 minutes microwave activation time. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to afford the title compound as a colorless oil (96 mg, 80%). *R_f* = 0.8 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3066, 3032, 2979, 2863, 1497, 1454, 1433, 1402, 1364, 1308, 1265, 1207, 1092, 1062, 1028, 993, 921, 862, 736, 698, 641, 605, 560, 539, 454; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.37-7.24 (m, 5H, C_{Ar}), 5.97 - 5.82 (m, 1H, H_b), 5.30-5.15 (m, 2H, H_c), 4.54 (s, 2H, H_{a'}), 4.09 - 3.88 (m, 6H, H_{3'}+H_{4'}+H_{5'}+H_a), 3.54 - 3.42 (m, 2H, H_{1'}), 2.07 - 1.98 (m, 2H, H_{2'}); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 138.3 (C_{Ar}), 134.8 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 117.1 (C_c), 83.1 (C_{4'}), 80.9 (C_{3'}), 72.5 (C_{1'}), 71.4 (C_a), 70.9 C_{a'}, 67.6 (C_{5'}), 32.6 (C_{2'}); HRMS (ESI) : Calcd. for C₁₅H₂₁O₃ [M+H]⁺ 249.1485, found 249.1481.

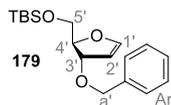
Compound 177



Ammonium formate (430 mg, 6.82 mmol) was added to a stirred suspension of **179** (1.093 g, 3.41 mmol) and an equal weight of palladium on activated charcoal (10% w/w) in dry methanol (23 mL). The resulting mixture was then heated at reflux during 1h30 before being allowing to cool down at room temperature. It was filtered through a celite pad and concentrated under reduced pressure to afford crude **178** which was engaged in the next step without further purification. It was dissolved in MeOH (11 mL) and para-toluenesulfonic acid (monohydrated, 65 mg, 0.34 mmol) was added. The reaction mixture was then stirred at room temperature during 15h before being concentrated under reduced pressure, dissolved in CH₂Cl₂, washed with a sat. aq. solution of NaHCO₃ and brine. The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to give the title compound as a colorless oil (408 mg, 57%). *R_f* = 0.2 (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3423, 3064, 3032, 3925, 2870, 1497, 1454, 1400, 1365, 1311, 1260, 1207, 1103, 1054, 1029, 916, 851, 736, 698, 625, 604, 536,

511; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.41 – 7.24 (m, 5H, H_{Ar}), 4.55 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, Ha'), 4.09 – 3.92 (m, 4H, $\text{H}_{1'} + \text{H}_{3'} + \text{H}_{4'}$), 3.73 (dd, $J = 3.6, 11.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}\text{b}$), 3.58 (dd, $J = 4.8, 11.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}\text{a}$), 2.47 (s, 1H, OH), 2.10 – 1.96 (m, 2H, $\text{H}_{2'}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (75,5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 138.1 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 84.6 ($\text{C}_{1'}/\text{C}_{3'}/\text{C}_{4'}$), 80.3 ($\text{C}_{1'}/\text{C}_{3'}/\text{C}_{4'}$), 71.5 (C'_a), 67.6 ($\text{C}_{1'}/\text{C}_{3'}/\text{C}_{4'}$), 63.2 ($\text{C}_{5'}$), 32.9 ($\text{C}_{2'}$); HRMS (ESI) : Calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 231.0992, found 231.0995.

Compound 179



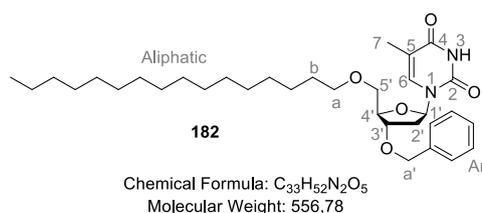
Chemical Formula: $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Si}$
Molecular Weight: 320,50

Methanesulfonic acid (18 μL , 0.28 mmol) was added to hexamethyldisilazane (16 mL, 78.37 mmol) and the suspension was stirred for 5 minutes under an argon atmosphere. Protected thymidine **180** (2.5 g, 5.60 mmol) was then added in a single portion and the mixture was stirred at 120°C until homogeneous (10 minutes). Methanesulfonamide (266 mg, 2.80 mmol) was added and the reaction was stirred at reflux (140°C). After 2h, the solution was cooled to room temperature and hexamethyldisylazane was evaporated under reduced pressure. The resulting mixture was dissolved in CH_2Cl_2 and water was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 , and the combined organic extracts were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to give the title compound as a colorless oil (1.107 g, 62%). $R_f = 0.5$ (Pentane/EtOAc 99/1); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3091, 3066, 3033, 2954, 2930, 2887, 2858, 1613, 1497, 1470, 1388, 1363, 1308, 1254, 1146, 1075, 1028, 1005, 958, 941, 904, 872, 835, 777, 733, 697, 666, 627, 608, 571, 540, 504, 469; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.41 – 7.25 (m, 5H, H_{Ar}), 6.59 (dd, $J = 1.2, 2.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 5.19 (t, $J = 2.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'}$), 4.72 (dt, $J = 0.9, 2.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{3'}$), 4.64 – 4.50 (m, 3H, $\text{H}_{4'} + \text{Ha}'$), 3.77 (dd, $J = 5.7, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}\text{b}$), 3.52 (dd, $J = 6.9, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}\text{a}$), 0.95 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{-TBDMS}$), 0.12 (d, $J = 3.6$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{-TBDMS}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (75,5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 150.4 ($\text{C}_{1'}$), 138.5 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 100.5 ($\text{C}_{2'}$), 86.3 ($\text{C}_{4'}$), 82.7 ($\text{C}_{3'}$), 69.6 (C_a), 62.7 ($\text{C}_{5'}$), 25.9 ($(\text{CH}_3)_3\text{-TBDMS}$), 18.3 ($\text{C}_q\text{-TBDMS}$), -5.3 ($\text{CH}_3\text{-TBDMS}$), -5.3 ($\text{CH}_3\text{-TBDMS}$); HRMS (ESI) : Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 343.1700, found 343.1704.

Compound 180

See compound **164**.

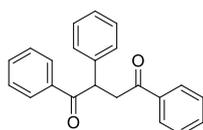
Compound 182



Synthesized according to the general procedure **A** from **164** (200 mg, 0.60 mmol), sodium hydride (60% dispersion in oil, 60 mg, 1.50 mmol) and 1-iodohexadecane (530 mg, 1.50 mmol) in THF (2 mL) with 60 minutes microwave activation time. The reaction mixture formed a gel at the end of the reaction, which was dissolved in dichloromethane before workup. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford the title compound as a white solid (23 mg, 7%). $R_f = 0.2$ (Pentane/EtOAc 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3180, 3063, 3038, 2923, 2854, 1688, 1466, 1402, 1365, 1323, 1276, 1202, 1130, 1099, 1074, 961, 913, 886, 785, 735, 698, 670, 614, 558, 490; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.77 (s, 1H, NH-3), 7.63 (s, 1H, H₆), 7.40 – 7.27 (m, 5H, H_{Ar}), 6.37 (appearing t, $J = 6.3, 7.5$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.54 (dd, $J = 11.7, 26.1$ Hz, 1H, Ha'), 4.24 – 4.18 (br. s, 2H, H_{3'}+H_{4'}), 3.77 – 3.36 (m, 4H, Ha+H_{5'}), 2.47 (dd, $J = 5.7, 13.8$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.15 – 2.02 (m, 1H, H_{2'b}), 1.91 (s, 3H, H₇), 1.66 – 1.52 (m, 2H, Hb), 1.25 (br. s, 26H, CH₂-aliphatic), 0.91 – 0.83 (m, 3H, CH₃-aliphatic); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.9 (C₄), 150.4 (C₂), 137.7 (C_b), 136.0 (C₆), 128.6 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 110.9 (C₅), 85.4 (C_{1'}), 84.2 (C_{4'}), 79.5 (C_{3'}), 77.4 (C_a), 72.0 (C_a), 71.5 C'_a, 71.0 (C_{5'}), 38.1 (C_b), (C_{2'}), 32.0 (C-aliphatic), 29.9 (C-aliphatic), 29.8 (C-aliphatic), 29.8 (C-aliphatic), 29.8 (C-aliphatic), 29.7 (C-aliphatic), 29.6 (C-aliphatic), 29.5 (C-aliphatic), 26.3 (C-aliphatic), 22.8 (C-aliphatic), 14.3 (C-aliphatic), 12.7 (C₇); HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₃H₅₃N₂O₅ [M+H]⁺ 557.3949, found 557.3947.

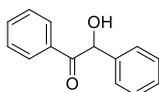
Compounds 209 and 210

Synthesized according to the general procedure **H** from benzaldehyde (122 μ L, 1.2 mmol), chalcone (208 mg, 1 mmol), catalyst **217** (113 mg, 0.30 mmol) and DBU (45 μ L, 0.30 mmol) in water (0.6 mL) at 75°C with a reaction time of 20h. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Petroleum ether/EtOAc 90/10) to afford **209** as a slightly yellow oil (233 mg, 74%) and **210** as a white powder (25 mg, 12%). Analytical data were consistent with literature.



Chemical Formula: C₂₂H₁₈O₂
Molecular Weight: 314,38

$R_f = 0.41$ (EP/AcOEt : 90/10); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 2923, 1675, 1595, 1580, 1493, 1447, 1233, 759, 695; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.14-7.96 (m, 4H_s), 7.67-7.20 (m, 11H_s), 5.39 (dd, $J = 9, 3$ Hz, 1H), 4.27 (dd, $J = 18$ Hz, 9Hz, 1H), 3.35 (dd, $J = 18, 6$ Hz, 1H); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 199.1, 198.2, 138.9, 136.7, 133.5, 133.11, 129.4, 129.1, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 127.6, 48.9, 44.1.

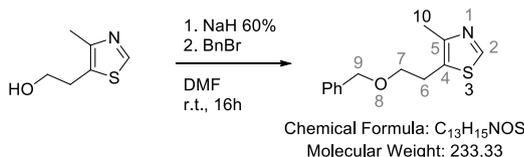


Chemical Formula: C₁₄H₁₂O₂
Molecular Weight: 212,24

$R_f = 0.25$ (pentane/AcOEt : 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3396, 3061, 1679, 1595, 1579, 1492, 1449, 1068, 752, 695; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.92 (dd, $J = 9$ Hz, 3Hz, 2H), 7.56-7.49 (m, 1H), 7.45-7.22 (m, 7H), 5.96 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 6$ Hz, 1H); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 199.9, 139.9, 134.9, 134.4, 130.1, 129.6, 129.5, 128.7, 77.2.

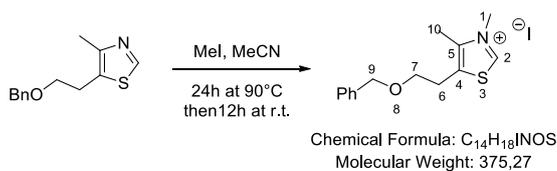
Catalyst 217

5-methyl-4-[2-(phenylmethoxy)ethyl]-thiazole [125132-34-5]



To a suspension of NaH 60% (726mg, 18.16mmol) in mineral oil in anhydrous DMF (21 mL), at 0°C, were added dropwise benzyl bromide (2.16mL, 18.16mmol) followed by a solution of 2-(4-methylthiazol-5-yl)ethanol (1.67mL, 13.97mmol) anhydrous DMF (10 mL). The reaction mixture was stirred during 16h at room temperature and ethyl acetate (20 mL) was added. The organic layer was washed with sat. aq. NH₄Cl (3x10 mL), brine (3x10 mL) and water (3x10 mL), dried over Na₂SO₄ and the solvent was removed under reduced pressure to afford the benzylated product as a yellow oil (2.6 g, 80%). $R_f = 0.36$ (pentane/EtOAc : 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3024, 2922, 2858, 1597, 1496, 1453, 1361, 1096, 912, 737, 697; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.46 (s, 1H, H₂), 7.33-7.17 (m, 5H, H_{Ar}), 4.44 (s, 2H, H₉), 3.56 (t, $J = 6$ Hz, 2H, H₇), 2.95 (t, $J = 6$ Hz, 2H, H₆), 2.34 (s, 3H, H₁₀); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) :150.0 (C₂), 149.5 (C₅), 138.4 (H_{Ar}), 128.7 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 73.3 (C₇), 70.3 (C₉), 27.3 (C₆), 15.3 (C₁₀).

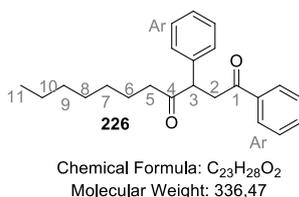
Quaternarisation



A solution of iodomethane (788 μ L, 12.66 mmol) in anhydrous acetonitrile (2 mL) was added on 4-methyl-5-[2-(phenylmethoxy)ethyl]-thiazole (3.11 g, 13.33 mmol). The reaction mixture was stirred at 90°C during 24h then at room temperature during 12h. The solvent was then removed under reduced pressure, diethyl ether (10 mL) was added and the mixture thus obtained was triturated in order to remove impurities, affording the pre-catalyst as a black powder without any further purification (2.5g, 53%). NMR data are consistent with literature.

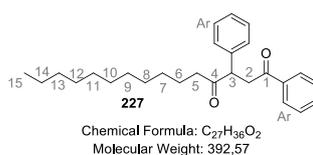
$R_f = 0.56$ (pentane/EtOAc : 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3436, 3027, 2924, 2863, 1593, 1452, 1362, 1097, 918, 735, 700; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 10.97 (s, 1H, H₂), 7.42-7.29 (m, 5H, H_{Ar}), 4.55 (s, 2H, H₉), 4.36 (s, 3H, H₁₀), 3.73 (t, $J = 6$ Hz, 2H, H₇), 3.11 (t, $J = 6$ Hz, 2H, H₆), 2.50 (s, 3H, H₁₁); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 157.1 (C₂), 142.4 (H_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 128.7 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 73.6 (C₉), 68.0 (C₇), 41.9 (C₆), 28.1 (C₁₁), 13.0 (C₁₀).

Compound 226



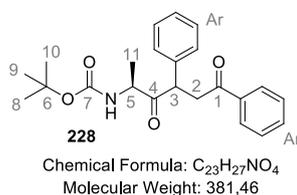
Synthesized according to the general procedure **H** from octanal (203 μ L, 1.2 mmol), chalcone (208 mg, 1 mmol), catalyst **217** (113 mg, 0.30 mmol) and DBU (45 μ L, 0.30 mmol) in water (0.6 mL) at 75°C with a reaction time of 20h. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Petroleum ether/EtOAc 95/5) to afford the title compound as a colorless oil (240 mg, 71%). $R_f = 0.69$ (Petroleum ether/AcOEt : 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 2925, 2856, 1684, 1598, 1580, 1494, 1451, 753, 700; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.97 (d, $J = 9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.64-7.24 (m, 8H, H_{Ar}), 4.45 (dd, $J = 12, 6$ Hz, 1H, H₃), 4.06 (dd, $J = 18, 12$ Hz, 1H, H_{2a}), 3.13 (dd, $J = 18, 6$ Hz, 1H, H_{2b}), 2.74-2.40 (m, 2H, H₅), 1.77-1.42 (m, 2H, H₆), 1.22 (br. s, 8H, H₇+H₈+H₉+H₁₀), 0.87 (t, $J = 6$ Hz, 3H, H₁₁); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.7 (C₄), 198.5 (C₁), 138.5 (H_{Ar}), 136.8 (C_{qAr}), 133.4 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.8 (C_{Ar}), 128.6 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 53.6 (C₃), 42.6 (C₅), 42.1 (C₂), 31.9 (C₉), 29.3 (C₇), 29.2 (C₈), 23.9 (C₆), 22.9 (C₁₀), 14.4 (C₁₁).

Compound 227



Synthesized according to the general procedure **H** from dodecyl aldehyde (266 μ L, 1.2 mmol), chalcone (208 mg, 1 mmol), catalyst **217** (113 mg, 0.30 mmol) and DBU (45 μ L, 0.30 mmol) in water (0.6 mL) at 75°C with a reaction time of 20h. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Petroleum ether/EtOAc 95/5) to afford the title compound as a colorless oil (255 mg, 65%). R_f = 0.55 (EP/AcOEt : 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 2923, 2853, 1714, 1685, 1599, 1582, 1494, 1453, 752, 698, 690; ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.93 (d, J = 9Hz, 2H, H_{Ar}), 7.57-7.20 (m, 8H, H_{Ar}), 4.41 (dd, J = 12, 6 Hz, 1H, H₃), 4.03 (dd, J = 18Hz, 9Hz, 1H, H_{2a}), 3.09 (dd, J = 18, 9 Hz, 1H, H_{2b}), 2.71-2.37 (m, 2H, H₅), 1.71-1.44 (m, 2H, H₆), 1.26 (br. s, 16H, H₁₄+H₁₃+H₁₂+H₁₁+H₁₀+H₉+H₈+H₇), 0.87 (t, J = 6Hz, 3H, H₁₅); ¹³C-NMR (75.5MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.2 (C₄), 198.0 (C₁), 138.22 (C_{Ar}), 136.5 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 129.0 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 53.3 (C₃), 42.4 (C₂), 41.8 (C₅), 31.9 (C₁₃), 29.6 (C₁₁+C₁₀+C₉), 29.4 (C₁₂+C₈), 29.0 (C₇), 23.6 (C₆), 22.7 (C₁₄), 14.1 (C₁₅).

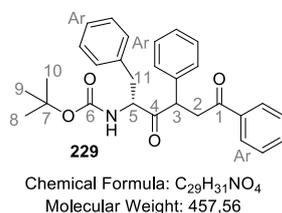
Compound 228



Synthesized according to the general procedure **H** from Boc-L-alaninal (104 mg, 0.6 mmol), chalcone (104 mg, 0.5 mmol), catalyst **217** (57 mg, 0.15 mmol) and DBU (22 μ L, 0.15 mmol) in water (0.3 mL) at 75°C with a reaction time of 20h. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂) to afford the title compound as yellow oil (90 mg, 47%). A mixture of two diastereoisomeres d1 and d2 was obtained which were not separated. R_f = 0.2 (EP/AcOEt : 90/10) *Diastereoisomer 1* ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.01-7.91 (m, 4H, H_{Ar}), 7.64-7.51 (m, 2H, H_{Ar}), 7.51-7.39 (m, 4H, H_{Ar}), 5.54 (d, J = 9 Hz, 1H, H₅), 4.08 (dd, J = 12 Hz, 3Hz, 1H, H_{2a}), 3.33 (dd, J = 18, 3 Hz, 1H, H_{2b}), 1.57 (d, J = 6 Hz, 3H, H₁₁), 1.49 (s, 9H, H₈+H₉+H₁₀); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 208.9 (C₄), 198.1 (C₁), 155.2 (C₆), 133.4 (C_{qAr}), 129.1 (C_{qAr}), 128.4 (C_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 79.6 (C₇), 54.7 (C₅), 49.8 (C₃), 44.1 (C₂), 28.4 (C₈+C₉+C₁₀), 18.6 (C₁₁). *Diastereoisomer 2* ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.39-7.22 (m, 11H, H_{Ar}+NH), 5.26 (d, J = 9 Hz, 1H, H₅), 4.01 (dd, J = 9, 3 Hz, 1H, H_{2a}), 3.18 (dd, J = 18, 6 Hz, 1H, H_{2b}), 1.41 (s, 9H, H₈+H₉+H₁₀), 1.18 (d, J = 6 Hz, 3H, H₁₁); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)

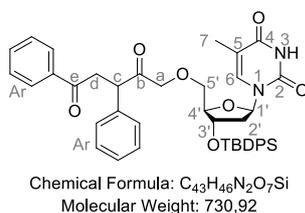
δ (ppm) 207.7 (C_4), 197.7 (C_1), 154.8 (C_6), 129.4 (C_{qAr}), 128.6 (C_{qAr}), 128.4 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 79.4 (C_7), 54.0 (C_5), 49.4 (C_3), 42.5 (C_2), 28.4 ($C_8+C_9+C_{10}$), 17.4 (C_{11}).

Compound 229



Synthesized according to the general procedure **H** from N-Boc-D-phenylalaninal (149 mg, 0.6 mmol), chalcone (104 mg, 0.5 mmol), catalyst **217** (57 mg, 0.15 mmol) and DBU (22 μ L, 0.15 mmol) in water (0.3 mL) at 75°C with a reaction time of 20h. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 95/5 to 90/10) to afford the title compound as yellow oil (84 mg, 37%). A mixture of two diastereoisomers was obtained which were not separated. $R_f = 0.2$ (EP/AcOEt : 95/5); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3379, 3063, 3030, 3005, 2977, 2929, 1706, 1684, 1599, 1582, 1494, 1452, 1392, 1366, 1333, 1286, 1245, 1206, 1164, 1076, 1054, 1004, 987, 946, 911, 860, 751, 732, 697, 648, 618, 558, 522; 1H -NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.02-7.94 (m, 2H, H_{Ar}), 7.63-6.95 (m, 13H, H_{Ar}), 5.21 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H_5), 4.84-4.50 (m, 2H, H_{11}), 4.12-3.91 (m, 1H, H_3), 3.44-3.01 (m, 2H, H_2), 1.54-1.12 (m, 9H, $H_8+H_9+H_{10}$); ^{13}C -NMR (75.46MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 207.7, 206.9, 198.1, 197.7, 155.4, 154.8, 137.3, 137.1, 137.1, 136.6, 136.5, 1.6.4, 133.4, 133.4, 129.8, 129.5, 129.3, 129.2, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.2, 128.2, 127.9, 127.7, 128.8, 126.3, 79.9, 79.5, 59.2, 58.7, 50.9, 50.0, 43.1, 42.4, 38.0, 36.7, 29.8, 28.4, 28.4, 28.0.

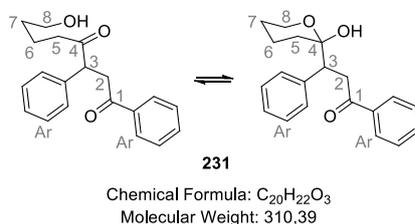
Compound 230



Synthesized according to the general procedure **H** from **69** (268 mg, 0.51 mmol), chalcone (89 mg, 0.43 mmol), catalyst **217** (48 mg, 0.13 mmol) and DBU (18 μ L, 0.13 mmol) in water (2.5 mL) at 75°C with a reaction time of 20h. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (Petroleum ether/EtOAc 70/30 to 50/50) to afford the title compound as a yellow gum (40 mg, 13%). A mixture of two diastereoisomers was obtained which were not separated. 74 mg of **56a** resulting from internal redox elimination were also recovered. $R_f = 0.3$ (EP/AcOEt : 70/30); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3181, 3067, 2859, 2932, 1683, 1598, 1493, 1470, 1453, 1428, 1400, 1364, 1325, 1275, 1250, 1201, 1155,

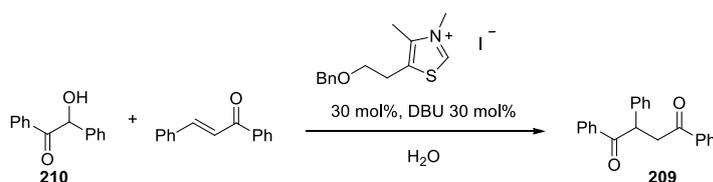
1132, 1105, 1031, 1013, 926, 894, 855, 823, 755, 741, 702, 648, 611, 561, 508; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.05-8.99 (m, 1H, NH-3), 7.97-7.89 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar}}/\text{H}_6$), 7.74-7.56 (m, 6H, $\text{H}_{\text{Ar}}/\text{H}_6$), 7.50-7.21 (m, 13H, $\text{H}_{\text{Ar}}/\text{H}_6$), 6.59-6.51 (m, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.49 (dd, $J = 5.4, 14.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{3'}$), 4.40-4.23 (m, 2H, H_a), 4.14-3.96 (m, 3H, $\text{H}_d+\text{H}_{4'}$), 3.45 (ddd, $J = 2.4, 10.2, 23.7$ Hz, 1H, H'_5b), 3.22 (dd, $J = 2.7, 18$ Hz, 1H, H'_5a), 2.90 (ddd, $J = 2.1, 10.2, 40.2$ Hz, 1H, H_c), 2.35-2.20 (m, 1H, H'_2b), 2.14-1.87 (m, 1H, H'_2a), 1.74-1.64 (m, 3H, H_7), 1.13-1.04 (m, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{-TBDPS}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 205.2, 198.0, 198.0, 164.1, 150.7, 137.0, 136.9, 136.5, 136.0, 136.0, 135.8, 135.8, 133.7, 133.4, 133.2, 130.1, 129.3, 129.3, 128.8, 128.2, 128.1, 128.1, 128.0, 128.0, 127.9, 127.9, 111.2, 111.1, 86.6, 85.1, 74.9, 74.7, 74.4, 74.3, 71.0, 70.8, 53.5, 49.2, 43.0, 42.7, 40.9, 27.0, 19.1, 14.3, 12.2; HRMS (ESI) : Calcd. for $\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_7\text{NaSi}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 753.2967, found 753.2974.

Compound 231



Synthesized according to the general procedure **H** from tetrahydro-2H-pyran-2-ol (111 μL , 1.2 mmol), chalcone (208 mg, 1 mmol), catalyst **217** (113 mg, 0.30 mmol) and DBU (45 μL , 0.30 mmol) in water (0.6 mL) at 75°C with a reaction time of 20h. The crude product was then purified by flash chromatography over silica gel (CH_2Cl_2) to afford the title compound as a yellow oil (216 mg, 70%). $R_f = 0.43$ (CH_2Cl_2); IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1}) 3402, 2935, 2864, 1712, 1681, 1598, 1581, 1494, 1450, 1073, 754, 696; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.88 (d, $J = 9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.58-7.06 (m, 8H, H_{Ar}), 4.36 (dd, $J = 6, 3$ Hz, 1H, H_3), 3.98 (dd, $J = 18$ Hz, 12Hz, 1H, H_{5a}), 3.44 (t, $J = 9$ Hz, 2H, H_8), 3.07 (dd, $J = 18, 3$ Hz, 1H, H_{5b}), 2.76 (br. s, 1H, OH), 2.71-2.36 (m, 2H, H_2), 1.70-1.52 (m, 2H, H_6), 1.50-1.29 (m, 2H, H_7); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 209.5 (C_4), 198.2 (C_1), 137.9 (C_{Ar}), 136.3 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 129.0 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 61.2 (C_8), 53.1 (C_3), 42.3 (C_2), 41.2 (C_5), 31.7 (C_7), 19.6 (C_6).

Stetter reaction in water at 40°C and 95°C



Ratios at 40°C

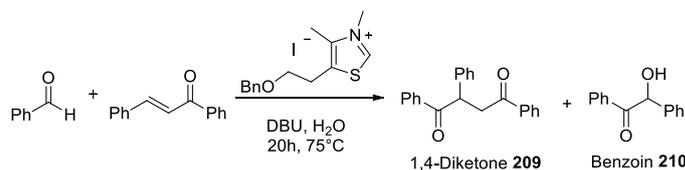
Reaction time (h)	Benzoin 210 (%)	1,4-diketone 209 (%)	PhCHO(%)
0	0	0	100
2	71	25	4
6	71	25	4
15	64	31	4
24	63	32	4
36	59	37	3
48	52	45	3
72	42	55	3

Ratios at 95°C

Reaction time (h)	Benzoin 210 (%)	1,4-diketone 209 (%)	PhCHO(%)
0	0	0	100
0,25	38	45	16
0,5	37	51	13
1	29	57	13
2	27	60	11
4	27	64	8
6	13	79	8
8	9	85	6

Study of the influence of the catalytic loading

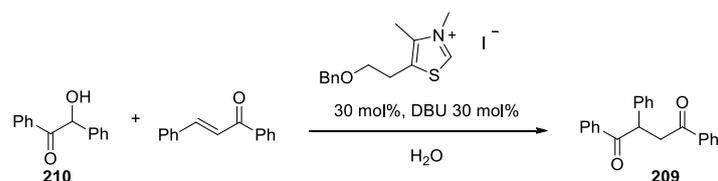
The influence of catalytic loading was explored according to the table below from 10% to 30% following the general procedure for Stetter reaction in water. Conversion was estimated onto ¹H NMR spectrum of the reaction crude medium and benzoin and diketone yield were measured after purification by chromatography on silica-gel.



Entry	Catalyst loading	Conversion	diketone	Benzoin
1	10 mol %	65%	63%	10%
2	20 mol %	72%	69%	9%
3	30 mol %	75%	74%	6%

General procedure for the Stetter reaction from the benzoin substrate

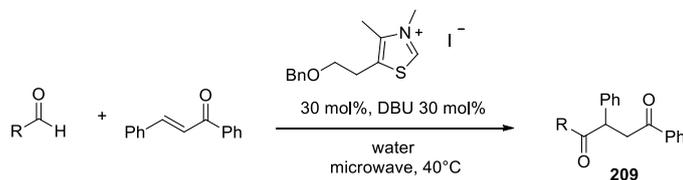
The benzoin substrate (1.2mmol) and DBU (0.3mmol) were added to a solution of the **217** (0.3mmol) in 600 μ L of solvent. The brown solution became black. The chalcone (1mmol) was then added and the reaction was stirred at 95°C during the corresponding time (see table below). After this period, the solvent was evaporated to afford the crude product. Ratios were measured onto ¹H NMR spectrum of the reaction crude medium of each sample.



Entry	Reaction time	Solvent	Benzoin	diketone	PhCHO
1	2h	H ₂ O	75%	24%	1%
2	2h	THF	12%	82%	6%
3	6h	H ₂ O	69%	26%	5%
4	6h	THF	2%	95%	3%
5	15h	H ₂ O	59%	34%	7%
6	15h	THF	0%	98%	2%
7	24h	H ₂ O	52%	40%	8%
8	24h	THF	0%	100%	0%

General procedure for the Stetter reaction under microwave activation

The benzoin substrate (1.2mmol) and DBU (0.3mmol) were added to a solution of the precatalyst **217** (0.3mmol) in 600 μ L of water. The brown solution became black. The chalcone (1mmol) was then added and the reaction was stirred at 40°C in microwave device (200W) during the corresponding time (see table below). Water was then removed under reduced pressure and the residue was purified by silica-gel chromatography (EP/AcOEt : 90/10) to afford the 1,4-diketone as a yellow oil.



Reaction time (h)	Benzoin yield (%)	1,4-diketone yield (%)	PhCHO yield (%)
0	0	0	100
1	55	34	11
3	43	52	4

Oleogel formation

Miglyol[®] 812N and refined soybean oil were kindly provided by IOI Oleo GmbH (Hamburg, Germany) and Société Industrielle des Oléagineux (Saint-Laurent-Blangy, France) respectively.

Miglyol[®] 812N : Compounds were dissolved in Miglyol[®] 812N to obtain gel concentrations of 5% w/w. Then, mixtures were heated at 70 °C for 15 minutes at 800 rpm until complete dissolution (Thermomixer compact, Eppendorf, Hauppauge, NY, USA). Finally, samples were allowed to cool down to room temperature and gel formation was evaluated using the upside-down test. The mixture from nucleolipid **163** didn't flow under its own weight proving a gel state.



Mixtures resulting from 163, 162, 167, 172 and 164 (from left to right, 5% w/w). Gel formation was only observed for nucleolipid 163. Other compounds precipitated or remained liquid.

Soybean oil : Nucleolipid **163** was dissolved in soybean oil to obtain gel concentration of 5% w/w. Then, the mixture was heated at 90°C for 15 minutes at 800 rpm until complete dissolution (Thermomixer compact, Eppendorf, Hauppauge, NY, USA). Finally, it was allowed to cool down to room temperature and gel formation was observed within 3 minutes. It was evaluated using the upside-down test, no flowing was observed under its own weight proving a gel state.



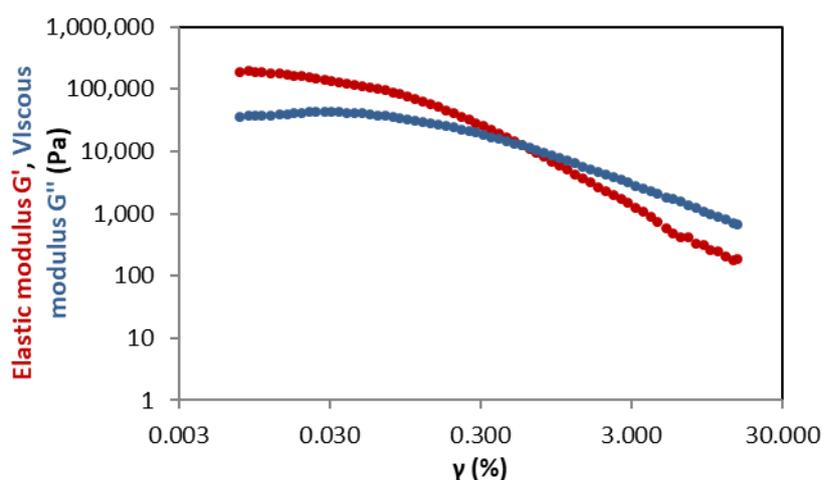
Nucleolipid 163 based oleogels 5% w/w in soybean oil (left) and Miglyol[®] 812N (right)

Critical gelation concentration

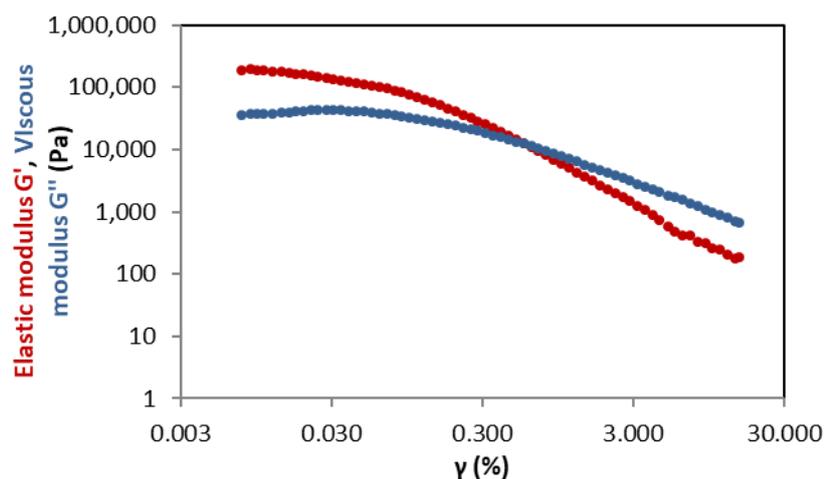
The critical gelation concentration (CGC) was quantitatively assessed by successively diluting NLS based oleogels (starting from 5% w/w) in oil, heating and allowing them to rest at room temperature. The lowest concentration (in weight percent) of gelator required to allow the gelification by the tube-inverting method is defined as CGC. It was evaluated at 1.9 % w/w.

Rheological study

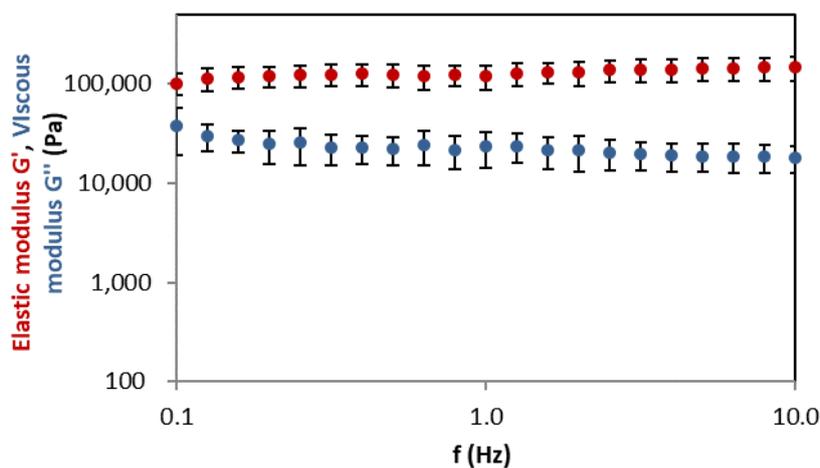
Measurements were performed on a Kinexus® Pro+ rheometer (Malvern Instruments Ltd., Orsay, France) using an upper steel cone-plate geometry (angle : 1°, diameter : 20 mm, gap : 0.03 mm). Samples were studied at 25 °C ± 0.01 °C by a Pelletier control system on the lower geometry, unless otherwise indicated. Samples were placed on the lower geometry as a gel and a period of rest of 30 minutes was applied before starting experiments. All measurements were carried out within the linear viscoelastic regime (LVR) determined through an amplitude strain sweep experiment (shear strain : 0.006 – 15 %, frequency : 1.9 Hz). Elastic G' and viscous G'' moduli were evaluated by performing a frequency sweep experiment from 0.1 to 10 Hz at a shear strain of 0.01 % (independence of moduli with the applied strain). Thixotropic behavior was measured by a step-strain measurement composed of three steps repeated twice : 1) shear strain of 0.01 % for 5 minutes (within the LVR), 2) shear strain of 15 % for 2 minutes (outside of the LVR), 3) shear strain of 0.01 % until stabilization (within the LVR). Sol-Gel transitions were evaluated by heating the sample from 25 to 75 °C at a fixed pressure of 1 Pa. At least three replicates were measured for each sample.



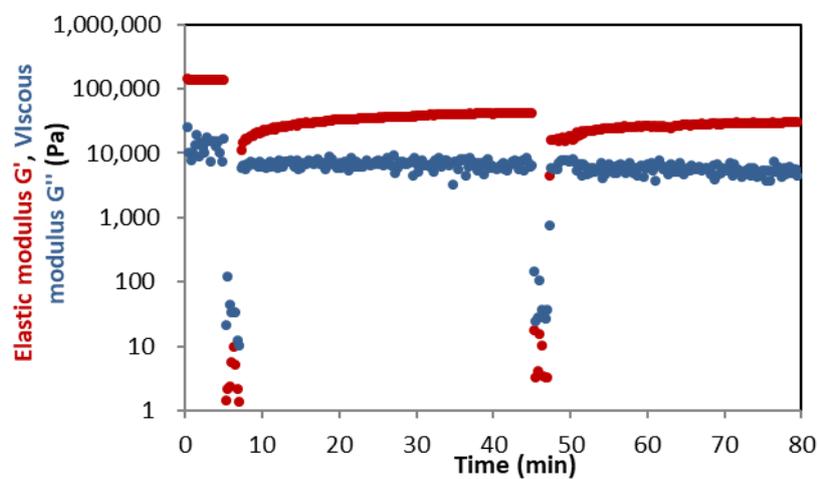
*Amplitude sweep experiment of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w in Miglyol® 812N*



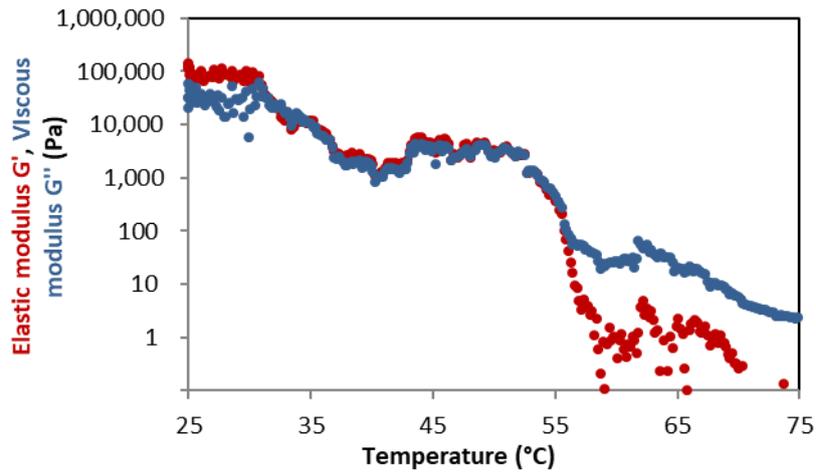
Frequency sweep experiment of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w in Miglyol[®] 812N)



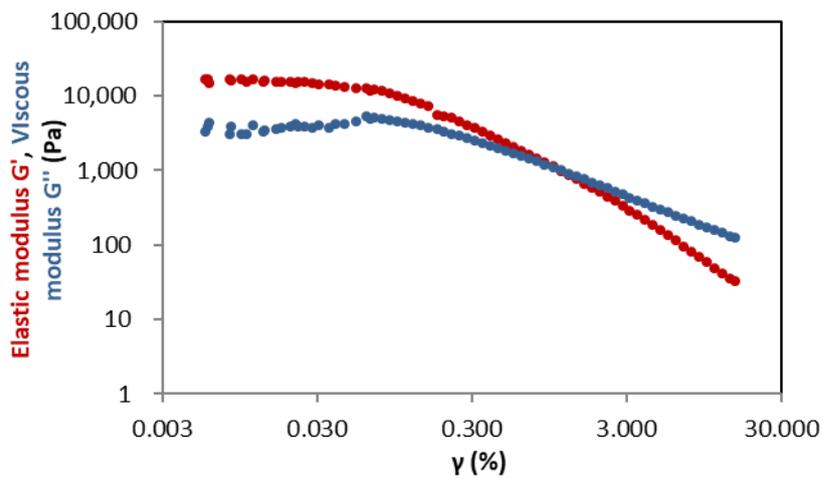
Step-strain experiment of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w in Miglyol[®] 812N at a fixed frequency of 1 Hz)



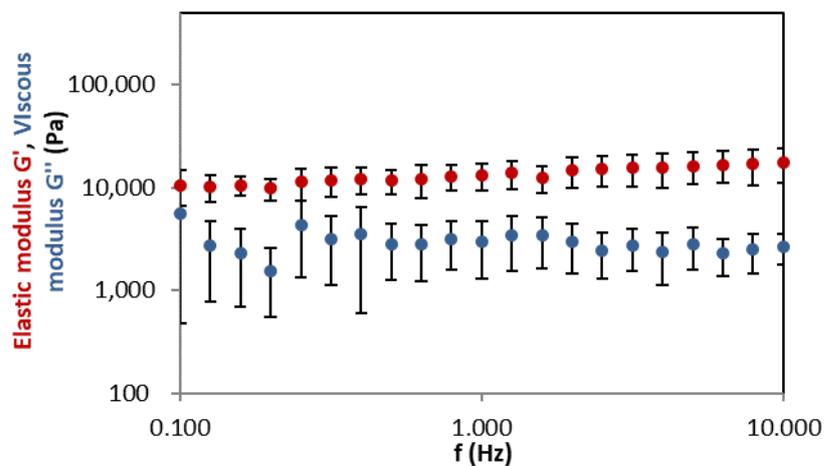
Sol-Gel transition of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w in Miglyol[®] 812N



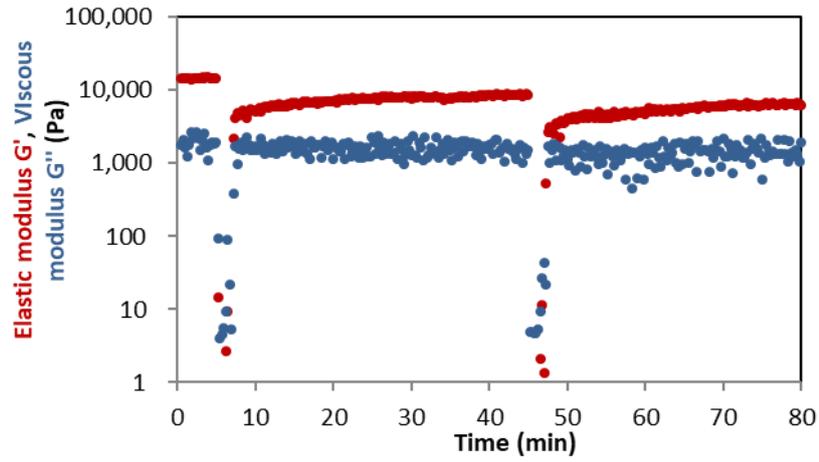
Amplitude sweep experiment of nucleolipid **163** based oleogel 2 % w/w in Miglyol[®] 812N



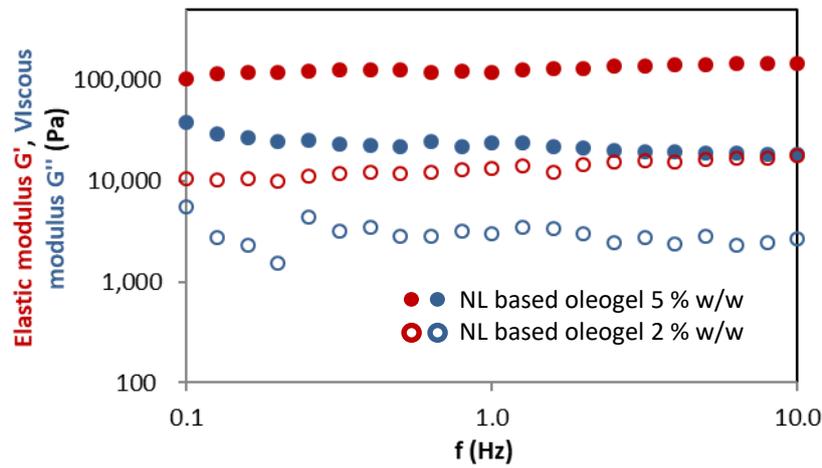
Amplitude sweep experiment of nucleolipid **163** based oleogel 2 % w/w in Miglyol[®] 812N



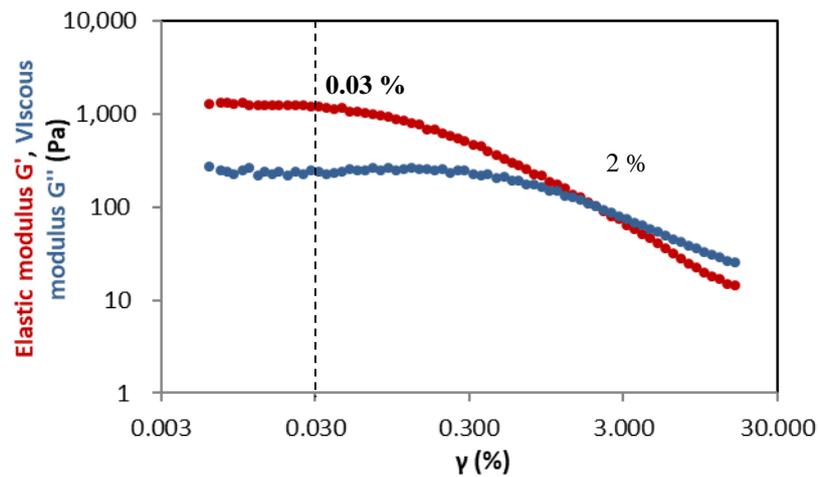
Step-strain experiment of nucleolipid **163** based oleogel 2 % w/w in Miglyol[®] 812N at a fixed frequency of 1 Hz



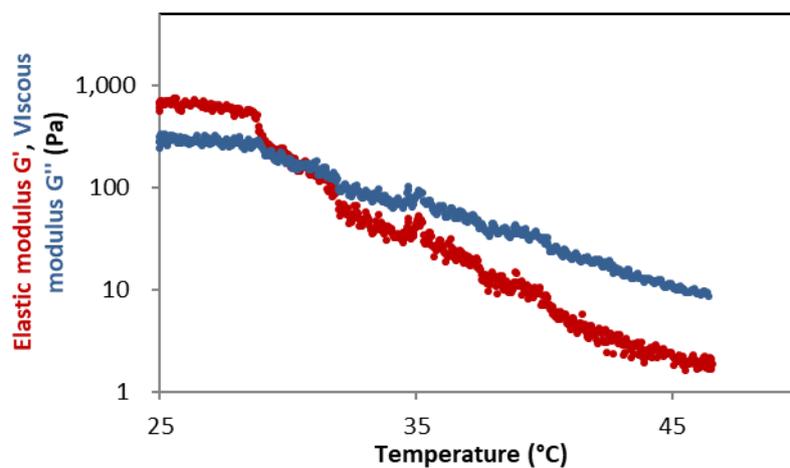
Frequency sweep experiment of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w and 2 % w/w in Miglyol[®] 812N



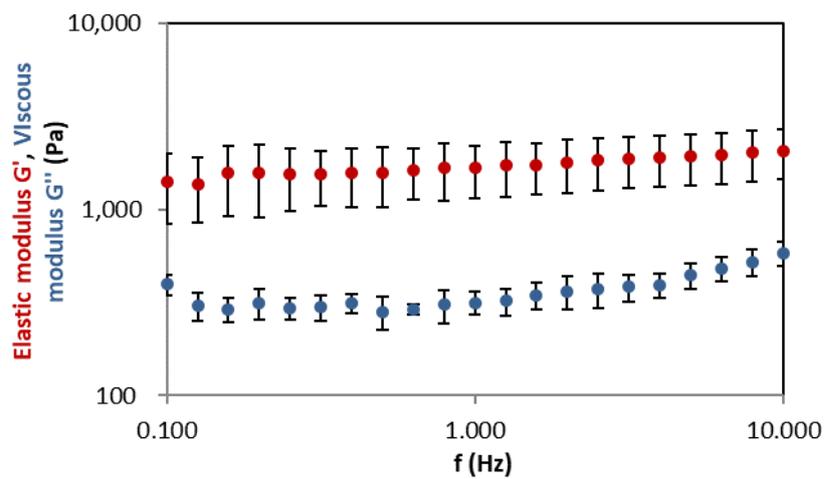
Amplitude sweep experiment of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w in soybean oil



Frequency sweep experiment of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w in soybean oil



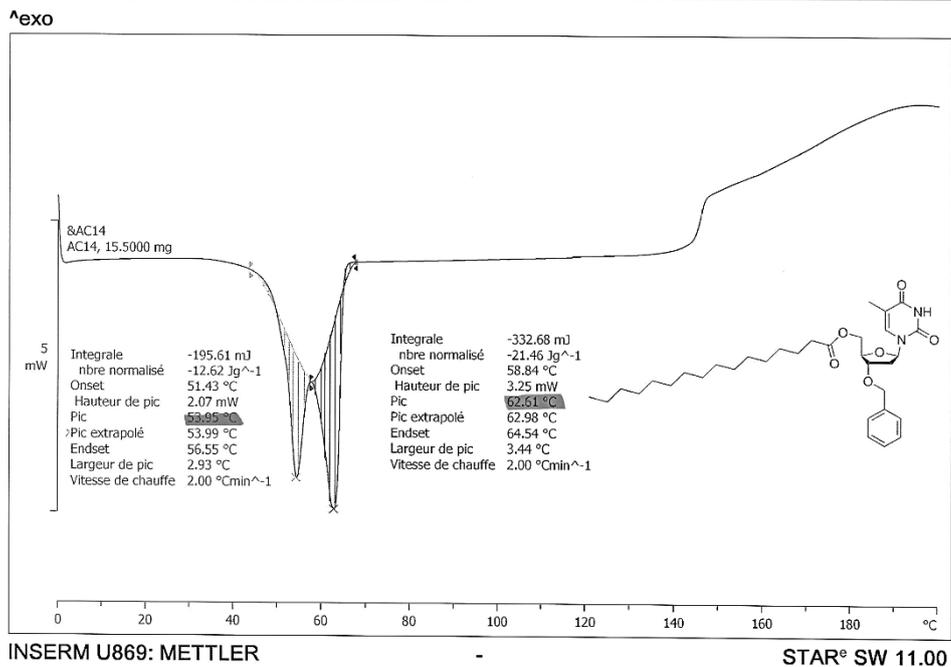
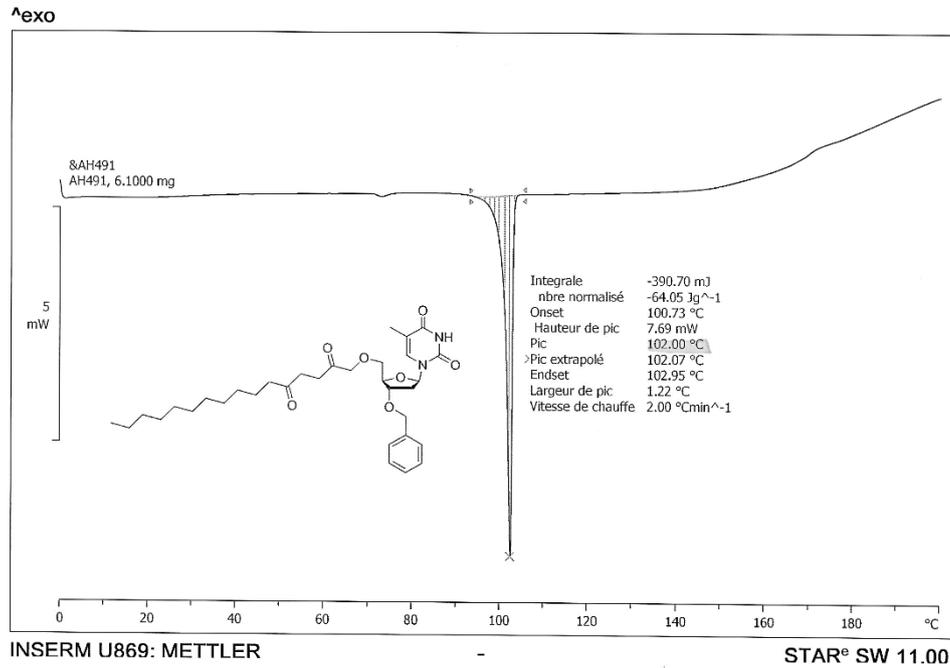
*Sol-Gel transition of nucleolipid **163** based oleogel 5 % w/w in soybean oil*

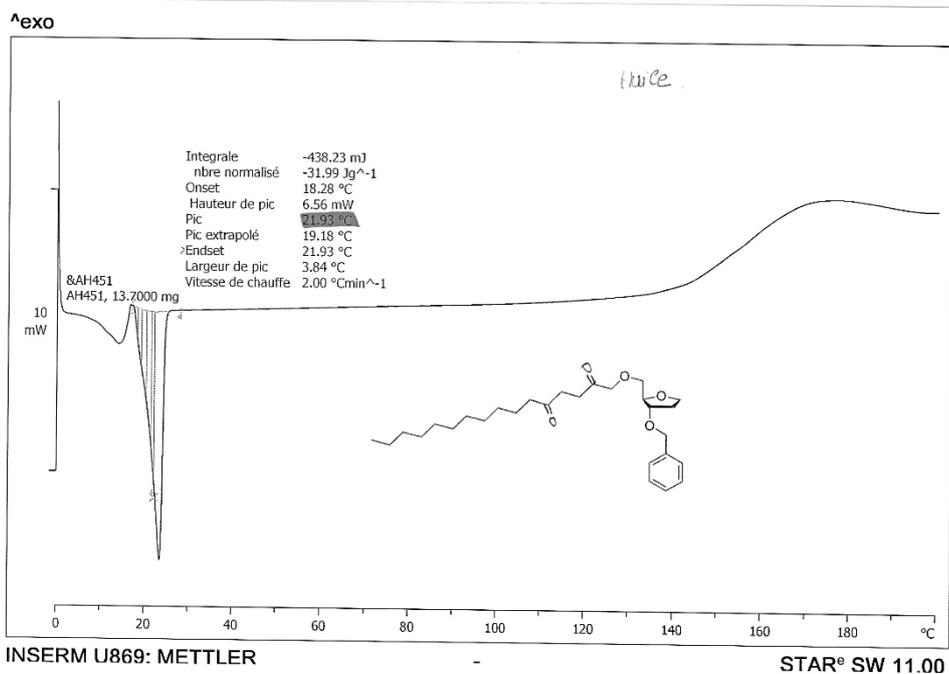
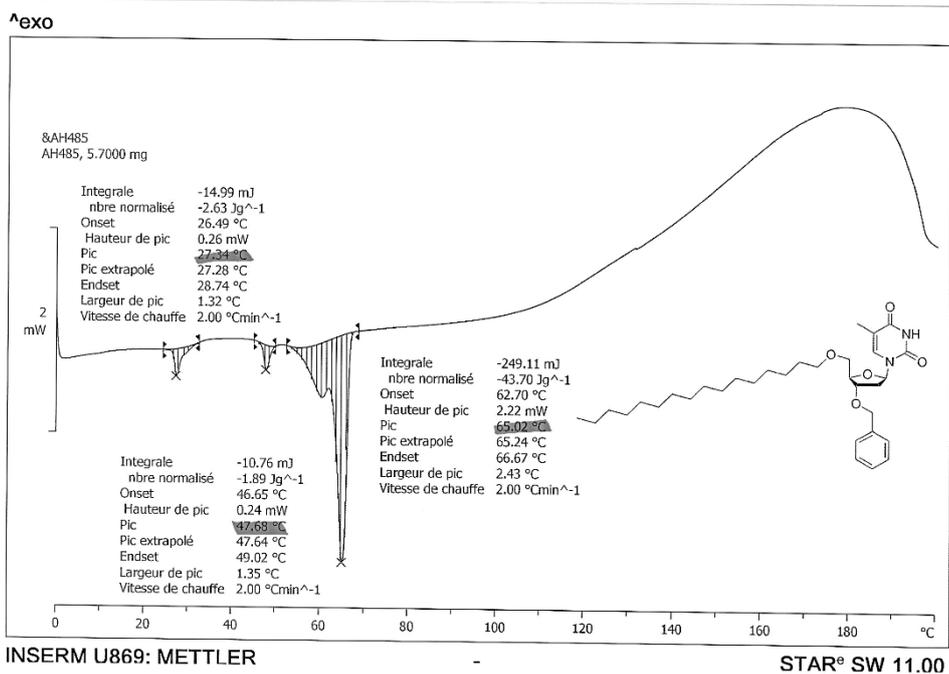


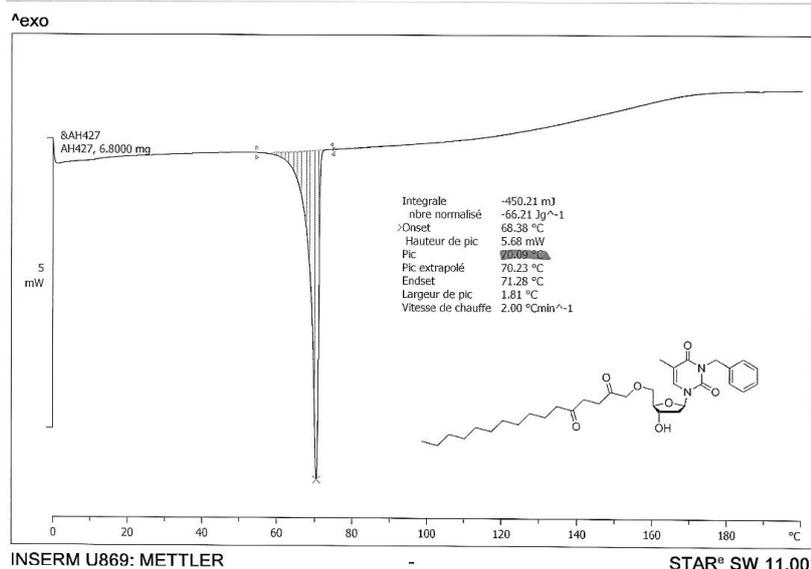
*Frequency sweep experiment of compound **172** 5 % w/w in Miglyol[®] 812N*

Differential Scanning Calorimetry

Differential scanning calorimetry (DSC) experiments were performed on a Mettler Toledo analyzer (DSC 1 STARe System, Singapore). Compounds were weighted and sealed into 40 μL aluminum crucibles and submitted to a heating step from 0 to 200 $^{\circ}\text{C}$ at a heating rate of 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

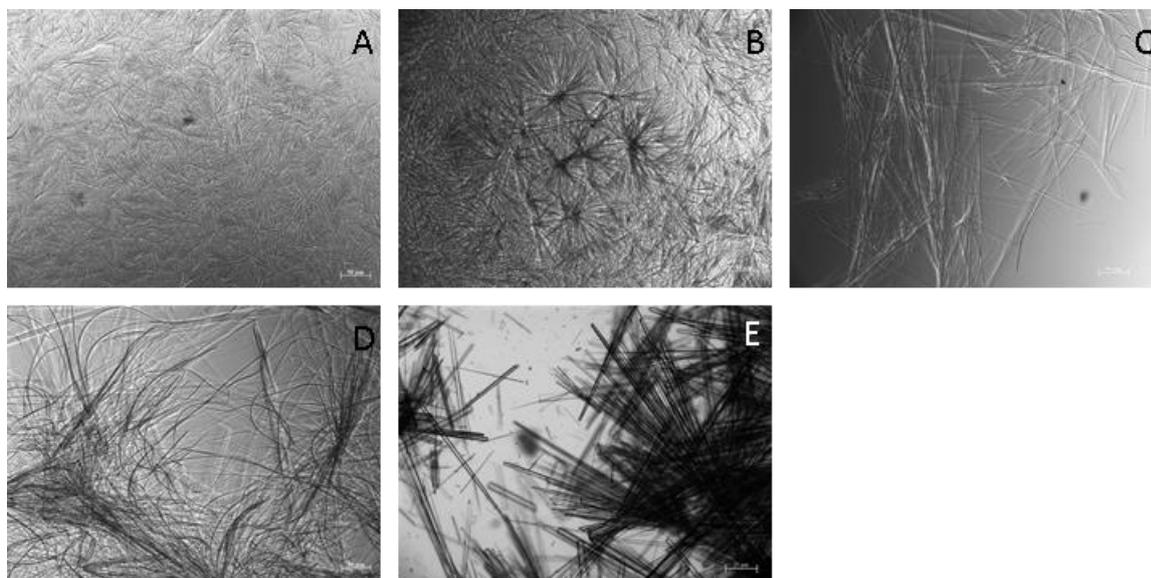






Optic and electronic microscopy

Optical microscopy was performed using a Zeiss Axiovert 200 inverted light microscope linked to an AxioCam MRm camera. Samples were observed between slide and slip cover without any staining. Transmission Electron Microscopy (TEM) was performed using a Hitachi H7650 linked to a orius SC1000 11MPx (GATAN) camera. Samples were transferred to a carbon-coated copper grid without negative staining.

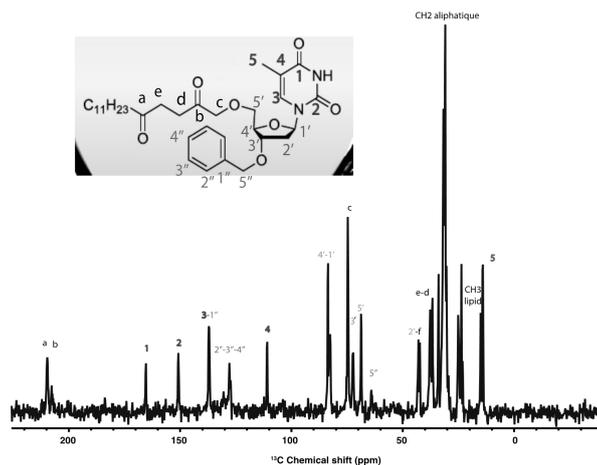


Optical observation of the oleogels. (A) **163** in Soybean oil 5% w/w (B) **163** in M812N 5% w/w (C) **163** in M812N 1.8% w/w (D) **163** in M812N 1% w/w (E) **162** in M812N 5% w/w

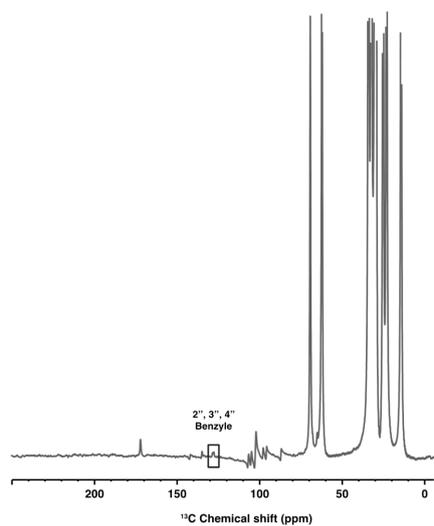
Results

Optical observation of the samples reveals multiples supramolecular arrangement depending on the oil phase (i), the chemical structure (ii) and the concentration of the molecule (iii). The oil medium induces changes in the supramolecular shape of **163** at 5% w/w. In Miglyol® 812N, fibers appear more structured (figure 1A and 1B). Moreover, molecule concentration has an impact on the fiber shape. At lower concentration fiber appear longer and less rigid (figure 1B, 1C and 1D).

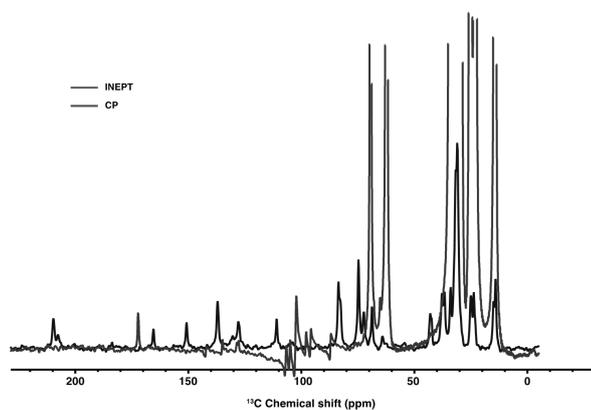
Solid NMR Gel Study



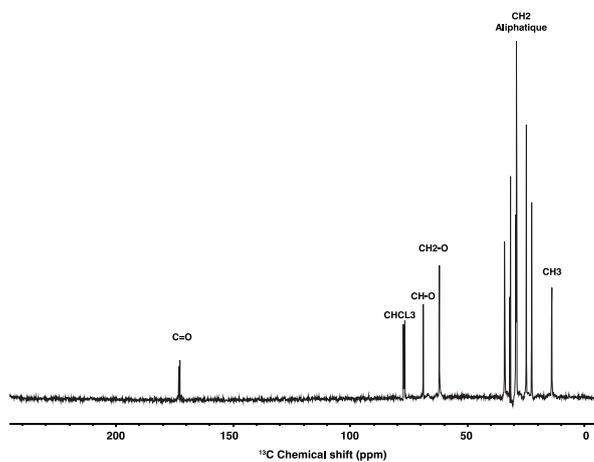
Solid phase ^{13}C -CP-NMR spectra of the oleogel. (273 K, spinning speed 11 KHz, 600 MHz)



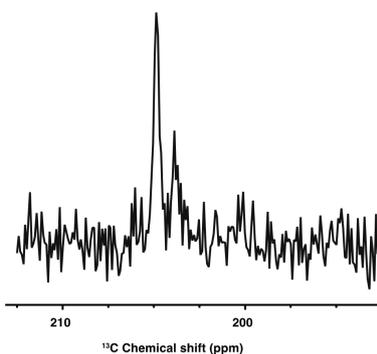
Solid phase ^{13}C -INEPT-NMR spectra of the oleogel. (273 K, spinning speed 11 KHz, 600 MHz)



Superposition of INEPT and CP ^{13}C -NMR spectra



Liquid phase ^{13}C -NMR spectra of miglyol 812N (CDCl_3). (Oil/ CHCl_3 = 10/90, 298K, 400MHz)



Zoom on 200 to 210 ppm domain of CP spectra of the oleogel. There is a significative difference in intensities between the two peaks corresponding to the carbonyls of the 1,4-diketone moiety

Bibliographie

- [1] Migonney, V. *Biomaterials* ; John Wiley and Sons, 2014 ; p 13.
- [2] Grumezescu, A. M. *Engineering of nanobiomaterials : applications of nanobiomaterials* ; Elsevier : Boston, MA, 2016.
- [3] Lehn, J.-M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 89–112.
- [4] Amabilino, D. B. ; Smith, D. K. ; Steed, J. W. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2404–2420.
- [5] Watson, J. D. ; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 737–738.
- [6] Hu, X.-Y. ; Wang, L. *Supramolecular Chemistry* **2018**, *30*, 664–666.
- [7] Webber, M. J. ; Appel, E. A. ; Meijer, E. W. ; Langer, R. *Nature Materials* **2016**, *15*, 13–26.
- [8] de Vries, J. W. ; Zhang, F. ; Herrmann, A. *J. Controlled Release* **2013**, *172*, 467–483.
- [9] Seeman, N. C. *Annual Review of Biochemistry* **2010**, *79*, 65–87.
- [10] Yang, D. ; Hartman, M. R. ; Derrien, T. L. ; Hamada, S. ; An, D. ; Yancey, K. G. ; Cheng, R. ; Ma, M. ; Luo, D. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1902–1911.
- [11] Peters, G. M. ; Davis, J. T. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 3188–3206.
- [12] Voet, D. ; Rich, A. In *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* ; Davidson, J. N., Cohn, W. E., Eds. ; Academic Press, 1970 ; Vol. 10 ; pp 183–265.
- [13] Westhof, E. ; Fritsch, V. *Structure* **2000**, *8*, R55–R65.
- [14] Pu, F. ; Ren, J. ; Qu, X. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 1285–1306.
- [15] Dash, J. ; Patil, A. J. ; Das, R. N. ; Dowdall, F. L. ; Mann, S. *Soft Matter* **2011**, *7*, 8120.
- [16] Larsson, K., Ed. *Lipids : structure, physical properties and functionality* ; Oily Press lipid library 19 ; Oily Press : Bridgwater, 2006 ; OCLC : 255754205.

-
- [17] Gurr, M. I.; Harwood, J. L.; Frayn, K. N. *Lipid biochemistry*, 5th ed.; Blackwell Science : Malden, Mass, 2002.
- [18] Latxague, L.; Gaubert, A.; Maleville, D.; Baillet, J.; Ramin, M.; Barthélémy, P. *Gels* **2016**, *2*, 25.
- [19] Zhang, G.; Bhopatkar, D.; Hamaker, B. R.; Campanella, O. H. In *Nanotechnology and Functional Foods*; Sabliov, C. M., Chen, H., Yada, R. Y., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd : Chichester, UK, 2015; pp 263–271.
- [20] Kulkarni, C. *Cosmetics* **2016**, *3*, 37.
- [21] Sapala, A. R.; Dhawan, S.; Haridas, V. *RSC Advances* **2017**, *7*, 26608–26624.
- [22] Baillet, J.; Desvergnès, V.; Hamoud, A.; Latxague, L.; Barthélémy, P. *Adv. Mater.* **2018**, *30*, 1705078.
- [23] Allain, V.; Bourgaux, C.; Couvreur, P. *Nucleic Acids Res.* **2012**, *40*, 1891–1903.
- [24] Rosemeyer, H. *Chemistry & Biodiversity* **2005**, *2*, 977–1063.
- [25] Paulus, H.; Kennedy, E. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6689–6690.
- [26] Agranoff, B. W. *J. Biol. Chem.* **1958**, *233*, 8.
- [27] Takatsuki, A.; Arima, K.; Tamura, G. *The Journal of Antibiotics* **1971**, *9*.
- [28] Eckardt, K. *J. Nat. Prod.* **1983**, *46*, 544–550.
- [29] Godeau, G. Amphiphiles bioinspirés dérivés d'acides nucléiques. Ph.D. thesis, université de Bordeaux, 2009.
- [30] Funabashi, M.; Baba, S.; Nonaka, K.; Hosobuchi, M.; Fujita, Y.; Shibata, T.; Van Lanen, S. G. *ChemBioChem* **2010**, *11*, 184–190.
- [31] Abdjul, D. B.; Yamazaki, H.; Kanno, S.-i.; Takahashi, O.; Kirikoshi, R.; Ukai, K.; Namikoshi, M. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 1428–1433.
- [32] Sjögren, M.; Dahlström, M.; Hedner, E.; Jonsson, P. R.; Vik, A.; Gundersen, L.-L.; Bohlin, L. *Biofouling* **2008**, *24*, 251–258.
- [33] Damaraju, V. L.; Damaraju, S.; Young, J. D.; Baldwin, S. A.; Mackey, J.; Sawyer, M. B.; Cass, C. E. *Oncogene* **2003**, *22*, 7524–7536.
- [34] Ellison, R. R.; Carey, R. W.; Holland, J. F. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **1967**, *8*, 800–809.
- [35] Keane, N.; Freeman, C.; Swords, R.; Giles, F. J. *Expert Review of Hematology* **2013**, *6*, 9–24.
-

-
- [36] Neil, C. L.; Wiley, P. F.; Manak, R. C.; Moxley, T. E. **1970**, *9*.
- [37] MacCoss, M.; Ryu, E. K.; Matsushita, T. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1978**, *85*, 714–723.
- [38] Matsushita, T.; Ryu, E. K.; Hong, C. I.; MacCoss, M. *Cancer Research* **1981**, *41*, 2707–2713.
- [39] Ryu, E. K.; Ross, R. J.; Matsushita, T.; MacCoss, M.; Hong, C. I.; West, C. R. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 1322–1329.
- [40] Chabaud, P.; Camplo, M.; Payet, D.; Serin, G.; Moreau, L.; Barthélémy, P.; Grinstaff, M. W. *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 466–472.
- [41] Kimura, T.; Watanabe, K.; Tateoka, Y.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 1180–1182.
- [42] Yamamoto, I.; Kimura, T.; Tateoka, Y.; Watanabe, K.; Ho, I. K. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 2227–2231.
- [43] Simeone, L.; Mangiapia, G.; Irace, C.; Di Pascale, A.; Colonna, A.; Ortona, O.; De Napoli, L.; Montesarchio, D.; Paduano, L. *Molecular BioSystems* **2011**, *7*, 3075.
- [44] Simeone, L.; Mangiapia, G.; Vitiello, G.; Irace, C.; Colonna, A.; Ortona, O.; Montesarchio, D.; Paduano, L. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 758–770.
- [45] Plagemann, P. G.; Woffendin, C. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **1989**, *1010*, 7–15.
- [46] Abu-Zaied, M. A.; Elgemeie, G. H. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2017**, *36*, 713–725.
- [47] Srivastava, P. C.; Pickering, M. V.; Allen, L. B.; Streeter, D. G.; Campbell, M. T.; Witkowski, J. T.; Sidwell, R. W.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 256–262.
- [48] Yoshimasa Uehara; Fisher, J. M.; Rabinovitz, M. *Biochemical Pharmacology* **1980**, *29*, 2199–2204.
- [49] Kovacs, L.; Herczegh, P.; Batta, G.; Farkas, I. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 5539–5548.
- [50] De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 2301–2311.
- [51] Roy, B.; Depaix, A.; Périgaud, C.; Peyrottes, S. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 7854–7897.
- [52] Pradere, U.; Garnier-Amblard, E. C.; Coats, S. J.; Amblard, F.; Schinazi, R. F. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 9154–9218.
- [53] Tsybul'skaya, I.; Kulak, T.; Baranovsky, A.; Golubeva, M.; Kuzmitsky, B.; Kalinichenko, E. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21*, 5414–5419.
-

-
- [54] Gangadhara, K. L. ; Srivastava, P. ; Rozenski, J. ; Mattelaer, H.-P. ; Leen, V. ; Dehaen, W. ; Hofkens, J. ; Lescrinier, E. ; Herdewijn, P. *Journal of Systems Chemistry* **2014**, *5*.
- [55] Xu, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 3777–3783.
- [56] Girard, P.-M. ; Pegram, P. S. ; Diquet, B. ; Anderson, R. ; Raffi, F. ; Tubiana, R. ; Sereni, D. ; Boerner, D. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* **2000**, *23*, 227.
- [57] Galmarini, C. ; Popowycz, F. ; Joseph, B. *Current Medicinal Chemistry* **2008**, *15*, 1072–1082.
- [58] Jordheim, L. P. ; Durantel, D. ; Zoulim, F. ; Dumontet, C. *Nature Reviews Drug Discovery* **2013**, *12*, 447–464.
- [59] DiNardo, C. D. ; O'Brien, S. ; Gandhi, V. V. ; Ravandi, F. *Future Oncology* **2013**, *9*, 1073–1082.
- [60] Nuthanakanti, A. ; Srivatsan, S. G. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2017**, *9*, 22864–22874.
- [61] Yun, Y. J. ; Park, S. M. ; Kim, B. H. *Chem. Commun.* **2003**, 254–255.
- [62] Suthagar, K. ; Jiao, W. ; Munier-Lehmann, H. ; Fairbanks, A. J. *Carbohydr. Res.* **2018**, *457*, 32–40.
- [63] Vernekar, S. K. V. ; Qiu, L. ; Zacharias, J. ; Geraghty, R. J. ; Wang, Z. *Med. Chem. Commun.* **2014**, *5*, 603–608.
- [64] Bege, M. ; Bereczki, I. ; Herczeg, M. ; Kicsák, M. ; Eszenyi, D. ; Herczegh, P. ; Borbás, A. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 9226–9233.
- [65] Tsuji, T. ; Takenaka, K. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **1987**, *6*, 575–580.
- [66] Bothwell, I. R. ; Luo, M. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3056–3059.
- [67] Perrone, P. ; Daverio, F. ; Valente, R. ; Rajyaguru, S. ; Martin, J. A. ; Lévêque, V. ; Pogam, S. L. ; Najera, I. ; Klumpp, K. ; Smith, D. B. ; McGuigan, C. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5463–5470.
- [68] Wojtczak, B. A. ; Sikorski, P. J. ; Fac-Dabrowska, K. ; Nowicka, A. ; Warminski, M. ; Kubacka, D. ; Nowak, E. ; Nowotny, M. ; Kowalska, J. ; Jemielity, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 5987–5999.
- [69] Chapuis, H. ; Bui, L. ; Bestel, I. ; Barthélémy, P. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6838–6840.
-

-
- [70] Kaczmarek, O.; Scheidt, H. A.; Bunge, A.; Föse, D.; Karsten, S.; Arbuzova, A.; Huster, D.; Liebscher, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010*, 1579–1586.
- [71] Mandoli, A. *Molecules* **2016**, *21*, 1174.
- [72] Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- [73] Wang, Q.; Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Finn, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3192–3193.
- [74] Zou, Y.; Zhang, L.; Yang, L.; Zhu, F.; Ding, M.; Lin, F.; Wang, Z.; Li, Y. *J. Controlled Release* **2018**, *273*, 160–179.
- [75] Xu, Z.; Bratlie, K. M. *ACS Biomaterials Science & Engineering* **2018**, *4*, 2276–2291.
- [76] Arseneault, M.; Wafer, C.; Morin, J.-F. *Molecules* **2015**, *20*, 9263–9294.
- [77] Evans, R. A. *Aust. J. Chem.* **2007**, *60*, 384.
- [78] Heravi, M. M.; Zadsirjan, V.; Dehghani, M.; Ahmadi, T. *Tetrahedron* **2018**, *74*, 3391–3457.
- [79] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.
- [80] Godeau, G.; Barthélémy, P. *Langmuir* **2009**, *25*, 8447–8450.
- [81] Arigon, J.; Prata, C. A. H.; Grinstaff, M. W.; Barthélémy, P. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 864–872.
- [82] Dolain, C.; Patwa, A.; Godeau, G.; Barthélémy, P. *Applied Sciences* **2012**, *2*, 245–259.
- [83] Godeau, G.; Brun, C.; Arnion, H.; Staedel, C.; Barthélémy, P. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1012–1015.
- [84] Ziane, S.; Schlaubitz, S.; Miraux, S.; Patwa, A.; Lalande, C.; Bilem, I.; Lepreux, S.; Rousseau, B.; Le Meins, J.-F.; Latxague, L.; Barthélémy, P.; Chassande, O. *European Cells and Materials* **2012**, *23*, 147–160.
- [85] Maisani, M.; Sindhu, K. R.; Fenelon, M.; Siadous, R.; Rey, S.; Mantovani, D.; Chassande, O. *Drug Delivery and Translational Research* **2018**, *8*, 178–190.
- [86] Kim, J.; Kim, I. S.; Cho, T. H.; Kim, H. C.; Yoon, S. J.; Choi, J.; Park, Y.; Sun, K.; Hwang, S. J. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2010**, *95A*, 673–681.
- [87] Fuhrhop, J.-H.; Wang, T. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2901–2938.
- [88] Latxague, L.; Ramin, M. A.; Appavoo, A.; Berto, P.; Maisani, M.; Ehret, C.; Chassande, O.; Barthélémy, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4517–4521.
-

-
- [89] Livage, J. Quand l'air et l'eau remplacent le pétrole. *Le Monde* **1977**,
- [90] Livage, J. Vers une chimie douce bio-inspirée. *L'actualité Chimique* **2011**, 348–349.
- [91] Lin, Y.; Mao, C. *Frontiers of Materials Science* **2011**, *5*, 247–265.
- [92] Dujardin, E.; Mann, S. *Advanced Engineering Materials* **2002**, *4*, 461–474.
- [93] Barroux, R. Le biomimétisme, ou comment s'inspirer de la nature plutôt que la détruire. *Le Monde* **2016**,
- [94] Vullev, V. I. *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 503–508.
- [95] Rajeshwar, K. *Interface magazine* **2012**, *21*, 3–3.
- [96] Zhao, Y.; Sakai, F.; Su, L.; Liu, Y.; Wei, K.; Chen, G.; Jiang, M. *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 5215–5256.
- [97] Wu, P.; Castner, D. G.; Grainger, D. W. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **2008**, *19*, 725–753.
- [98] Poupon, E.; Nay, B. *Biomimetic Organic Synthesis*; Wiley-Blackwell, 2011.
- [99] Gravel, E.; Poupon, E. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 27–42.
- [100] Denizot, N.; Lachkar, D.; Kouklovsky, C.; Poupon, E.; Evanno, L.; Vincent, G. *Synthesis* **2018**, 14.
- [101] Jarret, M.; Tap, A.; Kouklovsky, C.; Poupon, E.; Evanno, L.; Vincent, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 12294–12298.
- [102] Skiredj, A.; Beniddir, M. A.; Joseph, D.; Leblanc, K.; Bernadat, G.; Evanno, L.; Poupon, E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6419–6424.
- [103] Rueping, M.; Dufour, J.; Schoepke, F. R. *Green Chem.* **2011**, *13*, 1084.
- [104] Boersma, A. J.; Megens, R. P.; Feringa, B. L.; Roelfes, G. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2083.
- [105] Hooley, R. J. *Nature Chemistry* **2016**, *8*, 202–204.
- [106] White, M. C. *Science* **2012**, *335*, 807–809.
- [107] Megens, R. P.; Roelfes, G. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1387.
- [108] Goodman, R. P.; Calvo, S. E.; Mootha, V. K. *J. Biol. Chem.* **2018**, *293*, 7508–7516.
- [109] Barbe, G.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 18–19.
- [110] Stetter, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1976**, *15*, 639–647.
-

-
- [111] Gravel, M.; Holmes, J. *Comprehensive Organic Synthesis II*; Elsevier, 2014; pp 1384–1406.
- [112] Mizuhara, S.; Handler, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 571–573.
- [113] Pang, S. S.; Duggleby, R. G.; Schowen, R. L.; Guddat, L. W. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 2242–2253.
- [114] Williamson, N. R.; Simonsen, H. T.; Ahmed, R. A. A.; Goldet, G.; Slater, H.; Woodley, L.; Leeper, F. J.; Salmond, G. P. C. *Molecular Microbiology* **2005**, *56*, 971–989.
- [115] Stankovic, N.; Senerovic, L.; Ilic-Tomic, T.; Vasiljevic, B.; Nikodinovic-Runic, J. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2014**, *98*, 3841–3858.
- [116] Beigi, M.; Waltzer, S.; Zarei, M.; Müller, M. *Journal of Biotechnology* **2014**, *191*, 64–68.
- [117] Yetra, S.; Patra, A.; Biju, A. *Synthesis* **2015**, *47*, 1357–1378.
- [118] Ren, Q.; Li, M.; Yuan, L.; Wang, J. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 4731–4749.
- [119] Haghshenas, P.; Langdon, S.; Gravel, M. *Synlett* **2017**, *28*, 542–559.
- [120] Paal, C. Synthese von Thiophen- und Pyrrolderivaten. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1885**, *18*, 2251–2254.
- [121] Campaigne, E.; Foye, W. O. The Synthesis of 2,5-Diarylthiophenes. *Contribution No 548 from the Chemistry Laboratory of Indiana University* **1952**, 1405–1412.
- [122] Mattson, A. E.; Bharadwaj, A. R.; Zuhl, A. M.; Scheidt, K. A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5715–5724.
- [123] Crawford, J. J. et al. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8827–8837.
- [124] Hörnfeldt, A.-B. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A. R., Ed.; Academic Press, 1982; Vol. 30; pp 127–166.
- [125] Seebach, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 239–258.
- [126] Hilgenkamp, R.; Zercher, C. K. *Tetrahedron* **2001**, 8793–8800.
- [127] Xue, S.; Li, L.-Z.; Liu, Y.-K.; Guo, Q.-X. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 215–218.
- [128] Voituriez, A.; Zimmer, L. E.; Charette, A. B. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1244–1250.
- [129] Yasuda, M.; Tsuji, S.; Shigeyoshi, Y.; Baba, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7440–7447.
- [130] Liu, C.; Deng, Y.; Wang, J.; Yang, Y.; Tang, S.; Lei, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7337–7341.
-

-
- [131] DeMartino, M. P. ; Chen, K. ; Baran, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11546–11560.
- [132] Seebach, D. ; Corey, E. J. *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 231–237.
- [133] GRÖBEL, B.-T. ; SEEBACH, D. *Synthesis* **1977**, *1977*, 357–402.
- [134] Flanigan, D. M. ; Romanov-Michailidis, F. ; White, N. A. ; Rovis, T. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 9307–9387.
- [135] Garapati, V. K. R. ; Gravel, M. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 6372–6375.
- [136] Xuan, J. ; Feng, Z.-J. ; Chen, J.-R. ; Lu, L.-Q. ; Xiao, W.-J. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 3045–3049.
- [137] Yang, J. ; Mei, F. ; Fu, S. ; Gu, Y. *Green Chem.* **2018**, *20*, 1367–1374.
- [138] Grondal, C. ; Jeanty, M. ; Enders, D. *Nature Chemistry* **2010**, *2*, 167–178.
- [139] Hsu, D.-S. ; Liou, C.-Y. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 4990–4995.
- [140] Nicolaou, K. C. ; Tang, Y. ; Wang, J. *Chem. Commun.* **2007**, 1922–1923.
- [141] Shi, H. ; Michaelides, I. N. ; Darses, B. ; Jakubec, P. ; Nguyen, Q. N. N. ; Paton, R. S. ; Dixon, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 17755–17758.
- [142] Wöhler, ; Liebig, *Annalen der Pharmacie* **1832**, *3*, 249–282.
- [143] Gaggero, N. ; Pandini, S. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 6867–6887.
- [144] Ukai, *Yakugaku Zasshi* **1943**, *63*, 296–300.
- [145] Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3719–3726.
- [146] Chevrier, B. ; Weiss, R. *Angewandte Chemie* **1974**, *86*, 12–21.
- [147] Rej, R. K. ; Acharyya, R. K. ; Nanda, S. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 4931–4937.
- [148] Wurz, N. E. ; Daniliuc, C. G. ; Glorius, F. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 16297–16301.
- [149] Kim, S. M. ; Jin, M. Y. ; Kim, M. J. ; Cui, Y. ; Kim, Y. S. ; Zhang, L. ; Song, C. E. ; Ryu, D. H. ; Yang, J. W. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 2069.
- [150] Kuniyil, R. ; Sunoj, R. B. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5040–5043.
- [151] Rafiński, Z. *ChemCatChem* **2016**, *8*, 2599–2603.
- [152] Alvarez, F. J. ; Ermer, J. ; Huebner, G. ; Schellenberger, A. ; Schowen, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8402–8409.
- [153] Bordwell, F. G. ; Satish, A. V. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 985–990.
-

-
- [154] Magill, A. M.; Cavell, K. J.; Yates, B. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8717–8724.
- [155] Nelson, D. J.; Nolan, S. P. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6723.
- [156] Maji, B.; Breugst, M.; Mayr, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6915–6919.
- [157] Denk, M. K.; Rodezno, J. M.; Gupta, S.; Lough, A. J. *J. Organomet. Chem.* **2001**, *12*.
- [158] More, J. D.; Finney, N. S. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3001–3003.
- [159] Varizhuk, A.; Chizhov, A.; Smirnov, I.; Kaluzhny, D.; Florentiev, V. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 2173–2179.
- [160] Knipe, A. In *Organic Reaction Mechanisms Series*; Knipe, A. C., Ed.; John Wiley & Sons, Ltd : Chichester, UK, 2015; pp 1–50.
- [161] Albers, A. E.; Drake, P. M.; Rabuka, D. In *Chemical Ligations*; D'Andrea, L. D., Romanelli, A., Eds.; John Wiley & Sons, Inc. : Hoboken, NJ, USA, 2017; pp 339–353.
- [162] Gust, B.; Eitel, K.; Tang, X. *Biological Chemistry* **2013**, *394*.
- [163] Yang, Z.; Chi, X.; Funabashi, M.; Baba, S.; Nonaka, K.; Pahari, P.; Unrine, J.; Jacobsen, J. M.; Elliott, G. I.; Rohr, J.; Van Lanen, S. G. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 7885–7892.
- [164] Beller, M.; Bolm, C. *Transition Metals for Organic Synthesis*. **2004**,
- [165] Roy, V.; Colombeau, L.; Zerrouki, R.; Krausz, P. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1829–1831.
- [166] Teste, K.; Colombeau, L.; Hadj-Bouazza, A.; Lucas, R.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Champavier, Y. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1490–1495.
- [167] Maturano, M.; Catana, D.-A.; Lavedan, P.; Tarrat, N.; Saffon, N.; Payrastre, C.; Escudier, J.-M. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 721–730.
- [168] Somoza, Á. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 2668.
- [169] Pappo, R.; Allen, D. S., Jr.; Lemieux, R. U.; Johnson, W. S. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478–479.
- [170] Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217–3219.
- [171] Nahm, S.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815–3818.
- [172] Ye, H.; Liu, R.; Li, D.; Liu, Y.; Yuan, H.; Guo, W.; Zhou, L.; Cao, X.; Tian, H.; Shen, J.; Wang, P. G. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 18–21.
-

-
- [173] Labarre-Lainé, J. Approches synthétiques au fragment bis-spirocétal du 13-desméthyle spirolide C. Ph.D. thesis, université de Bordeaux, 2014.
- [174] Graham, S. L. ; Scholz, T. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6269–6272.
- [175] Boufroua, H. ; Seville, L. ; Gigant, N. ; Drège, E. ; Joseph, D. *New J. Chem.* **2018**, *42*, 12403–12411.
- [176] Liu, W. ; Li, H. ; Qin, H. ; Zhao, W. ; Zhou, C. ; Jiang, S. ; Yang, C. *Chemical Research in Chinese Universities* **2017**, *33*, 213–220.
- [177] Tureček, F. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1987**, *24*, 73–82.
- [178] Guo, L.-D. ; Huang, X.-Z. ; Luo, S.-P. ; Cao, W.-S. ; Ruan, Y.-P. ; Ye, J.-L. ; Huang, P.-Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4064–4068.
- [179] Omura, K. ; Sharma, A. K. ; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 957–962.
- [180] Omura, K. ; Swern, D. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651–1660.
- [181] Huang, S. L. ; Omura, K. ; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 3329–3331.
- [182] Mancuso, A. J. ; Brownfain, D. S. ; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4148–4150.
- [183] Tidwell, T. T. *Organic Reactions* ; American Cancer Society, 2004 ; pp 297–555.
- [184] Shirouzu, T. ; Watari, K. ; Ono, M. ; Koizumi, K. ; Saiki, I. ; Tanaka, C. ; van Soest, R. W. M. ; Miyamoto, T. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 1337–1342.
- [185] Phillips, E. M. ; Wadamoto, M. ; Roth, H. S. ; Ott, A. W. ; Scheidt, K. A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 105–108.
- [186] Wang, L. ; Thai, K. ; Gravel, M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 891–893.
- [187] Ling, K. B. ; Smith, A. D. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 373–375.
- [188] Kost, D. ; Kalikhman, I. In *The Chemistry of Functional Groups* ; Rappoport, Z., Apeloig, Y., Eds. ; John Wiley & Sons, Ltd : Chichester, UK, 1998 ; Vol. 2 ; pp 1339–1445.
- [189] Wegert, A. ; Behr, J.-B. ; Hoffmann, N. ; Miethchen, R. ; Portella, C. ; Plantier-Royon, R. *Synthesis* **2006**, 2343–2348.
- [190] Labarre-Lainé, J. ; Beniazza, R. ; Desvergnés, V. ; Landais, Y. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4706–4709.
- [191] Brook, A. G. ; Duff, J. M. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 352–360.
- [192] Paal, C. Ueber die Derivate des Acetophenonacetessigesters und des Acetylacetessigesters. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1884**, *17*, 2756–2767.
-

-
- [193] Knorr, L. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1884**, *17*, 2863–2870.
- [194] Minetto, G.; Raveglia, L. F.; Taddei, M. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 389–392.
- [195] Padwa, A.; Rodriguez, A.; Tohidi, M.; Fukunaga, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 933–943.
- [196] Mayr, J.; Saldías, C.; Díaz Díaz, D. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 1484–1515.
- [197] O’Sullivan, C. M.; Barbut, S.; Marangoni, A. G. *Trends in Food Science & Technology* **2016**, *57*, 59–73.
- [198] Dassanayake, L. S. K.; Kodali, D. R.; Ueno, S. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2011**, *16*, 432–439.
- [199] Singh, A.; Auzanneau, F.-I.; Rogers, M. *Food Research International* **2017**, *97*, 307–317.
- [200] Vintiloiu, A.; Leroux, J.-C. *J. Controlled Release* **2008**, *125*, 179–192.
- [201] Skilling, K. J.; Stocks, M. J.; Kellam, B.; Ashford, M.; Bradshaw, T. D.; Burroughs, L.; Marlow, M. *ChemMedChem* **2018**, *13*, 1098–1101.
- [202] Rogers, M. A.; Wright, A. J.; Marangoni, A. G. *Soft Matter* **2008**, *4*, 1483.
- [203] Daniel, J.; Rajasekharan, R. *Journal of the American Oil Chemists’ Society* **2003**, *80*, 417–421.
- [204] Gandolfo, F. G.; Bot, A.; Flöter, E. *Journal of the American Oil Chemists’ Society* **2004**, *81*, 1–6.
- [205] Co, E.; Marangoni, A. G. *Journal of the American Oil Chemists’ Society* **2013**, *90*, 529–544.
- [206] Ohsedo, Y.; Taniguchi, M.; Oono, M.; Saruhashi, K.; Watanabe, H. *New J. Chem.* **2015**, *39*, 6482–6490.
- [207] Bastiat, G.; Leroux, J.-C. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 3867.
- [208] Jadhav, S. R.; Vemula, P. K.; Kumar, R.; Raghavan, S. R.; John, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7695–7698.
- [209] Serebryany, V.; Karpeisky, A.; Matulic-Adamic, J.; Beigelman, L. *Synthesis* **2002**, 1652–1654.
- [210] Nuthanakanti, A.; Srivatsan, S. G. *Nanoscale* **2016**, *8*, 3607–3619.
- [211] Gao, Z.-H.; Crowley, W. R.; Shukla, A. J.; Johnson, J. R.; Reger, J. F. *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 864–868.
-

-
- [212] Gao, Z.-H.; Shukla, A. J.; Johnson, J. R.; Crowley, W. R. *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 857–863.
- [213] Plourde, F.; Motulsky, A.; Couffin-Hoarau, A.-C.; Hoarau, D.; Ong, H.; Leroux, J.-C. *J. Controlled Release* **2005**, *108*, 433–441.
- [214] Vintiloiu, A.; Lafleur, M.; Bastiat, G.; Leroux, J.-C. *Pharm. Res.* **2008**, *25*, 845–852.
- [215] Péntzes, T.; Csóka, I.; Erős, I. *Rheologica Acta* **2004**, *43*, 457–463.
- [216] Green, P.; Hadgraft, J.; Wolff, M. *Int. J. Pharm.* **1989**, *54*, R1–R3.
- [217] Murdan, S.; Gregoriadis, G.; Florence, A. T. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1999**, *8*, 177–185.
- [218] Lohith Kumar, D.; Sarkar, P. *Environmental Chemistry Letters* **2018**, *16*, 59–70.
- [219] Singh, Y.; Meher, J. G.; Raval, K.; Khan, F. A.; Chaurasia, M.; Jain, N. K.; Chourasia, M. K. *J. Controlled Release* **2017**, *252*, 28–49.
- [220] Samson, S.; Basri, M.; Fard Masoumi, H. R.; Abedi Karjiban, R.; Abdul Malek, E. *RSC Advances* **2016**, *6*, 17845–17856.
- [221] Tayeb, H. H.; Sainsbury, F. *Nanomedicine* **2018**,
- [222] Sengupta, P.; Chatterjee, B. *Int. J. Pharm.* **2017**, *526*, 353–365.
- [223] Choudhury, H.; Gorain, B.; Pandey, M.; Chatterjee, L. A.; Sengupta, P.; Das, A.; Molugulu, N.; Kesharwani, P. *J. Pharm. Sci.* **2017**, *106*, 1736–1751.
- [224] Anastas, P. T.; Heine, L. G.; Williamson, T. C. In *Green Chemical Syntheses and Processes*; Anastas, P. T., Heine, L. G., Williamson, T. C., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, 2000; Vol. 767; pp 1–6.
- [225] Clark, J. H.; Tavener, S. J. *Organic Process Research & Development* **2007**, *11*, 149–155.
- [226] Lipshutz, B. H.; Ghorai, S. *Green Chem.* **2014**, *16*, 3660–3679.
- [227] Butler, R. N.; Coyne, A. G. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 9945–9960.
- [228] Raj, M.; Singh, V. K. *Chem. Commun.* **2009**, 6687.
- [229] Jimeno, C. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 6147–6164.
- [230] Lipshutz, B. H.; Ghorai, S.; Cortes-Clerget, M. *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 6672–6695.
- [231] Woodward, R. B.; Baer, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 1161–1166.
- [232] Rideout, D. C.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816–7817.
-

-
- [233] Paladhi, S. ; Bhati, M. ; Panda, D. ; Dash, J. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 1473–1480.
- [234] Portmann, R. Patent US 6156907A, 2000.
- [235] Iwamoto, K.-i. ; Kimura, H. ; Oike, M. ; Sato, M. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 912.
- [236] Iwamoto, K.-i. ; Hamaya, M. ; Hashimoto, N. ; Kimura, H. ; Suzuki, Y. ; Sato, M. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7175–7177.
- [237] Duclos, J. M. ; Haake, P. *Biochemistry* **1974**, *13*, 5358–5362.
- [238] Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1762–1763.
- [239] Hollóczki, O. ; Terleczyk, P. ; Szieberth, D. ; Mourgas, G. ; Gudat, D. ; Nyulászi, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 780–789.
- [240] Bi, X. ; Wu, L. ; Yan, C. ; Jing, X. ; Zhu, H. *Journal of the Chilean Chemical Society* **2011**, *56*, 663–664.
- [241] Zhao, H. ; Foss, F. W. ; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12590–12591.
- [242] Yao, C. ; Wang, D. ; Lu, J. ; Qin, B. ; Zhang, H. ; Li, T. ; Yu, C. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6162–6165.
- [243] Hoop, K. A. ; Kennedy, D. C. ; Mishki, T. ; Lopinski, G. P. ; Pezacki, J. P. *Can. J. Chem.* **2012**, *90*, 262–270.
- [244] Yan, J. ; Sun, R. ; Shi, K. ; Li, K. ; Yang, L. ; Zhong, G. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 7547–7552.
- [245] Dawson, A. ; Fyfe, P. K. ; Hunter, W. N. *J. Mol. Biol.* **2008**, *384*, 1353–1368.
- [246] Jiang, M. ; Cao, Y. ; Guo, Z.-F. ; Chen, M. ; Chen, X. ; Guo, Z. *Biochemistry* **2007**, *46*, 10979–10989.
- [247] Myers, M. C. ; Bharadwaj, A. R. ; Milgram, B. C. ; Scheidt, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14675–14680.
- [248] Yamashita, K. ; Osaki, T. ; Sasaki, K. ; Yokota, H. ; Oshima, N. ; Nango, M. ; Tsuda, K. *Journal of Polymer Science Part A : Polymer Chemistry* **1994**, *32*, 1711–1717.
- [249] Hawkes, K. J. ; Yates, B. F. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5563–5570.
- [250] Chiang, P.-C. ; Rommel, M. ; Bode, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8714–8718.
- [251] Chiang, P.-C. ; Kim, Y. ; Bode, J. W. *Chem. Commun.* **2009**, 4566.
- [252] Binanzer, M. ; Hsieh, S.-Y. ; Bode, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 19698–19701.
- [253] Zhu, Y. ; Zajicek, J. ; Serianni, A. S. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6244–6251.
-

-
- [254] Zhang, J. ; Xing, C. ; Tiwari, B. ; Chi, Y. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 8113–8116.
- [255] Kalia, J. ; Raines, R. *Current Organic Chemistry* **2010**, *14*, 138–147.
- [256] KJEMS, J., Ferapontova, E., Gothelf, K. V., Eds. *Nucleic Acid Nanotechnology ; Nucleic Acids and Molecular Biology* ; Springer-Verlag : Berlin Heidelberg, 2014.
- [257] Gissot, A. ; Di Primo, C. ; Bestel, I. ; Giannone, G. ; Chapuis, H. ; Barthélémy, P. *Chem. Commun.* **2008**, 5550.
- [258] Maturano, M. ; Catana, D.-A. ; Lavedan, P. ; Tarrat, N. ; Saffon, N. ; Payraastre, C. ; Escudier, J.-M. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 721–730.

Conception et synthèse bioinspirée de nucléolipides pour l'élaboration de biomatériaux

Résumé : Les nucléolipides sont des molécules hybrides amphiphiles de faible poids moléculaire composées de deux parties liées de façon covalente : la première est un acide nucléique, un nucléotide, un nucléoside ou une nucléobase et la seconde un lipide. En combinant les propriétés physico-chimiques de deux des biomolécules parmi les plus représentées dans le vivant, les nucléolipides présentent la capacité à former des auto-assemblages supramoléculaires d'intérêt pour la conception de biomatériaux. L'étude des capacités d'auto-assemblage des GlycoNucléoLipides, qui possèdent un lien aromatique de type triazole, a démontré que la nature du lien covalent qui unit les deux parties du nucléolipide a un effet déterminant sur l'assemblage.

Ce travail a porté sur l'utilisation et le développement d'une réaction de Stetter, organocatalysée par des carbènes N-hétérocycliques et bioinspirée, pour obtenir un lien de type dicétone-1,4 entre la thymidine et différents lipides. Ce motif, précurseur de cycles hétéroaromatiques, a notamment conduit à la formation de liens de type pyrrole par une réaction de type Paal-Knorr. Les propriétés gélatrices de ces nucléolipides originaux ont été comparées à celles de ceux portant un motif triazole.

Parmi les nucléolipides obtenus, un composé particulièrement lipophile, porteur du lien 1,4-dicétone, a montré la capacité de former un gel dans des huiles (soit un oléogel). Une étude structure-propriétés a été effectuée pour comprendre le rôle de chaque partie de la molécule. Ce type de formulation présentant un intérêt tout particulier pour le développement de systèmes de délivrance contrôlée de substances actives lipophiles, les propriétés physicochimiques de cet oléogel ont par ailleurs été étudiées.

La réaction de Stetter présentant la plupart des caractéristiques d'une réaction dite de "chimie click", des conditions de réaction plus éco-compatibles et adaptées à la fonctionnalisation d'autres biomolécules ont ensuite été développées en milieu aqueux.

Mots clés : Organocatalyse, Bioinspiration, Réaction de Stetter, Carbènes, Nucléolipides, Gels

Bioinspired design and synthesis of nucleolipids for biomaterials conception

Abstract : Nucleolipids are hybrid amphiphilic low molecular weight molecules composed of two parts covalently linked: the first one being a nucleic acid, a nucleotide, a nucleoside or a nucleobase and the second a lipid. Combining the physico-chemical properties of two of the most widespread biomolecules, nucleolipids are capable of self-assemble as supramolecular structures of interest for application in the field of biomaterials. The study of the self-assembling properties of GlycoNucleoLipids, bearing a triazole moiety as a linker, demonstrated the crucial influence of the nature of the covalent linker bringing together the two parts of the nucleolipid onto the self-assembly.

In this work, the synthesis of nucleolipids bearing a 1,4-diketone linker between thymidine and various lipids via the bioinspired and N-Heterocyclic Carbene organocatalyzed Stetter reaction is described. As an heteroaromatic cycle precursor, this moiety led to the formation of pyrrole skeletons via the classical Paal-Knorr reaction. The gelating properties of these original nucleolipids were evaluated and compared with the ones bearing a triazole link.

Among these original synthetic nucleolipids, a lipophilic compound bearing a 1,4-diketone link exhibited the ability to form gels in oils (i.e. oleogels). A structure-properties study was realized to understand the role of each part of the molecule. This type of formulation being of particular interest for the development of lipophilic drug delivery systems, the physico-chemical properties of the oleogel were also extensively studied.

The Stetter reaction exhibiting most of the « click chemistry » characteristics, eco-friendly reaction conditions were developed in aqueous media and applied to other biomolecules conjugation.

Keywords : Organocatalysis, Bioinspiration, Stetter reaction, Carbenes, Nucleolipids, Gels

ARNA, UMR 5320 INSERM U1212

ACIDES NUCLÉIQUES : RÉGULATIONS NATURELLES ET ARTIFICIELLES (ARNA)
Equipe ChemBioPharm, 146 rue Léo Saignat, UFR Pharmacie, entrée C, 4^{ème} étage