



HAL
open science

Synthèse et étude de la complexation de nouveaux benzoxaboroles multivalents

Adèle Larcher

► **To cite this version:**

Adèle Larcher. Synthèse et étude de la complexation de nouveaux benzoxaboroles multivalents. Génie chimique. Université Montpellier, 2018. Français. NNT : 2018MONTTS129 . tel-03874977

HAL Id: tel-03874977

<https://theses.hal.science/tel-03874977>

Submitted on 28 Nov 2022

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 POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER**

En ingénierie biomoléculaire

École doctorale Sciences chimiques BALARD

Unités de recherches UMR5253 / UMR5247

**Synthèse et étude de la complexation
de nouveaux benzoxaboroles
multivalents.**

Présentée par Adèle LARCHER

Le 22 octobre 2018

**Sous la direction du Dr. Danielle LAURENCIN
et du Prof. Michaël SMIETANA**

Devant le jury composé de

Prof. Mélanie ÉTHÈVE-QUELQUEJEU, Université Paris Descartes

Dr. Emmanuel GRAS, Université Toulouse III

DR. Jean-Jacques VASSEUR, Université Montpellier

Dr. Damien HÉRAULT, Ecole Centrale Marseille

Dr. Danielle LAURENCIN, Université Montpellier

Prof. Michaël SMIETANA, Université Montpellier

Rapporteur

Rapporteur

Président

Examineur

Directeur de thèse

Co-directeur de thèse



**UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER**

REMERCIEMENTS

« L'obstination est le chemin de la réussite » Charlie Chaplin

Tout d'abord, j'aimerais remercier les laboratoires de l'université de Montpellier, l'équipe IMNO de l'ICGM et l'équipe oligonucléotides modifiés de l'IBMM, qui m'ont accueillie durant ces trois années de thèse.

Je remercie le docteur Danielle LAURENCIN et le professeur Michaël SMIETANA de l'Université de Montpellier, qui m'ont encadrée tout au long de cette thèse. Ils ont fait partager leurs idées constructives, leurs compétences et leur rigueur scientifique.

J'adresse tous mes remerciements à Madame Mélanie ÉTHÈVE-QUELQUEJEU, Professeur à l'Université de Paris Descartes, ainsi qu'à Monsieur Emmanuel GRAS, Professeur à l'université Toulouse III, de l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être rapporteurs de cette thèse. Je les remercie d'avance pour le temps consacré à la lecture de cette thèse, les corrections, les questions et les conseils qu'ils m'ont prodigués.

J'exprime ma gratitude à Monsieur Jean-Jacques VASSEUR, directeur adjoint de l'équipe oligonucléotides modifiés de l'IBMM de l'université de Montpellier, et à Monsieur Damien HÉRAULT, maître de conférence à l'école centrale de Marseille, qui ont accepté d'être examinateurs.

Je tiens à exprimer à l'ensemble du jury ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il porte à ce travail.

Au nom de la collaboration qui m'a permis de tester mes benzoxaboroles multivalents, je remercie le Professeur Jean-Yves WINUM de l'ENSCM de Montpellier.

Je remercie également le LABEX ChemISyst d'avoir financé cette thèse.

Je remercie aussi tous ceux qui ont accepté et supporté mes exigences pour les analyses physico-chimiques. Je pense en premier à Aurélien LEBRUN sans qui les jours de RMN liquide n'auraient pas été si simples et si divertissants, Guillaume CAZALS qui a su redoubler d'effort pour obtenir les spectres de masse de mes petites molécules borées, Cédric TOTEE pour l'accès rapide au spectromètre de l'ENSCM. Un grand merci à Dominique GRANIER qui lors de la dernière ligne droite a été très disponible pour réaliser les DRX sur monocristal ceci a grandement permis d'étayer mon dernier chapitre de thèse. Je remercie aussi tout le reste de l'équipe du LMP pour leur accueil chaleureux.

Enfin et pas des moindres, je remercie toutes les personnes qui ont vécu de près ou de loin cette thèse avec moi, car comme le dit Morgan David *« La thèse de doctorat représente un travail s'inscrivant dans la durée, et pour cette raison, constitue le fil conducteur d'une tranche de vie de son auteur, parfois au crépuscule de la candeur étudiante, et souvent à l'aube de la maturité scientifique. De nombreuses personnes se retrouvent ainsi de manière fortuite ou non, pour le pire ou le meilleur, entre le doctorant et son doctorat. »*. Je remercie donc Aurélien HENRY pour son sacrifice qui m'a sauvé lors de cette année où nous étions « Responsables Poubelle ». Merci d'avoir couru avec moi toutes les semaines jusqu'à la toute fin de cette expérience. Merci de m'avoir supportée et soutenue ! Merci Céline SMCHIDT pour ces petits déjeuners au labo qui, j'en suis sûre, avec quelques mois de plus aurait pu en faire baver plus d'un. Merci aussi Angel ESCAMILLA et Jean-François LONGEVIAL pour leurs enthousiasmes festifs du vendredi soir ! Et enfin, Clémence ROSE pour nos quelques séances piscine/détente. Merci à Clément, Chiara, Kerstin, Marie-Alix, Eléonore, Roza, Saad... Sur l'instant, j'en oublie sûrement, mais ne vous inquiétez pas je suis consciente de tout le soutien, l'enthousiasme et le réconfort que vous m'avez donnés.

Je remercie aussi ma famille sans qui je ne serai sûrement pas allée au bout...

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	11
------------------------------------	-----------

CHAPITRE I : ÉTAT DE L'ART	17
---	-----------

A. LES BENZOXABOROLES	19
1. Structure	19
2. Réactivité.....	21
a. Propriétés acido-basiques	21
b. Formation d'esters avec les <i>cis</i> -diols.....	23
c. Stabilité chimique	24
B. APPLICATIONS DES BENZOXABOROLES	25
1. Reconnaissance moléculaire via les interactions benzoxaborole/ <i>cis</i> -diols.....	25
2. Applications thérapeutiques	25
a. En tant que principe actif	25
b. En tant que vecteur de biomolécules fonctionnalisées par un motif benzoxaborole	26
c. En tant que motifs fonctionnalisant un polymère à visée thérapeutique.....	27
d. En tant que nouveaux assemblages supramoléculaires à visée thérapeutique	28
3. Applications dans le domaine analytique.....	29
a. Séparation de <i>cis</i> -diols	29
b. Plateformes sensibles vis-à-vis des <i>cis</i> -diols.....	29
C. SYNTHÈSE DE BENZOXABOROLES FONCTIONNALISÉS	30
1. Synthèse et fonctionnalisation de mono-benzoxaboroles.....	31
a. Fonctionnalisation sur le cycle aromatique.....	31
b. Fonctionnalisation sur le groupement méthylène	34
2. Synthèse de bis- et multi-benzoxaboroles	35
a. Synthèse de bis-benzoxaboroles	35
b. Synthèse de polymères fonctionnalisés par des motifs benzoxaboroles	38
D. OBJECTIFS DE LA THESE	39
RÉFÉRENCES	43

CHAPITRE II : SYNTHÈSE DE BENZOXABOROLES MULTIVALENTS	51
--	-----------

A. INTRODUCTION	53
B. SYNTHÈSE DES BRIQUES BENZOXABOROLES PORTANT UNE FONCTION ORGANIQUE REACTIVE	54
1. Brique benzoxaborole portant une fonction acide carboxylique	54
a. Synthèse du 4-carboxybenzoxaborole (BBzx-COOH)	54
b. Réactivité des acides : du motif BBzx-COOH aux multi-BBzx	54

2. Brique benzoxaborole portant une fonction amine	55
a. Synthèse du 4-aminobenzoxaborole (BBzx-NH ₂)	55
b. Réactivité des amines : du motif BBzx-NH ₂ aux multi-BBzx	56
3. Bilan	57
C. SYNTHÈSE DE BENZOXYBOROLES MULTIVALENTS	57
1. Par formation d'imine	57
2. Par amidation	58
a. Voies synthétiques	58
b. Résultats	59
3. Synthèse du squarate bis-benzoxaborole	61
4. Par réaction d'alkylation et d'addition nucléophile	62
5. Bilan	63
D. EVALUATION BIOLOGIQUE DES MOLECULES MULTIVALENTES	64
1. L'anhydrase carbonique et son inhibition	64
2. Résultats	67
3. Bilan	70
E. CONCLUSION	72
RÉFÉRENCES	75
ANNEXES	77

CHAPITRE III : ÉTUDE DE LA COMPLEXATION DE MOLECULES ORGANOBORÉES AVEC LES CIS-DIOLS

A. INTRODUCTION	103
B. ÉTUDE FLUORIMÉTRIQUE	104
1. Présentation de l'étude de la complexation par spectrofluorimétrie	104
a. Principe général de l'étude	104
b. Traitement analytique des données obtenues par fluorescence	105
2. Résultats des études de complexation par spectroscopie de fluorescence	107
a. Étude de la cinétique de complexation	107
b. Mesures de la fluorescence	108
3. Bilan	112
C. ÉTUDE RMN MULTINUCLEAIRE	113
1. Résultats des études de complexation par RMN	114
a. RMN ¹ H	114
b. RMN ¹¹ B	119
c. RMN ¹⁹ F	120
2. Bilan	123
D. CONCLUSIONS	124
RÉFÉRENCES	127
ANNEXES	131

CHAPITRE IV : ÉLABORATION DE NOUVEAUX COMPLEXES157

A. INTRODUCTION	159
B. ÉLABORATION DE COMPLEXES A PARTIR DU CATECHOL	180
1. Complexation du benzoxaborole	180
a. Synthèse	180
b. Caractérisation	180
c. Conclusion	182
2. Complexation du squarate-bisbenzoxaborole	183
a. Synthèse	183
b. Caractérisation	183
c. Conclusion	185
3. Bilan	185
C. ÉLABORATION DE COMPLEXES A PARTIR DE L'ALCOOL SALICYLIQUE	186
1. Synthèse du complexe benzoxaborole/alcool salicylique	186
2. Caractérisation	186
3. Conclusion	189
D. ÉLABORATION DE COMPLEXES A PARTIR DE L'ACIDE SALICYLIQUE.....	190
1. Complexation du benzoxaborole	190
a. Synthèse	190
b. Caractérisation	190
c. Conclusion	192
2. Complexation de l'AN2690	193
a. Synthèse	193
b. Caractérisation	193
c. Conclusion	195
3. Complexation du squarate-bisbenzoxaborole	196
a. Synthèse	196
b. Caractérisation	196
c. Conclusion	199
4. Bilan	199
E. DISCUSSION	199
F. CONCLUSION	201

RÉFÉRENCES..... **203**

ANNEXES **207**

CONCLUSION GENERALE **231**

PERSPECTIVES **233**

ABBREVIATIONS

AN2690 : Tavaborole (nom commercial : Kerydin) ou 5-Fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-2,1-benzoxaborole

AN2778 : Crisaborole (nom commercial : Eucrisa) ou 5-(4-Cyanophenoxy)-1,3-dihydro-1-hydroxy-[2,1]-benzoxaborole

ARN : Acide RiboNucléique

ARS : Alizarin Red S ou acide 3,4-Dihydroxy-9,10-dioxo-2-anthracène sulfonique

BBzx : Benzoxaborole ou acide 2-(hydroxyméthyl)phénylboronique cyclique monoester

BBzx-COOH : 6-carboxybenzoxaborole

BBzx-NH₂ : 6-aminobenzoxaborole

BBzx-NO₂ : 6-nitrobenzoxaborole

BisPBBzx : Phényl bisbenzoxaborole

BisPipeBBzx : 3-pipérazine-bisbenzoxaborole

COF : Covalent Organic Framework

COSY : COrrrelation SpectroscopY

DOSY : Diffusion Ordered SpectroscopY

Dppf : Diphénylphosphino ferrocène

DRX : Diffraction des Rayons X

F-catéchol : 3-fluoro catéchol

hCA : Anhydrase carbonique humaine

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Correlation

ITC : Titration calorimétrique isotherme (Isothermal Titration Calorimetry)

MOF : Metal Organic Framework

PBA : Acide phénylboronique

PBB : Acide benzène-1,4-diboronique

PBS : Phosphate Buffer Saline

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

TBAOH : solution d'hydroxyde de tétrabutylammonium

Les benzoxaboroles, qui ont été synthétisés et caractérisés pour la première fois en 1957, sont les composés cycliques dérivés des acides boroniques (Figure 1). Tout comme les acides boroniques, ils présentent une structure trivalente plane autour de l'atome de bore qui est hybridé sp^2 . L'atome de bore présente une orbitale « p » vacante procurant ainsi à la molécule des caractéristiques d'acide de Lewis. Cependant, la tension de cycle générée par l'hétérocycle à cinq chaînons accentue cette caractéristique et leur confère des propriétés intéressantes un nombre croissant d'applications.

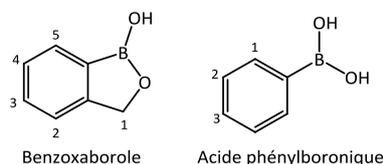


Figure 1 : Représentation du motif benzoxaborole (à gauche) et de son analogue acide boronique (à droite).

De par leur interaction forte et sélective, à pH physiologique, avec les fonctions *cis*-diols, ils suscitent, depuis quelques années, un intérêt croissant au sein de la communauté scientifique (Figure 2).

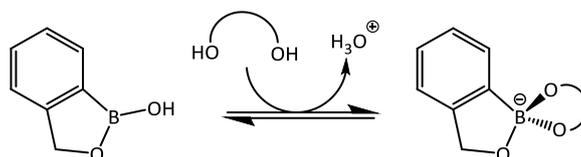


Figure 2 : Équilibre de complexation entre le benzoxaborole et une fonction *cis*-diol en milieu aqueux à pH physiologique.

En effet, beaucoup de propriétés reposent sur cette interaction. Les benzoxaboroles sont, notamment, largement étudiés pour leurs propriétés en tant que principe actif depuis la découverte des propriétés antifongiques du Tavaborole (un benzoxaborole fonctionnalisé par un fluor en position 3), initialement connu sous le nom AN2690 (Figure 3, à gauche). Un autre benzoxaborole, le Crisaborole, ou AN2728, présente quant à lui des propriétés anti-inflammatoires pour le traitement topique de la dermatite (Figure 3 à droite).

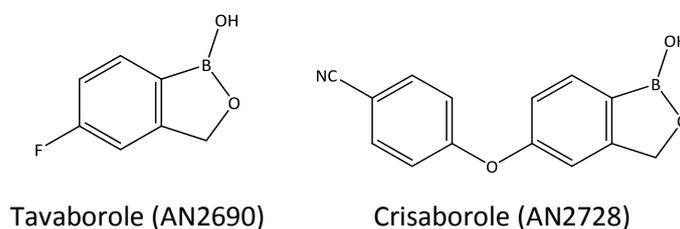


Figure 3 : Représentation de l'AN2690 et de l'AN2728.

Cependant, ils ont aussi été très largement utilisés dans d'autres domaines tels que la fonctionnalisation de polymères. En effet, leur utilisation en tant que motif fonctionnalisant a permis la modulation de propriétés analytiques de matériaux : tant pour de la séparation que pour de la détection de diols, tels que les sucres. Un exemple représentatif de ce cas est la fonctionnalisation

d'une colonne chromatographique par le motif benzoxaborole. Cette fonctionnalisation permet la séparation sélective de sucres (Glucose et D-fructose) à pH physiologique.

Les benzoxaboroles ont donc une gamme extrêmement variée d'applications. Cependant, même si beaucoup de travaux ont été réalisés sur les molécules organoborées monovalentes (présentant une seule fonction benzoxaborole) peu de travaux ont été menés sur des petites molécules organoborées multivalentes. Or la multivalence permet d'aller vers des entités souvent plus spécifiques et réactives ; ce qui serait un avantage pour les applications présentées ci-dessus.

A l'heure actuelle, et sans considérer les travaux réalisés sur les polymères fonctionnalisés par des benzoxaboroles, peu de petites molécules benzoxaboroles multivalentes ont été synthétisées. Seules quelques synthèses de benzoxaboroles multivalents ont été publiées. Or, elles restent spécifiques et isolées et ne permettent pas la création d'une série de ces molécules.

C'est dans ce contexte que les travaux de cette thèse ont été menés (Figure 4). Dans un premier temps, la mise en place d'un protocole efficace pour la synthèse rapide d'une série de petites molécules organoborées multivalentes est réalisée. En parallèle, une étude fondamentale sur leur interaction avec les *cis*-diols a permis la mise en évidence de la stœchiométrie de l'interaction entre les molécules organoborées bivalentes et les *cis*-diols. La modulation de la stœchiométrie et de la force de la complexation suivant les milieux permet d'envisager une large gamme d'applications. L'intérêt de la multivalence sera donc testé dans deux domaines différents :

- pour des applications à visée thérapeutique, où les molécules alors synthétisées vont être testées pour leur capacité à inhiber d'une métallo-enzyme,
- pour la formation de nouveaux complexes, via la complexation de motifs diols sur ces molécules organoborées multivalentes.

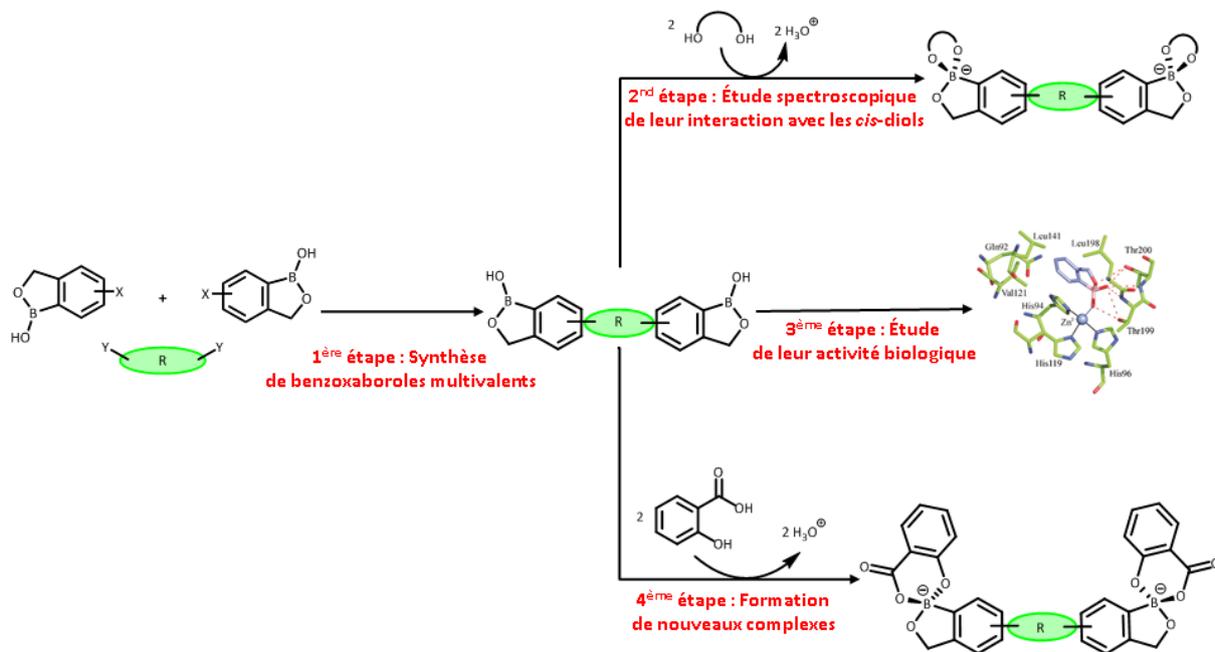


Figure 4 : Présentation schématique des travaux réalisés au cours de cette thèse.

Chapitre I :

État de l'art

Chapitre I : État de l'art

SOMMAIRE

A. LES BENZOZABOROLES	19
1. Structure	19
2. Réactivité.....	21
a. Propriétés acido-basiques	21
b. Formation d'esters avec les <i>cis</i> -diols.....	23
c. Stabilité chimique	24
B. APPLICATIONS DES BENZOZABOROLES	25
1. Reconnaissance moléculaire via les interactions benzoxaborole/ <i>cis</i> -diols.....	25
2. Applications thérapeutiques	25
a. En tant que principe actif	25
b. En tant que vecteur de biomolécules fonctionnalisées par un motif benzoxaborole	26
c. En tant que motifs fonctionnalisant un polymère à visée thérapeutique.....	27
d. En tant que nouveaux assemblages supramoléculaires à visée thérapeutique	28
3. Applications dans le domaine analytique.....	29
a. Séparation de <i>cis</i> -diols	29
b. Plateformes sensibles vis-à-vis des <i>cis</i> -diols.....	29
C. SYNTHÈSE DE BENZOZABOROLES FONCTIONNALISÉS	30
1. Synthèse et fonctionnalisation de mono-benzoxaboroles.....	31
a. Fonctionnalisation sur le cycle aromatique.....	31
i. Synthèse du 5-carbaldéhyde benzoxaborole et de ses dérivés	31
ii. Synthèse du 4-carboxy benzoxaborole.....	32
iii. Synthèse du 4-amino benzoxaborole et de ses dérivés.....	33
b. Fonctionnalisation sur le groupement méthylène	34
2. Synthèse de bis- et multi-benzoxaboroles	35
a. Synthèse de bis-benzoxaboroles	35
i. Via le groupement méthylène	35
ii. Via le cycle aromatique	36
iii. Via la liaison BOH.....	38
b. Synthèse de polymères fonctionnalisés par des motifs benzoxaboroles	38
D. OBJECTIFS DE LA THESE.....	39
RÉFÉRENCES.....	43

A. Les benzoxaboroles

Parmi les différentes molécules organo-borées existantes (composés 1 à 6, Figure I.1), les benzoxaboroles (BBzx, **7**), aussi connus sous les noms oxaboroles, benzoboroxoles, boronolactones ou boronophthalides, ont été synthétisés et caractérisés pour la première fois par Torsell en 1957.¹ Ceux-ci suscitent depuis quelques années un intérêt particulier au sein de la communauté scientifique.

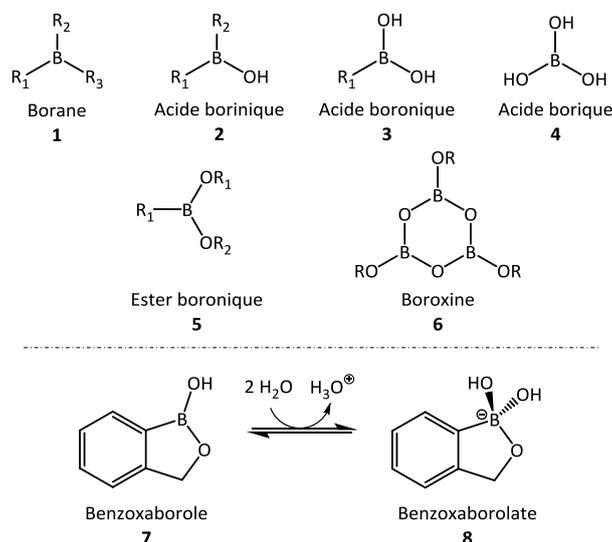


Figure I.1 : Présentation des différentes molécules organoborées et plus particulièrement du benzoxaborole (**7**) ainsi que sa base conjuguée, le benzoxaborolate (**8**).¹

Contrairement à leurs analogues acides boroniques,² dont ils sont les dérivés cycliques, ils ont la particularité d'être plus solubles et plus stables dans l'eau.³ Ils présentent aussi une plus forte complexation avec les *cis*-diols à pH physiologique.

A l'instar des acides boroniques, dont la recherche a montré leur importance dans des domaines allant de la chimie organique et pharmaceutique à la synthèse de matériaux, le motif benzoxaborole s'impose aujourd'hui comme un motif clef pouvant être modulée et façonnée à souhait suivant l'utilisation voulue.

1. Structure

Les benzoxaboroles (**7**), tout comme les acides boroniques (**9**), présentent une structure trivalente plane autour de l'atome de bore qui est hybridé sp^2 . Le bore présente une orbitale « p » vacante procurant ainsi à la molécule des caractéristiques d'acide de Lewis. Cependant, la tension de cycle générée par l'hétérocycle à cinq chaînons (angle OBC à 108°) favorise le basculement de la forme plane à la forme tétraédrique correspondante accentuant le caractère acide de Lewis de ces molécules par rapport aux acides boroniques.⁴

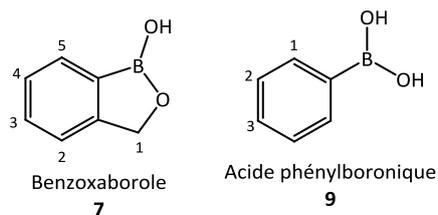


Figure I.2 : Représentation du benzoxaborole le plus simple (BBzx, 7) à gauche et de l'acide phénylboronique (PBA, 9) à droite, avec la numérotation des atomes de carbone.

La structure du benzoxaborole a précédemment été caractérisée, par Kiprof *et al.*⁵, par RMN ^1H , ^{11}B et ^{13}C et est comparée à la structure de son analogue acide boronique. Tout d'abord en RMN ^1H (Figure I.3.a), les ^1H du groupement méthylène du benzoxaborole ont un signal distinct aux alentours de 5 ppm tandis que les signaux des ^1H aromatiques se situent, plus classiquement, entre 7 et 8 ppm (comme pour le PBA). En ce qui concerne la RMN ^{13}C (Figure I.3.b), le carbone en α de l'atome de bore relaxe très vite dû au moment magnétique quadrupolaire de l'atome de bore. Il apparaît sous la forme d'un signal élargi difficilement observable vers 130 ppm. Dans le cas ci-dessous, il n'est pas observé (Figure I.3.b) ce qui explique le nombre de signaux observés (le signal vers 130 ppm est dédoublé). A l'inverse, le signal du groupement méthylène du benzoxaborole est facilement distinguable avec un déplacement chimique de 70 ppm environ. Enfin, la RMN ^{11}B (Figure I.3.c) permet aussi de différencier les deux molécules organoborées. Malgré un signal classique d'un atome de bore plan très large aux alentours de 32 ppm pour les deux molécules organoborées, l'acide phényl boronique et le benzoxaborole, leurs bases conjuguées présentent des signaux plus fins distincts. En milieu aqueux basique, le boronate (forme anionique de l'acide boronique) a un signal aux alentours de 3 ppm tandis que la forme anionique tétraédrique du benzoxaborole, le benzoxaborolate, a un signal caractéristique aux alentours de 8 ppm.

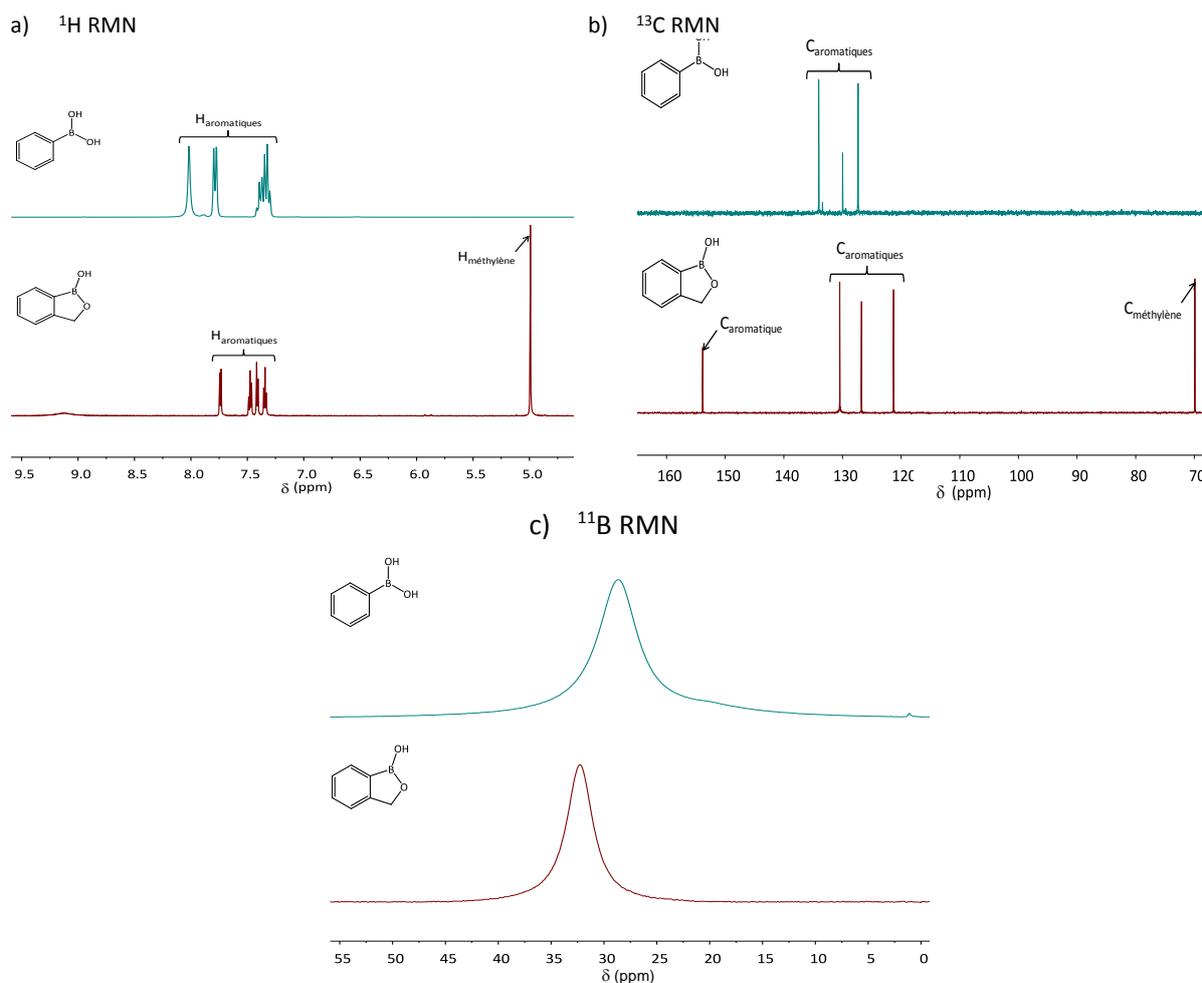


Figure I.3 : Spectres RMN ^1H (a), ^{13}C (b) et ^{11}B (c) du benzoxaborole et de l'acide phénylboronique dans le DMSO-d_6 .

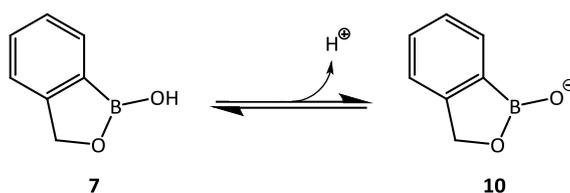
2. Réactivité

a. Propriétés acido-basiques

Les benzoxaboroles présentent deux types d'acidité. Ils peuvent se comporter comme un acide de Brønsted. L'hydroxyle du benzoxaborole va alors se déprotoner pour former l'anion benzoxaborolate trigonal plan (Figure I.4.a). Cette forme anionique n'est cependant généralement observée que dans des conditions anhydres, dans des solvants apolaires et sous atmosphère inerte.⁶

Plus commune, la forme benzoxaborolate tétraédrique est observée en milieu aqueux (Figure I.4.b). Cette fois-ci, le caractère acide de Lewis entre en jeu. La géométrie trivalente plane (de type sp^2) du bore, qui porte une orbitale « p » vacante, lui procure la propriété d'acide de Lewis. Rappelons que la tension de cycle générée par l'hétérocycle à cinq chaînons favorise le basculement de la forme plane neutre à la forme tétraédrique anionique correspondante : le benzoxaborolate. Les benzoxaboroles sont donc dotés d'un caractère acide de Lewis plus prononcé que les acides boroniques.

a) Acide de Brønsted - Conditions anhydres



b) Acide de Lewis - Milieu aqueux

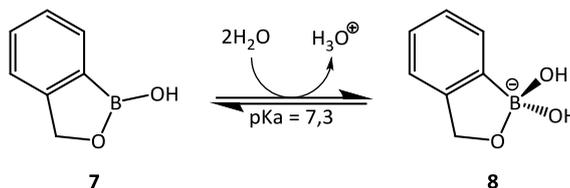


Figure I.4 : Equilibres acido-basiques du benzoxaborole.

De par cette tension générée par l'hétérocycle, leur pK_a est plus bas que celui des acides boroniques. De manière générale, cette différence est d'une à plusieurs unités de pK_a. Par exemple, le pK_a est de 7,3 pour le benzoxaborole contre 8,9 pour l'acide phénylboronique (Figure I.5).⁷

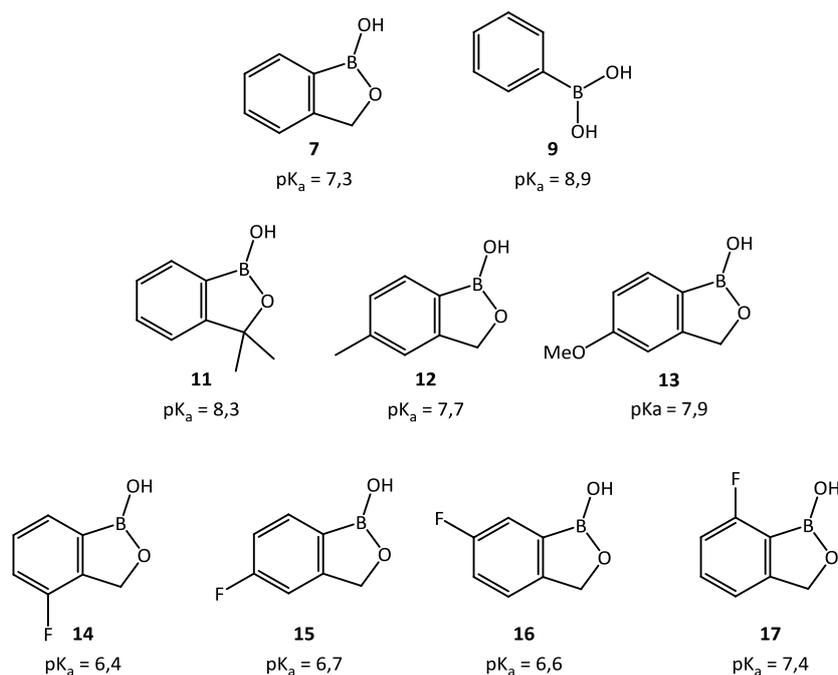


Figure I.5 : Influence des substituants (nature et position) sur le pK_a de molécules organoborées.^{7,8}

Cette propriété acido-basique peut être modulée à souhait suivant la nature et la position des substituants sur le cycle aromatique ou le méthylène du benzoxaborole, comme illustré ci-dessus (Figure I.5).^{7,8}

b. Formation d'esters avec les *cis*-diols

De par leur caractère acide de Lewis, la formation d'esters cycliques avec les *cis*-diols est l'une des réactivités clef des benzoxaboroles (Figure I.6). Dans les exemples présentés ci-dessous (Figure I.6), l'interaction avec les diols est plus forte avec **7** qu'avec **19** et que **9**.⁹ De plus, contrairement aux acides boroniques dont le pKa est plus élevé, la complexation avec les *cis*-diols des benzoxaboroles est plus importante à pH physiologique. En effet, la tension de cycle, introduit par la formation de l'hétérocycle à 5 membres, augmente leur force de complexation vis-à-vis des *cis*-diols et des bio-molécules avec lesquelles ils vont se complexer. Leur sélectivité est alors modulable par l'introduction de substituants au niveau de l'hétérocycle ou du cycle aromatique.

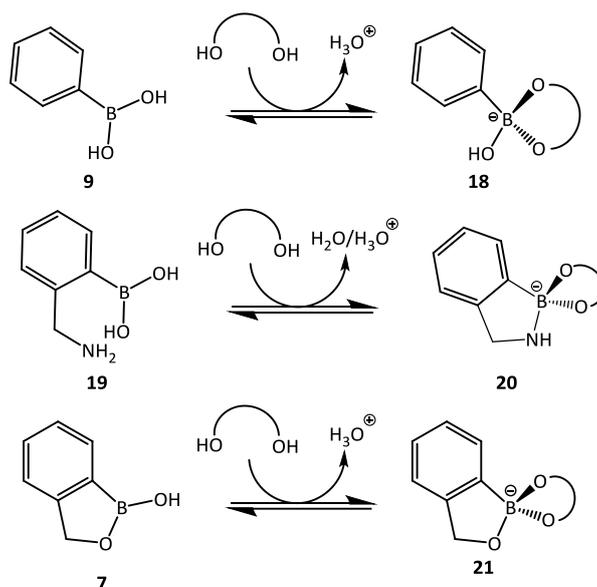


Figure I.6 : Représentation des équilibres de complexation de **9, de l'acide aminométhyl arylboronique (**19**) et de **7** avec les *cis*-diols, de la forme libre trigonale plane à la forme complexée tétraédrique.**

Ces interactions ont été largement étudiées par mesure des constantes de complexation en solution, à l'aide de plusieurs méthodes dont la spectrofluorimétrie, la RMN ¹¹B et ¹H (cf. Chapitre III), et l'ITC.^{10,4}

Les mesures par spectrofluorimétrie, plus courantes, mettent en jeu une interaction de compétition. Dans un premier temps, le benzoxaborole est complexé à un *cis*-diol particulier, l'Alizarin Red S (ARS), présentant des propriétés intéressantes puisqu'il ne fluoresce qu'une fois complexé. Après avoir mesuré cette première constante apparente de complexation, l'équilibre est déplacé par l'introduction du second *cis*-diol d'intérêt qui, en remplaçant l'ARS, entraîne une diminution de l'émission de la fluorescence (Figure I.7).

Les résultats obtenus par cette étude illustrent ici cette interaction (Tableau I.1). Dans ce cas, la plus forte interaction des benzoxaboroles avec les *cis*-diols est confirmée. Elle met aussi en évidence l'influence du milieu sur la force de ces interactions, comme démontré ci-dessous par l'influence du pH. Ces complexations sont en effet modulables en fonction du pH, du solvant et de la force ionique.

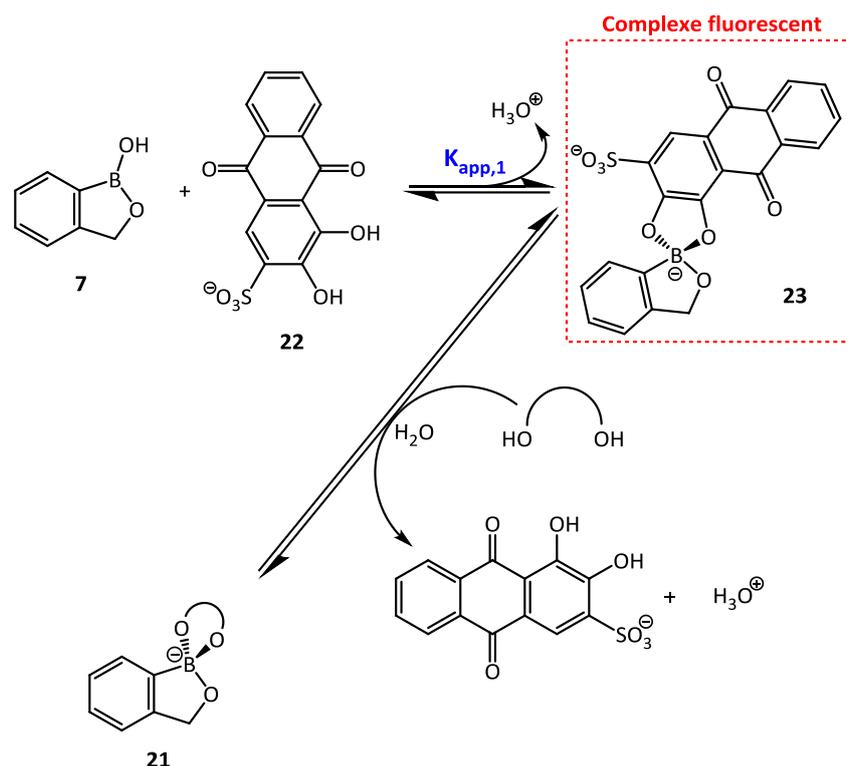


Figure I.7 : Illustration des équilibres de complexation entre l'ARS (22) et le benzoxaborole (7), puis entre le benzoxaborole et un *cis*-diol.

Tableau I.1 : Illustration de la dépendance de la constante de complexation en fonction du milieu et de la molécule organoborée avec l'exemple de la complexation avec l'alizarin Red S (ARS) mesurée par spectrofluorimétrie.^{11,10}

Molécule organoborée	pH	$K_{app,1}$ (M^{-1})
PBA (9)	7,4 ^a	1260
BBzx (7)	5,0 ^b	690
	6,0 ^b	2580
	7,0 ^b	3190
	7,4 ^a	1307
	8,0 ^b	1140
	9,0 ^b	100

a. Tampon phosphate à 0,1M, **b.** Tampon de Good ou Tampon zwitterionique (MES pour pH = 5,0 et 6,0, HEPES pour les pH = 7,0, 7,4 et 8,0 et CHES pour pH = 9).

Cette réactivité contrôlable fait des benzoxaboroles un réel outil pour un large champ d'applications, allant par exemple de la reconnaissance des sucres à l'inhibition d'enzymes.

c. Stabilité chimique

Outre leur réactivité intéressante avec les *cis*-diols, les benzoxaboroles ont démontré une grande stabilité à l'hydrolyse, en température ainsi qu'en milieu acide à chaud.¹²

De plus, si le motif benzoxaborole se dégrade, il se dégrade sous la forme d'acide borique peu toxique comme le prouve notre consommation quotidienne (de 3 à 7 mg par jour).⁴

B. Applications des benzoxaboroles

1. Reconnaissance moléculaire via les interactions benzoxaborole/*cis*-diols

Grâce à leur interaction forte et sélective avec les *cis*-diols, les benzoxaboroles sont mis en jeu dans diverses applications impliquant la reconnaissance moléculaire (en particulier de sucres).¹³

La simple mesure des constantes de complexations de ces molécules organoborées avec des *cis*-diols, qu'ils soient de type saccharide (D-fructose ou glucose), ou de type catéchol (ARS ou 1,2-catéchol), permet de mettre en évidence ces interactions sélectives (Tableau I.2). De manière générale, les benzoxaboroles démontrent une affinité plus importante avec les *cis*-diols que leurs analogues acides boroniques. De plus, la force de la complexation entre une molécule organo-borée et un *cis*-diol est très dépendante de la nature de la molécule organo-borée, du *cis*-diol mis en jeu ainsi que du milieu (pH, force ionique, solvants). Il est démontré que les molécules organoborées ont une affinité plus importante avec les *cis*-diols de type catéchol qu'avec les saccharides.

Tableau I.2 : Illustration des affinités des benzoxaboroles vis-à-vis de *cis*-diols, par comparaison avec leurs analogues acides boroniques.^{8,9,11-17}

Molécule organoborée	Constante de complexation				Références
	K _{éq.1, ARS} (M ⁻¹)	K _{éq.2, D-Fructose} (M ⁻¹)	K _{éq.2, Glucose} (M ⁻¹)	K _{éq.2, Catéchol} (M ⁻¹)	
PBA (9)	1300 ^a	160 ^a	4,6 ^a	830 ^a	14
	-	79 ^a	0 ^a	-	15, 9
	1260 ^a	160 ^a , 128 ^c	6 ^a , 5 ^c	-	16
	-	210 ^d	4,6 ^d	830 ^d	17
	2550 ^b	-	-	-	18
BBzx (7)	1180 ^a	606 ^a	17 ^a	-	15, 9
	1307 ^a	664 ^a , 336 ^c	21 ^a , 31 ^a ,	-	10
	3190 ^b	-	28 ^c	-	11
	659 ^e	50 ^e	-	-	19
			4 ^e		

a. PBS (100mM) – pH 7,4, b. PBS (50mM) – pH 7,0 + 4% DMSO v/v., c. PBS (100mM) – pH 7,4 + 2% D₂O v/v., d. PBS (100mM) – pH 7,5, e. MeOH / PBS (1/1, v/v.) (100mM) – pH 7,4 + 1% DMSO v/v.

2. Applications thérapeutiques

Dans le cadre des applications à visée pharmaceutique, les benzoxaboroles peuvent être utilisés soit en tant que principe actif (PA)²⁰⁻²², soit comme motif pour fonctionnaliser des biomolécules²³ afin d'améliorer leur vectorisation et leur ciblage.^{24,25}

a. En tant que principe actif

Depuis la découverte des propriétés antifongiques du Tavaborole (AN2690)^{4,26,27}, les benzoxaboroles sont largement étudiés pour leurs propriétés en tant que principe actif. Le Crisaborole (AN2728)²⁸, ainsi que l'AN2898 sont des anti-inflammatoires pour le traitement topique de la dermatite et de la

psoriasis. Cette activité thérapeutique repose essentiellement sur leur propriété d'acide de Lewis. C'est grâce à celle-ci qu'ils sont en mesure de former des complexes stables avec des *cis*-diols, certains acides aminés ou encore les métaux des sites actifs (tel que le zinc) et ainsi inhiber l'enzyme (dans les deux publiés cités ci-après, respectivement, l'aminoacyl-ARNt synthétases et la métallo-enzyme anhydrase carbonique).^{27,29}

Dans le cas de l'enzyme aminoacyl-ARNt synthétase, étudiée par Rock *et al* en 2007²⁷, l'AN2690 vient se complexer à l'adénosine terminale de la leucyl-ARNt du site actif de l'enzyme aminoacyl-ARNt synthétase (Figures I.8.a et b). Une fois le site actif complexé, aucun amino-acide activé ne peut être transféré dans le site actif de l'enzyme occupé par le complexe Leu-ARNt/AN2690, l'activité de l'enzyme est ainsi inhibée. Cette inhibition non-compétitive est confirmée par une étude de l'influence de la concentration de l'AN2690 introduit en fonction du temps sur l'activité enzymatique de celle-ci (Figure I.8.c).

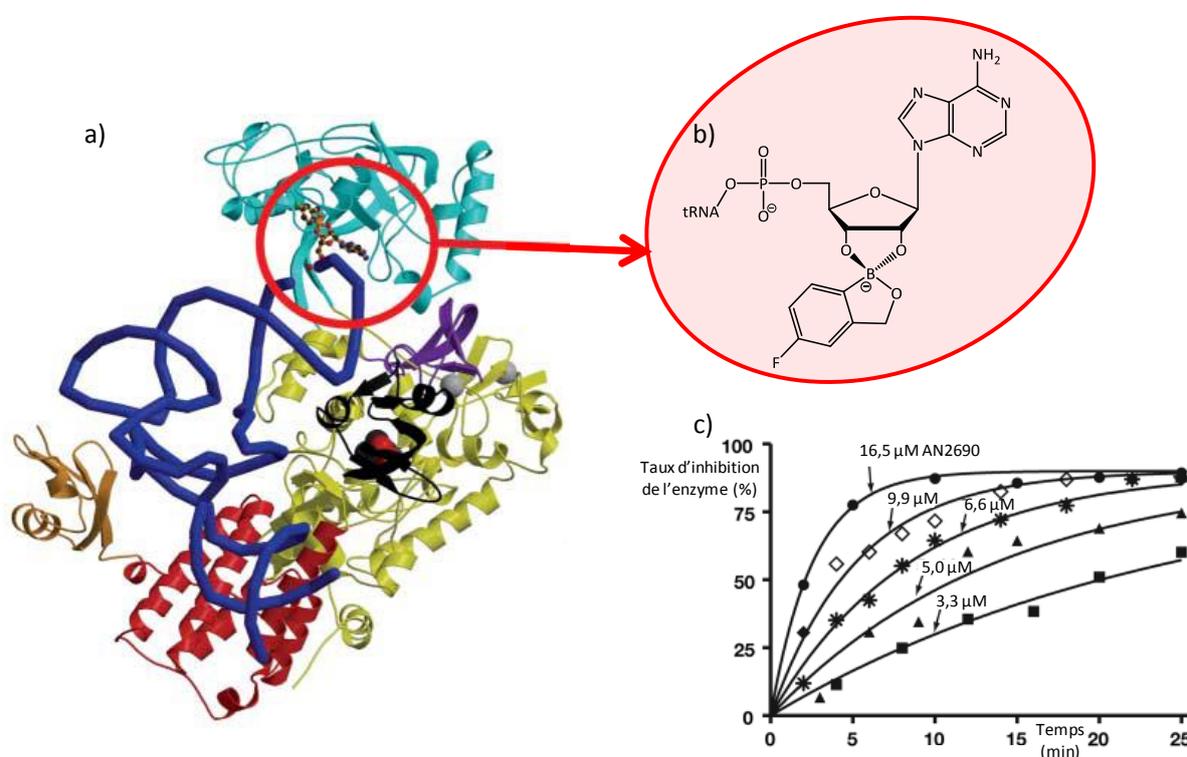


Figure I.8 : Complexation de l'adénosine terminale de la leucyl-ARNt du site actif de l'enzyme aminoacyl-ARNt synthétase par l'AN2690 (a et b) entraînant ainsi une décroissance de l'activité enzymatique (c) en fonction de la concentration de l'AN2690.²⁷

Du fait de leur rôle prouvé dans l'inhibition d'enzymes, les benzoxaboroles offrent une nouvelle classe d'agent thérapeutique prometteuse.

b. En tant que vecteur de biomolécules fonctionnalisées par un motif benzoxaborole

Dans le cas présenté ci-dessous, la RNase A, nucléase qui catalyse la dégradation de l'ARN, est fonctionnalisée par un motif benzoxaborole.³⁰ La RNase A ainsi fonctionnalisée présente un motif benzoxaborole qui, par interaction avec les *cis*-diols en surface de la membrane cellulaire, favorise son internalisation au sein de celle-ci (Figure I.9).

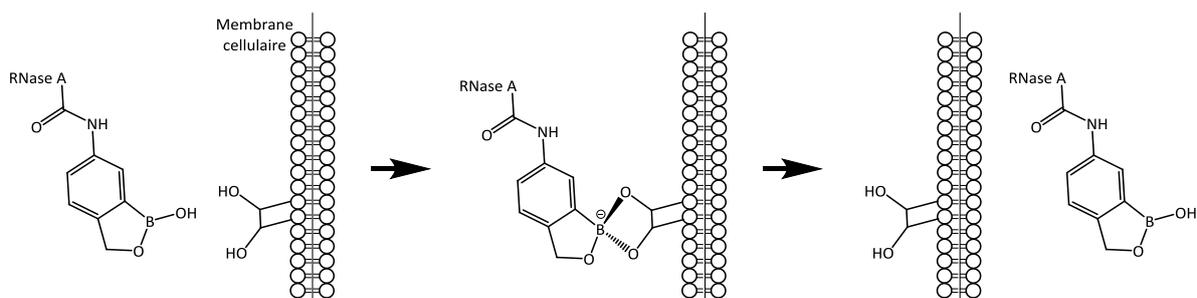


Figure I.9 : Fonctionnalisation d'une RNase A par un motif benzoxaborole.³⁰

Cette internalisation est améliorée par un facteur 4-5 pour la RNase A fonctionnalisée par un motif benzoxaborole, par rapport à la RNase A non-modifiée. Cependant dès l'ajout de saccharide, l'internalisation de la RNase modifiée n'est plus améliorée (Figure I.10). La présence de saccharide, et plus particulièrement de fructose, annihile l'effet positif du motif benzoxaborole lors de l'internalisation de la protéine.

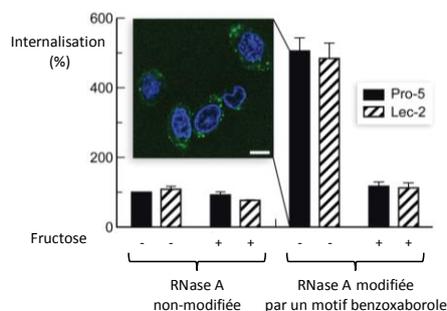


Figure I.10 : Étude de l'internalisation de la RNase A au sein de cellules (Lec-2 et Pro-5).³⁰

Les benzoxaboroles sont donc de bons médiateurs pour la délivrance de molécules actives en favorisant leur internalisation au sein des cellules.

c. En tant que motifs fonctionnalisant un polymère à visée thérapeutique

Les motifs benzoxaboroles peuvent aussi être utilisés pour fonctionnaliser un polymère. Les propriétés du polymère seront ainsi modulées pour les applications thérapeutiques voulues.

Dans l'exemple présenté ci-dessous, un oligomère a été fonctionnalisé par des motifs benzoxaboroles à des ratios contrôlés (ratio molaire de 25, 50 ou 75 % par rapport au second oligomère constituant le polymère).³¹ Ayant démontré une très faible cytotoxicité envers des cellules saines après 24 h d'exposition, ce polymère hydrosoluble a été étudié dans le cadre de la neutralisation du virus VIH-1 (Figure I.11).

Du fait des complexations des motifs benzoxaboroles avec les motifs mannopyranose concentrés au niveau des corécepteurs R5 DU156, R5 TRO et X4 WEAU du virus VIH-1, le polymère a inhibé le virus (Figure I.11.a et b). La force de l'inhibition du virus varie en fonction du taux de fonctionnalisation du polymère : plus celle-ci est importante, plus l'inhibition du virus est forte.

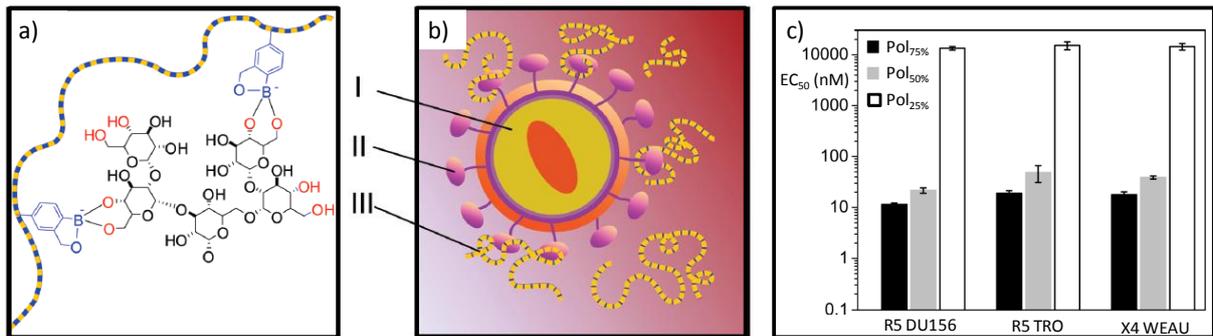


Figure I.11 : Représentation du polymère (III) fonctionnalisé par les motifs benzoxaboroles ainsi que son mode d'action sur le virus du VIH-1 (I) grâce à l'inhibition de ces corécepteurs (II) (b et c) par complexation de celui-ci avec les mannopyranoses (a).³¹

Les benzoxaboroles montrent des propriétés intéressantes en tant qu'inhibiteur pour le traitement de maladie.

d. En tant que nouveaux assemblages supramoléculaires à visée thérapeutique

Une autre étude a utilisé les motifs benzoxaboroles pour fonctionnaliser un assemblage supramoléculaire (Figure I.12).³² Cette fois-ci, des nanotubes sont formés par assemblage d'une protéine GroEL, protéine chaperonne permettant la restructuration des protéines. Ces assemblages sont par la suite fonctionnalisés via la formation de liaisons covalentes de type amide entre une chaîne portant le motif benzoxaborole et des amines pendantes en surface des nanotubes. Le principe actif est alors introduit au sein des nanotubes.

Les motifs benzoxaboroles qui recouvrent les nanotubes vont favoriser l'internalisation de ceux-ci au sein des cellules. Une fois internalisés, la concentration importante en estérases et en adénosines triphosphates (ATP) va favoriser la scission de chacun des blocs constituant le nanotube et permettre ainsi la libération du principe actif. Ces assemblages supramoléculaires permettent la mise au point d'un traitement plus efficace puisqu'ils s'accumulent préférentiellement au sein des cellules tumorales.

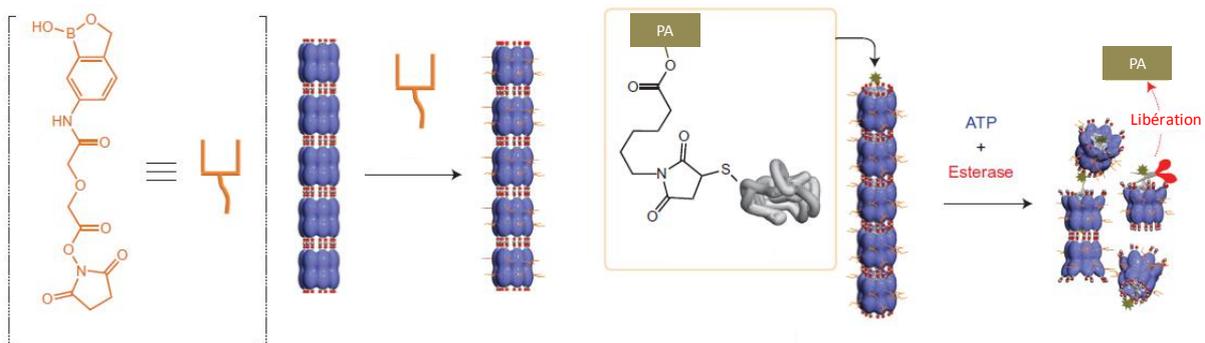


Figure I.12 : Schéma illustrant la préparation et le fonctionnement de nanotubes de protéines fonctionnalisés par des motifs benzoxaboroles.³²

Les benzoxaboroles sont donc une fois encore de bons candidats pour la génération de nouveaux assemblages supramoléculaires tant pour inhiber des protéines que pour réaliser de la vectorisation.

3. Applications dans le domaine analytique

Les benzoxaboroles ont aussi des propriétés remarquables dans le domaine analytique. En effet, ayant des constantes de complexations spécifiques à chaque *cis*-diol, cette interaction peut être utilisée pour faire de la séparation ou de la détection.

a. Séparation de *cis*-diols

Dans ce premier exemple, les benzoxaboroles ont été utilisés pour fonctionnaliser une colonne chromatographique (Figure I.13.a).^{33,34} Cette colonne permet la séparation de *cis*-diols de manière sélective à pH neutre (Figure I.13.b). La séparation de la déoxyadénosine (D) et de l'adénosine (A) habituellement difficile à pH neutre est facilitée par l'utilisation de la colonne chromatographique fonctionnalisée. En effet, cette séparation est efficace avec l'utilisation, comme éluant, d'un tampon phosphate de sodium (30 mM) à pH 7,0 pour les tests a, b et c, et à pas décroissant, de 6,5 à 3,0 par pas de 0,5, pour les tests d à k. A chaque purification, un basculement du pH est réalisé à 15 minutes en changeant l'éluant pour une solution d'acide acétique à 100mM, pH de 2,7, ce qui permet d'éluer le second *cis*-diol. Les tests l et m correspondent respectivement aux résultats obtenus lors de la séparation de la déoxyadénosine (D) et de l'adénosine (A), avec l'utilisation d'une solution à 100 mM d'acide acétique comme éluant, et avec une colonne fonctionnalisée par les motifs benzoxaboroles (l) ou non (m).

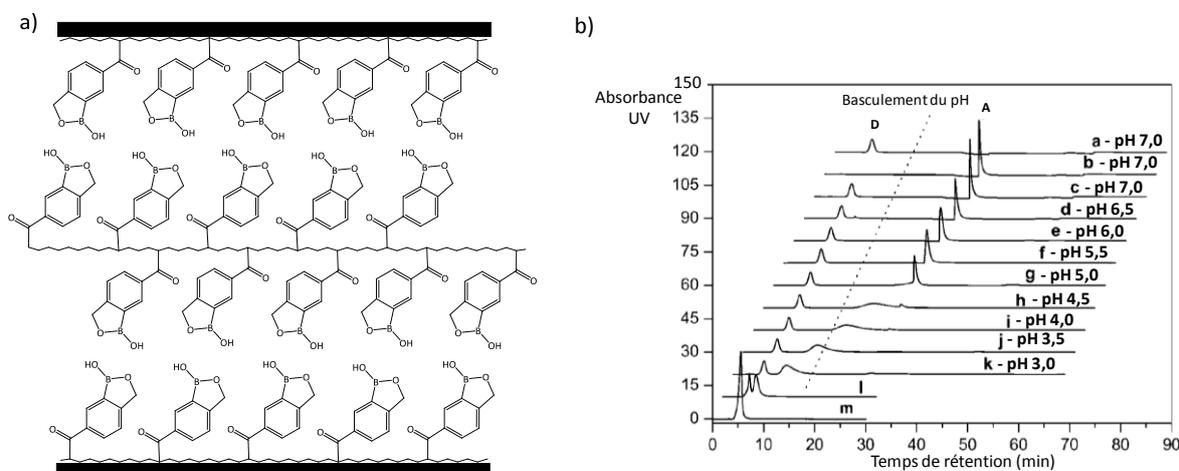


Figure I.13 : Fonctionnalisation d'une colonne chromatographique (a) par des motifs benzoxaboroles permettant la séparation sélective de *cis*-diols (b) : la déoxyadénosine (D) et l'adénosine (A).^{33,34}

Cette colonne chromatographique, fonctionnalisée par des motifs benzoxaboroles, réalise la séparation de *cis*-diols efficacement. Remarquons cependant que contrairement aux colonnes chromatographiques fonctionnalisées par des acides boroniques, cette séparation se réalise à pH neutre et non plus à pH basique limitant la dégradation des molécules.

b. Plateformes sensibles vis-à-vis des *cis*-diols

Toujours dans le même domaine mais sous une autre forme, les benzoxaboroles sont utilisés pour la fonctionnalisation d'hydrogels. Ici, l'hydrogel est composé d'une matrice de chaînes de copolymères

obtenue par fonctionnalisation de (macro)monomères de méthacrylate d'éthylène glycol par des motifs benzoxaboroles. Sous une température de solution critique (LCST), il est soluble dans l'eau et peut alors être gonflé par une grande quantité d'eau ou de fluide biologique. Sa structure, qui se présente sous la forme d'empilement de copolymères sphériques exposant les motifs benzoxaboroles, devient une plateforme sensible structurellement modulable par la présence d'analytes.³⁵

Dans le cas des hydrogels fonctionnalisés par des benzoxaboroles, ceux-ci deviennent des plateformes sensibles, à pH physiologique, aux *cis*-diols et polyols ainsi qu'aux glycopolymères (de basse à haute masse moléculaire) (Figure I.14).³⁶ Les benzoxaboroles sont utilisés ici pour faire de la reconnaissance moléculaire puisque, comme décrit précédemment (B.1), ils ont une force de complexation spécifique à chaque *cis*-diols à pH physiologique. Cette complexation entraîne alors un gonflement, ou une contraction, qui, à son tour, induit un changement de longueur d'onde (λ) d'émission de l'hydrogel détectable optiquement.

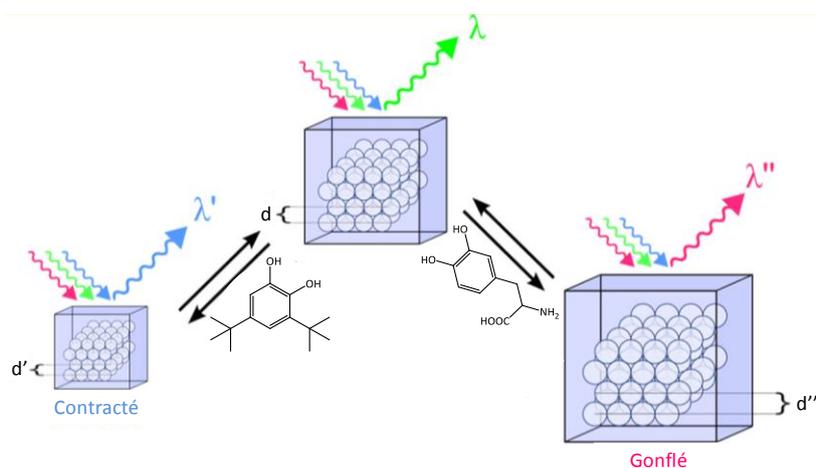


Figure I.14 : Modulation du volume et de la couleur de l'hydrogel fonctionnalisé par des benzoxaboroles en fonction de l'analyte introduit et de sa complexation avec le motif benzoxaborole.³⁶

Au travers de ces quelques exemples, l'utilisation des benzoxaboroles, sous ses diverses formes et pour une large gamme d'application, se montre prometteuse. Toutes ces applications mettent en jeu la même interaction de complexation observée, à pH physiologique, entre les benzoxaboroles et les *cis*-diols. C'est pourquoi la synthèse de ces motifs ainsi que leur fonctionnalisation se sont intensifiées au cours de ces dernières années.

C. Synthèse de benzoxaboroles fonctionnalisés

Les benzoxaboroles ayant des gammes d'applications très variées, il est nécessaire d'avoir des protocoles de synthèse et de fonctionnalisation optimaux. Ainsi, suivant les utilisations visées, le motif benzoxaborole sera spécifiquement modifié soit par la substitution de l'hétérocycle à cinq chaînons, soit par la substitution du cycle l'aromatique (Figure I.15). Afin de diversifier les synthèses

envisageables sans modifier la configuration de l'atome de bore, des groupements protecteurs ont été développés.^{37,38}

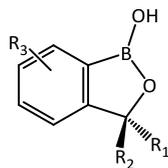


Figure I.15 : Représentation d'un benzoxaborole substitué sur l'hétérocycle (R_1 et R_2) ou sur le cycle aromatique (R_3).

Ces motifs benzoxaboroles fonctionnalisés sur le cycle aromatique ou l'hétérocycle par une fonction chimique réactive pourront ensuite être assemblés entre-eux pour la formation de molécules multivalentes.

1. Synthèse et fonctionnalisation de mono-benzoxaboroles

a. Fonctionnalisation sur le cycle aromatique

Dans un premier temps il faut synthétiser les briques benzoxaboroles présentant un groupement fonctionnel réactif. Pour ce faire, nous prendrons ici l'exemple de trois benzoxaboroles, les plus utilisés, fonctionnalisés par trois groupements réactifs : un aldéhyde (**24**), un acide carboxylique (**35**) et une amine (**39**) (Figure I.16).

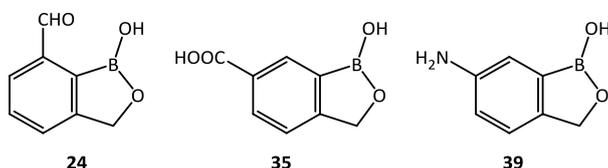


Figure I.16 : Trois exemples de benzoxaboroles fonctionnalisés sur le cycle aromatique par un groupement fonctionnel réactif ; de gauche à droite, un aldéhyde, un acide carboxylique et une amine.^{33,39-42, 43, 44, 45}

i. Synthèse du 5-carbaldéhyde benzoxaborole et de ses dérivés

Le 5-carbaldéhyde benzoxaborole (**24**), décrit par Zhang *et al.*³⁸, est synthétisé à partir de l'acide 2-bromo-3-méthylbenzoïque (**25**) (Figure I.17). Après avoir réalisé l'intermédiaire de synthèse **26**, la bromation du groupement méthyle est effectuée par ajout de *N*-bromosuccinimide (NBS). Une substitution nucléophile par un anion acétate permet l'obtention de l'ester **27**. L'atome de brome en position 2 du cycle aromatique est alors substitué par borylation en présence de bis(pinacolato)diborane. Après hydrolyse du groupement acétate en milieu basique, l'intermédiaire de synthèse **28** cyclise sous la forme d'un benzoxaborole (**29**). Finalement, une réduction sur nickel de Raney est réalisée afin d'obtenir le produit désiré : le 5-carbaldéhyde benzoxaborole (**24**).

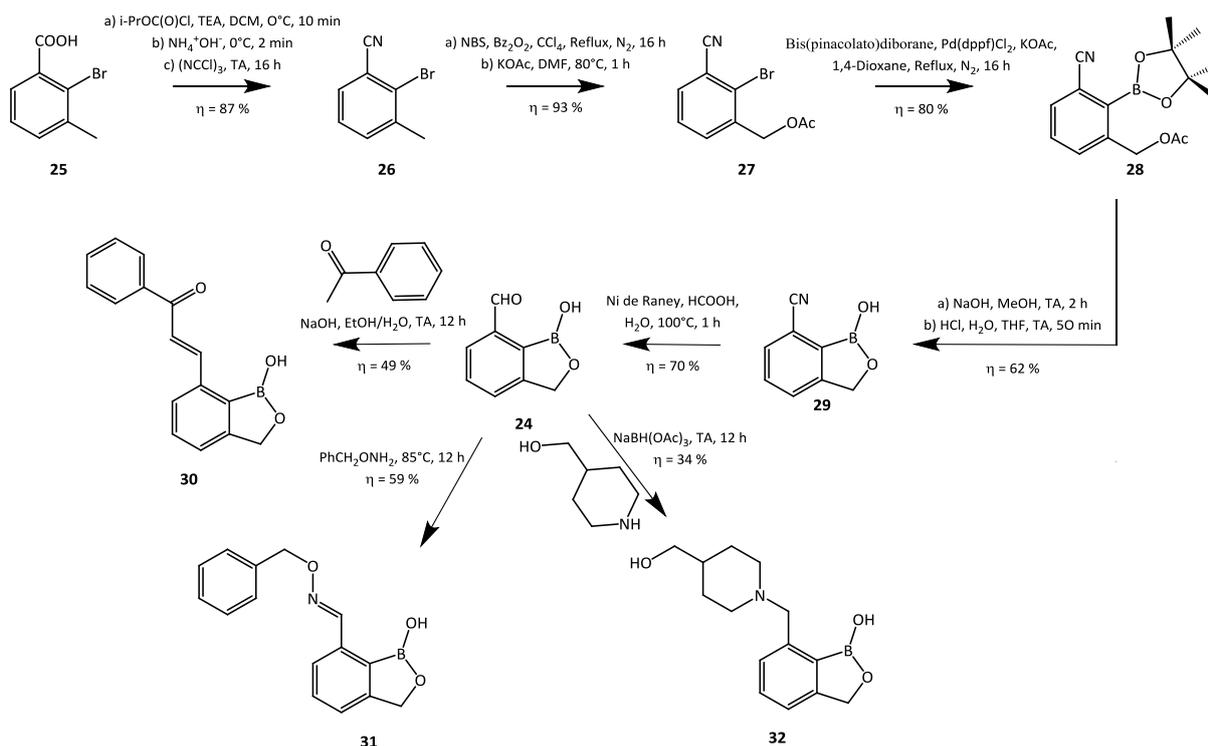


Figure I.17 : Synthèse du benzoxaborole substitué en position 5 par un groupement aldéhyde et de ses dérivés.^{39,40}

La brique moléculaire 5-carbaldéhyde benzoxaborole (**24**) permet la mise en place d'une stratégie de synthèse applicable à une large gamme de molécules. En effet, celui-ci peut être fonctionnalisé via le groupement aldéhyde réactif. Différentes réactions peuvent être envisagées. Par exemple, la condensation aldolique de l'acétophénone permet l'obtention du composé **30**. D'autres composés, respectivement **31** et **32**, peuvent être synthétisés par simple condensation d'une hydroxylamine ou par amination réductrice (Figure I.18).⁴⁰

ii. Synthèse du 4-carboxy benzoxaborole

Dans le cas de la synthèse du 4-carboxy benzoxaborole (**35**), le méthyl-3-bromo-4-méthylbenzoate (**33**), produit commercial, est borylé grâce à la substitution du brome par un groupement pinacol (Figure I.18). Après avoir isolé cet intermédiaire de synthèse, celui-ci est cyclisé sous la forme benzoxaborole par bromation radicalaire en présence d'azobisisobutyronitrile (AIBN) et de *N*-bromosuccinimide (NBS) suivie d'une hydrolyse. Finalement, après purification, le 4-carboxy benzoxaborole (**35**) est isolé avec un rendement global de 57 %.

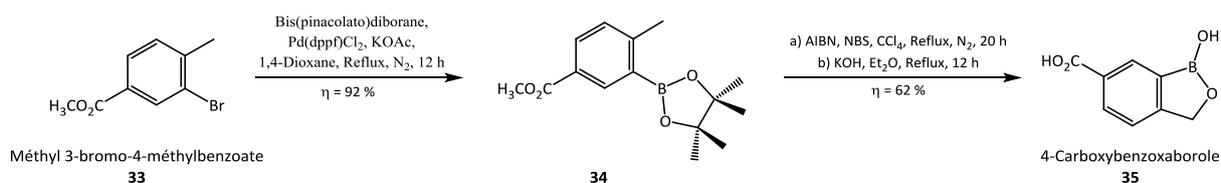


Figure I.18 : Synthèse du 4-carboxy benzoxaborole.³³

Le 4-carboxy benzoxaborole, stable et réactif, est un bon précurseur pour la synthèse de nouveaux produits. Il a notamment été utilisé dans la fonctionnalisation d'une colonne chromatographique par couplage de celui-ci avec une amine (Figure I.19).³³

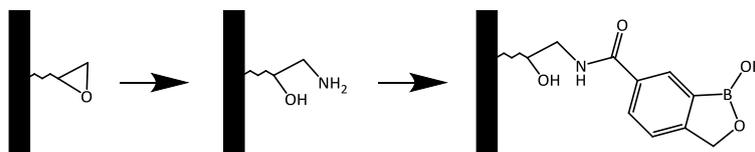


Figure I.19 : Immobilisation du 4-carboxy benzoxaborole sur une colonne chromatographique par couplage d'un acide carboxylique avec une amine.³³

La fonctionnalisation de cette colonne chromatographique par ce groupement benzoxaborole permet la séparation de saccharides, à pH physiologique, par mise en place de complexation spécifique avec chacun d'eux comme présenté dans la section B.3.a.

Présentant une fonction acide carboxylique, une estérification est aussi réalisable sur le composé **35** (Figure I.20). Cette approche a déjà été effectuée pour la synthèse de benzoxaboroles fonctionnalisés présentant des propriétés antifongiques.⁴¹ Par exemple, la molécule **37** a démontré une activité intéressante pour le traitement du *phytophthora infestans* et du *puccinia recondita*, qui sont des champignons parasites des plantes répandus, plus connus sous les noms respectifs de mildiou et de rouille.

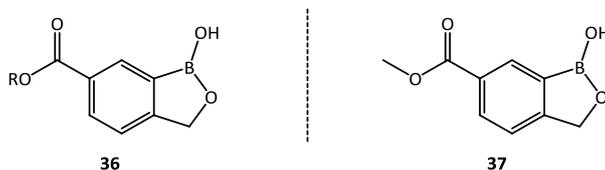


Figure I.20 : Estérification du 4-carboxy benzoxaborole en composés présentant des propriétés antifongiques.⁴¹

iii. Synthèse du 4-amino benzoxaborole et de ses dérivés

Cette fois-ci, la brique moléculaire réactive est le 4-amino benzoxaborole (**39**). Sa synthèse (Figure I.22) plus simple à mettre en place consiste à faire la nitration du motif benzoxaborole (**7**) par sa dissolution progressive dans de l'acide nitrique fumant à - 40°C. La nitration réagit sélectivement sur la position 4 du benzoxaborole. Le composé, après purification par simple recristallisation dans l'eau, est réduit sous la forme amine (**39**) suivant différents protocoles (Figure I.21, méthodologies a. à d.).⁴²⁻⁴⁵ Après purification, le 4-amino benzoxaborole est isolé avec de bons rendements.

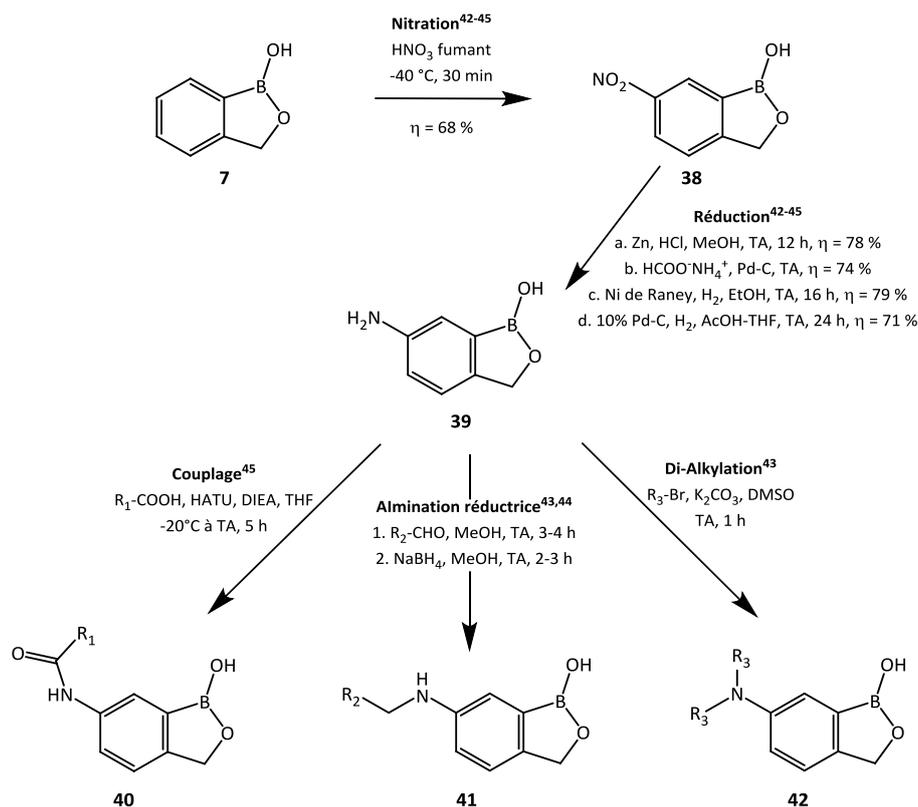


Figure I.21 : Protocole de synthèse et principales réactivités du 4-amino benzoxaborole.⁴²⁻⁴⁵

Une fois ce précurseur synthétisé, un couplage de l'amine avec un acide carboxylique peut être réalisé (**40**). Cependant, d'autres stratégies sont envisageables. Dans la littérature, la synthèse d'amine benzoxaboroles monoalkylées a été reportée.⁴³ L'imine est dans un premier temps synthétisée par la réaction d'un aldéhyde sur l'amine benzoxaborole (**39**), puis une réduction permet d'obtenir le produit désiré (**41**). Une autre stratégie consiste à réaliser la di-alkylation de cette amine benzoxaborole (**39**) par réaction avec un bromure d'alkyle. L'amine secondaire étant plus réactive que l'amine primaire, l'isolation du produit monoalkylé est difficile dans ces conditions. Seuls les produits dialkylés (**42**) sont isolés.

Certaines de ces molécules montrent des activités biologiques aptes à traiter le cancer par exemple.⁴⁴

b. Fonctionnalisation sur le groupement méthylène

Une seconde stratégie de synthèse consiste à fonctionnaliser le groupement méthylène du benzoxaborole. En ayant la même optique que précédemment, la formation d'un motif réactif permettant une post-fonctionnalisation est réalisée.

Dans ce but, la synthèse d'un alcyne benzoxaborole (**45**) a par exemple été réalisée à partir de l'aldéhyde commercial **43** (Figure I.22).⁴⁶ La protection du groupement boronique sous la forme d'un ester de pinacol est réalisée dans un premier temps. Une addition nucléophile du (triméthylsilyl)acétylène est ensuite faite sur l'intermédiaire de synthèse **44**. Le passage en milieu basique permet finalement la cyclisation de la molécule sous la forme de l'alcyne benzoxaborole (**45**).

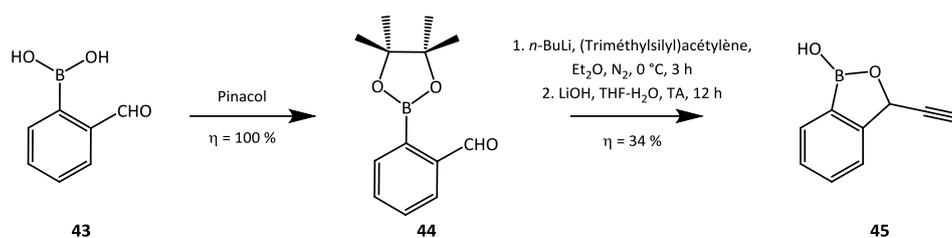


Figure I.22 : Synthèse de l'alcyne benzoxaborole.⁴⁶

La molécule **45**, de par sa fonction alcyne, est conjugable à des biomolécules par chimie click. Cette stratégie a été utilisée par Maison et al.⁴⁶ afin de réussir la conjugaison rapide de peptides et autres biomolécules par un dérivé benzoxaborole. La cycloaddition a été obtenue par l'utilisation de tétrabutylammonium et de bromure de cuivre. La fonctionnalisation d'un sucre présentant une fonction azyde est ainsi réalisée (Figure I.23).

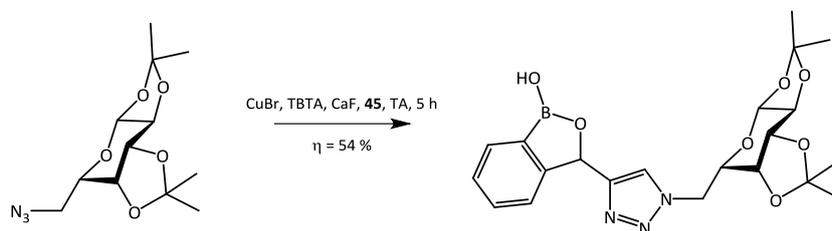


Figure I.23 : Fonctionnalisation d'un motif saccharidique à partir de l'alcyne benzoxaborole (**45**).⁴⁶

2. Synthèse de bis- et multi-benzoxaboroles

a. Synthèse de bis-benzoxaboroles

La synthèse de bis-benzoxaboroles, de la même manière que leur fonctionnalisation, est obtenue suivant différentes stratégies. Les benzoxaboroles peuvent être couplés entre-eux via leur groupement méthylène, via le cycle aromatique ou via le groupement BOH.

i. Via le groupement méthylène

La synthèse d'un bis-benzoxaborole via la fonctionnalisation du groupement méthylène peut être réalisée comme décrit ci-dessous (Figure I.24).⁴⁷ Après avoir métallé la position ortho du cycle aromatique de **46**, le lithium obtenu est mis à réagir en présence de triméthylboronate. Cette étape est ensuite suivie d'une acidification puis d'une basification afin d'obtenir le produit cyclique : le bisbenzoxaborole **47**.

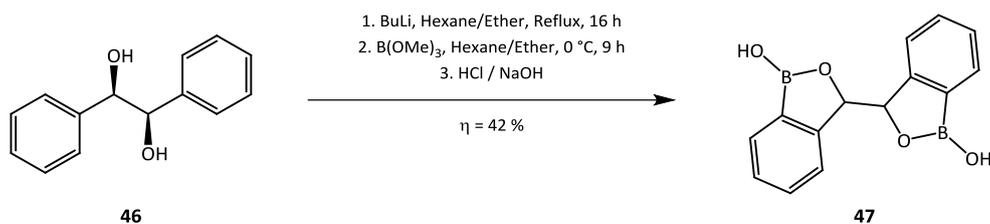


Figure I.24 : Synthèse d'un bisbenzoxaborole.⁴⁷

Un second exemple débute par la dissolution de la pipérazine (**48**) dans une solution d'acide 2-formylphényl-boronique (**49**), pour conduire à la formation immédiate de la 1-pipérazine bisbenzoxaborole (BisPipeBBzx, **50**) qui précipite sous la forme d'une poudre blanche (Figure I.25). La précipitation de la BisPipeBBzx permet le déplacement de l'équilibre réactionnel favorisant la formation du produit avec un bon rendement (92 %).

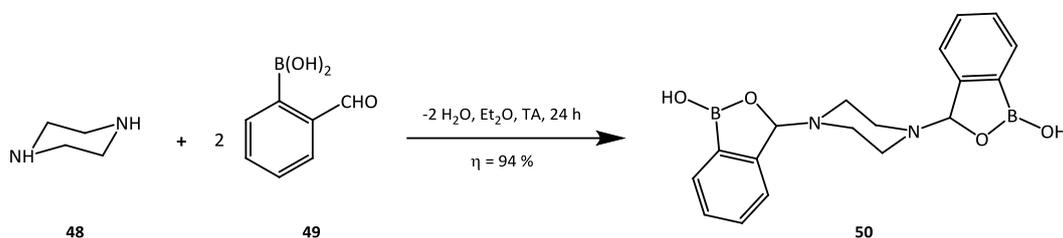


Figure I.25 : Bilan réactionnel de la synthèse de la 1-pipérazine bis-benzoxaborole (BisPipeBBzx).^{48, 49}

Ce composé présentant deux fonctions benzoxaboroles a démontré des propriétés biologiques intéressantes notamment pour le traitement antifongique ou antibactérien.⁴⁹

ii. Via le cycle aromatique

La synthèse de bis-benzoxaboroles peut aussi être réalisée grâce à la fonctionnalisation du cycle aromatique. Ci-dessous (Figure I.26), la synthèse du phényle bis-benzoxaborole illustre bien ce cas. Par borylation du produit commercial 1,4-dibromo-3,6-diméthylbenzène (**51**), l'intermédiaire de synthèse **52** est obtenu. Une fois celui-ci formé, la bromation radicalaire puis l'hydrolyse en milieu basique des groupements méthyles suivie d'une acidification du milieu réactionnel permet la cyclisation et donc l'obtention du produit désiré : le phényle bis-benzoxaborole (**53**).

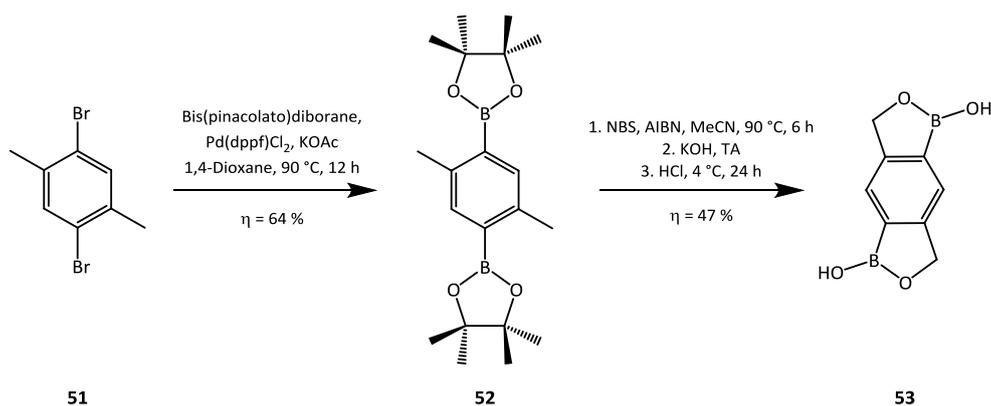


Figure I.26 : Synthèse du phényle bis-benzoxaborole.

Une autre stratégie de synthèse, développée par Hall *et al.*⁵⁰, consiste à coupler l'acide **35** avec des fonctions amines de séquences peptidiques (comme illustré en section C.1.a.). Un exemple de cette stratégie appliquée à la synthèse de peptides (**55**) est donné ci-dessous (Figure I.27).

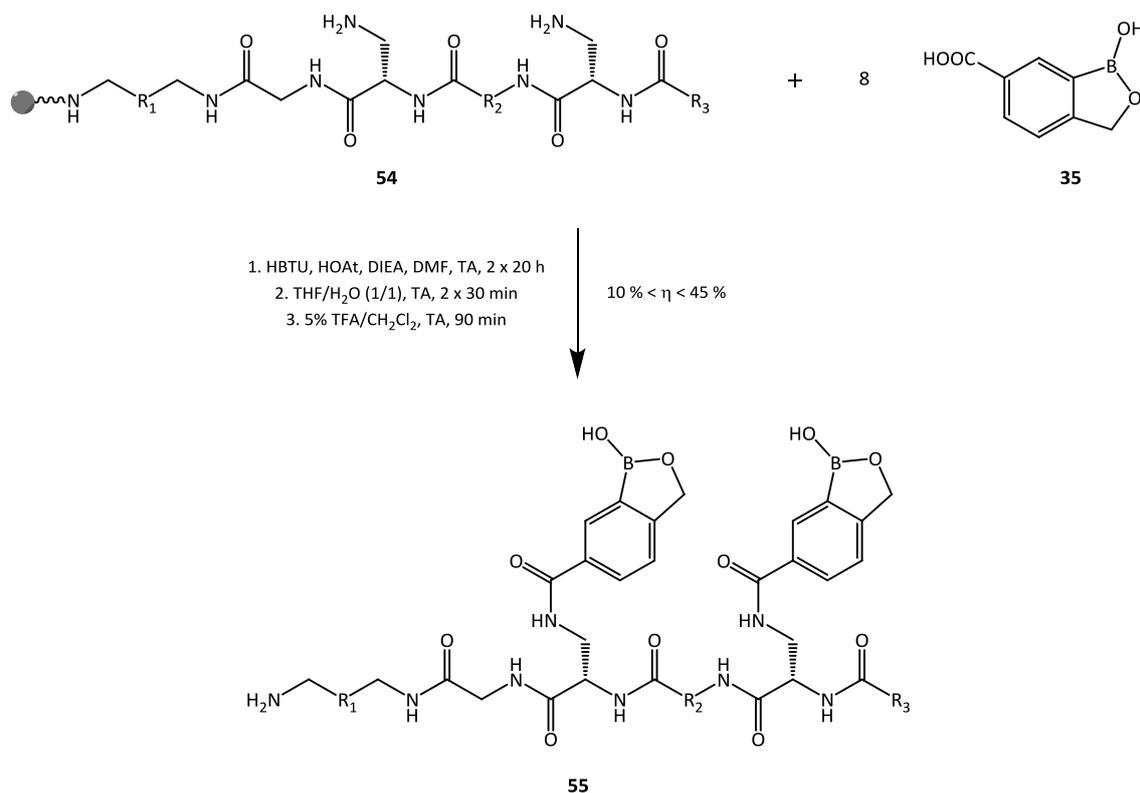


Figure I.27 : Synthèse de bis-benzoxaborole via le couplage d'un peptide portant des fonctions amines libres et le 4-carboxy benzoxaborole.⁵⁰

Ici, le couplage d'un peptide (**54**) avec le 4-carboxy benzoxaborole (**35**) via une liaison amide permet la synthèse de bis-benzoxaboroles (**55**). Cette stratégie est d'autant plus efficace qu'elle permet la synthèse d'une librairie de molécules grâce aux choix possible des chaînes R₁, R₂ et R₃. Seul le faible rendement ainsi que la méthode de production ne permettent pas une synthèse de ces bisbenzoxaboroles à grande échelle.

iii. Via la liaison BOH

En utilisant la même stratégie que pour les boroxines, une stratégie de synthèse met en jeu la déshydratation des benzoxaboroles. Les benzoxaboroles mis sous vide poussé à haute température ont montré la capacité de se coupler entre-eux via la liaison BOH et de former des anhydrides (**56**) (Figure I.28).

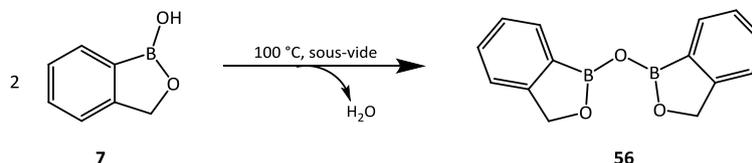


Figure I.28 : Déshydratation de benzoxaboroles sous la forme d'anhydrides.

Dans cette stratégie de synthèse de bis-benzoxaboroles, la même propriété est utilisée mais, cette fois-ci, en présence de diols dans le milieu. Le toluène forme un azéotrope avec l'eau qui s'évapore au fur et à mesure de l'avancement de la réaction permettant ainsi l'obtention du bisbenzoxaborole **57** (Figure I.29). Ces bis-benzoxaboroles ont l'avantage d'être modulables à souhait suivant la fonctionnalisation du motif benzoxaborole initial et du diol dans sa fonction d'espacer.

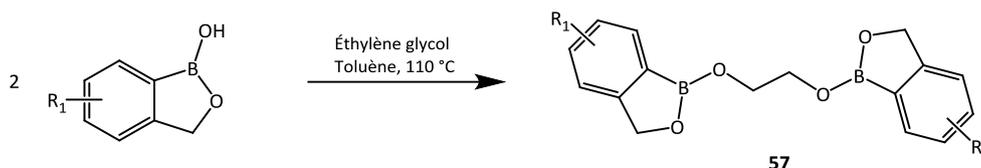


Figure I.29 : Synthèse de bis-benzoxaborole par la fonctionnalisation de la liaison BOH.⁵¹

Ces molécules ont été synthétisées pour le traitement antimicrobien et bactérien de plantes et de viandes.⁵¹

b. Synthèse de polymères fonctionnalisés par des motifs benzoxaboroles

À partir des précurseurs benzoxaboroles présentés dans la section C.1., des polymères ont été modifiés par des motifs benzoxaboroles.

Cette fonctionnalisation a aussi été réalisée sur des analogues d'oligonucléotides (**58**), afin d'améliorer leur stabilité *in vivo*, leur perméabilité au sein des cellules et une meilleure spécificité, par couplage d'un carboxy benzoxaborole (**59**) sur celui-ci (Figure I.30).⁵²

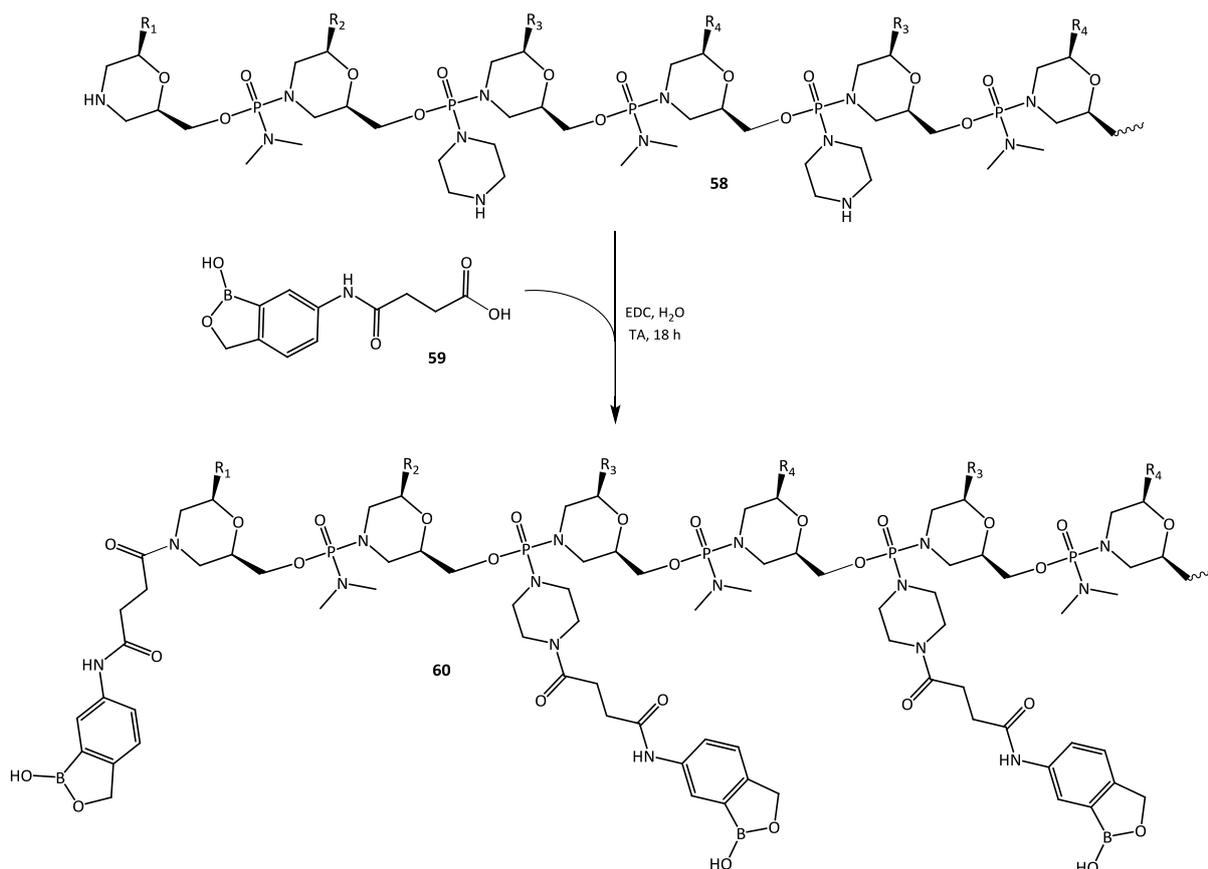


Figure I.30 : Synthèse d'un analogue d'oligonucléotide fonctionnalisé par des motifs benzoxaborole.⁵³

Du fait de la présence des motifs benzoxaboroles, cet oligonucléotide modifié (60) présente une meilleure internalisation au sein des cellules. L'ARN (ayant des fonctions diols) peut être complexé par celui-ci et ainsi inhiber la synthèse de protéines. Par cette stratégie antisens, ces polymères font preuve de bonnes activités thérapeutiques.

D. Objectifs de la thèse

De par la large gamme d'applications possibles, le motif benzoxaborole s'impose comme un précurseur d'intérêt. Au travers des exemples précédemment exposés, leur utilisation est envisageable sous différentes formes : en tant que principe actif, en tant que vecteur de principe actif ou dans le domaine analytique. C'est leur capacité à se complexer avec des *cis*-diols qui est mise en jeu pour chaque cas. Il est alors supposé que des molécules exposant plusieurs motifs benzoxaboroles auraient une activité accrue. Cependant, aucune stratégie simple de synthèse de bibliothèques de petits benzoxaboroles multivalents n'a été reportée. Seules quelques synthèses de petits benzoxaboroles multivalents sont publiées. Or, elles restent spécifiques et isolées à quelques molécules et elles ne permettent pas la création d'une bibliothèque de ces molécules organoborées. A l'heure actuelle, ce manque de stratégie de synthèse efficace et applicable à une large gamme de précurseur limite leur utilisation.

La mise au point d'un protocole de synthèse simple, efficace et applicable à une large gamme de molécule est donc le premier objectif de cette thèse. Afin de pouvoir synthétiser rapidement une librairie de benzoxaboroles multivalents, la synthèse de briques réactives est réalisée. Une fois ces briques moléculaires isolées, elles sont couplées entre-elles via un espaceur (Figure I.31). Suivant l'espaceur choisi, les propriétés de ces molécules pourront être modulées.

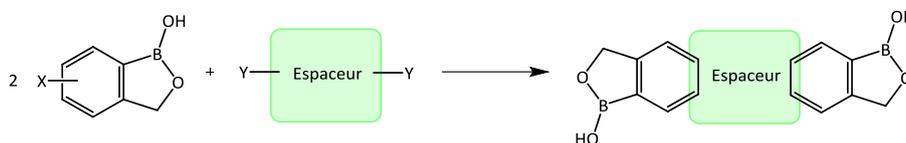


Figure I.31 : Stratégie de synthèse de benzoxaboroles multivalents par couplage de benzoxaboroles via un espaceur exposant tous des groupements chimiques réactifs notés respectivement X et Y.

Une fois la synthèse de benzoxaboroles multivalents mise au point, leur activité biologique est testée. Dans notre cas, l'activité de nos composés est mesurée pour l'inhibition de l'anhydrase carbonique humaine.

Enfin, pour pouvoir maîtriser la réactivité de nos composés et ainsi les utiliser dans divers domaines, l'étude de leur capacité de complexation avec les *cis*-diols est primordiale. Une fois encore, beaucoup d'études ont porté sur la capacité de complexation de molécules organoborées monovalentes avec des *cis*-diols. Dans le cadre de cette thèse, une étude du mode de complexation, et plus particulièrement de sa stoechiométrie, est réalisée. La mise au point d'une approche RMN multinucléaire en solution pour mesurer et caractériser, la stoechiométrie et la force de complexation, entre les benzoxaboroles multivalents et les *cis*-diols est le second objectif de cette thèse. Une fois cette nouvelle méthodologie mise en place, elle sera comparée à des méthodes plus standard, comme la spectrofluorimétrie.

Après avoir mis au point leur synthèse et avoir appréhendé leur mode de complexation, la formation de nouveaux complexes est réalisée. Toujours en jouant sur l'interaction benzoxaborole / diols de nouveaux complexes vont être synthétisés et isolés par déplacement totale de l'équilibre réactionnel. Une fois le protocole optimisé sur des motifs monovalents, le challenge est augmenté par complexation de deux substrats sur un bisbenzoxaborole. Suivant les substrats utilisés, les jonctions de ces complexes peuvent être modulées.

RÉFÉRENCES

- 1 K. Torssell, "Arylboronic acids. III. Bromination of tolylboronic acids according to Wohl-Ziegler", *Ark. Kemi*, **1957**, 10.
- 2 D. G. Hall, In Book "Structure, Properties, and Preparation of Boronic Acid Derivatives"; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2011**, 1-133.
- 3 A. Adamczyk-Wozniak, M. Cyranski, A. Zubrowska, A. Sporzynski, "Benzoxaboroles an old compounds with new applications", *J. Organomet. Chem.*, **2009**, 694, 3533-3541.
- 4 S. J. Baker, J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, "Boron-containing inhibitors of synthetases", *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 4279-4285.
- 5 V. V. Zhdankin, P. J. Persichini, L. Zhang, S. Fix, P. Kiprof, "Synthesis and structure of benzoboroxoles: novel organoboron heterocycles", *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 6705-6708.
- 6 E. Jaskowska, I. Justyniak, M. Cyranski, A. Adamczyk-Wozniak, A. Sporzynski, E. Zygadlo-Monikowska, W. Ziemkowska, "Benzoxaborolate ligands in group 13 metal complexes", *J. Organomet. Chem.*, **2013**, 732, 8-14.
- 7 J. W. Tomsho, A. Pal, D. G. Hall, S. J. Benkovic, "Ring Structure and Aromatic Substituent Effects on the pKa of the Benzoxaborole Pharmacophore", *ACS Med. Chem. Lett.*, **2012**, 3, 48-52.
- 8 A. Adamczyk-Wozniak, M. K. Cabaj, P. M. Dominiak, P. Gajowiec, B. Gierczyk, J. Lipok, L. Popenda, G. Schroeder, E. Tomecka, P. Urbanski, D. Wieczorek, A. Sporzynski, "The influence of fluorine position on the properties of fluorobenzoxaboroles", *Bioorg. Chem.*, **2015**, 60, 130-135.
- 9 M. Berué, M. Dowlut, D. G. Hall, "Benzoboroxoles as Efficient Glycopyranoside-Binding Agents in Physiological Conditions: Structure and Selectivity of Complex Formation", *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 6471-6479.
- 10 A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, A. Sporzynski, "Recent Developments in the Chemistry and Biological Applications of Benzoxaboroles", *Chem. Rev.*, **2015**, 115, 5224-5247.
- 11 J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, "Examination of the Reactivity of Benzoxaboroles and Related Compounds with a cis-Diol", *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 11200-11209.
- 12 H. R. Snyder, A. J. Reedy, W. J. Lennarz, "Synthesis of Aromatic Boronic Acids. Aldehyde Boronic Acids and a Boronic Acid Analog of Tyrosine", *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 835-838.
- 13 Z. Liu, H. He, "Synthesis and Applications of Boronate Affinity Materials: From Class Selectivity to Biomimetic Specificity", *Acc. Chem. Res.*, **2017**, 50, 2185-2193.
- 14 G. Springsteen, B. Wang, "A detailed examination of boronic acid-diol complexation", *Tetrahedron*, **2002**, 58, 5291-5300.
- 15 M. Dowlut, D. G. Hall, "An Improved Class of Sugar-Binding Boronic Acids, Soluble and Capable of Complexing Glycosides in Neutral Water", *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 4226-4227.
- 16 A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, A. Sporzynski, "Recent Developments in the Chemistry and Biological Applications of Benzoxaboroles", *Chem. Rev.*, **2014**, 115, 5224-5247.
- 17 J. Yan, G. Springsteen, S. Deeter, B. Wang, "The relationship among pKa, pH, and binding constants in the interactions between boronic acids and diols - it is not as simple as it appears", *Tetrahedron*, **2004**, 60, 11205-11209.
- 18 J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, "Elucidation of the Mechanism of the Reaction between Phenylboronic Acid and a Model Diol, Alizarin Red S", *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 2098-2106.

- 19 A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, I. D. Madura, A. Pawelko, E. Tomecka, K. Zukowski, "Lewis acidity and sugar receptor activity of 3-amino-substituted benzoxaboroles and their ortho-aminomethylphenylboronic acid analogues", *New J. Chem.*, **2013**, 37, 188-194.
- 20 Y.-K. Zhang, J. J. Plattner, E. E. Easom, T. Akama, Y. Zhou, W. H. White, J. M. Defauw, J. R. Winkle, T. W. Balko, J. Cao, Z. Ge, J. Yang, "Optimization of isoxazoline amide benzoxaboroles for identification of a development candidate as an oral long acting animal ectoparasiticide", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2016**, 26, 3182-3186.
- 21 A. N. Tevyashova, A. M. Korolev, A. S. Trenin, L. G. Dezhenkova, A. A. Shtil, V. I. Polshakov, O. Y. Savelyev, E. N. Olsufyeva, "New conjugates of polyene macrolide amphotericin B with benzoxaboroles: synthesis and properties", *J. Antibiot.*, **2016**, 69, 549.
- 22 S. Vshyvenko, M. L. Clapson, I. Suzuki, D. G. Hall, "Characterization of the Dynamic Equilibrium between Closed and Open Forms of the Benzoxaborole Pharmacophore", *ACS Med. Chem. Lett.*, **2016**, 7, 1097-1101.
- 23 G. B. Lapa, E. P. Mirchink, E. B. Isakova, M. N. Preobrazhenskaya, "Two approaches to the use of benzo[c][1,2]oxaboroles as active fragments for synthetic transformation of clarithromycin", *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2017**, 32, 452-456.
- 24 G. R. Mereddy, A. Chakradhar, R. M. Rutkoski, S. C. Jonnalagadda, "Benzoboroxoles: Synthesis and applications in medicinal chemistry", *J. Organomet. Chem.*, **2018**, 865, 12-22.
- 25 A. Nocentini, C. T. Supuran, J.-Y. Winum, "Benzoxaborole compounds for therapeutic uses: a patent review (2010- 2018)", *Expert Opin. Ther. Pat.*, **2018**, 28, 493-504.
- 26 S. J. Baker, Y.-K. Zhang, T. Akama, A. Lau, H. Zhou, V. Hernandez, W. Mao, M. R. K. Alley, V. Sanders, J. J. Plattner, "Discovery of a New Boron-Containing Antifungal Agent, 5-Fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-2,1-benzoxaborole (AN2690), for the Potential Treatment of Onychomycosis", *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 4447-4450.
- 27 F. L. Rock, W. Mao, A. Yaremchuk, M. Tukalo, T. Crépin, H. Zhou, Y.-K. Zhang, V. Hernandez, T. Akama, S. J. Baker, J. J. Plattner, L. Shapiro, S. A. Martinis, S. J. Benkovic, S. Cusack, M. R. K. Alley, "An Antifungal Agent Inhibits an Aminoacyl-tRNA Synthetase by Trapping tRNA in the Editing Site", *Science*, **2007**, 316, 1759-1761.
- 28 T. Akama, S. J. Baker, Y.-K. Zhang, V. Hernandez, H. Zhou, V. Sanders, Y. Freund, R. Kimura, K. R. Maples, J. J. Plattner, "Discovery and structure-activity study of a novel benzoxaborole anti-inflammatory agent (AN2728) for the potential topical treatment of psoriasis and atopic dermatitis", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19, 2129-2132.
- 29 V. Alterio, R. Cadoni, D. Esposito, D. Vullo, A. D. Fiore, S. M. Monti, A. Caporale, M. Ruvo, M. Sechi, P. Dumy, C. T. Supuran, G. D. Simone, J.-Y. Winum, "Benzoxaborole as a new chemotype for carbonic anhydrase inhibition", *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 11983-11986.
- 30 G. A. Ellis, M. J. Palte, R. T. Raines, "Boronate-Mediated Biologic Delivery", *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 3631-3634.
- 31 J. I. Jay, B. E. Lai, D. G. Myszka, A. Mahalingam, K. Langheinrich, D. F. Katz, P. F. Kiser, "Multivalent Benzoboroxole Functionalized Polymers as gp120 Glycan Targeted Microbicide Entry Inhibitors", *Mol. Pharmaceutics*, **2010**, 7, 116-129.
- 32 S. Biswas, K. Kinbara, T. Niwa, H. Taguchi, N. Ishii, S. Watanabe, K. Miyata, K. Kataoka, T. Aida, "Biomolecular robotics for chemomechanically driven guest delivery fuelled by intracellular ATP", *Nat. Chem.*, **2013**, 5, 613-620.
- 33 H. Li, H. Wang, Y. Liu, Z. Liu, "A benzoboroxole-functionalized monolithic column for the selective enrichment and separation of cis-diol containing biomolecules", *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 4115-4117.

- 34 C. T. Liu, J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, "The unique chemistry of benzoxaboroles: Current and emerging applications in biotechnology and therapeutic treatments", *Bioorg. Med. Chem.*, **2014**, 22, 4462-4473.
- 35 L. E. V., S. A. C., S. Thitima, W. G. T., W. Boontana, J. A. T. A., B. S. D., J. T. D., "Dye Displacement Assay for Saccharides using Benzoxaborole Hydrogels", *ChemistryOpen*, **2018**, 7, 266-268.
- 36 J.-P. Couturier, E. Wischerhoff, R. Bernin, C. Hettrich, J. Koetz, M. Sütterlin, B. Tiersch, A. Laschewsky, "Thermoresponsive Polymers and Inverse Opal Hydrogels for the Detection of Diols", *Langmuir*, **2016**, 32, 4333-4345.
- 37 J. M. Gamrat, G. Mancini, S. J. Burke, R. C. Colandrea, N. R. Sadowski, B. C. Figula, J. W. Tomsho, "Protection of the Benzoxaborole Moiety: Synthesis and Functionalization of Zwitterionic Benzoxaborole Complexes", *J. Org. Chem.*, **2018**, 83, 6193-6201.
- 38 G. Lafitte, K. Kunihiro, C. Bonneaud, B. Dréan, F. Gaigne, V. Parnet, R. Pierre, C. Raffin, R. Vatinel, J.-F. Fournier, B. Musicki, G. Ouvry, C. Bouix-Peter, L. Tomas, C. S. Harris, "A convenient one-pot synthesis of boroxoles from diboronic acid", *Tetrahedron Lett.*, **2017**, 58, 3757-3759.
- 39 Y.-K. Zhang, J. J. Plattner, Y. R. Freund, E. E. Easom, Y. Zhou, J. Gut, P. J. Rosenthal, D. Waterson, F.-J. Gamo, I. Angulo-Barturen, M. Ge, Z. Li, L. Li, Y. Jian, H. Cui, H. Wang, J. Yang, "Synthesis and structure-activity relationships of novel benzoxaboroles as a new class of antimalarial agents", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, 21, 644-651.
- 40 L. Ye, D. Ding, Y. Feng, D. Xie, P. Wu, H. Guo, Q. Meng, H. Zhou, "Convenient and versatile synthesis of formyl-substituted benzoxaboroles", *Tetrahedron*, **2009**, 65, 8738-8744.
- 41 R. Rajan, P. Renold, A. Mahajan, D. Stierli, R. Beaudegnies; Patent US0000133, **2017**.
- 42 W. J. Lennarz, H. R. Snyder, "Arylbaboronic Acids. IV. Reactions of Boronophthalide", *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 2172-2175.
- 43 M. A. Alam, K. Arora, S. Gurrapu, S. K. Jonnalagadda, G. L. Nelson, P. Kiprof, S. C. Jonnalagadda, V. R. Mereddy, "Synthesis and evaluation of functionalized benzoboroxoles as potential anti-tuberculosis agents", *Tetrahedron*, **2016**, 72, 3795-3801.
- 44 P. Suman, B. P. Patel, A. V. Kasibotla, L. N. Solano, S. C. Jonnalagadda, "Synthesis and evaluation of functionalized aminobenzoboroxoles as potential anti-cancer agents", *J. Organomet. Chem.*, **2015**, 798, Part 1, 125-131.
- 45 Z. Fu, J. He, A. Tong, Y. Xie, Y. Wei, "A Convenient and Efficient Synthesis of Dipeptidyl Benzoxaboroles and Their Peptidomimetics", *Synthesis*, **2013**, 45, 2843-2852.
- 46 F. Wienhold, D. Claes, K. Graczyk, W. Maison, "Synthesis of Functionalized Benzoboroxoles for the Construction of Boronolactams", *Synthesis*, **2011**, 4059-4067.
- 47 I. Cho, L. Meimetis, R. Britton, "Bidirectional Metalation of Hydrobenzoin: Direct Access to New Chiral Ligands and Auxiliaries", *Org. Lett.*, **2009**, 11, 1903-1906.
- 48 A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, I. D. Madura, S. Michalek, A. Pawelko, "Straightforward synthesis and crystal structures of the 3-piperazine-bisbenzoxaboroles and their boronic acid analogs", *Tetrahedron*, **2013**, 69, 8936-8942.
- 49 A. Adamczyk-Woźniak, O. Komarovska-Porokhnyavets, B. Misterkiewicz, V. P. Novikov, A. Sporyński, "Biological activity of selected boronic acids and their derivatives", *Appl. Organomet. Chem.*, **2012**, 26, 390-393.

- 50 A. Pal, M. Bérubé, D. G. Hall, "*Design, Synthesis, and Screening of a Library of Peptidyl Bis(Boroxoles) as Oligosaccharide Receptors in Water: Identification of a Receptor for the Tumor Marker TF-Antigen Disaccharide*", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 1492-1495.
- 51 R. M. Jacobson, D. Maclean, E. Gachango; Patent US8669207, **2014**.
- 52 G. J. Hanson; Patent US0080340, **2015**.
- 53 G. J. Hanson; Patent US0080340, **2013**.

Chapitre II :
Synthèse de benzoxaboroles
multivalents

Chapitre II : Synthèse de benzoxaboroles multivalents

SOMMAIRE

A. INTRODUCTION	53
B. SYNTHÈSE DES BRIQUES BENZOXABOROLE PORTANT UNE FONCTION ORGANIQUE REACTIVE.....	54
1. Brique benzoxaborole portant une fonction acide carboxylique	54
a. Synthèse du 4-carboxybenzoxaborole (BBzx-COOH)	54
b. Réactivité des acides : du motif BBzx-COOH aux multi-BBzx	54
2. Brique benzoxaborole portant une fonction amine	55
a. Synthèse du 4-aminobenzoxaborole (BBzx-NH ₂)	55
b. Réactivité des amines : du motif BBzx-NH ₂ aux multi-BBzx	56
3. Bilan	57
C. SYNTHÈSE DE BENZOXABOROLE MULTIVALENTS	57
1. Par formation d'imine	57
2. Par amidation	58
a. Voies synthétiques	58
b. Résultats.....	59
3. Synthèse du squarate bis-benzoxaborole	61
4. Par réaction d'alkylation et d'addition nucléophile	62
5. Bilan	63
D. ÉVALUATION BIOLOGIQUE DES MOLECULES MULTIVALENTES	64
1. L'anhydrase carbonique et son inhibition	64
2. Résultats.....	67
3. Bilan	70
E. CONCLUSION	72
RÉFÉRENCES.....	75
ANNEXES	77

A. Introduction

Le premier objectif de ce travail de thèse est la mise en place d'un protocole de synthèse simple, efficace et applicable à une large gamme de molécules, afin de pouvoir synthétiser rapidement une librairie de benzoxaboroles multivalents. Ces molécules multivalentes seront utilisées par la suite dans diverses applications, comme des études biologiques, pour l'inhibition de l'anhydrase carbonique (cf chapitre II.C) ou la mise au point de nouveaux complexes (cf chapitre IV).

La stratégie générale (Figure II.1) est de synthétiser des motifs benzoxaboroles portant une fonction organique réactive (X). Ces briques moléculaires seront ensuite associées entre-elles par l'intermédiaire d'un espaceur présentant lui-même des fonctions chimiques réactives (Y). Les deux fonctions chimiques X et Y réagissent ensemble et ainsi forment des molécules exposant plusieurs fois le motif benzoxaborole. Suivant la nature de l'espaceur choisi, les propriétés de ces molécules (la flexibilité ou rigidité, la solubilité, ...) pourront être modulées.

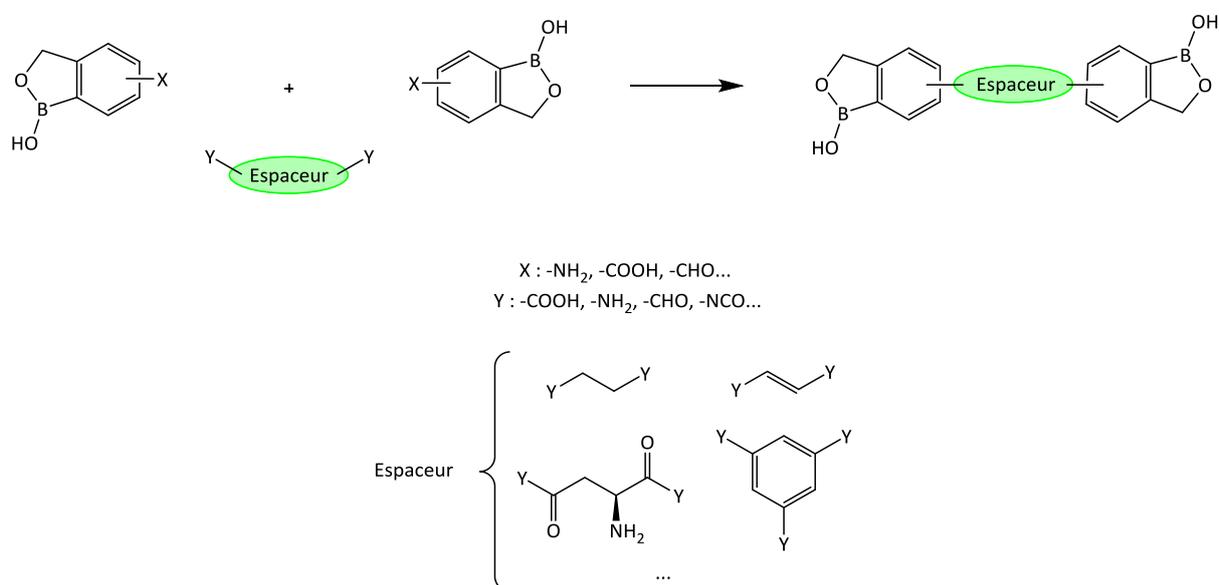


Figure II.1 : Présentation de la stratégie de synthèse d'une librairie de benzoxaboroles multivalents par réaction de deux briques de benzoxaborole fonctionnalisées par une fonction réactive (X) sur un espaceur présentant lui-même deux fonctions réactives (Y).

Au cours de ces travaux, deux types de briques ont été synthétisées chacune avec une fonction chimique organique réactive (X) afin d'ouvrir un large éventail de réactions possibles : l'acide 4-carboxybenzoxaborole ainsi que le 4-aminobenzoxaborole. La synthèse de ces deux briques avait déjà été publiée, comme présenté au chapitre I. Leur synthèse a été réalisée suivant les protocoles publiés.¹⁻⁴

B. Synthèse des briques benzoboroles portant une fonction organique réactive

1. Brique benzoborole portant une fonction acide carboxylique

La synthèse du 4-carboxybenzoborole est réalisée suivant le protocole tiré de la publication de Li et al.¹ La synthèse est réalisée en deux étapes comme décrit dans la figure ci-dessous (Figure II.2).

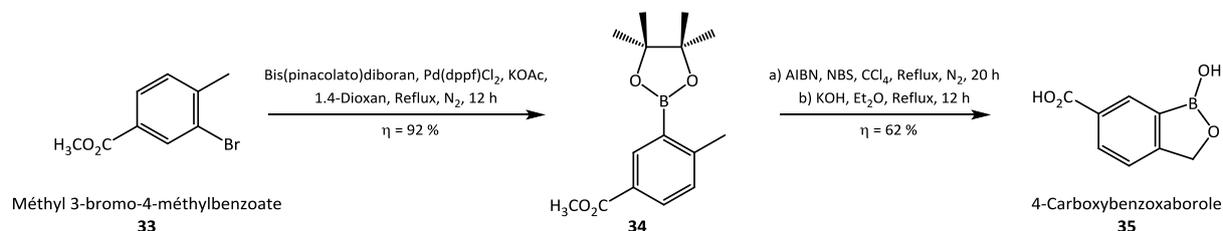


Figure II.2 : Synthèse du 4-carboxybenzoborole (BBzx-COOH) en deux étapes.

a. Synthèse du 4-carboxybenzoborole (BBzx-COOH)

La première étape est une réaction de borylation. Le bis(pinacolato)diborane réagit sur le bromure du méthyl 3-bromo-4-méthylbenzoate (**33**) en présence de catalyseur au palladium (Pd^0). L'intermédiaire de synthèse (**34**) peut alors être isolé. Après purification de celui-ci, la cyclisation est réalisée par une bromation radicalaire suivie d'une substitution nucléophile du brome par un hydroxyde en milieu basique qui va permettre la cyclisation. Le groupement protecteur pinacol est libéré et le produit final de synthèse, le 4-carboxybenzoborole (**35**), est obtenu. Par simple purification sur colonne chromatographique sur gel de silice, le produit pur est isolé avec un rendement de 57 % sur les deux étapes.

b. Réactivité des acides : du motif BBzx-COOH aux multi-BBzx

A partir de cette brique moléculaire, plusieurs stratégies de synthèse sont envisageables (Figure II.3). La première est une réaction d'estérification de la fonction acide par réaction avec un alcool, un thiol ou d'un chlorure d'acyle.¹ Une dernière stratégie est d'effectuer une réaction d'amidation en présence d'amines ou de diamines.^{5,6}

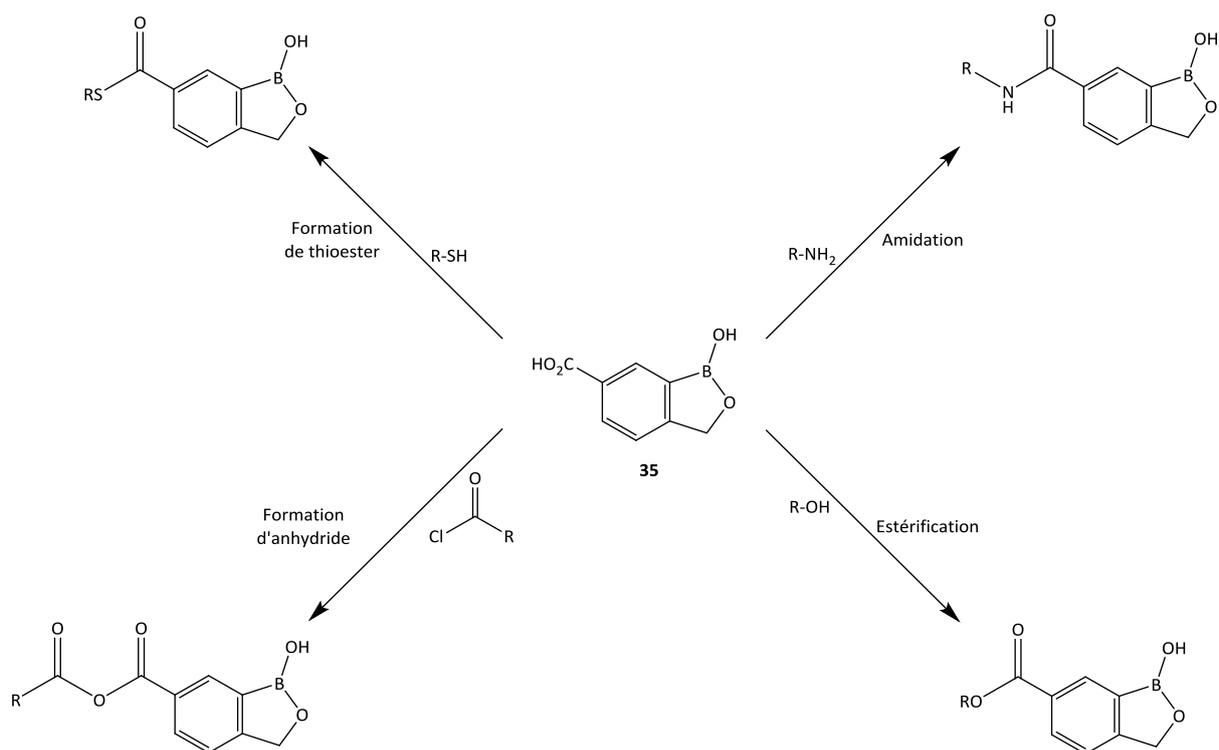


Figure II.3 : Les stratégies de synthèse envisageables à partir du 4-carboxybenzoxaborole (35).^{1,5,6}

Ainsi, en utilisant un espaceur multivalent, la formation de benzoxaboroles multivalents est envisageable. Cependant, il faut s'assurer de la généralisation de ces synthèses dans le cas des multi-benzoxaboroles.

2. Brique benzoxaborole portant une fonction amine

La synthèse du 4-aminobenzoxaborole est réalisée suivant les protocoles décrits dans les publications de Suman *et al.*, et de Alterio *et al.*^{2-4,7}

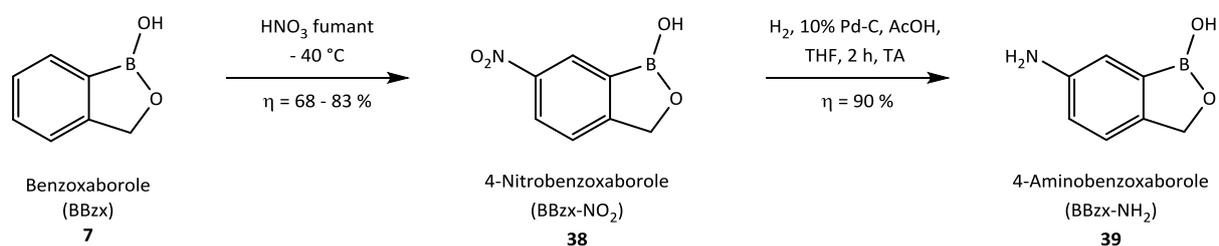


Figure II.4 : Synthèse du 4-aminobenzoxaborole (BBzx-NH₂, 39) en deux étapes

a. Synthèse du 4-aminobenzoxaborole (BBzx-NH₂)

Cette synthèse se divise en deux étapes (Figure II.4). La première est une réaction de nitration sélective en position 6 du motif benzoxaborole. Une fois cet intermédiaire de synthèse isolé et purifié par recristallisation, celui-ci est réduit par hydrogénation. Le groupement nitro (-NO₂) est, sous pression

d'hydrogène (H_2) et en présence de catalyseur de palladium sur charbon (Pd-C), réduit en groupement amine ($-NH_2$). Le produit est isolé pur sans aucune purification et avec un rendement variant entre 56 et 75 % sur les deux étapes.

b. Réactivité des amines : du motif BBzx- NH_2 aux multi-BBzx

A partir du 4-aminobenzoborole (**39**), plusieurs stratégies de synthèse sont envisageables, au vue de la littérature (Figure II.5).⁸ La plus simple est une alkylation de l'amine par un composé halogéné, tel qu'un alkyl de chlorure (R-Cl)⁹, ou par un tosylate (R-OTs)⁸. Une amidation par réaction d'anhydride sur l'amine offre une autre possibilité.⁸ D'autres voies de synthèses, telles que l'addition nucléophile sur un isocyanate (R-NCO)⁸ ou l'amidation en présence de chlorure d'acyle, peuvent être utilisées. Enfin, une autre méthodologie consiste à faire réagir les acides carboxyliques avec les amines : par amidation, les produits sont obtenus. Dans tous les cas, les rendements obtenus ont été concluants, entre 60 et 80 %.^{8,9}

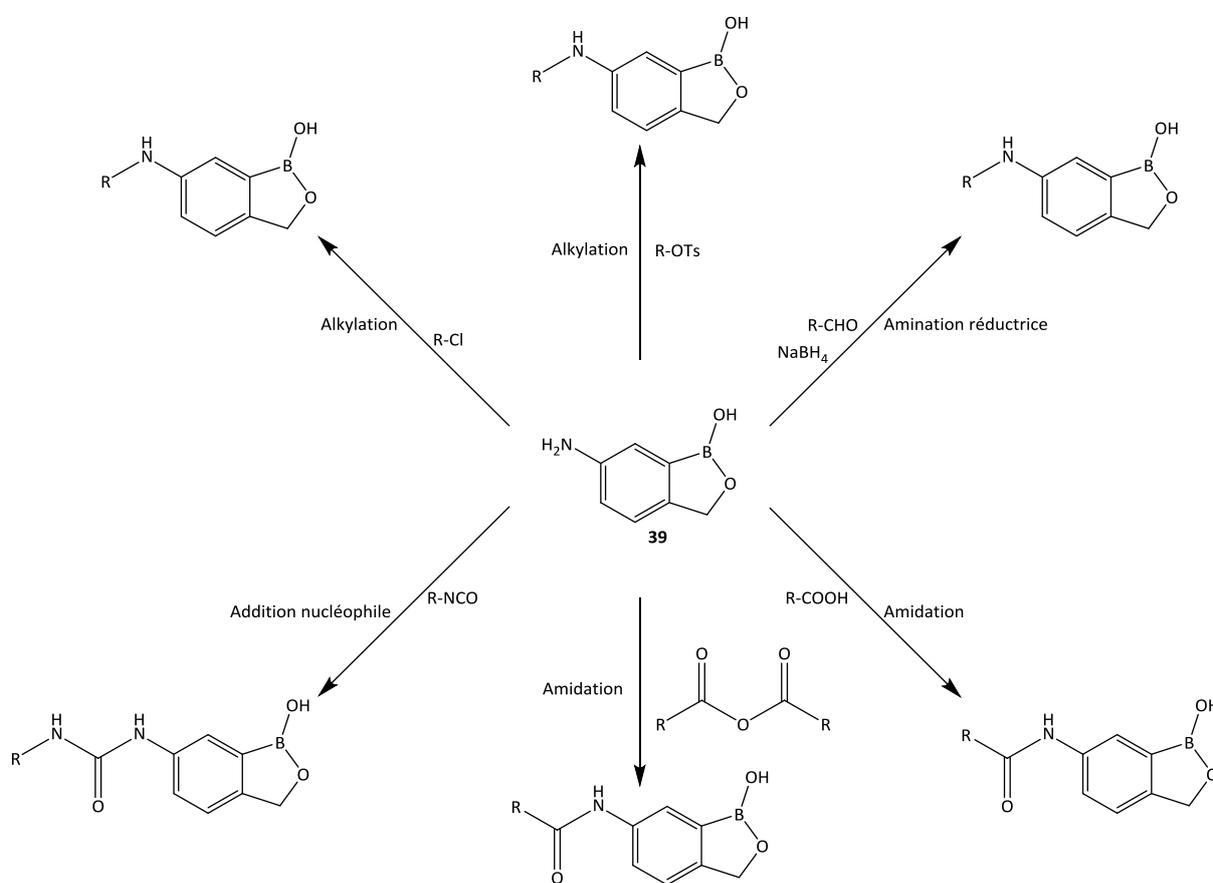


Figure II.5 : Les stratégies de synthèse envisageables à partir du 4-aminobenzoborole (**39**).^{8,9}

De même que précédemment, dans chacun des cas envisagés ci-dessus, les espaceurs devront être commerciaux ou facilement synthétisables, diversifiés et peu chers.

3. Bilan

Deux briques moléculaires de benzoxaboroles ont été synthétisés avec de bons rendements. Chacune de ces briques expose une fonction chimique permettant d'aller, par diverses réactions, vers la synthèse de molécules multivalentes.

Cependant, au vu de la facilité de synthèse ainsi que des réactivités envisageables pour la suite du projet, le 4-aminobenzoxaborole est le meilleur choix. En effet, la synthèse de ce composé est moins coûteuse et plus facile à réaliser. De plus, la diversité des espaceurs commerciaux envisageables est plus importante dans ce cas, notamment en ce qui concerne les diacides (pour les réactions d'amidation).

C. Synthèse de benzoxaboroles multivalents

Différentes stratégies de synthèse de benzoxaboroles multivalents ont été expérimentées. Les résultats obtenus sont décrits ci-dessous.

1. Par formation d'imine

L'amination réductrice est une réaction qui met en jeu une amine (primaire ou secondaire), un composé carbonyle (une cétone ou un aldéhyde) et un réducteur (NaBH_4 , H_2 en présence de Pd-C...). Le composé carbonyle et l'amine vont réagir ensemble pour former par condensation une imine qui sera réduite ensuite par le donneur d'hydrogène.

Ici, la réaction a été testée sur le 2,5-thiophènedicarboxaldéhyde (**61**).

Par condensation de deux équivalents de 4-aminobenzoxaboroles (**39**) sur le 2,5-thiophènedicarboxaldéhyde (**61**), le produit (**62**) peu soluble dans le milieu réactionnel précipite (Figure II.6). Afin de le purifier, le précipité est ressolubilisé dans un minimum de THF puis précipité par ajout d'hexane. Le produit est ainsi obtenu pur avec un bon rendement (95 %). Cependant, en raison de sa faible solubilité et malgré la présence du réducteur NaBH_4 , cette imine n'a pas pu être réduite.

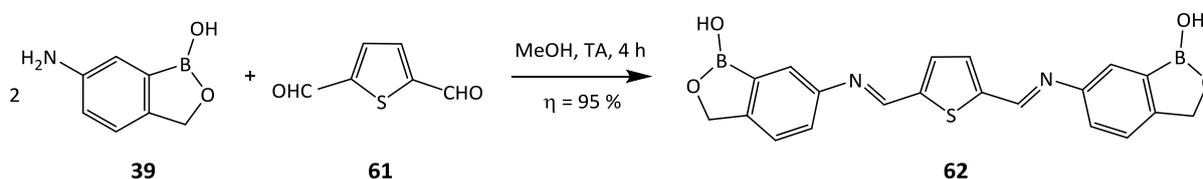


Figure II.6 : Synthèse du thiophène-bisbenzoxaborole (**62**).

Le produit a pu être recristallisé dans un minimum de DMSO. Après l'enregistrement du diffractogramme sur monocristal, la structure a alors pu être résolue (Figure II.7). Le thiophène-bisbenzoxaborole (**62**) n'a pas une structure cristalline plane. Une torsion ($\alpha(\text{NCCS})$) entre les deux motifs benzoxaboroles est observable (figure II.7.a). Les structures s'empilent les unes sur les

autres en alternant l'orientation de l'atome de soufre. Des molécules du solvant de recristallisation (DMSO) permettent par des liaisons H stabiliser cette structure.

a) Motif moléculaire bisbenzoxaborole extrait de la structure cristalline de **62**

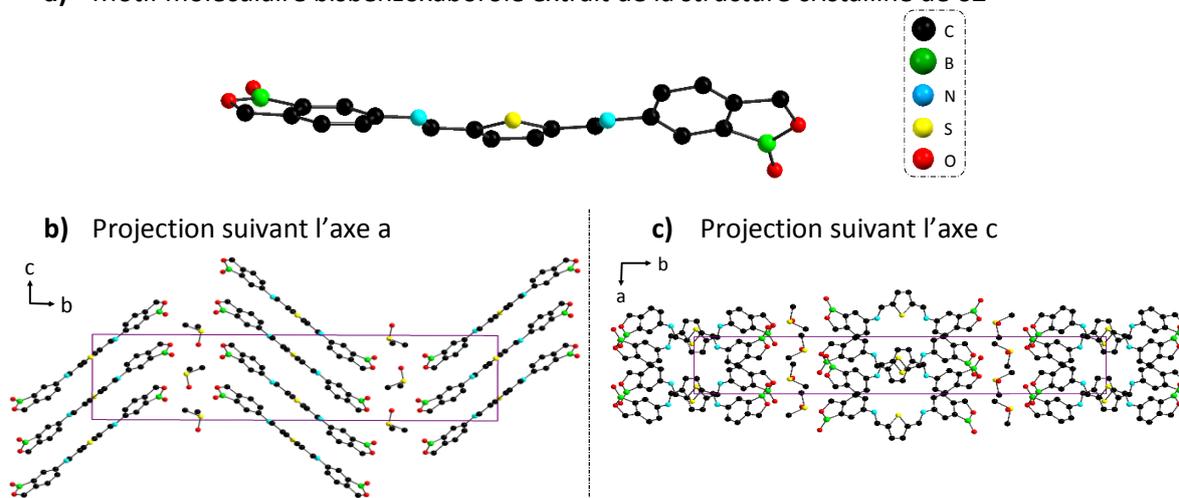


Figure II.7 : Structure obtenue par diffraction des rayons X sur monocristal du bisbenzoxaborole **62** : motif moléculaire bisbenzoxaborole extrait de la structure cristalline de **62** (a), et les projections suivant les axes a (b) et c (c) (les protons sont omis dans ces cas pour plus de clarté).

Cependant, dû à la faible solubilité de **62** et à la commercialisation des bis-aldéhydes, peu exhaustive et souvent chers, cette stratégie de synthèse s'est montrée peu intéressante pour la suite du projet.

2. Par amidation

Une nouvelle stratégie a dû être développée. Celle-ci consiste à utiliser la réactivité des amines avec les acides carboxyliques. Bien que ce type de couplage a précédemment été utilisé et décrit, dans la littérature, pour la synthèse de ce type de molécules, il n'avait pas été utilisé pour la synthèse systématique de bis- et multi-benzoxaboroles.

a. Voies synthétiques

Dans un premier temps, la stratégie a été de préparer un intermédiaire réactionnel (**63**) qui présente une fonction organique permettant par la suite d'aller vers la synthèse de benzoxaboroles multivalents. Dans cette optique, la réaction de l'amine sur un anhydride a permis d'isoler un intermédiaire de synthèse qui présente une fonction acide carboxylique.⁸ La réaction de cet intermédiaire de synthèse avec un second équivalent de l'amine **39** a permis d'obtenir le produit présentant deux fonctions benzoxaboroles (Figure II.8, Voie A).

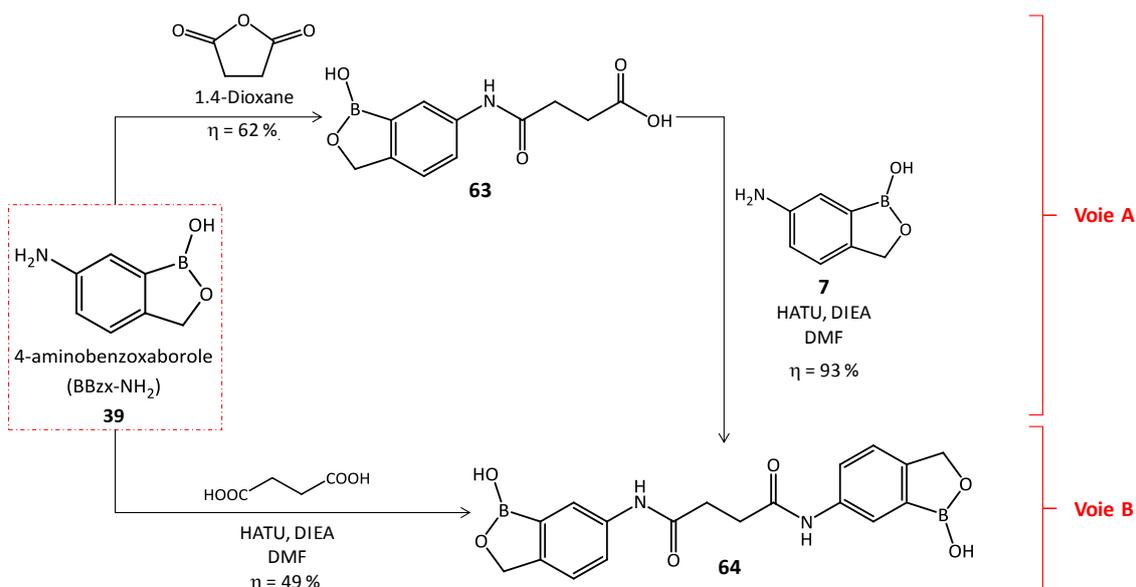
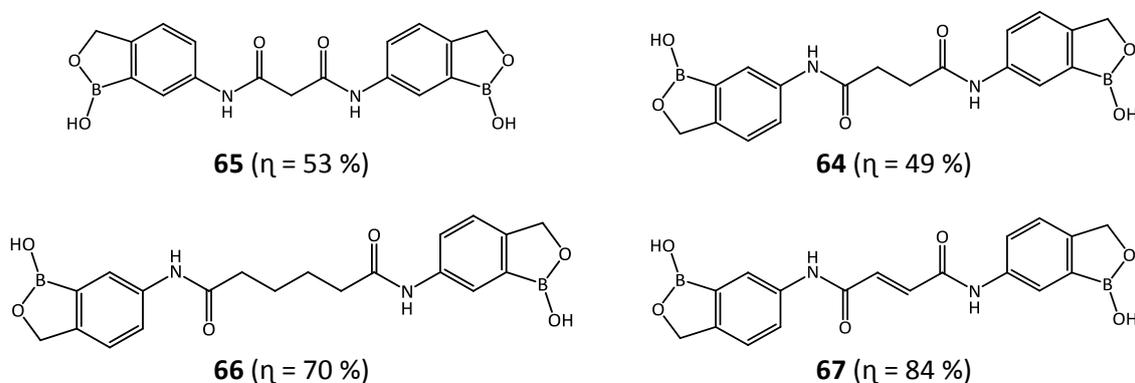


Figure II.8 : Stratégies de synthèses A et B du succinique-bisbenzoxaborole (**64**) par réactivité du 4-aminobenzoxaborole (**39**) sur un anhydride (voie A) ou un diacide (voie B).

Le bisbenzoxaborole **64** a été obtenu grâce à la réaction en deux étapes de deux amines **39** sur l'anhydride succinique (Figure II.8, Voie A). Cependant, dans le but de mettre au point une voie de synthèse plus simple, une synthèse monotopie est testée (Figure II.8, Voie B). Dans ce cas, deux équivalents d'amine **39** vont réagir sur un diacide en présence d'un agent de couplage et d'une base, respectivement le HATU et le *N,N*-diisopropyléthylamine (DIEA). Cette di-amidation permet ainsi d'isoler à nouveau, et en une seule étape, le bisbenzoxaborole **64**.

b. Résultats

En appliquant la stratégie B sur divers di- ou tri-acides (les acides malonique, succinique, adipique, fumarique, *trans*- β -hydromuconique, maléique, *trans,trans*-muconique, trimésique, *N*-(tert-butoxycarbonyl)-*L*-aspartique et *N*-(carbobenzyloxy)-*L*-glutamique), une série de benzoxaboroles multivalents a pu être synthétisée. La synthèse et la caractérisation de 10 nouveaux bisbenzoxaboroles et d'un trisbenzoxaborole inédits ont été réalisées (Figure II.9 et Annexes).



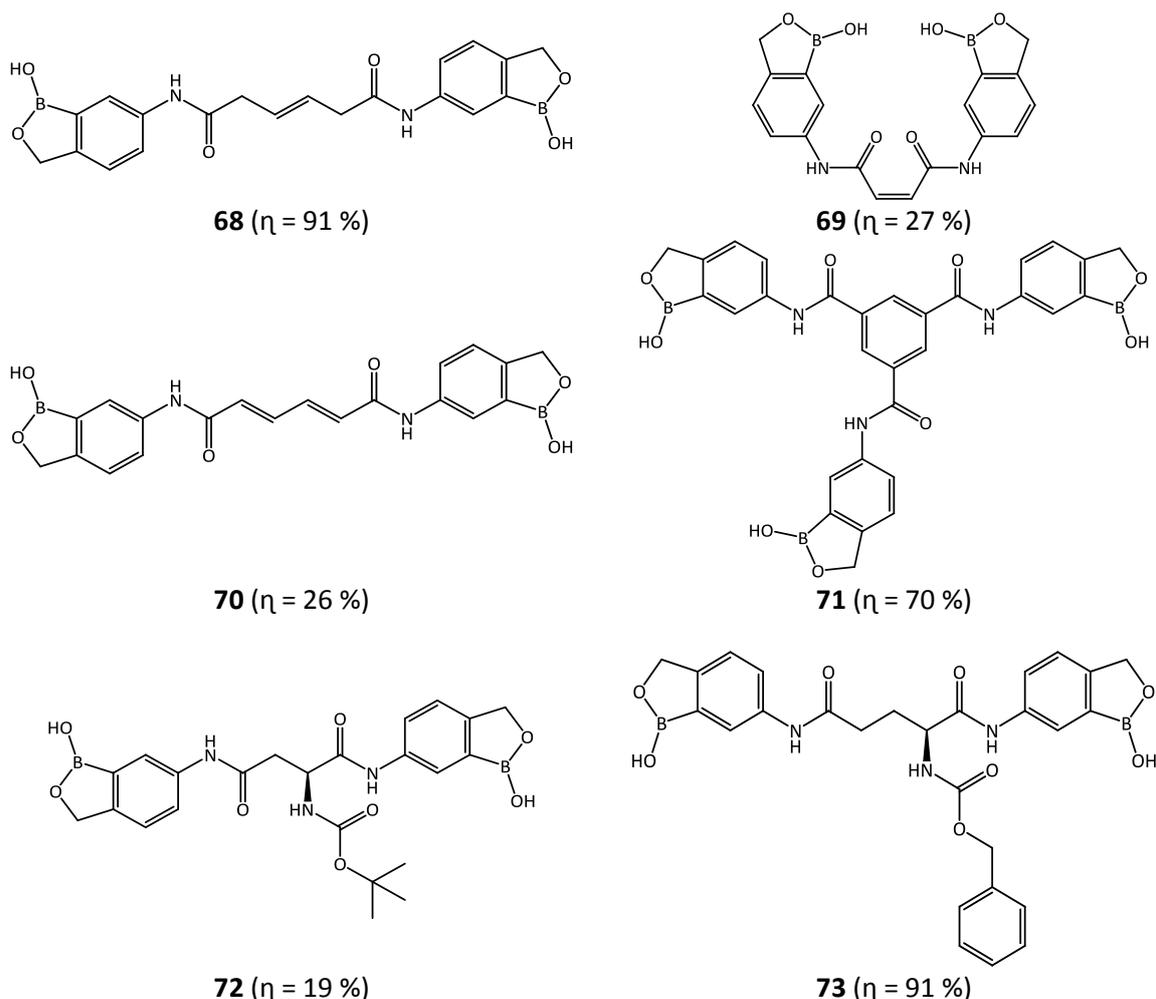


Figure II.9 : Représentation des 10 nouveaux benzoxaboroles multivalents synthétisés par amidation du 4-aminobenzoxaborole avec des acides multivalents.

Le point le plus délicat de ces synthèses a été la purification. En effet, un gros travail d'optimisation pour cette étape a dû être réalisé pour chaque nouveau multibenzoxaborole. Pour les composés **64**, **65**, **66**, **67**, **68** et **71**, la méthode la plus efficace a été une simple précipitation dans le méthanol après concentration du milieu réactionnel (par évaporation partielle du DMF). En effet, la DIEA, l'HATU et l'amine **39** (introduite en excès) sont solubles dans le méthanol, contrairement aux multibenzoxaboroles peu solubles. Les produits purs sont donc ainsi isolés avec des rendements raisonnables (de 49 à 91 %). Le composé **70**, peu soluble précipite aussi en présence de MeOH. Cependant, dans ce cas-ci, afin d'isoler le produit pur, le milieu réactionnel n'est pas concentré, ce qui explique le faible rendement (26 %). En effet, si le milieu réactionnel est concentré, le produit précipité en agglomérant les impuretés. De plus, **70** étant très polaire et très peu soluble, la purification par chromatographie sur gel de silice s'est montrée trop laborieuse et a été abandonnée. Enfin, les composés **69**, **72** et **73**, plus solubles, ne précipitent pas dans le méthanol. Leur purification a donc été réalisée par chromatographie sur gel de silice. Cependant, les produits synthétisés étant très polaires, un gradient d'éluant ternaire (EtOAc/H₂O/MeOH) a dû être optimisé pour chacun des cas. Pour les composés **72** et **69**, la purification a nécessité plusieurs colonnes chromatographiques, ce qui explique les faibles rendements obtenus (19 et 27 %).

Pour finir, les déprotections des composés **72** et **73** n'ont pas été concluantes. Les composés déprotégés, très polaires, sont difficilement purifiables. De plus, ils perdent en stabilité et se dégradent dans le temps.

3. Synthèse du squarate bis-benzoxaborole

Cette synthèse met en jeu la réactivité particulière des squarates.¹⁰ Le motif diéthyl-squarate a été utilisé, notamment par Fonvielle *et al.*, en 2016, pour la synthèse d'ARN modifié.¹¹ Plus récemment, cette réactivité a aussi été utilisée pour la synthèse de nucléosides modifiés afin de les utiliser comme anticancéreux.¹²

Dans notre cas, le 3,4-diméthoxy-3-cyclobutène-1,2-dione (**74**) est ajouté à une solution de 4-aminobenzoxaborole (**39**) dans le méthanol, en présence de *N,N*-diisopropyléthyle amine (DIEA). Sous simple agitation à 55 °C, le produit formé moins soluble va partiellement précipiter. Afin d'avoir un bon rendement, le brut réactionnel est purifié par colonne chromatographique. Le squarate-bisbenzoxaborole (**75**) est ainsi isolé pur avec un bon rendement (85 %) (Figure II.10).

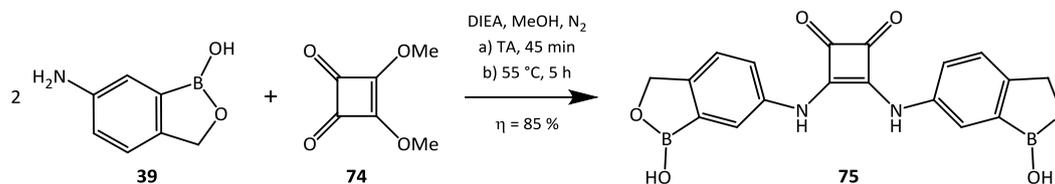
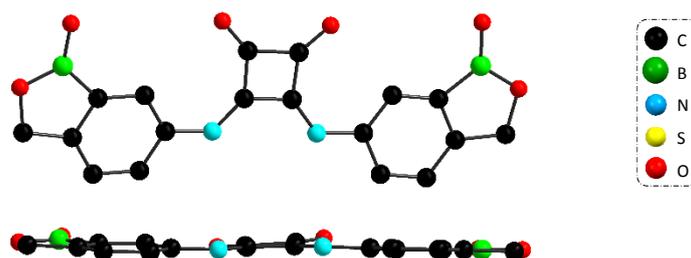


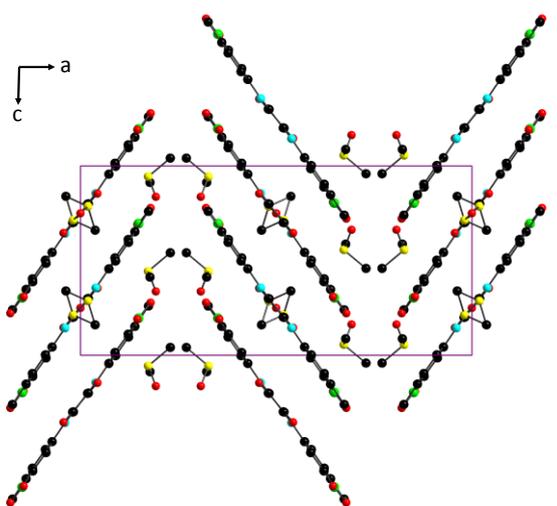
Figure II.10 : Synthèse du squarate-bisbenzoxabole (**75**).

Le produit a été recristallisé dans un minimum de DMSO. La diffraction de rayons X sur monocristal a permis de résoudre la structure cristalline (Figure II.11). Dans le cristal, la molécule **75** a une structure assez plane, avec un angle de torsion ($\alpha(\text{NCCN})$) entre les deux motifs benzoxaboroles (Figure II.11.a). Les projections suivant les axes b et c (Figure II.11.b et c) montrent un empilement des structures de **75** stabilisées par des liaisons H avec le DMSO (solvant de cristallisation) et des interactions π - π entre les cycles aromatiques. Les structures s'empilent les unes sur les autres en alternant l'orientation des groupements carbonyles.

a) Motif moléculaire bisbenzoxaborole extrait de la structure cristalline de **75**



b) Projection suivant l'axe b



c) Projection suivant l'axe c

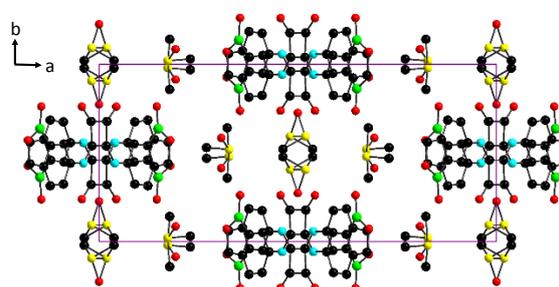


Figure II.11 : Structure obtenue par diffraction des rayons X sur monocristal du bisbenzoxaborole **72** : motif moléculaire bisbenzoxaborole extrait de la structure cristalline de **72** (a), et les projections suivant les axes b (b) et c (c) (les protons sont omis dans ces cas pour plus de clarté).

4. Par réaction d'alkylation et d'addition nucléophile

L'alkylation^{8,9} ainsi que la réactivité avec les isocyanates^{4,8} ont été testés au laboratoire mais se sont montrées peu concluantes.

L'alkylation du 4-aminobenzoxaborole par le 1,4-dibromobutane a entraîné l'isolation du produit cyclisé et non du divalent comme désiré (Figure II.12, Test A). Quels que soient les conditions de synthèse, par introduction progressive du di-bromo, ou par ajout d'un grand excès d'amine **39**, seul le produit cyclisé est isolé. Un test de protection de l'amine primaire **39** par un groupement –Boc, ne s'est pas montré concluant non plus. Une fois protégée, l'amine primaire encombrée, ne réagit plus avec le dibromo-butane (Figure II.12, Test B).

La réactivité du 4-aminobenzoxaborole avec les di-isocyanates n'a pas été plus concluantes. En effet, l'amine ne vient réagir qu'une seule fois sur les di-isocyanates (Figure II.12, Test C).

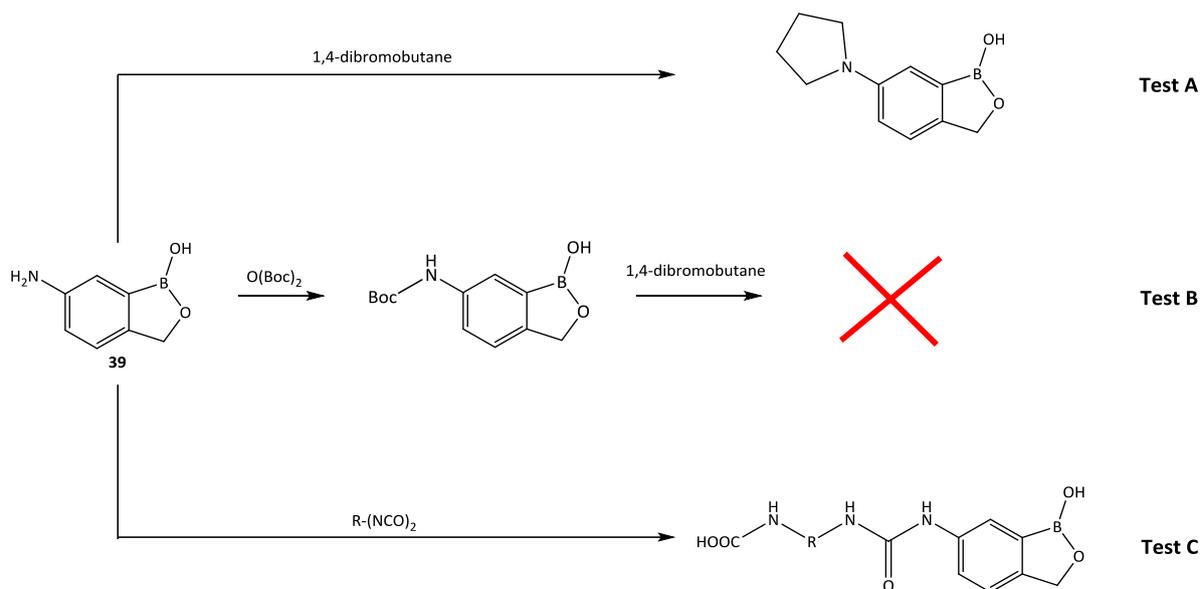


Figure II.12 : Alkylations du 4-aminobenzoxaborole (39) par le 1,4-dibromobutane sans ou avec le groupement protecteur de type Boc (Tests A et B, respectivement) ou par un diisocyanate (test C).

Ces deux stratégies ont donc été abandonnées afin d'optimiser et de tester l'étentabilité des autres protocoles.

5. Bilan

La stratégie utilisant le motif squarate est une stratégie originale qui permet d'isoler une molécule multivalente dont les propriétés peuvent être intéressantes, notamment, dans le domaine médical.^{10,11} La structure particulière du motif squarate confère aux molécules d'excellentes propriétés comme agents anti-cancéreux et anti-bactériales.¹² Cette molécule plutôt plane, comme le montre sa structure de diffraction des rayons X, est prometteuse pour le design de nouveaux matériaux réalisés au chapitre IV de cette thèse. Cependant, cette synthèse ne permet pas, d'après notre stratégie, la synthèse d'une série de ces molécules.

La formation d'imine a permis la synthèse d'un bis-benzoxaborole avec un bon rendement. De par la faible solubilité du composé synthétisé, la réduction n'a pas pu être réalisée. Notons que les bis-aldéhydes sont peu commercialisés et sont souvent plus chers.

Une nouvelle stratégie à partir de di et tri-acides, largement commercialisés et peu coûteux, est mise en place. Cette stratégie s'est révélée fructueuse puisqu'elle a permis la synthèse de dix nouveaux composés. L'amidation de plusieurs composés 4-aminobenzoxaborole sur des acides multivalents s'est démontrée applicable à une large gamme de molécules avec des rendements de moyen à bon.

La synthèse de ces molécules réalisée, il est intéressant de tester leurs propriétés dans différents domaines d'application, comme leur activité biologique (cf partie C de ce chapitre) ou leur application pour l'élaboration de matériaux (Chapitre IV de cette thèse).

D. Evaluation biologique des molécules multivalentes

Les benzoxaboroles ont démontré ces dernières années un fort potentiel dans les applications à visée thérapeutique.^{13,14} Deux molécules phares sont à l'heure actuelle commercialisées comme antifongique, le tavaborole (ou AN2690, **15**), ou contre la dermatite, le crisaborole (ou AN2728) (Figure II.13).

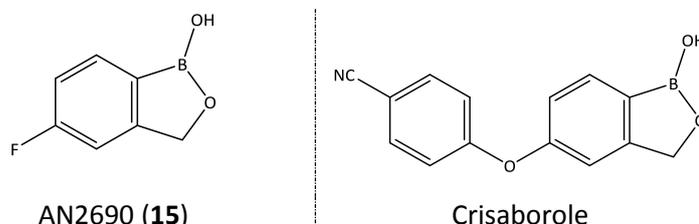


Figure II.13 : Représentation des benzoxaboroles commercialisés.

Plus récemment, les travaux de Winum *et al.* ont prouvé le potentiel de ce type de composés pour l'inhibition d'anhydrases carboniques.^{4,15} Une collaboration a donc été initiée avec les professeurs Jean-Yves Winum et Claudiu T. Supuran (respectivement, de l'université de Montpellier et de Florence), pour tester l'activité des nouveaux multi-benzoxaboroles qui avaient été synthétisés.

1. L'anhydrase carbonique et son inhibition

L'anhydrase carbonique (CA) est une métallo-enzyme présente à la surface plasmique intracellulaire des globules rouges.^{16,17} Elle catalyse la réaction réversible d'hydratation du dioxyde de carbone en bicarbonate avec libération d'un proton (Eq 1). Leur fonction principale est le maintien de la balance pH dans les différents tissu et organisme, et l'évacuation du dioxyde de carbone contenu dans les tissus biologiques. Elle est impliquée dans de nombreux processus physiologiques tels que la respiration, la calcification ou encore la digestion.



Dans notre cas, nous ne nous intéresserons qu'aux anhydrases carboniques impliquées dans les organismes humains. Cette famille d'anhydrases carboniques a une structure dite « α ». Elles sont cytosoliques ou transmembranaires suivant leur distribution cellulaire. Selon leur disposition, leur activité catalytique est variable mais elles présentent toutes un cation Zn^{2+} au niveau de leur site actif. Le zinc est coordonné à trois résidus histidine et une molécule d'eau.

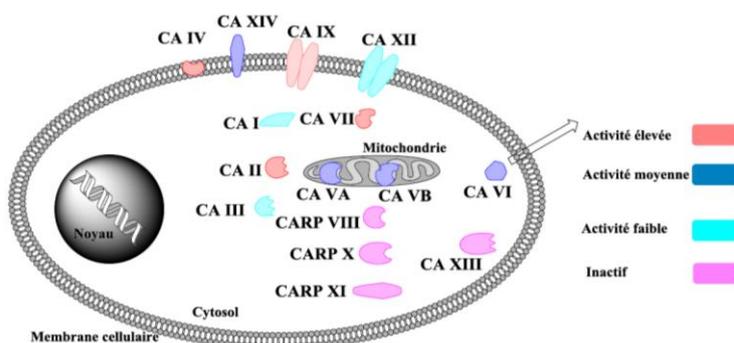


Figure II.14 : Distribution cellulaire des différentes anhydrases carboniques chez l'homme.¹⁶

Néanmoins, la surexpression des CAs peut impliquer de nombreuses pathologies comme l'obésité, l'épilepsie, les tumeurs... Dans ces situations, leur inhibition contrôlée est nécessaire. L'inhibition est réalisée par l'occupation du site actif empêchant ainsi le dioxyde de carbone d'y accéder et bloquant l'activité enzymatique. Plusieurs types d'inhibition sont possibles. Dans le cas des CAs, l'inhibiteur va, en se complexant au zinc, remplacer la molécule d'eau du site actif de l'enzyme, ou s'ajouter à sa sphère de coordination. L'inhibiteur qui vient se fixer sur le site actif déforme la structure de l'enzyme en la rendant inactive.

Comme illustré figure II.14, plusieurs isoformes de CA sont contenues au sein d'une cellule, les CAs cytosoliques (CAs I, II, VII...), contenues dans les mitochondries (CAs VA et VB) ou transmembranaires extracellulaires (CAs IV, IX, XII, XIV). L'inhibition spécifique des isoformes des CAs IX et XII est particulièrement visée car elles sont surexprimées dans les tissus tumoraux, indiquant leur rôle majeur dans la survie, le développement et la prolifération de ceux-ci.

Récemment, les benzoxaboroles se sont montrés actifs pour l'inhibition des CAs IX et XII.^{4,15} Quelques-uns de ces résultats sont compilés dans la figure II.15. Deux modes d'inhibition sont observés par cristallographie. Le premier mode d'inhibition, mode A, est dû à la coordination du cation Zn^{2+} du site actif par un des groupements hydroxyde du benzoxaborolate. Cette coordination est stabilisée par la formation de liaisons hydrogène avec les deux autres oxygènes du benzoxaborolate et des acides aminés contenus dans la poche du site actif. Le mode d'inhibition B met en jeu deux liaisons sur le cation Zn^{2+} du site catalytique, une avec un des deux groupements hydroxydes et l'autre avec l'oxygène de l'hétérocycle du benzoxaborolate. Une fois encore, l'inhibition est stabilisée par la formation de liaisons hydrogènes entre le benzoxaborolate et les acides aminés contenus dans la poche du site actif. Comme illustré dans le tableau de la figure II.15, l'inhibition des CAs par les benzoxaboroles peut être modulée par différents substrats sur le cycle aromatique. Le meilleur résultat est obtenu avec le composé comportant un groupement $-NO_2$ sur le cycle aromatique. En effet, en plus d'avoir une inhibition plus forte, elle est plus sélective des CAs IX et XII que de CA I, avec des rapports de sélectivité, à respectivement, 68 et 69. D'autres composés ont été testés (Tableau II.1), mais ils n'ont pas été plus prometteurs.

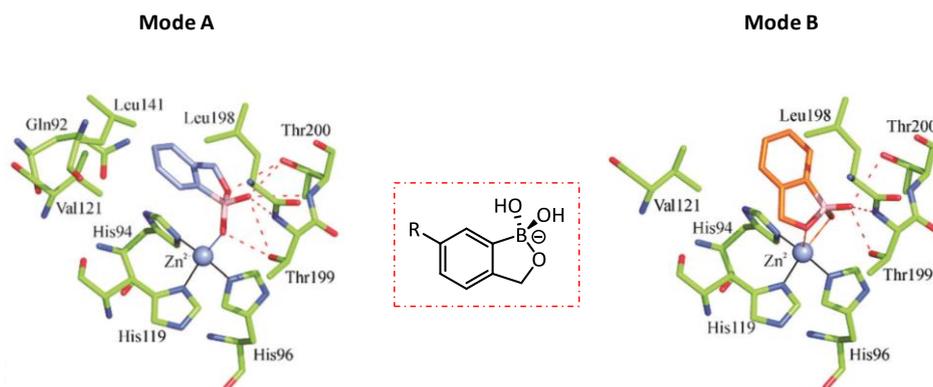
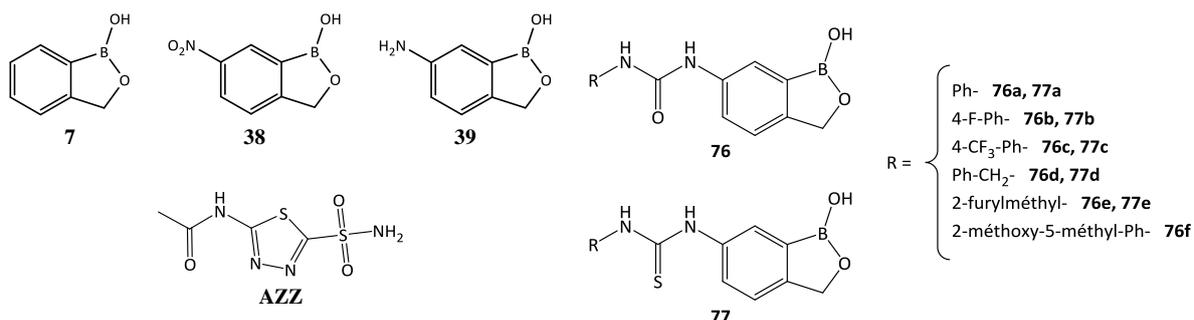


Figure II.15 : Inhibition de l'anhydrase carbonique II par des benzoxaboroles suivant deux modes d'inhibition, A et B.

Tableau II.1 : Constante d'inhibition, à température ambiante, des différents isoformes des anhydrases carboniques humaines hCA I, II, IV, IX et XII selon les composés mis en jeu. Les constantes sont mesurées selon la méthode d'hydratation du CO₂ par comparaison à l'inhibiteur standard acétazolamine sulfonamide (AZZ). Chaque mesure est enregistrée trois fois (la marge d'erreur est comprise entre 5 et 10 % des valeurs indiquées).⁴

Composé	hCA I	hCA II	hCA IX	hCA I/hCA IX	hCA II/hCA IX	hCA XII	hCA I/hCA XII	hCA II/hCA XII
7	5690	8180	> 50000	< 0,11	< 0,16	> 50000	< 0,11	< 0,16
38	6352	504	94	67,6	5,36	92	69,0	5,48
39	9434	590	813	11,6	0,73	640	14,7	0,92
76a	654	730	1060	0,62	0,69	240	2,73	3,04
76b	235	480	843	0,28	0,57	175	1,34	2,74
76c	487	456	845	0,58	0,54	93	5,24	4,90
76d	557	439	925	0,60	0,47	184	3,03	2,39
76e	613	841	1230	0,50	0,68	663	0,92	1,27
76f	98	89	414	0,24	0,21	69	1,42	1,29
77a	548	1148	436	1,26	2,63	76	7,21	15,1
77b	355	1500	336	1,06	4,46	89	3,99	16,9
77c	417	1838	93	4,48	19,8	71	5,87	25,9
77d	380	1305	610	0,62	2,14	42	9,05	31,1
77e	258	1500	336	0,77	4,46	89	2,90	16,9
AZZ	250	12	25	10,0	0,48	5,7	43,9	2,11



2. Résultats

L'évaluation de l'activité biologique de nos différents composés a été réalisée par l'équipe du professeur Supuran de l'université de Florence, selon la méthode d'hydratation du CO_2 sur différents isoformes d'anhydrases carboniques humaines (hCA I, II, IV, IX et XII). Les hCAs I, II et IV, CAs cytosoliques, ne sont pas visées. Elles permettent d'évaluer l'inhibition des divers composés sur les hCAs. A l'inverse, les hCAs IX et XII sont visées afin de les inhiber pour contrer leur surexpression dans les cellules tumorales.

Pour l'anhydrase carbonique, l'activité enzymatique est mesurée par suivi de l'hydratation du CO_2 , elle-même suivie par l'acidification du milieu réactionnel (Eq 1) à température ambiante. Deux seringues, l'une contenant l'enzyme (B), l'autre une solution saturée de CO_2 (A), injectent simultanément un petit volume, dans une cuve (Figure II.16). Grâce à un indicateur coloré, l'évolution du pH de 7,5 à 6,4 du milieu, correspondant au pK_a du couple $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$ ($\text{pK}_a = 6,4$), à température ambiante, est suivie par spectroscopie optique (UV-Visible ou spectrofluorimétrie). Dans ce cas, l'indicateur coloré utilisé est le bleu de bromothymol, dont le pK_a est égal à 7,1 (bleu en milieu basique, il devient jaune en milieu acide, avec une zone de virage comprise entre les pH 6,1 et 7,6). Cette méthode permet de déterminer les cinétiques de réaction jusqu'au millième de seconde. Une fois la vitesse d'acidification du milieu mesurée, l'activité enzymatique est déterminée en fonction de la cinétique de variation de celle-ci

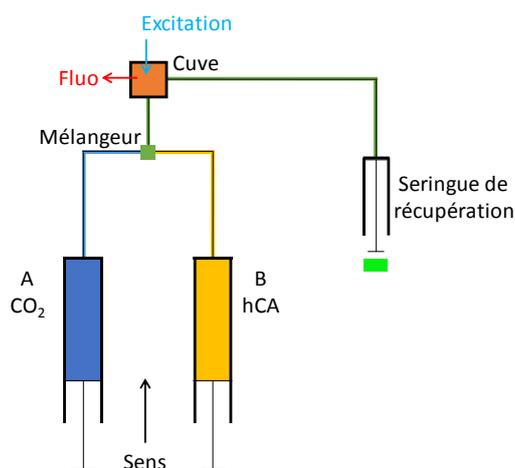


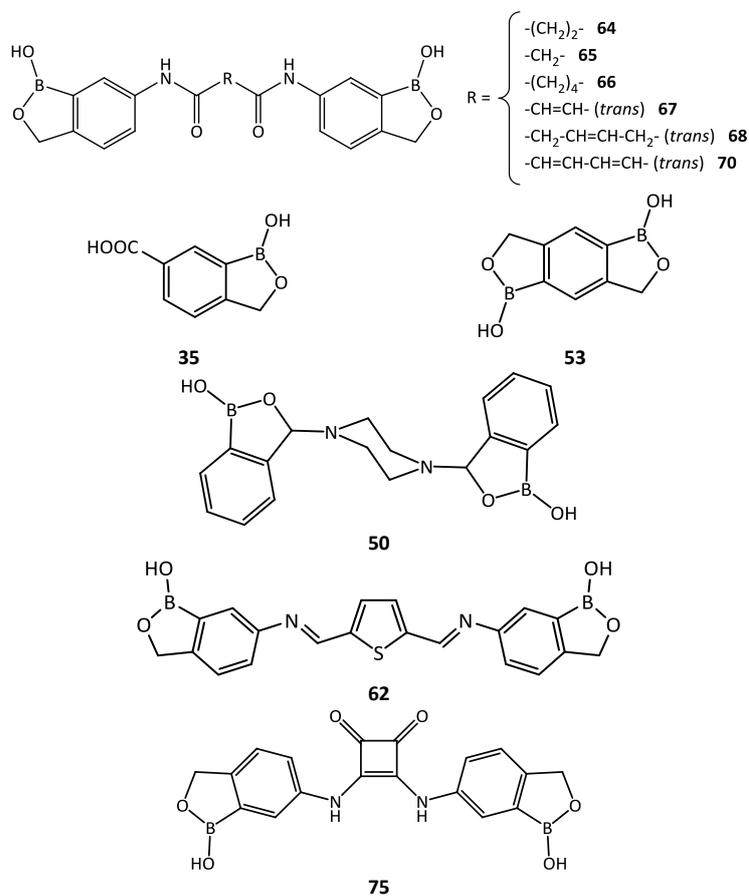
Figure II.16 : Présentation du dispositif d'analyse pour mesurer les constantes d'inhibition, à température ambiante, de différents composés sur les anhydrases carboniques.¹⁶

Les données obtenues lors de ces mesures sont récapitulées dans le tableau II.2. Pour avoir un référentiel de comparaison, les données de la littérature obtenues sur des benzoxaboroles monovalents sont récapitulées dans le tableau II.1.⁴

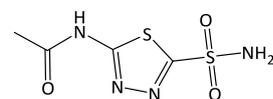
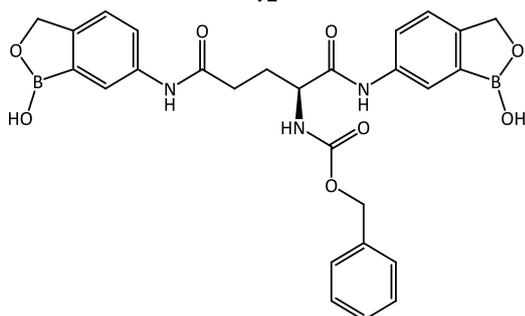
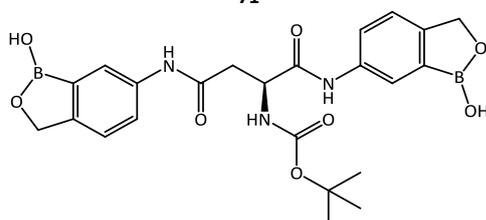
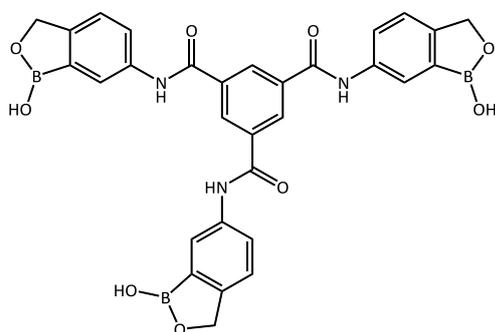
De manière générale, nos composés ont une constante d'inhibition non négligeable. Mais, par comparaison, la multivalence de nos molécules ne les rend pas plus efficaces ou spécifiques. En comparant nos données avec celles obtenues par Jean-Yves Winum avec les benzoxaboroles monovalents sur les hCAs I, II, IX et XII (Tableau II.1)⁴, seul le composé **71** présente une bonne spécificité d'inhibition de l'hCA XII avec des ratios d'inhibition de 42 et 74 vis-à-vis de l'hCA I et l'hCA II, respectivement.

Tableau II.2 : Constante d'inhibition, à température ambiante, des différents isoformes des anhydrases carboniques humaines hCA I, II, IV, IX et XII selon les composés mis en jeu. Les constantes sont mesurées selon la méthode d'hydratation du CO₂ par comparaison à l'inhibiteur standard acétazolamine sulfonamide (AZZ). Chaque mesure est enregistrée trois fois (la marge d'erreur est comprise entre 5 et 10 % des valeurs indiquées).

Composé	hCA I	hCA II ^{5,1,2}	hCA IV	hCA IX ^{6,1,2}	hCA I/hCA IX
35	850	174	1421	400	2,12
65	886	340	6276	158	5,60
64	2894	343	5239	681	4,25
66	1668	541	3444	314	5,31
68	2446	2582	12211	1120	2,18
70	3297	3930	58138	4872	0,68
67	3212	1714	19803	1480	2,17
50	31737	41375	>100000	985	32,2
62	4134	2344	29679	202	20,4
75	3075	2275	25570	2968	1,04
53	306	360	855	74	4,13
71	21983	39286	>100000	8629	2,55
72	813	908	35615	281	2,89
73	1779	289	16178	64	27,0
AZZ	250	12	75	25	10,0



hCA II/hCA IX	hCA IV/hCA IX	hCA XII ^{6, 1,2}	hCA I/hCA XII	hCA II/hCA XII	hCA IV/hCA XII
0,44	3,55	60	14,3	2,93	23,9
2,15	39,7	125	7,07	2,71	50,1
0,50	7,70	404	7,17	0,85	13,0
1,72	11,0	82	20,3	6,57	41,9
2,30	10,9	812	3,01	3,18	15,0
0,81	11,9	1623	2,03	2,42	35,8
1,16	13,4	2982	1,08	0,57	6,64
42,0	> 101,6	3344	9,49	12,4	> 29,9
11,6	146,5	182	22,7	12,9	162,8
0,77	8,62	822	3,74	2,77	31,1
4,86	11,5	104	2,95	3,47	8,24
4,55	> 11,6	528	41,6	74,4	> 189,4
3,23	126,7	660	1,23	1,38	54,0
4,55	254,4	89	20,1	3,26	182,4
0,48	3,00	2.5	100,0	4,80	30,0



L'activité biologique de nos composés est très dépendante de leur structure.

Les composés **65**, **64** et **66** qui ont une chaîne aliphatique de plus en plus longue, de respectivement 1, 2 et 4 carbones, ont une activité biologique contre les hCAs IX et XII très disparate. Le composé **65** commence à avoir une sélectivité pour l'inhibition des hCA IX et XII vis-à-vis de la hCA IV, comme le confirme les rapports d'inhibition (respectivement de 39,7 et 50,1). Cette sélectivité est perdue lorsque la chaîne carbonée entre les deux motifs benzoxaboroles est allongé à deux carbones, mais elle est partiellement retrouvée avec le composé **66** dont la chaîne carbonée est allongée à 6 carbones.

En comparant non plus la longueur des chaînes carbonées mais son nombre d'insaturation, nous remarquons que les propriétés d'inhibition des composés **66**, **68**, dont la chaîne aliphatique présente une insaturation de configuration *trans*, et **70**, dont la chaîne aliphatique présente deux insaturations de configuration *trans*, ne sont pas meilleures. En effet, la sélectivité de l'inhibition des hCAs IX et XII est moins importante. La même tendance est observée en comparant les rapports des constantes d'inhibition des composés **64** et **67** (dont la chaîne aliphatique de 2 carbones présente une insaturation de configuration *trans*).

L'effet de la présence d'un cycle en tant qu'espaceur de motifs benzoxaboroles a aussi été analysé. Les composés **75** et **53**, qui ont respectivement un espaceur de type squarate ou phényl, n'ont pas montré de sélectivité lors de l'inhibition des hCAs testées. A l'inverse, les composés **50**, **62**, et **71** se sont montrés plus sélectifs. Les composés **50** (avec un cycle piperazine) et **71** (avec un cycle aromatique et trois motifs benzoxaboroles) ont une sélectivité spécifique, vis-à-vis de l'hCA IV, pour l'hCA IX et XII, respectivement, avec des rapports de sélectivité de 102 et 190. Le composé **62** présente quant à lui une sélectivité plutôt forte pour les deux hCAs IX et XII vis-à-vis de l'hCA IV. C'est d'ailleurs le composé que nous avons obtenu dont la structure semble la plus prometteuse pour l'inhibition de ce type d'hCA.

Enfin, le composé **73** (dérivé d'acide-amino) a montré lui aussi une forte spécificité de l'inhibition des hCAs IX et XII contre l'hCA IV avec des rapports de sélectivité respectifs de 254 et 182.

Une publication sur cette partie des travaux est en cours de rédaction.

3. Bilan

La multivalence de nos composés n'a pas amélioré leur propriété d'inhibiteur pour les différents isoformes de l'anhydrase carbonique humaine. Un inhibiteur doit avoir une bonne constante d'inhibition mais surtout une bonne spécificité afin de ne réduire l'activité que de l'isoforme visé. Dans notre cas, les composés **62** et **73**, sur les hCAs IX et XII, sont ceux qui répondent le mieux à ces critères.

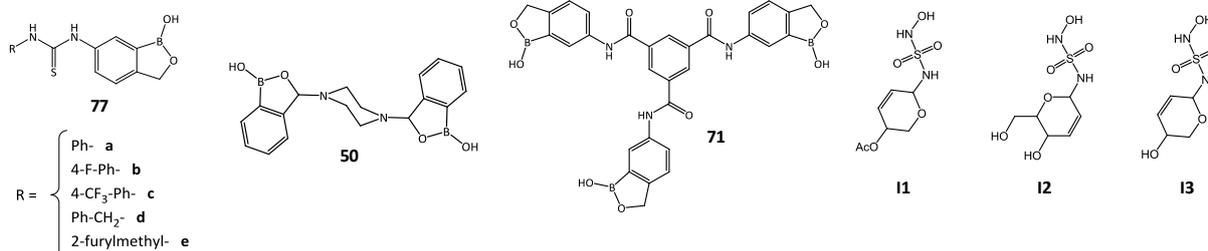
Cependant, les sélectivités d'inhibition des benzoxaboroles multivalents restent faibles quand elles sont comparées à la sélectivité d'inhibition d'autres composés déjà testés (Tableau II.3).^{4,20} En comparant nos données avec celles obtenues par Winum *et al.*⁴, nous remarquons que nos constantes d'inhibition ne sont pas plus importantes pour les composés multivalents. Le composé **38**, un benzoxaborole qui porte une fonction nitro en position 6 du cycle aromatique présente une sélectivité aussi importante que nos deux composés **50** et **71**. Cependant, la sélectivité de **50** et **71** est très faible en comparaison avec la sélectivité d'autres inhibiteurs, ici les glycoinhibiteurs (I1, I2, I3).²⁰ Les benzoxaboroles multivalents testés ici pour l'inhibition de l'hCA ne sont donc pas les meilleurs

inhibiteurs. Un travail sur la structure de ces inhibiteurs reste donc à tester afin d'améliorer leur sélectivité.

Tableau II.3 : Constantes d'inhibition, à température ambiante, des différents isoformes des anhydrases carboniques humaines hCA I, II, IX et XII selon les composés mis en jeu. Les constantes sont mesurées selon la méthode d'hydratation du CO₂ par comparaison à l'inhibiteur standard acétazolamine sulfonamide (AZZ).

Chaque mesure est enregistrée trois fois (la marge d'erreur est comprise entre 5 et 10 % des valeurs indiquées). Comparaison des constantes d'inhibition publiées dans la littérature avec nos deux meilleurs composés pour l'inhibition sélective de hCA IX et hCAXII par rapport à hCAI et hCAII.^{4, 20}

- R -	hCA I	hCA II	hCA IX	$\frac{\text{hCA I}}{\text{hCA IX}}$	$\frac{\text{hCA II}}{\text{hCA IX}}$	hCA XII	$\frac{\text{hCA I}}{\text{hCA XII}}$	$\frac{\text{hCA II}}{\text{hCA XII}}$	Réf.
77a	548	1148	436	1,26	2,63	76	7,21	15,1	4
77b	355	1500	336	1,06	4,46	89	3,99	16,9	
77c	417	1838	93	4,48	19,8	71	5,87	25,9	
77d	380	1305	610	0,62	2,14	42	9,05	31,1	
77e	258	1500	336	0,77	4,46	89	2,90	16,9	
38	6352	504	94	67,6	5,36	92	69,0	5,48	Ce travail
50	31737	41375	> 100000	32,2	42,0	3344	9,49	12,4	
71	21983	39286	> 100000	2,55	4,55	528	41,6	74,4	
11	> 10000	> 10000	44	> 227	> 227	81	> 123	> 123	20
12	917	> 10000	44	21	> 227	68	> 13	> 147	
13	927	> 10000	8	21	> 1250	88	> 11	> 114	



Même si dans le cas présent, les résultats obtenus sur ces molécules ne sont pas à la hauteur de ceux observés pour d'autres inhibiteurs, ces molécules organoborées multivalentes pourraient se montrer prometteuses dans d'autres applications biologiques. Il serait alors intéressant de faire une évaluation plus large de leur utilisation à des fins thérapeutiques.

E. Conclusion

Nous avons pu mettre en place une stratégie de synthèse efficace et applicable à une large gamme de molécules. Par réaction d'une brique moléculaire benzoxaborole, présentant une fonction amine, avec des composés présentant eux-mêmes plusieurs fonctions acides, une dizaine de nouveaux composés organoborés multivalents a pu être synthétisée au laboratoire.

Ayant créé une petite librairie de ces molécules, elles ont pu être testées vis à vis des isoformes de l'anhydrase carbonique humaine. Deux composés, **62** et **73**, se sont montrés spécifiques des hCAs IX et XII. Il serait intéressant de comprendre si cette spécificité leur provient de leur structure ou de leur multivalence. Enfin, même si les autres composés ne se sont pas montrés intéressants dans le cas de l'hCA, ils pourraient être intéressants dans d'autres domaines thérapeutiques.

Enfin, pour aller plus loin, leur application dans la synthèse de nouveaux complexes a été envisagée et réalisée durant cette thèse (Chapitre IV). Pour ce faire, il a fallu dans un premier temps, comprendre et maîtriser leur interaction avec les diols. C'est dans cette optique qu'une étude fondamentale grâce à la RMN multi-nucléaire a été mise en place (Chapitre III).

RÉFÉRENCES

- 1 H. Li, H. Wang, Y. Liu, Z. Liu, "A benzoboroxole-functionalized monolithic column for the selective enrichment and separation of cis-diol containing biomolecules", *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 4115-4117.
- 2 W. J. Lennarz, H. R. Snyder, "Arylboronic Acids. IV. Reactions of Boronophthalide", *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 2172-2175.
- 3 P. Suman, B. P. Patel, A. V. Kasibotla, L. N. Solano, S. C. Jonnalagadda, "Synthesis and evaluation of functionalized aminobenzoboroxoles as potential anti-cancer agents", *J. Organomet. Chem.*, **2015**, 798, 125-131.
- 4 V. Alterio, R. Cadoni, D. Esposito, D. Vullo, A. D. Fiore, S. M. Monti, A. Caporale, M. Ruvo, M. Sechi, P. Dumy, C. T. Supuran, G. D. Simone, J.-Y. Winum, "Benzoxaborole as a new chemotype for carbonic anhydrase inhibition", *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 11983-11986.
- 5 A. Pal, M. Bérubé, D. G. Hall, "Design, Synthesis, and Screening of a Library of Peptidyl Bis(Boroxoles) as Oligosaccharide Receptors in Water: Identification of a Receptor for the Tumor Marker TF-Antigen Disaccharide", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 1492-1495.
- 6 R. Rajan, P. Renold, A. Mahajan, D. Stierli, R. Beaudegnies, "Benzoxaborole Fungicides", *Patent*, **2015**, WO 2015/097276 A1.
- 7 Z. Fu, J. He, A. Tong, Y. Xie, Y. Wei, "A Convenient and Efficient Synthesis of Dipeptidyl Benzoxaboroles and Their Peptidomimetics", *Synthesis*, **2013**, 45, 2843-2852.
- 8 M. A. Alam, K. Arora, S. Gurrapu, S. K. Jonnalagadda, G. L. Nelson, P. Kiprof, S. C. Jonnalagadda, V. R. Mereddy, "Synthesis and evaluation of functionalized benzoboroxoles as potential anti-tuberculosis agents", *Tetrahedron*, **2016**, 72, 3795-3801.
- 9 S. Schumacher, F. Grüneberger, M. Katterle, C. Hettrich, D. G. Hall, F. W. Scheller, N. Gajovic-Eichelmann, "Molecular imprinting of fructose using a polymerizable benzoboroxole: Effective complexation at pH 7.4", *Polymer*, **2011**, 52, 2485-2491.
- 10 K. W. Hill, D. J. Dellinger, B. D. Lunstad, "Preparation of long synthetic oligonucleotides by squarate conjugation chemistry", *Patent*, **2016**, US 2016/0244820 A1.
- 11 M. Fonvielle, N. Sakkas, L. Iannazzo, C. L. Fournis, D. Patin, D. Mengin-Lecreulx, A. El-Sagheer, E. Braud, S. Cardon, T. Brown, M. Arthur, M. Etheve-Quellejeu, "Electrophilic RNA for Peptidyl-RNA Synthesis and Site-Specific Cross-Linking with tRNA-Binding Enzymes", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, 55, 13553-13557.
- 12 M. Lu, Q.-B. Lu, J. F. Honek, "Squarate-based carbocyclic nucleosides: Syntheses, computational analyses and anticancer/antiviral evaluation", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, 27, 282-287.
- 13 A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, A. Sporzynski, "Recent Developments in the Chemistry and Biological Applications of Benzoxaboroles", *Chemical Reviews*, **2015**, 115, 5224-5247.
- 14 C. T. Liu, J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, "The unique chemistry of benzoxaboroles: Current and emerging applications in biotechnology and therapeutic treatments", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2014**, 22, 4462-4473.
- 15 A. Nocentini, R. Cadoni, S. del Prete, C. Capasso, P. Dumy, P. Gratteri, C. T. Supuran, J.-Y. Winum, "Benzoxaboroles as Efficient Inhibitors of the β -Carbonic Anhydrases from Pathogenic Fungi: Activity and Modeling Study", *ACS Med. Chem. Lett.*, **2017**, 8, 1194-1198.
- 16 J. OMBOUMA, "Glycoinhibiteurs de l'anhydrase carbonique IX en série glycols : synthèse, développement méthodologique et activité enzymatique", *Thèse*, **2015**.

- 17 M. Mboge, B. Mahon, R. McKenna, S. Frost, "*Carbonic Anhydrases: Role in pH Control and Cancer*", *Metabolites*, **2018**, 8, 19.
- 18 J. Ombouma, D. Vullo, C. T. Supuran, J.-Y. Winum, "*Ferrier sulfamidoglycosylation of glycals catalyzed by nitrosonium tetrafluoroborate: Towards new carbonic anhydrase glycoinhibitors*", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2014**, 22, 6353-6359.

ANNEXES**– Réactifs :**

L'acide 2-(hydroxyméthyl)phénylboronique cyclique monoester (BBzx, C₇H₇BO₂, 97%, Aldrich) a été acheté via Aldrich et utilisé sans aucune purification après avoir vérifié l'absence d'acide borique par RMN ¹¹B).

Le 1-[bis(diméthylamino)méthylène]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridinium 3-oxyde hexafluorophosphate (HATU, C₁₀H₁₅F₆N₆OP, 97%, Aldrich), le 3,4-diméthoxy-3-cyclobutène-1,2-dione (C₆H₆O₄, 99%, Aldrich), le 2,5-thiophènedicarboxaldéhyde (C₆H₄O₂S, 99%, Aldrich), l'acide malonique (C₃H₄O₄, 99%, Aldrich), l'acide succinique (C₄H₆O₄, 99%, Acros Organics), l'acide fumarique (C₄H₄O₄, 99%, Aldrich), l'acide maléique (C₄H₄O₄, 99%, Aldrich), l'acide adipique (C₆H₁₀O₄, 99%, Aldrich), l'acide *trans*-β-hydromuconique (C₆H₈O₄, 98%, Aldrich), l'acide *trans,trans*-muconique (C₆H₆O₄, 98%, Aldrich), l'acide *N*-(tert-butoxycarbonyl)-*L*-aspartique (Boc-Asp-OH, C₉H₁₅NO₆, 98%, NovaBioChem), l'acide *N*-(carbobenzyloxy)-*L*-glutamique (Cbz-Glu-OH, C₁₃H₁₅NO₆, 99%, Aldrich) et l'acide 1,3,5-benzènetricarboxylique (C₉H₆O₆, 98%, Aldrich) ont été achetés via des sources commerciales et utilisés sans aucune purification.

Le *N*-bromosuccinimide (NBS, C₄H₄BrNO₂, Aldrich, 99%) et l'azobisisobutyronitrile (AIBN, C₈H₁₂N₄, FlukaChemika, 98%) ont été recristallisés avant utilisation.

Tous les solvants (dont le *N,N*-diméthylformamide anhydre, Aldrich) qui ont été utilisés pour les synthèses et les purifications ont été achetés via des sources commerciales. La *N,N*-diisopropyléthylamine (DIPEA, C₈H₁₉N, 99%, Aldrich) a été distillée avant utilisation.

Tous les solvants deutérés (DMSO-d⁶, 99,8 %, Acétone-d⁶, 99,8 % et D₂O, 99,9 %) ont été achetés via Eurisotop.

La purification des composés synthétisés a été réalisée par colonne chromatographique sur gel de silice (particules de taille comprise entre 40-60 μm, Merck).

- Caractérisations :

Les spectres RMN ¹H, ¹³C et ¹¹B ont été enregistrés à 298 K sur un spectromètre Bruker Avance III 500 ou 600 MHz, à l'aide de la cryo-sonde CP-BBO. Les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été calibrés grâce à la résonance du solvant deutéré utilisé (DMSO-d⁶, à respectivement 2,50 ppm pour le ¹H et 39,52 ppm pour le ¹³C). Les spectres RMN ¹¹B ont été calibrés de manière externe à l'aide d'une solution de BF₃-Et₂O (à 0 ppm). Des composés de référence (solution aqueuse d'acide borique ou de borate) ont été régulièrement testés afin de vérifier les gammes de déplacements chimiques. Tous les spectres RMN ¹¹B ont été enregistrés dans un mélange D₂O/NaOH afin de solubiliser les molécules. Tous les spectres ont été traités et analysés grâce aux programmes TopSpin 3.2 et Mestrenova 7.0.3.

Les analyses de spectrométrie de masse ont été effectuées par introduction directe sur un spectromètre de masse Synapt G2-S (Waters, SN : UEB205) équipé d'une source électrospray (ESI). Les spectres de masse ont été enregistré en mode positif, entre 100 et 1500 Da. Les molécules d'intérêt ont été dissoutes dans le MeOH ou une solution aqueuse basique, selon le cas. Le spectromètre est calibré via un étalon interne de Leucine enképhaline et via un étalon externe à partir d'une solution de 1 % d'acide phosphorique dans l'eau. Les données ont été traitées par le logiciel Masslynx 4.1.

- **Protocole général de synthèse du 4-carboxybenzoxaborole (35)¹ :**

Synthèse de 34¹

Le méthyl 3-bromo-4-méthylbenzoate (1,03 g, 4,50 mmol), le bis(pinacolato)diborane (1,35 g, 5,31 mmol), [1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène]dichloropalladium (II) (102,7 mg, 0,14 mmol, Pd(dppf)Cl₂) et l'acétate de potassium (1,30 g, 13,3 mmol) ont été dissous dans 30 mL de 1,4-dioxane anhydre. Le milieu réactionnel a alors été chauffé à reflux et après 5 minutes, 0,1 mL de triéthylamine ont été introduits. Après une nuit à reflux, le milieu réactionnel a été laissé revenir à température ambiante (TA). Une fois à TA, 12,4 mL d'acétate d'éthyle ont été ajoutés et une précipitation a été observée. La suspension a alors été filtrée sur fritté n°4 et le filtrat a été lavé deux fois à l'aide de 10 mL d'eau puis 5 mL de saumure. La phase organique a ensuite été séchée sur MgSO₄ et évaporée à sec. Le brut réactionnel ainsi obtenu a été purifié à l'aide d'une colonne chromatographique sur silice (éluant : Hexane/EtOAc à 90/10, v/v.).

790 mg (η = 92 %) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (300 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 8,36 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,97 (dd, J = 8,0, 2,1 Hz, 1H), 7,36 – 7,20 (m, 1H), 3,90 (s, 2H), 2,61 (s, 3H), 1,38 (s, 12H).

Synthèse du 4-carboxybenzoxaborole (35)¹

Sous atmosphère inerte (Ar), 99,8 mg du composé **34** (0,361 mmol), 76,1 mg de NBS (0,428 mmol) et 5,9 mg d'AIBN (0,036 mmol) ont été dissous dans 3 mL de CCl₄. La suspension a été chauffée à 50 °C sous irradiation lumineuse pendant 4 heures. La phase organique a été laissée revenir à TA, lavée deux fois à l'aide d'eau, une fois à l'aide de saumure et évaporée jusqu'à l'obtention d'une huile jaune. L'huile a ensuite été diluée dans 5 mL d'Et₂O et 3 mL d'une solution aqueuse de KOH à 15 %. Le milieu réactionnel a été maintenu sous forte agitation, à TA, pendant 12 heures. La phase aqueuse a alors été collectée, refroidie à l'aide d'un bain de glace, puis acidifiée à l'aide d'une solution d'HCl à 12 M, jusqu'à pH = 1,0. Le produit a précipité. Le précipité a été filtré sur fritté n°4, lavé avec quelques gouttes d'HCl à 12 M puis 1 mL d'Et₂O. La poudre blanche obtenue a alors été séchée sous-vide.

66 mg (η = 92 %) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (300 MHz, Acétone.d⁶) : δ (ppm) 8,89 (s, 1H), 8,72 (OH, s, 1H), 8,60 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 8,05 – 7,96 (m, 1H), 5,56 (s, 2H).

- **Protocole général de synthèse du 4-aminobenzoxaborole (39)² :**

Synthèse du 4-nitrobenzoxaborole (38)²

10 mL d'acide nitrique fumant (HNO₃) ont été refroidis entre – 45 et – 40 °C. Une fois la température stabilisée, 1,59 g (11,5 mmol) de BBzx (**7**) y ont été dissous, portion par portion, sur une période de 10 min. Après 20 min, une solution visqueuse a été obtenue. Elle a été versée dans de l'eau glacée et

¹ H. Li, H. Wang, Y. Liu, Z. Liu, "A benzoboroxole-functionalized monolithic column for the selective enrichment and separation of cis-diol containing biomolecules", *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 4115-4117.

² (a) W. J. Lennarz, H. R. Snyder, "Arylboron Acids. IV. Reactions of Boronophthalide", *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 2172-2175 ; (b) V. Alterio, R. Cadoni, D. Esposito, D. Vullo, A. D. Fiore, S. M. Monti, A. Caporale, M. Ruvo, M. Sechi, P. Dumy, C. T. Supuran, G. D. Simone, J.-Y. Winum, "Benzoxaborole as a new chemotype for carbonic anhydrase inhibition", *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 11983-11986 ; (c) Z. Fu, J. He, A. Tong, Y. Xie, Y. Wei, "A Convenient and Efficient Synthesis of Dipeptidyl Benzoxaboroles and Their Peptidomimetics", *Synthesis*, **2013**, 45, 2843-2852.

a ensuite été stockée au frigo pendant 2 h. Les petits cristaux jaunes pâles obtenus ont été lavés avec 25 mL d'eau puis séchés sous-vide.

Après une recristallisation dans l'eau, 1,73 g (9,67 mmol) de composé **38** ont été obtenus ($\eta = 84\%$).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 9,59 (s, OH), 8,58 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 8,33 (dd, $J = 8,4, 2,3$ Hz, 1H), 7,74 - 7,64 (m, 1H), 5,12 (s, 2H).

Synthèse du 4-aminobenzoxaborole (**39**)³

700 mg de **38** (3,91 mmol) ont été dissous dans 16 mL de THF. 140 mg de Pd-C à 10 % et 1,6 mL d'acide acétique glacial ont été ajoutés au milieu réactionnel. Le milieu réactionnel a été mis sous pression d'hydrogène (H_2) et sous forte agitation à température ambiante pendant 2 heures. La suspension a ensuite été filtrée sur célite, rincée trois fois à l'aide de 20 mL de MeOH. La phase organique a été ensuite évaporée à sec.

524,1 mg de produit (**39**, 3,52 mmol) ont été obtenus purs ($\eta = 90\%$).

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) : δ (ppm) 7,13 (dq, $J = 8,0, 0,7$ Hz, 1H), 7,02 (dd, $J = 2,2, 0,7$ Hz, 1H), 6,90 (dd, $J = 8,1, 2,2$ Hz, 1H), 4,97 (s, 2H).

- Protocole général de synthèse du thiophène-bisbenzoxaborole (**62**) :

A une solution de 187,6 mg de 4-aminobenzoxaborole (1,259 mmol, 2,4 équiv.) dans 20 mL de MeOH, a été ajoutée une solution de 73,3 mg de 2,5-thiophènedicarboxaldéhyde (0,523 mmol, 1,0 équiv.) dans 5 mL de MeOH. Après quelques minutes, un précipité a été formé. Le milieu réactionnel a été laissé sous agitation, à température ambiante, pendant 4 heures, avant d'être filtré pour obtenir un précipité jaune. Le précipité a alors été redissous dans un minimum de THF et mis à précipiter à l'aide d'hexane. Finalement, le produit isolé pur a été séché sous-vide.

194,6 mg ($\eta = 95\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 9,26 (s, 2H), 8,86 (s, 2H), 7,77 (s, 2H), 7,62 (d, $J = 2,3$ Hz, 2H), 7,48 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,45 (dd, $J = 8,0, 2,3$ Hz, 2H), 5,02 (s, 4H) ; RMN ^1H (126 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 153,5, 152,2, 149,4, 145,7, 133,9, 131,8, 124,1, 122,7, 122,3, 69,9 ; RMN ^{11}B (160 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOH}$) : δ (ppm) 8,0 ; HRMS-ESI : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{B}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$: 402,1102, trouvée : 402,1104.

- Protocole général de synthèse de bis- et multi-benzoxaboroles par réaction d'amidation :

Sous atmosphère inerte (Ar), 2,4 équivalents de 4-aminobenzoxaborole, 2,0 équivalents d'HATU et 1,0 équivalent de diacide ont été dissous dans 0,8 mL de DMF anhydre. Une fois les précurseurs dissous, la température a été descendue à $-15\text{ }^\circ\text{C}$. Après 15 minutes d'agitation, 2,8 équivalents de DIEA ont été introduits au goutte-à-goutte. Le milieu réactionnel a ensuite été doucement ramené à

³ (a) W. J. Lennarz, H. R. Snyder, "Arylboronic Acids. IV. Reactions of Boronophthalide", *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 2172-2175 ; (b) V. Alterio, R. Cadoni, D. Esposito, D. Vullo, A. D. Fiore, S. M. Monti, A. Caporale, M. Ruvo, M. Sechi, P. Dumy, C. T. Supuran, G. D. Simone, J.-Y. Winum, "Benzoxaborole as a new chemotype for carbonic anhydrase inhibition", *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 11983-11986 ; (c) Z. Fu, J. He, A. Tong, Y. Xie, Y. Wei, "A Convenient and Efficient Synthesis of Dipeptidyl Benzoxaboroles and Their Peptidomimetics", *Synthesis*, **2013**, 45, 2843-2852.

température ambiante, et laissé sous agitation une nuit. Après une nuit, le milieu réactionnel a été concentré.

Le protocole de purification a été adapté au cas par cas (comme décrit ci-dessous).

Synthèse de 64 :

Le produit **64** a été obtenu par précipitation dans l'eau à froid. Le précipité a été filtré sur Millipore (0,22 μm), rincé une fois à l'aide de 1 mL d'eau et deux fois à l'aide de 1 mL d'Et₂O. Le produit isolé a ensuite été séché sous-vide.

47,3 mg ($\eta = 49\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 10,02 (s, 2H), 9,18 (s, 2H), 8,00 (d, $J = 2,1$ Hz, 2H), 7,62 (dd, $J = 8,2, 2,1$ Hz, 2H), 7,32 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 4,93 (s, 4H), 2,68 (s, 4H) ; RMN ¹³C (126 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 170,3, 148,4, 138,2, 130,9, 122,1, 121,5, 120,8, 69,7, 31,3 ; RMN ¹¹B (160 MHz, D₂O/NaOH) : δ (ppm) 7,9 ; HRMS-ESI : m/z [M+Na]⁺ calculée pour C₁₈H₁₈B₂N₂O₆Na : 401,1321, trouvée : 401,1319.

Synthèse de 65 :

Le produit **65** a été obtenu par précipitation dans l'eau à froid. Le précipité a été filtré sur Millipore (0,22 μm), rincé une fois à l'aide de 1 mL d'eau et deux fois à l'aide de 1 mL d'Et₂O. Le produit isolé a été séché sous-vide.

57,2 mg ($\eta = 53\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 10,21 (s, 2H), 9,21 (s, 2H), 8,01 (d, $J = 2,1$ Hz, 2H), 7,65 (dd, $J = 8,2, 2,1$ Hz, 2H), 7,35 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 4,94 (s, 4H), 3,50 (s, 2H) ; RMN ¹³C (126 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 165,4, 148,9, 137,8, 131,0, 122,3, 121,6, 121,0, 69,7, 45,8 ; RMN ¹¹B (160 MHz, D₂O/NaOH) : δ (ppm) 7,9 ; HRMS-ESI : m/z [M+Na]⁺ calculée pour C₁₇H₁₆B₂N₂O₆Na : 387,1165, trouvée : 387,1163.

Synthèse de 66 :

Le produit **66** a été obtenu par précipitation dans l'eau à froid. Le précipité a ensuite été filtré sur Millipore (0,22 μm), rincé une fois à l'aide de 1 mL d'eau et deux fois à l'aide de 1 mL d'Et₂O. Le produit isolé a ensuite été séché sous-vide.

75,6 mg ($\eta = 70\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 9,91 (s, 2H), 9,18 (s, 2H), 8,00 (d, $J = 2,1$ Hz, 2H), 7,61 (dd, $J = 8,4, 2,1$ Hz, 2H), 7,31 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,92 (s, 4H), 2,35 (m, 4H), 1,65 (m, 4H) ; RMN ¹³C (126 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 171,0, 148,5, 138,1, 131,8, 122,3, 121,4, 121,2, 69,7, 36,3, 25,0 ; RMN ¹¹B (160 MHz, D₂O/NaOH) : δ (ppm) 7,9 ; HRMS-ESI : m/z [M+Na]⁺ calculée pour C₂₀H₂₂B₂N₂O₆Na : 429,1634, trouvée : 429,1633.

Synthèse de 67 :

Le produit **67** a été obtenu par précipitation à l'aide de MeOH (10 mL) à froid. Le précipité a ensuite été filtré sur Millipore (0,22 μm) et rincé trois fois à l'aide de 2 mL de MeOH. Le produit isolé a été séché sous-vide.

131,8 mg ($\eta = 84\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 10,56 (s, 2H), 9,27 (s, 2H), 8,13 (d, $J = 2,1$ Hz, 2H), 7,73 (dd, $J = 8,2, 2,1$ Hz, 2H), 7,39 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,24 (s, 2H), 4,96 (s, 4H) ; RMN ¹³C (126 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 162,1, 149,4, 137,7, 134,1, 131,1, 122,5, 121,8, 121,2, 69,8 ; RMN ¹¹B (160 MHz, D₂O/NaOH) : δ (ppm) 7,9 ; HRMS-ESI : m/z [M+Na]⁺ calculée pour C₁₈H₁₆B₂N₂O₆Na : 399,1165, trouvée : 399,1167.

Synthèse de 68 :

Le produit **68** a été obtenu par précipitation à l'aide de MeOH (10 mL) à froid. Le précipité a ensuite été filtré sur Millipore (0,22 µm) et rincé trois fois à l'aide de 2 mL de MeOH. Le produit isolé a été séché sous-vide.

249,1 mg ($\eta = 91\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 9,97 (s, 2H), 9,19 (s, 2H), 7,98 (d, $J = 2,1$ Hz, 2H), 7,61 (dd, $J = 8,4, 2,1$ Hz, 2H), 7,32 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,76 (m, 2H), 4,93 (s, 4H), 3,13 (m, 4H) ; RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 169,1, 148,6, 138,0, 130,9, 126,9, 122,3, 121,5, 121,0, 69,7, 40,3 ; RMN ^{11}B (160 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOH}$) : δ (ppm) 7,9 ; HRMS-ESI : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{B}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$: 427,1478, trouvée : 427,1481.

Synthèse de 69 :

Le brut réactionnel a été purifié par chromatographie sur gel de silice (un gradient d'éluant a été réalisé en partant d'un mélange EtOAc/Cyclohexane à 80/20 % (v/v.), pour finir avec un mélange EtOAc/MeOH/ H_2O à 98,5/1/0,5 % (v/v.)). Le produit isolé a été séché sous-vide.

25,3 mg ($\eta = 27\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 10,59 (s, 2H), 9,23 (s, 2H), 8,09 (d, $J = 2,0$ Hz, 2H), 7,65 (dd, $J = 8,3, 2,0$ Hz, 2H), 7,36 (dd, $J = 8,3$ Hz, 2H), 6,47 (s, 2H), 4,94 (s, 4H) ; RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 163,5, 149,1, 137,7, 131,8, 131,0, 122,5, 121,6, 121,4, 69,7 ; RMN ^{11}B (160 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOH}$) : δ (ppm) 8,0 ; HRMS-ESI : m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{B}_2\text{N}_2\text{O}_6$: 379,1273, trouvée : 379,1277.

Synthèse de 70 :

Le produit **70** a été obtenu par précipitation à l'aide de MeOH (10 mL) à froid. Le précipité a été filtré sur Millipore (0,22 µm) et rincé trois fois à l'aide de 2 mL de MeOH. Le produit isolé a ensuite été séché sous-vide.

75,5 mg ($\eta = 26\%$) de produit pur a été isolé.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 10,35 (s, 2H), 9,27 (s, 2H), 8,08 (d, $J = 2,0$ Hz, 2H), 7,72 (dd, $J = 8,3, 2,0$ Hz, 2H), 7,37 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,34 (m, 2H), 6,62 (m, 2H), 4,95 (s, 4H) ; RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 163,1, 149,2, 137,9, 137,6, 131,4, 131,1, 122,6, 121,7, 121,3, 69,8 ; RMN ^{11}B (160 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOH}$) : δ (ppm) 7,8 ; HRMS-ESI : m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{B}_2\text{N}_2\text{O}_6$: 405,1429, trouvée : 405,1430.

Synthèse de 71 :

Le produit **71** a été obtenu par précipitation dans l'eau à froid. Le précipité a été filtré sur Millipore (0,22 µm), rincé une fois à l'aide de 1 mL d'eau et deux fois à l'aide de 1 mL d' Et_2O . Le produit isolé a été séché sous-vide.

76,1 mg ($\eta = 70\%$) de produit pur a été isolé

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 10,69 (s, 3H), 9,27 (s, 3H), 8,74 (s, 3H), 8,23 (d, $J = 2,1$ Hz, 3H), 7,84 (dd, $J = 8,4, 2,1$ Hz, 3H), 7,43 (d, $J = 8,4$ Hz, 3H), 4,99 (s, 6H) ; RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 164,6, 149,5, 137,7, 135,5, 131,0, 129,8, 123,7, 122,4, 121,6, 69,8 ; RMN ^{11}B (160 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOH}$) : δ (ppm) 8,0 ; HRMS-ESI : m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée pour $\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{B}_3\text{N}_3\text{O}_9$: 602,1945, trouvée : 602,1947.

Synthèse de 72 :

Le brut réactionnel a été purifié par chromatographie sur gel de silice (un gradient d'éluant a été réalisé en partant d'un mélange EtOAc/Cyclohexane à 70/30 % (v/v.), pour finir avec un mélange EtOAc/MeOH/H₂O à 85/10/5 % (v/v.)). Le produit isolé a été séché sous-vide.

40,2 mg (η = 19 %) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 10,04 (s, 1H), 9,95 (s, 1H), 9,21 (s, 2H), 8,03 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,61 (m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,17 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,93 (s, 4H), 4,56 (s, 1H), 2,81-2,69 (m, 2H), 1,38 (s, 9H) ; RMN ¹³C (126 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 170,2, 168,0, 155,3, 148,8, 148,6, 137,9, 137,8, 130,9, 122,6, 122,2, 121,5, 121,3, 120,9, 78,3, 69,7, 52,0, 38,5, 28,2 ; RMN ¹¹B (160 MHz, D₂O/NaOH) : δ (ppm) 7,9 ; HRMS-ESI : m/z [M+H]⁺ calculée pour C₂₃H₂₈B₂N₃O₈ : 496,2063, trouvée : 496,2069.

Synthèse de 73 :

Le produit a été extrait à l'aide d'un mélange BuOH/H₂O. La phase organique a été séchée sur MgSO₄ et évaporée à sec. Le brut a été purifié par chromatographie sur gel de silice (un gradient d'éluant a été réalisé en partant d'un mélange EtOAc/MeOH/H₂O à 99/0,75/0,25 % (v/v.), pour finir avec un mélange EtOAc/MeOH/H₂O à 93/5/2 % (v/v.)). Le produit isolé a été séché sous-vide.

255 mg (η = 91 %) de produit pur a été isolé.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 10,10 (s, 1NH), 9,96 (s, 1NH), 9,21 (s, 2OH), 8,02 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 7,63 (m, 2H), 7,60 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,59 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,37-7,30 (m, 5H), 5,04 (s, 1H), 4,94 (s, 2H), 4,92 (s, 2H), 4,22 (m, 1H), 2,48-2,38 (m, 2H), 2,07 (m, 1H), 1,95 (m, 1H) ; RMN ¹³C (126 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 171,6, 170,3, 156,1, 148,9, 148,5, 138,1, 137,7, 137,0, 130,9, 128,4, 128,2, 127,9, 127,8, 127,0, 122,6, 122,3, 121,6, 121,5, 121,4, 121,0, 69,7, 65,6, 55,1, 32,8, 27,6 ; RMN ¹¹B (160 MHz, D₂O/NaOH) : δ (ppm) 7,9 ; HRMS-ESI : m/z [M+H]⁺ calculée pour C₂₇H₂₈B₂N₃O₈ : 544,2063, trouvée : 544,2070.

- Protocole général de synthèse du squarate-bisbenzoxaborole (75) :

A une solution de 79,5 mg de 4-aminobenzoxaborole (0,534 mmol, 2,0 équiv) dans 4 mL de MeOH, 45 μ L de DIEA (0,258 mmol, 1,0 équiv.) ont été ajoutés. Puis 36,8 mg de 3,4-diméthoxy-3-cyclobutène-1,2-dione (0,259 mmol, 1,0 équiv.) ont progressivement été ajoutés au milieu réactionnel. Celui-ci a alors été chauffé à 55°C pendant 5 heures. De par la faible solubilité du produit formé, une suspension a été obtenue. Les solvants ont été évaporés et le brut réactionnel obtenu a été purifié par chromatographie sur gel de silice (un gradient d'éluant a été réalisé en partant de 100% EtOAc, jusqu'à un mélange EtOAc/MeOH/H₂O à 90/5/2 %, v/v.). Finalement, le produit isolé pur a été séché sous-vide.

83 mg (η = 88 %) de produit pur a été isolé.

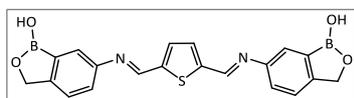
RMN ¹H (600 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 10,12 (s, 2H), 9,26 (s, 2H), 7,68 (dd, J = 8,1, 2,2 Hz, 2H), 7,66 (d, J = 2,2 Hz, 2H), 7,40 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 4,97 (s, 4H) ; RMN ¹³C (126 MHz, DMSO.d⁶) : δ (ppm) 182,2, 165,7, 148,9, 137,6, 131,2, 122,7, 121,9, 120,2, 69,8 ; RMN ¹¹B (128 MHz, D₂O/NaOH) : δ (ppm) 8,1 ; HRMS-ESI : m/z [M+H]⁺ calculée pour C₁₈H₁₅B₂N₂O₆ : 375,1189, trouvée : 375,1182.

- **Protocole général des tests de l'inhibition des isoformes de l'anhydrase carbonique réalisé à l'université de Florence (Italie) dans le laboratoire du professeur Claudiu T. Supuran :**

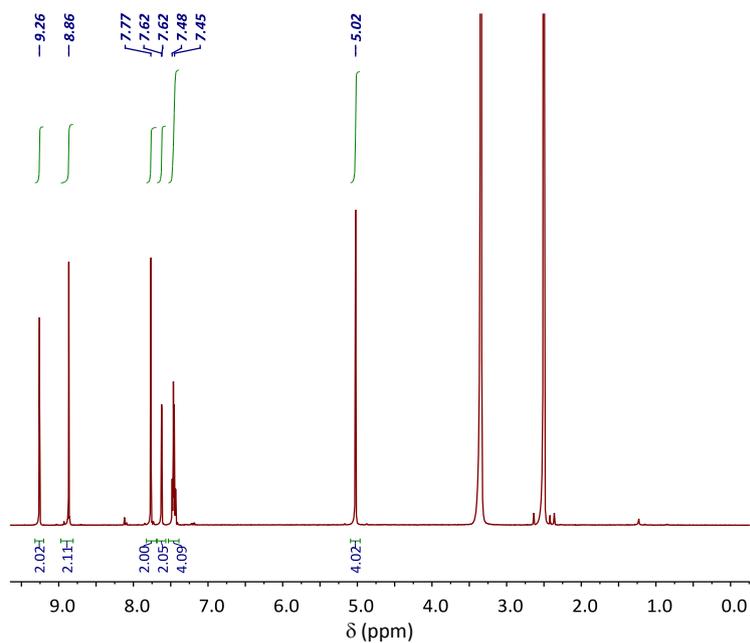
Les essais biologiques sur l'inhibition de l'anhydrase carbonique ont été réalisés sur un spectromètre « photophysics stop-flow » sur une durée de 10 à 100 s. Les solutions ont été préparées avec un tampon TRIS à pH = 8,3 et une solution de NaBF₄, à 20 mM, afin de maintenir constante la force ionique des solutions. Le bleu de bromothymol (à une concentration de 0,2 mM) a été utilisé comme indicateur coloré, par suivi de l'absorbance à 557 nm. La concentration en CO₂ a été variée de 1,7 à 17 mM afin de déterminer les constantes d'inhibition. Les solutions mères des inhibiteurs ont été préparées à 10 mM avec de l'eau ultra-pure et diluées à l'aide des solutions tampons pour obtenir une concentration finale de 0,01 µM. Les solutions d'enzymes et d'inhibiteurs ont été pré-incubées 15 min à température ambiante avant les essais, afin de permettre la formation du complexe enzyme/inhibiteur. Les constantes d'inhibition ont été obtenues par la méthode non-linéaire des moindres carrés utilisant les équations de Cheng-Prusoff.⁴ Chaque mesure a été enregistrée trois fois (la marge d'erreur est comprise entre 5 et 10 % des valeurs indiquées).

⁴ (a) A. Sharma, M. Tiwari, C. T. Supuran, "Novel coumarins and benzocoumarins acting as isoform-selective inhibitors against the tumor-associated carbonic anhydrase IX", *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **2014**, 29, 292-296 ; (b) S. Durdagi, G. Scozzafava, D. Vullo, H. Sahin, S. Kolayli, C. T. Supuran, "Inhibition of mammalian carbonic anhydrases I-XIV with grayanotoxin III: solution and in silico studies", *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **2014**, 29, 469-475.

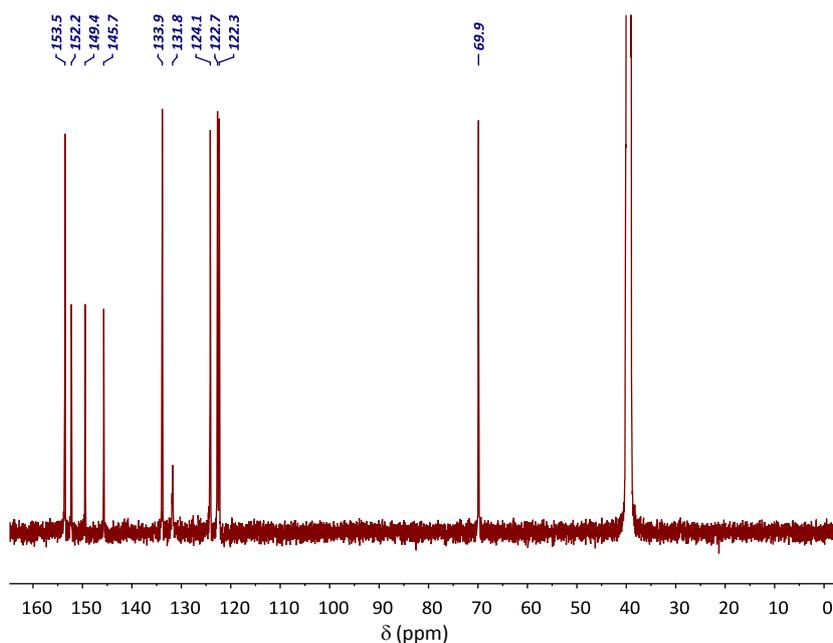
62



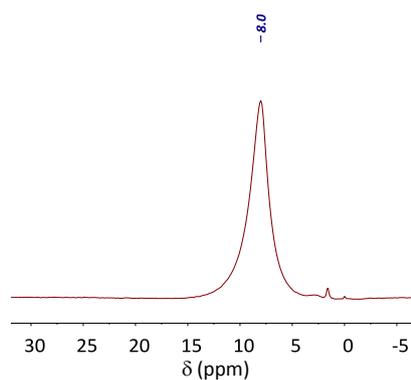
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



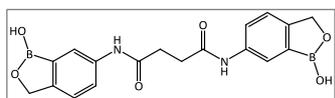
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



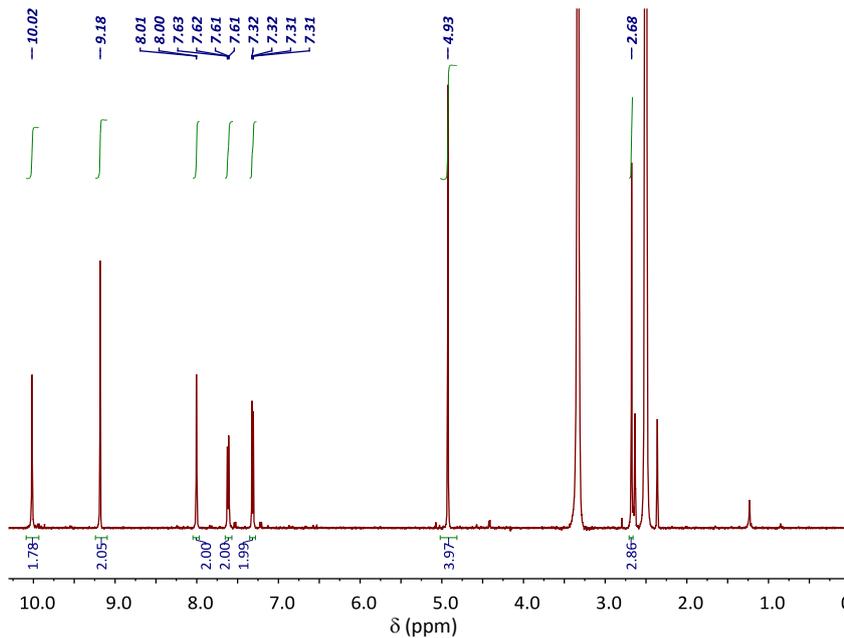
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



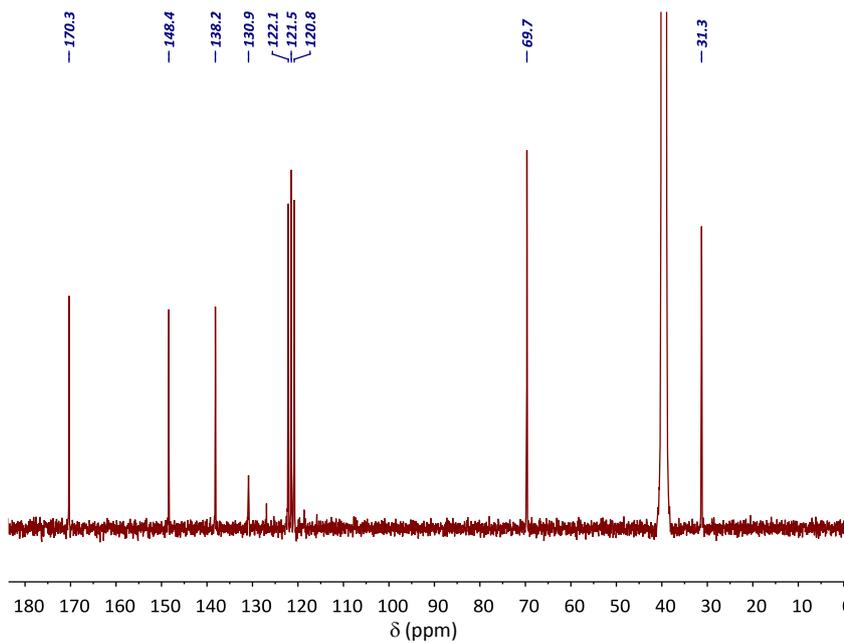
64



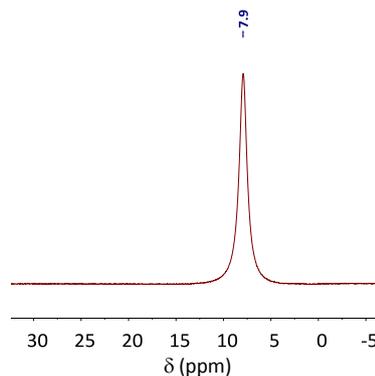
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



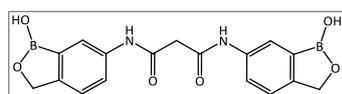
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



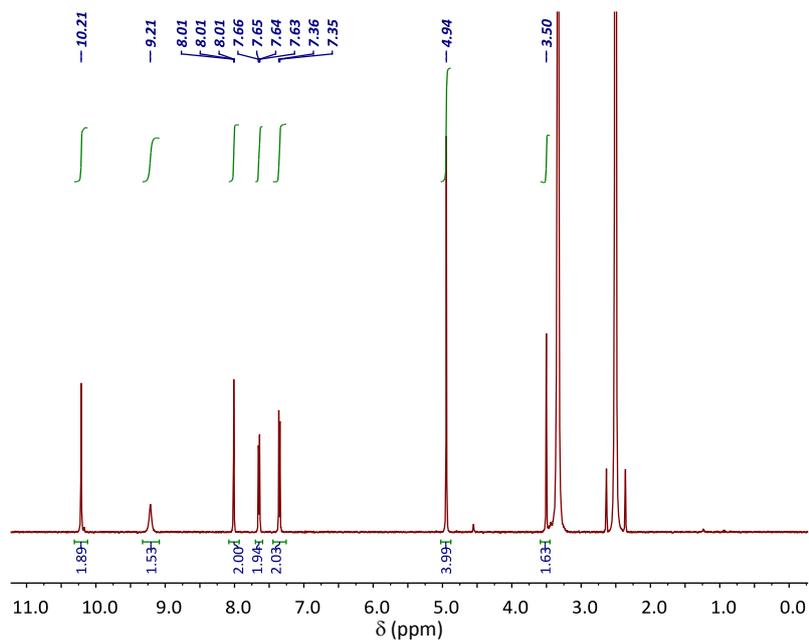
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



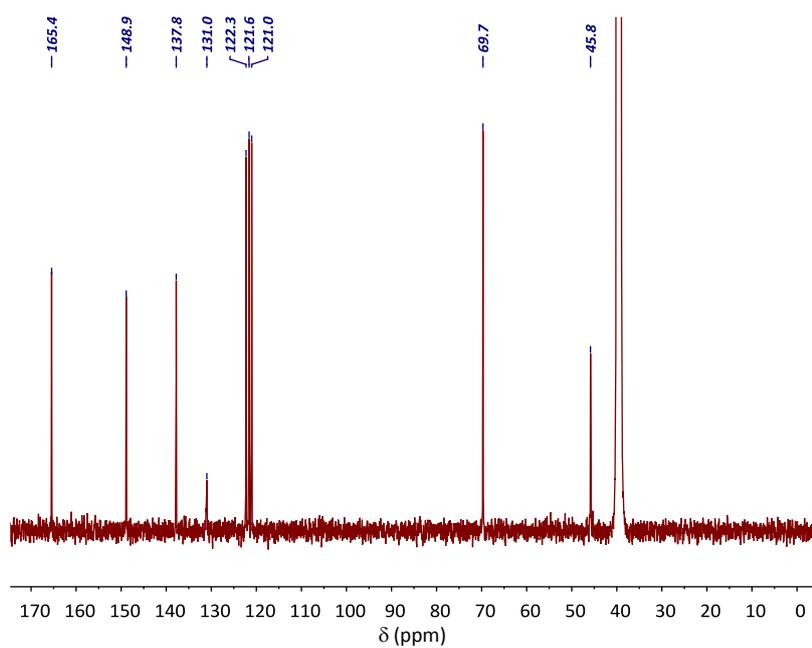
65



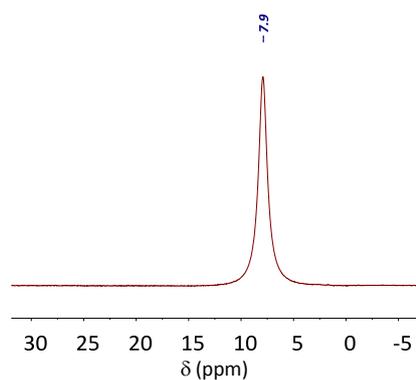
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



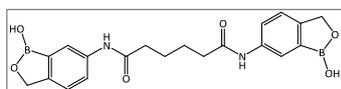
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



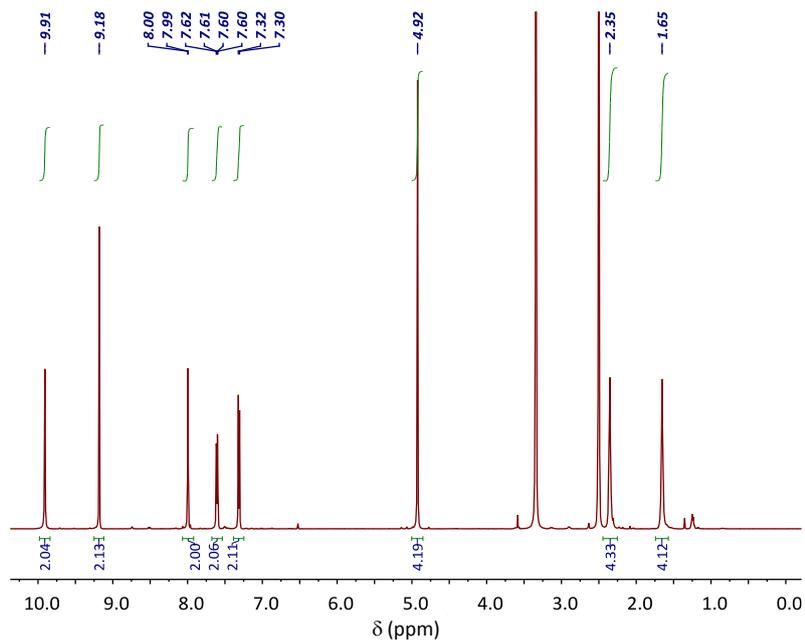
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



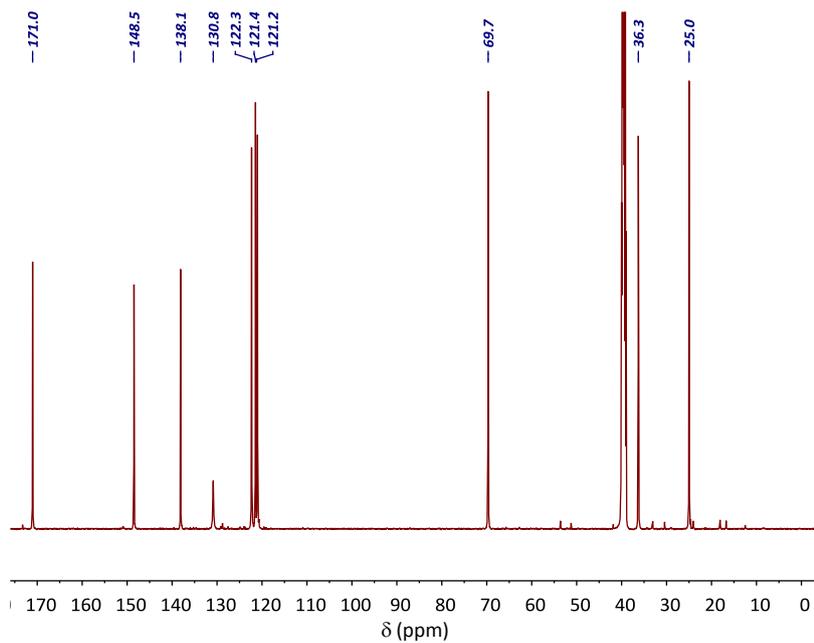
66



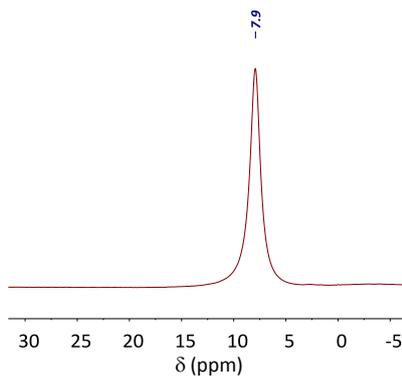
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



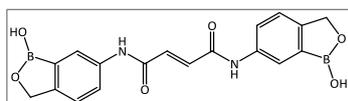
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



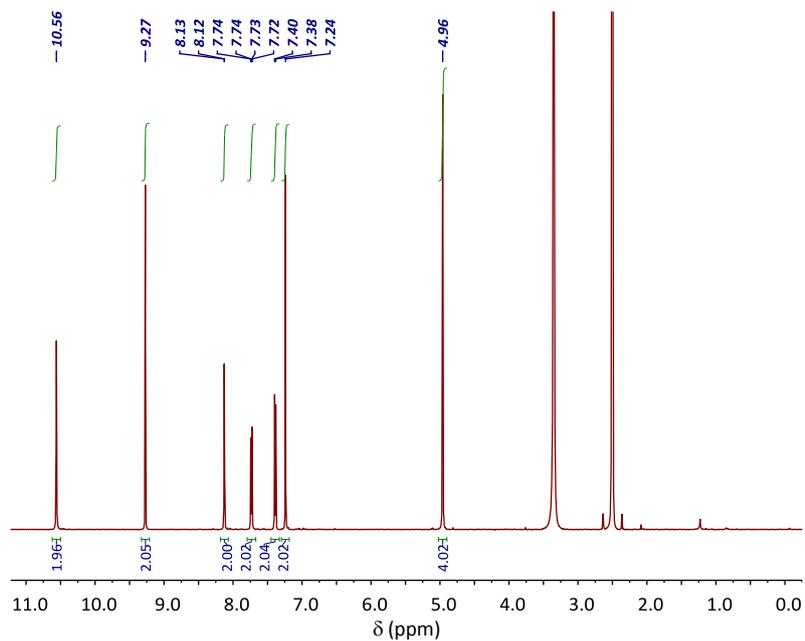
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



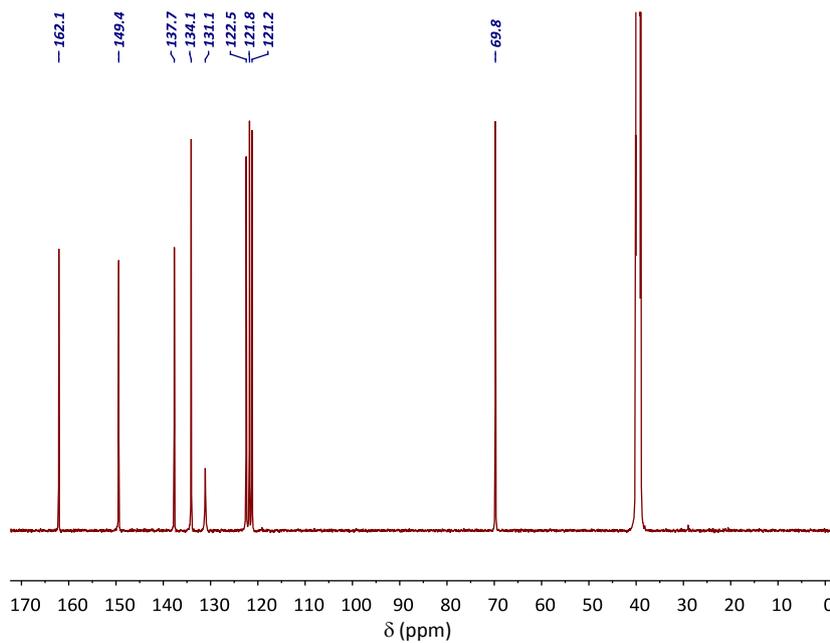
67



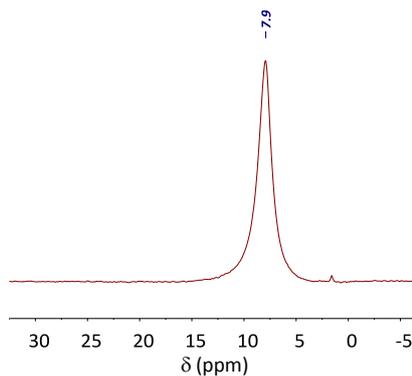
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



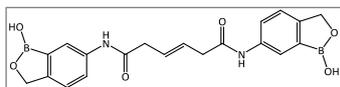
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



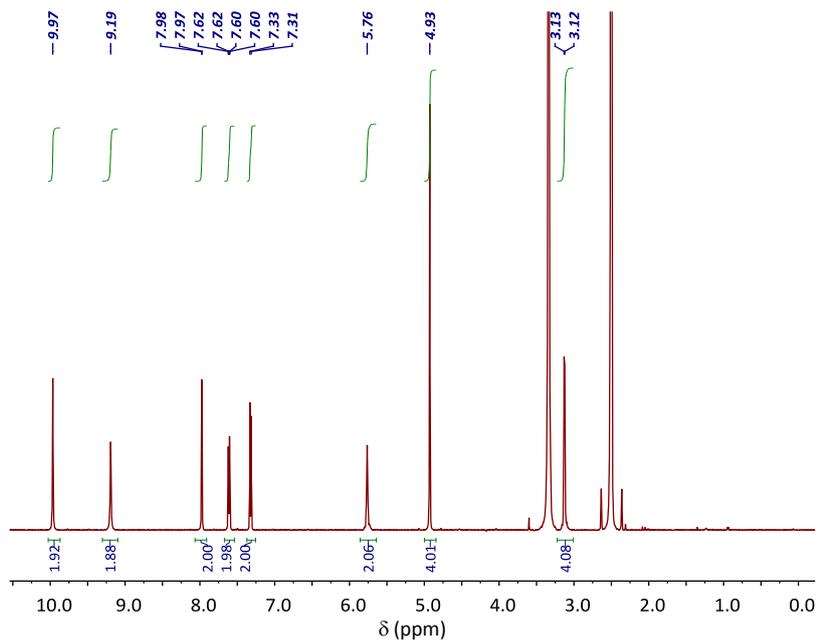
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



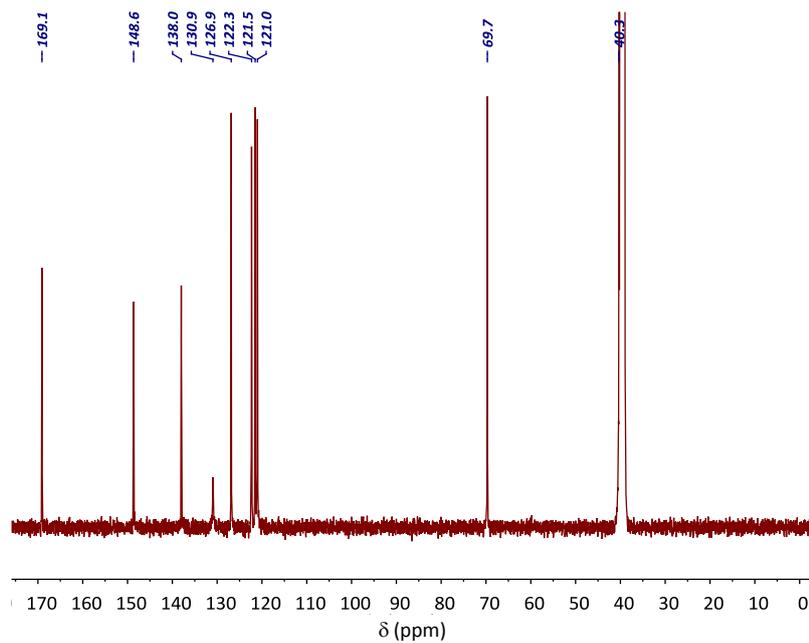
68



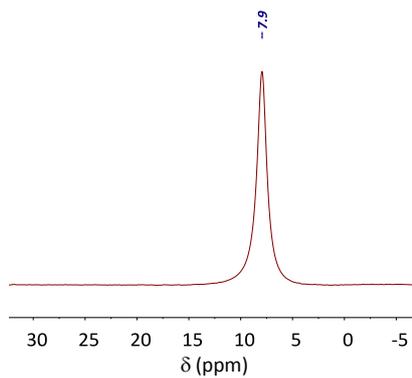
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



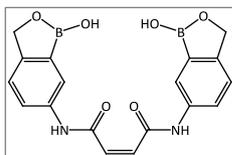
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



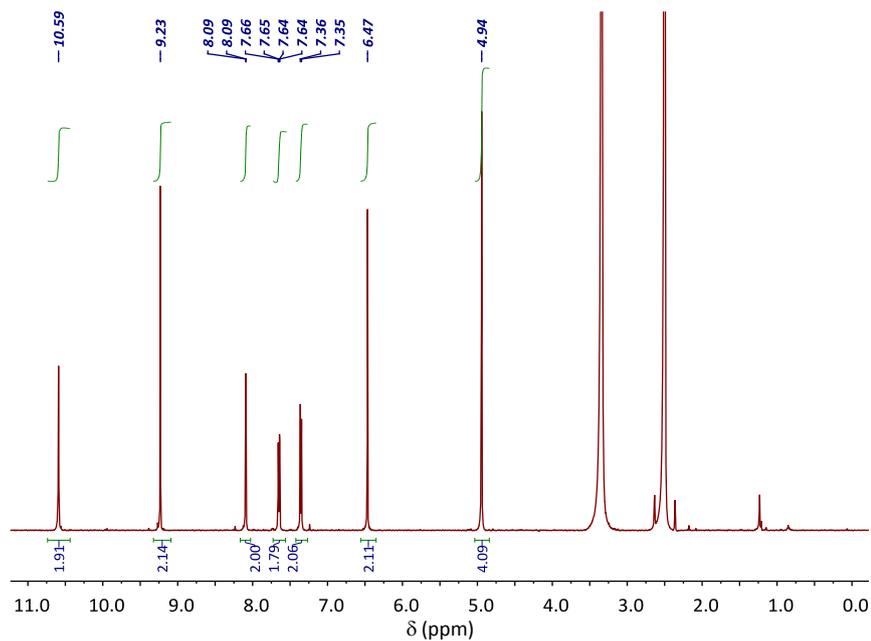
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



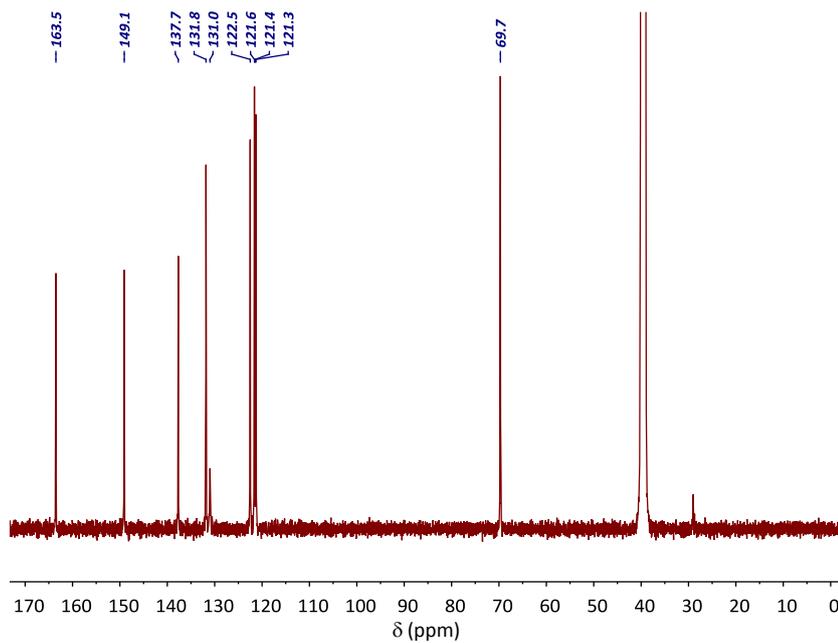
69



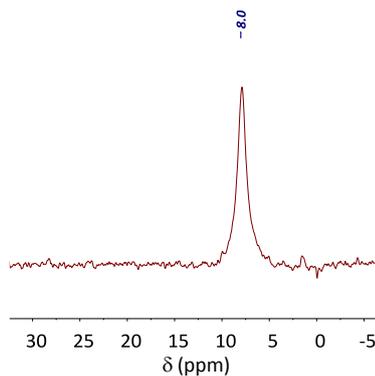
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO-d⁶)



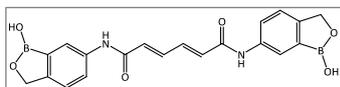
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO-d⁶)



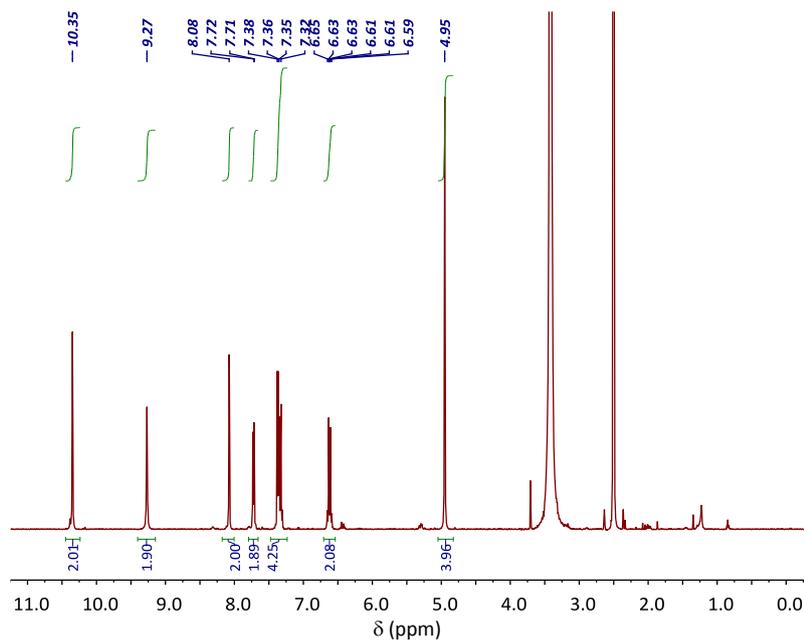
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



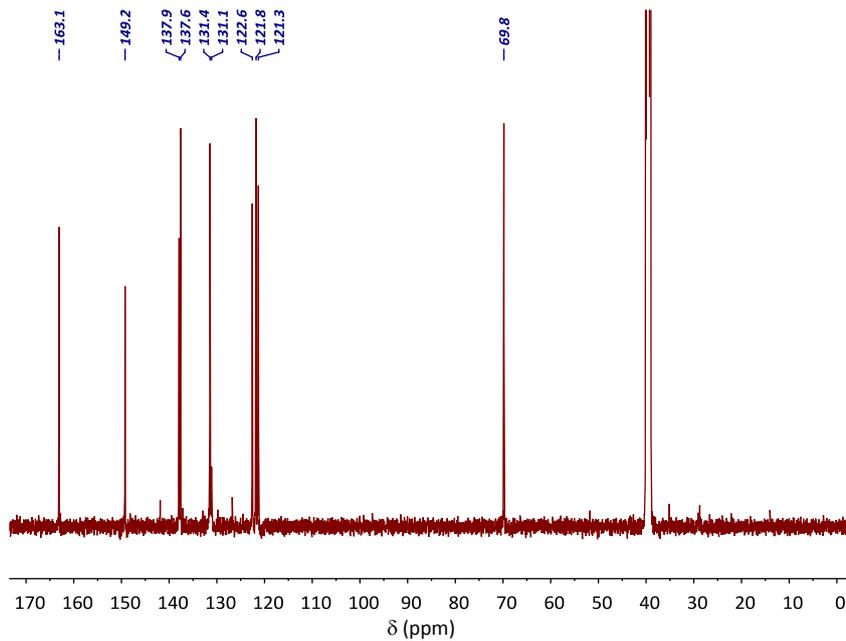
70



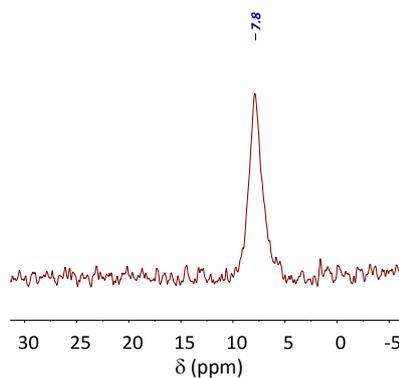
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



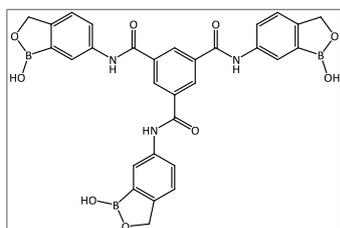
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



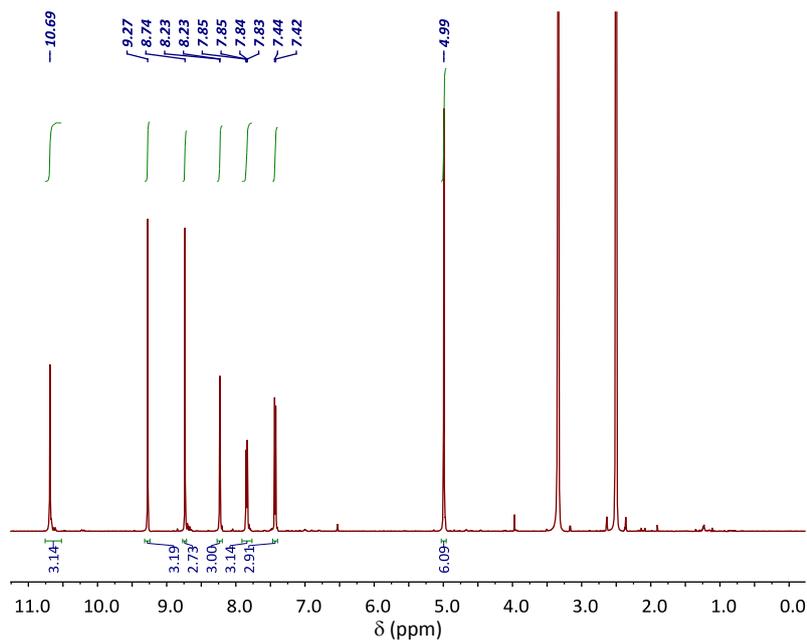
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



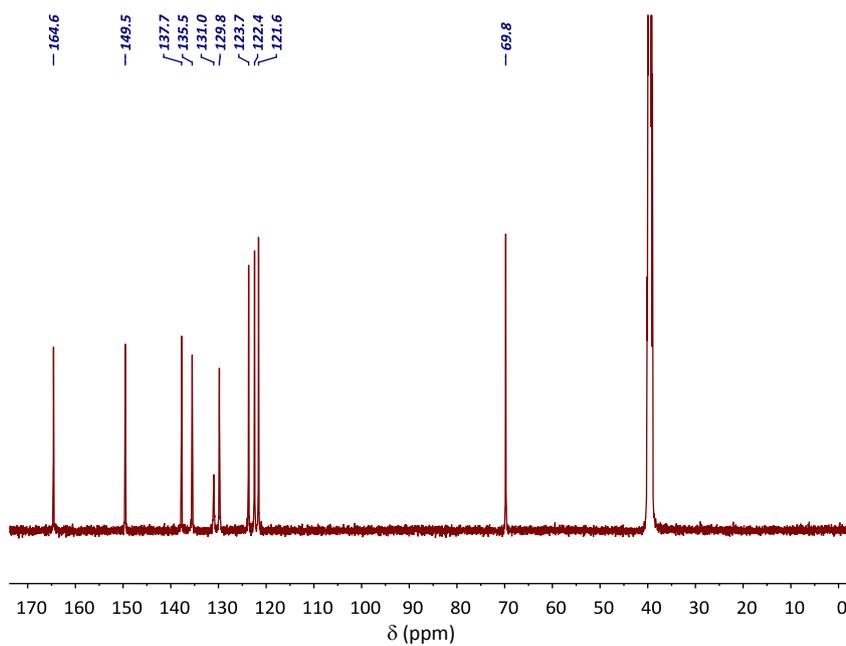
71



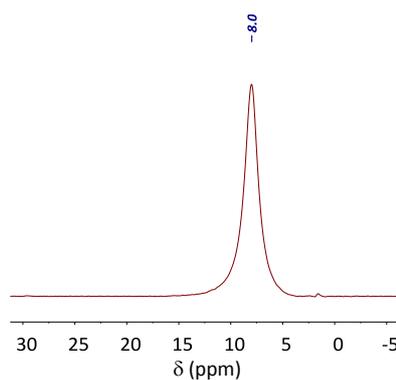
RMN ^1H
(500 MHz, DMSO- d_6)



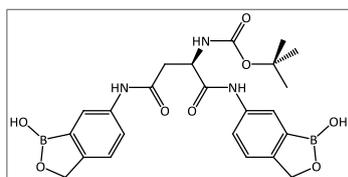
RMN ^{13}C
(126 MHz, DMSO- d_6)



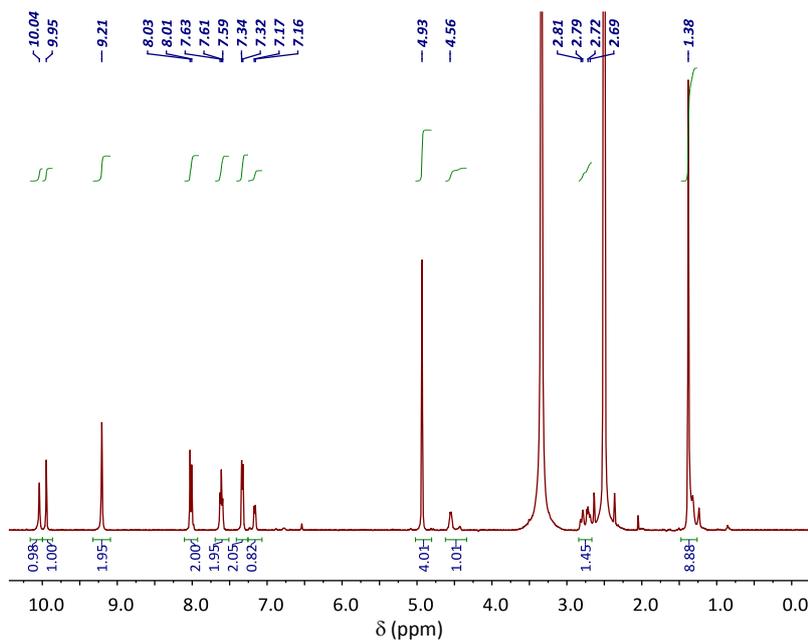
RMN ^{11}B
(160 MHz, D $_2$ O/NaOH)



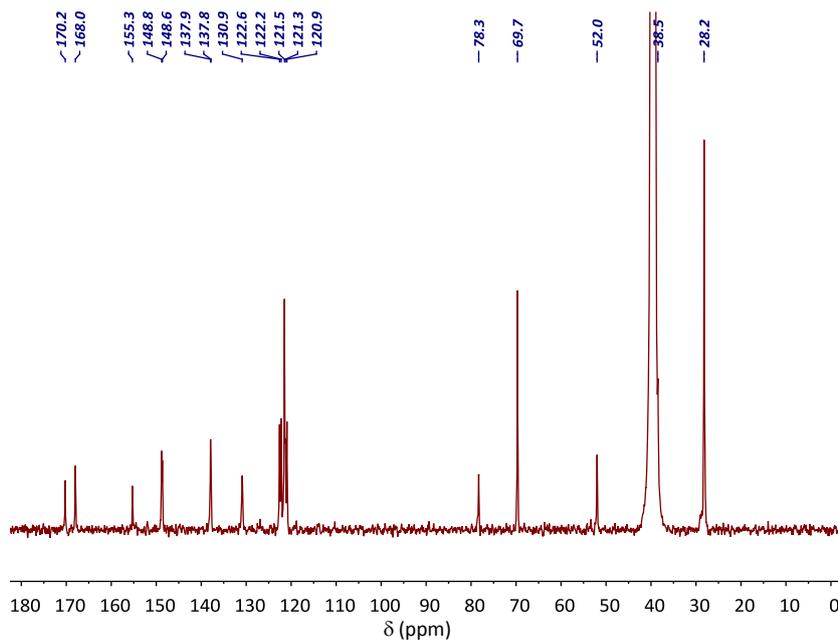
72



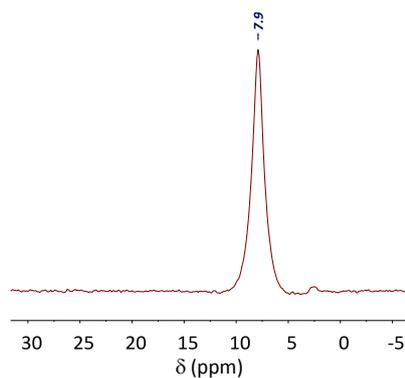
RMN ¹H
(500 MHz, DMSO.d⁶)



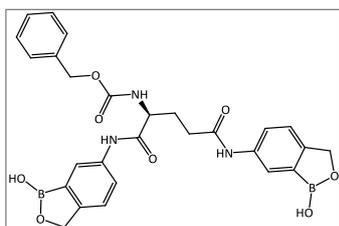
RMN ¹³C
(126 MHz, DMSO.d⁶)



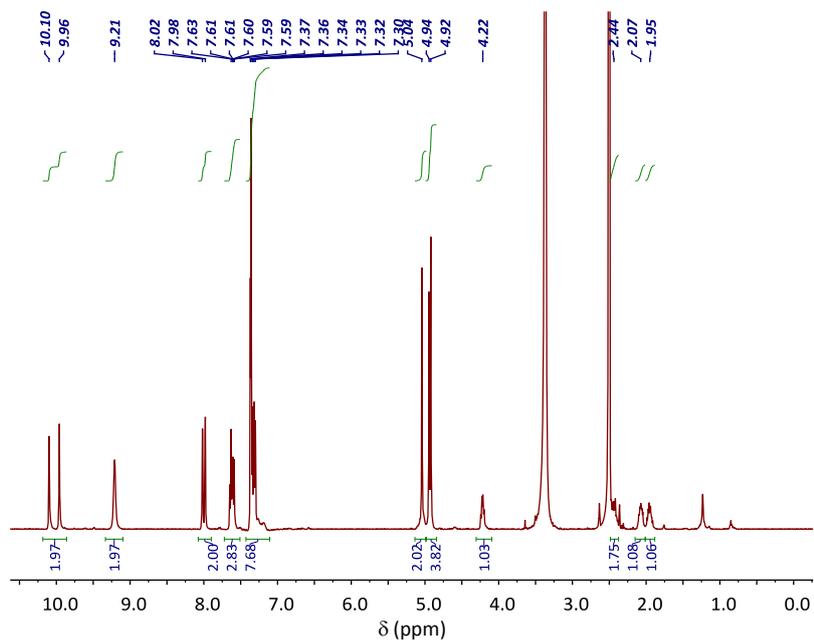
RMN ¹¹B
(160 MHz, D₂O/NaOH)



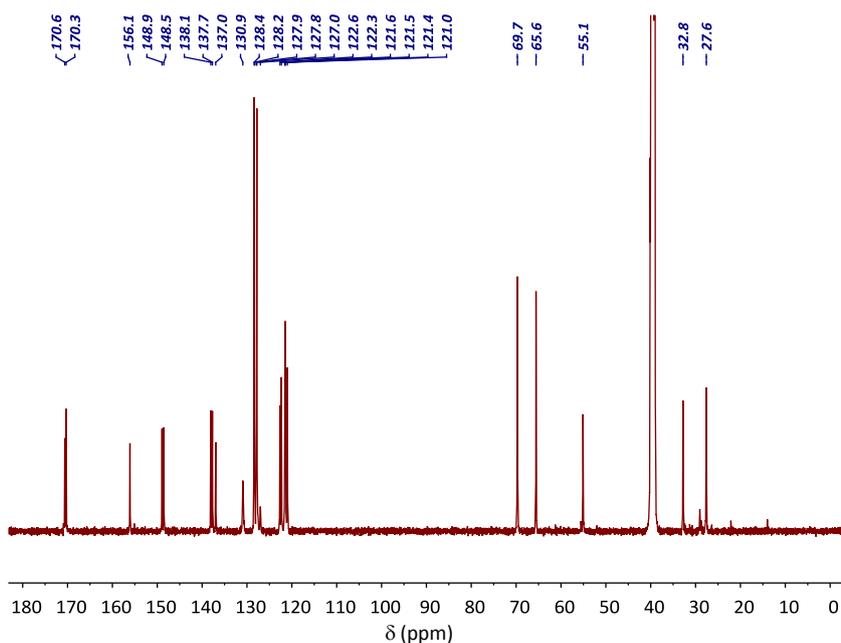
73



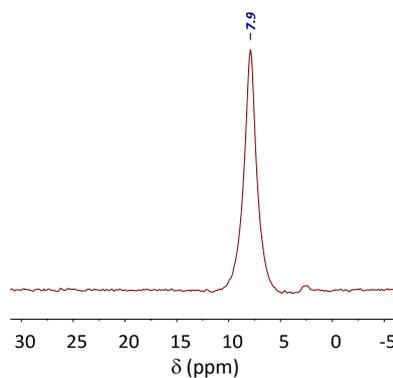
RMN ^1H
(500 MHz, DMSO- d_6)



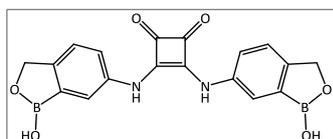
RMN ^{13}C
(126 MHz, DMSO- d_6)



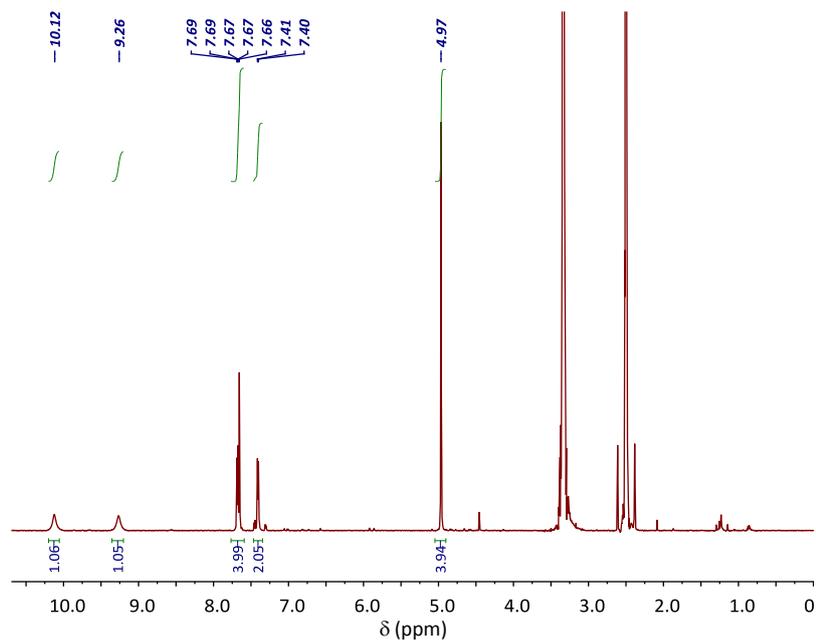
RMN ^{11}B
(160 MHz, D $_2$ O/NaOH)



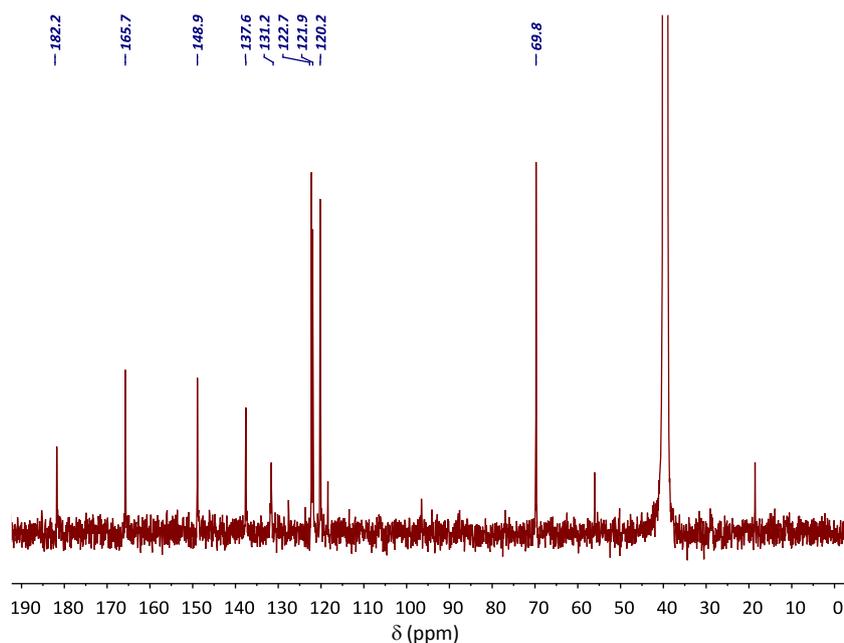
75



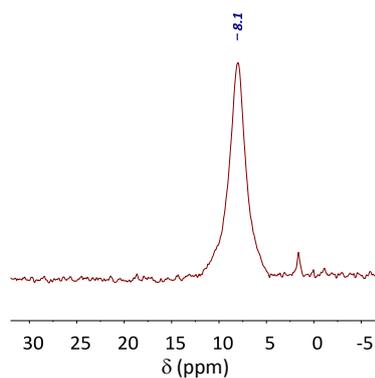
RMN ^1H
(500 MHz, DMSO- d_6)



RMN ^{13}C
(126 MHz, DMSO- d_6)



RMN ^{11}B
(128 MHz, D $_2$ O/NaOH)



Chapitre III :

Étude de la complexation de
molécules organoborées avec
les cis-diols

Chapitre III : Étude de la complexation de molécules organoborées avec les *cis*-diols

SOMMAIRE

A. INTRODUCTION	103
B. ÉTUDE FLUORIMETRIQUE	104
1. Présentation de l'étude de la complexation par spectrofluorimétrie.....	104
a. Principe général de l'étude	104
b. Traitement analytique des données obtenues par fluorescence	105
i. Détermination de la première constante apparente de complexation ($K_{app,1}$)	105
ii. Détermination de la seconde constante apparente de complexation ($K_{app,2}$)	106
2. Résultats des études de complexation par spectroscopie de fluorescence	107
a. Étude de la cinétique de complexation	107
b. Mesures de la fluorescence.....	108
i. Détermination de la première constante apparente de complexation ($K_{app,1}$) entre l'ARS et une molécule organoborée	108
ii. Détermination de la seconde constante apparente de complexation ($K_{app,2}$) entre une molécule organoborée et le <i>cis</i> -diol d'intérêt.....	109
iii. Analyse des constantes mesurées.....	110
3. Bilan.....	112
C. ÉTUDE RMN MULTINUCLEAIRE	113
1. Résultats des études de complexation par RMN.....	114
a. RMN ^1H	114
b. RMN ^{11}B	119
c. RMN ^{19}F	120
2. Bilan.....	123
D. CONCLUSIONS	124
RÉFÉRENCES.....	127
ANNEXES	131

A. Introduction

Les benzoxaboroles sont connus pour avoir une forte affinité avec les *cis*-1,2- et 1,3-diols entraînant la formation d'esters de boronates cycliques, à 5- ou 6-membres, à pH physiologique.¹ De par cette réactivité, ceux sont des candidats idéals pour les applications biologiques, y compris pour le design de nouveaux principes actifs.¹⁻⁶ L'utilisation de motifs multivalents permet d'augmenter la force des complexations avec les molécules cibles.⁷ Cependant, la synthèse de motifs benzoxaboroles multivalents n'a été que très peu développée. C'est pourquoi, les premiers travaux de cette thèse ont permis la synthèse de douze nouveaux benzoxaboroles multivalents (cf Chapitre II).

Afin de comprendre et maîtriser la complexation spontanée de ces benzoxaboroles multivalents avec les *cis*-diols en solution et de pouvoir comparer leur réactivité avec leurs analogues monovalents et leurs analogues acides boroniques, le développement d'une méthode d'analyse simple et rapide est nécessaire. En effet, aucune étude systématique sur la complexation de motifs benzoxaboroles multivalents avec des dérivés *cis*-diols n'a été reportée dans la littérature, que ce soit sur la stœchiométrie ou la force d'interaction. Or, la compréhension de ces systèmes permettra par la suite de contrôler les équilibres benzoxaboroles/*cis*-diols multivalents et d'aller vers le développement d'assemblages supramoléculaires.

Parmi les nombreuses techniques d'analyse développées pour mesurer les constantes de complexation entre les acides boroniques (ou les benzoxaboroles), et les *cis*-diols^{3,8-27}, la spectroscopie de fluorescence introduite par Wang *et al.* a été la plus fréquemment utilisée.¹³⁻¹⁶ Cependant quelques limites ont été débattues par la communauté scientifique, notamment dans le cas où plusieurs équilibres prennent place en solution.⁹

Au contraire, des études RMN en solution ont montré d'intéressantes capacités pour identifier la nature des espèces présentes.^{11,15,17-26} Malgré tout, son utilisation restait limitée, sans doute à cause de sa moindre sensibilité. Le développement de cryo-sondes et d'aimants à haut champs magnétique a augmenté la sensibilité des spectromètres RMN rendant ainsi les études de solutions à basse concentration (< 1 mM) accessibles. La méthode RMN devient donc une technique de choix pour analyser ces équilibres de complexation et d'identifier toutes les espèces présentes en solution.

Il a été choisi de travailler sur des motifs simples et représentatifs des molécules organoborées et des diols communément utilisés (Figure III.1). Dans un premier temps, pour s'accorder avec la bibliographie et pouvoir comparer les différents systèmes entre-eux, les études ont été réalisées sur deux motifs acides boroniques : l'acide phénylboronique (PBA, **9**), et l'acide phényl-bisboronique (PBB, **77**). Afin de prouver la pertinence de la méthode vers les benzoxaboroles monovalents et surtout multivalents, deux benzoxaboroles ont été étudiés : le benzoxaborole (BBzx, **7**), et le phényl-bisbenzoxaborole (BisPBBzx, **53**). A ce stade, les autres multibenxoxaboroles présentés dans le chapitre II n'ont pas été encore étudiés. En ce qui concerne les diols, quatre molécules ont été choisies : pour représenter les diols aliphatiques, le D-fructose (**78**), et les diols aromatiques, le catéchol (**79**), l'alizarin Red S (ARS, **22**) et le 3-fluoro catéchol (**80**).

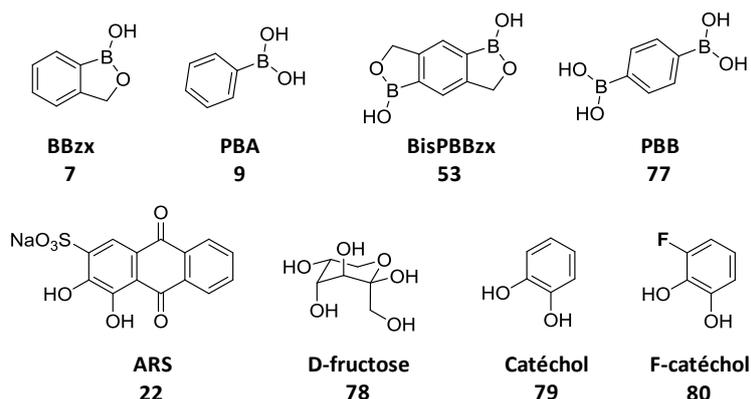


Figure III.1 : Représentation molécules organoborées et des diols étudiés dans ce chapitre.

B. Étude fluorimétrique

1. Présentation de l'étude de la complexation par spectrofluorimétrie

a. Principe général de l'étude

Les constantes apparentes de complexation entre les acides boroniques ou les benzoxaboroles, et les *cis*-diols sont déterminées par spectrofluorimétrie, grâce à un diol intermédiaire (ARS) dont la fluorescence est accrue une fois complexée (Figure III.2).

Dans un premier temps, l'intermédiaire, présentant une fonction diol, ici l'alizarine Red S (ARS, **22**), forme un complexe fluorescent avec le benzoxaborole (**7**). Au fur et à mesure de la formation de ce complexe, une croissance de la fluorescence est donc mesurée. Cette croissance de fluorescence et la concentration connue des espèces en solution permettent le calcul de la constante apparente de complexation entre l'ARS et le benzoxaborole ($K_{app,1}$). Dans un second temps, l'ajout du second *cis*-diol d'intérêt dans le milieu va déplacer cet équilibre. Le diol entre en compétition avec l'ARS et au fur et mesure le remplace pour former le complexe benzoxaborole/*cis*-diol. La complexation du benzoxaborole par le *cis*-diol entraîne une décroissance de fluorescence. Grâce à cette décroissance de fluorescence, à la première constante apparente de complexation ($K_{app,1}$) et à la concentration du *cis*-diol introduit, la constante apparente de complexation entre le benzoxaborole et le *cis*-diol d'intérêt ($K_{app,2}$) est extraite.

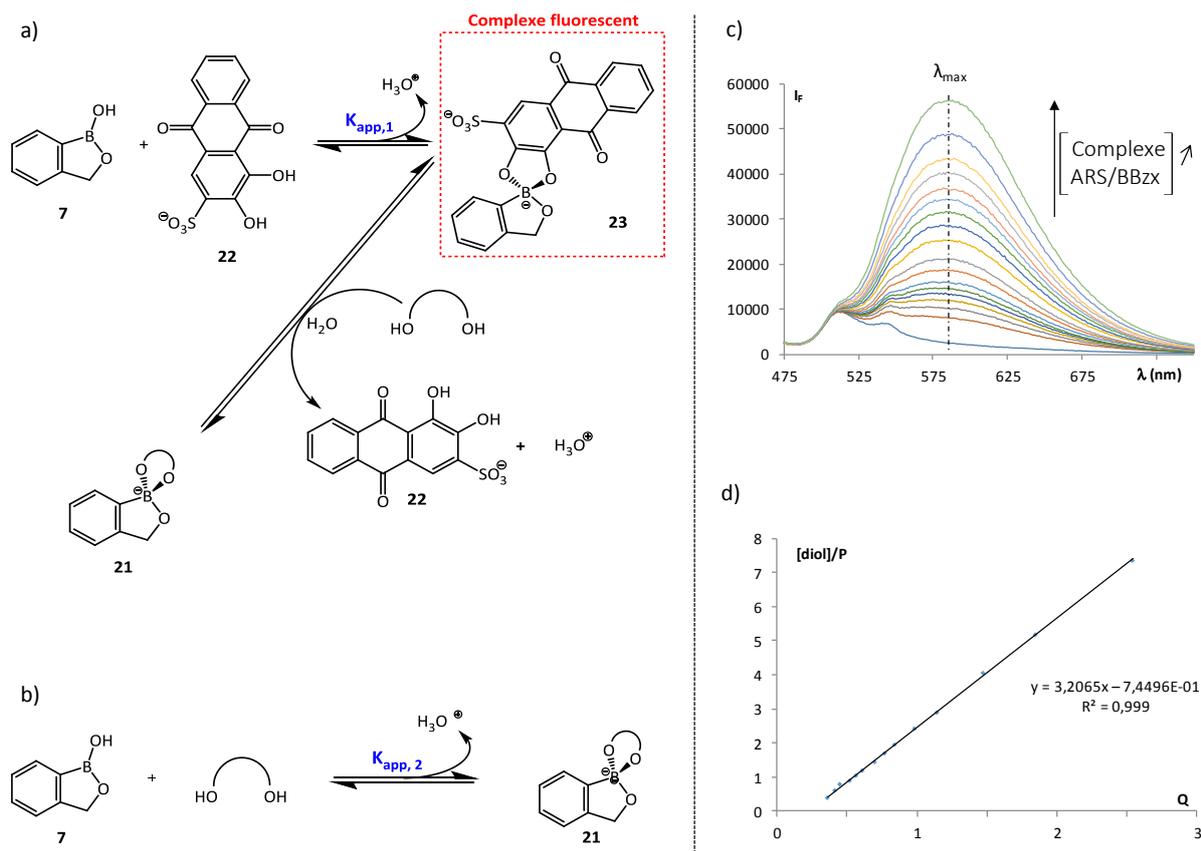


Figure III.2 : a) Représentation des équilibres mis en jeu lors de l'étude de fluorescence des complexations entre les benzoxaboroles (7) et les diols. b) Équilibre entre le benzoxaborole (7) et le *cis*-diol d'intérêt correspondant à la constante apparente de complexation calculée ($K_{app,2}$). c) Croissance de la fluorescence au fur et à mesure de la formation du complexe ARS/benzoxaborole fluorescent dans un milieu tampon phosphate à pH 7,4. d) Obtention de la constante apparente de complexation entre le D-fructose (78) et le benzoxaborole ($K_{app,2}$, BBzx/D-fructose) après traitement des spectres de fluorescence.

b. Traitement analytique des données obtenues par fluorescence

Afin de simplifier les équations, plusieurs notations, décrites ci-dessous, ont été introduites :

A = ARS, B = molécule organoborées, D = diol, AB = complexe ARS/molécule organoborée, DB = complexe diol/molécule organoborée.

Les équations ci-dessous ont pu être définies suivant ces annotations :

$$K_{app,1} = \frac{[AB]}{[A] \cdot [B]} \quad Q = \frac{[A]}{[AB]} \quad K_{app,2} = \frac{[DB]}{[D] \cdot [B]}$$

$$[A]_0 = [A] + [AB] \quad [B]_0 = [B] + [AB] + [DB] \quad [D]_0 = [D] + [DB]$$

i. Détermination de la première constante apparente de complexation ($K_{app,1}$)

La variation de la fluorescence, ΔI_f , est déterminée à la longueur d'onde maximale d'émission (λ_{max}) de fluorescence du complexe AB. Au cours de l'introduction de B dans la cuve I_f augmente. Cette

variation de fluorescence est proportionnelle à la concentration du complexe fluorescent AB formé. C'est-à-dire :

$$[AB] = \beta \cdot \Delta I_F \quad (\beta \text{ étant une constante de proportionnalité}).$$

$$[A]_0 = [A] + [AB] = [A] + \beta \cdot \Delta I_F = \frac{[AB]}{K_{app,1} \cdot [B]} + \beta \cdot \Delta I_F = \beta \cdot \Delta I_F \cdot \frac{1 + K_{app,1} \cdot [B]}{K_{app,1} \cdot [B]}$$

$$\text{D'où : } \Delta I_F = \frac{[A]_0}{\left(\beta \cdot \frac{1 + K_{app,1} \cdot [B]}{K_{app,1} \cdot [B]}\right)} \quad \text{et} \quad \frac{1}{\Delta I_F} = \frac{\beta}{K_{app,1} \cdot [A]_0 \cdot [B]} + \frac{\beta}{[A]_0} \quad (\text{Eq 1})$$

En traçant $\frac{1}{\Delta I_F}$ comme une fonction de $\frac{1}{[B]}$, $K_{app,1}$ est extraite.

ii. Détermination de la seconde constante apparente de complexation ($K_{app,2}$)

Une complexation est un équilibre entre la forme complexée et les molécules libres. Les équations pour les concentrations [A], [B] et [D] sont ré-exprimées comme une fonction des paramètres : $K_{app,1}$ et Q.

$$[D]_0 = [D] + [DB] = [D] \cdot \left(1 + \frac{[DB]}{[D]}\right) = [D] \cdot \left(1 + \frac{K_{app,2}}{Q \cdot K_{app,1}}\right) \quad \text{d'où} \quad [D] = \frac{[D]_0}{1 + \frac{K_{app,2}}{Q \cdot K_{app,1}}}$$

$$[B]_0 = \frac{1}{Q \cdot K_{app,1}}$$

$$[A]_0 = [A] + [AB] = [A] \left(1 + \frac{1}{Q}\right) \quad \text{d'où} \quad [A] = \frac{[A]_0 \cdot Q}{Q + 1}$$

Les différentes concentrations des complexes sont alors décrites par les équations ci-dessous :

$$[AB] = K_{app,1} \cdot [A] \cdot [B] = K_{app,1} \cdot \frac{[A]_0 \cdot Q}{Q + 1} \cdot \frac{1}{Q \cdot K_{app,1}} \quad \text{d'où} \quad [AB] = \frac{[A]_0}{Q + 1}$$

$$[DB] = K_{app,2} \cdot [D] \cdot [B] = K_{app,2} \cdot \frac{[D]_0}{1 + \frac{K_{app,2}}{Q \cdot K_{app,1}}} \cdot \frac{1}{Q \cdot K_{app,1}} \quad \text{d'où} \quad [DB] = \frac{K_{app,2} \cdot [D]_0}{K_{app,2} + Q \cdot K_{app,1}}$$

$$[B]_0 = [B] + [AB] + [DB] = \frac{1}{Q \cdot K_{app,1}} + \frac{[A]_0}{Q + 1} + \frac{K_{app,2} \cdot [D]_0}{K_{app,2} + Q \cdot K_{app,1}}$$

$$[B]_0 - \frac{1}{Q \cdot K_{app,1}} - \frac{[A]_0}{Q + 1} = \frac{K_{app,2} \cdot [D]_0}{K_{app,2} + Q \cdot K_{app,1}} \quad \text{d'où} \quad P = \frac{K_{app,2} \cdot [D]_0}{K_{app,2} + Q \cdot K_{app,1}}$$

$$\frac{[D]_0}{P} = \frac{Q \cdot K_{app,1}}{K_{app,2}} + 1 \quad (\text{Eq 2})$$

En traçant la droite $\frac{[D]_0}{P}$ en fonction de Q, $K_{app, 2}$ est obtenue.

2. Résultats des études de complexation par spectroscopie de fluorescence

Dans cette partie, les études des constantes apparentes de complexation sont réalisées sur les molécules présentées à la figure III.1 de ce chapitre. Deux milieux sont étudiés, un milieu tampon phosphate à pH 7,4 et un mélange DMSO/tampon phosphate à pH 7,4 afin de solubiliser les molécules organoborées présentant deux fonctions: l'acide phényl-bisboronique (**77**) et le phényl-bisbenzoxaborole (**53**).

Pour chaque couple de molécules et milieu étudié, les données enregistrées sont disponibles en annexe. Seuls les résultats les plus caractéristiques sont présentés ci-après.

a. Étude de la cinétique de complexation

Il a d'abord été nécessaire de déterminer la longueur d'onde d'excitation ainsi que la cinétique de complexation des différents couples, afin d'assurer l'enregistrement des spectres de fluorescence des complexations à l'équilibre. Des études de cinétique de complexation par spectroscopie UV-Visible ont donc été réalisées sur chaque couple {molécule organoborée/diol}.

Dans chaque cas, une cuve de fluorescence remplie d'une solution d'ARS a été préparée. A $t = 0$ min, 10 équivalents de molécules organoborées ont été introduits dans la cuve et l'évolution du spectre d'absorbance a été suivie toutes les 10 minutes pendant 1 heure (Figure III.3.a). Lorsque l'équilibre a été atteint, 100 équivalents du second diol (D-fructose ou catéchol) ont alors été introduits. L'évolution de l'équilibre de complexation a été suivie toutes les 10 minutes pendant 1 heure (Figure III.3.b).

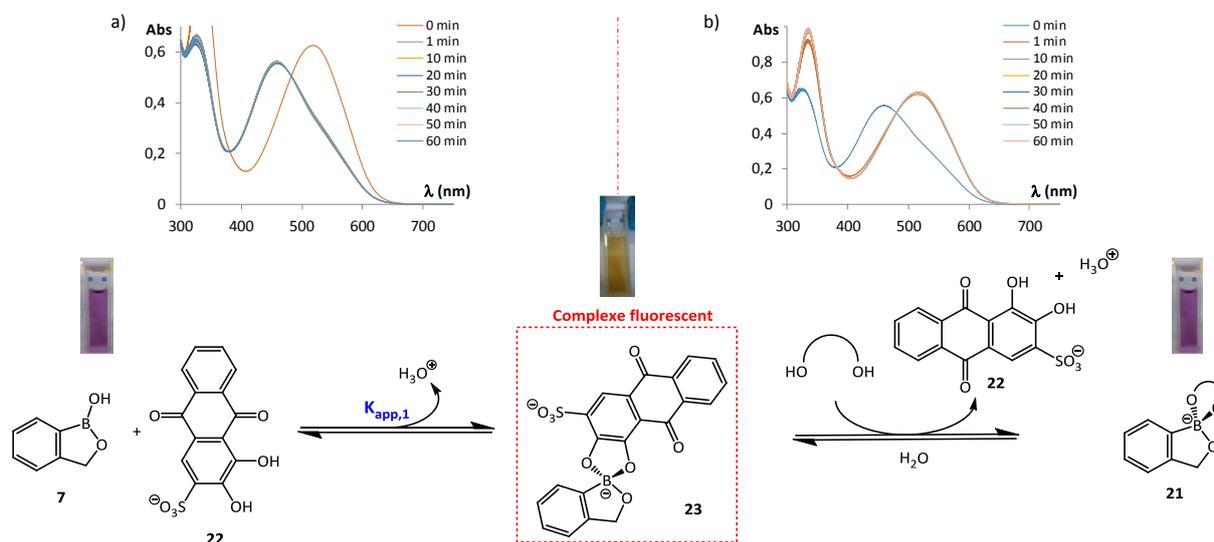


Figure III.3 : a) Représentation de l'étude de la cinétique de complexation entre l'ARS (22) et le BBzx (7). b) Cinétique du déplacement de l'équilibre par l'interaction de compétition entre le diol et l'ARS avec le BBzx.

Pour chaque couple de molécule organoborée/diol, la cinétique de complexation ainsi que la longueur d'onde d'absorbance maximale du complexe fluorescent, ou longueur d'onde d'excitation de fluorescence, sont répertoriées (voir Tableau III.1 ci-dessous).

Une fois les longueurs d'onde d'absorbance maximale et leur cinétique de complexation connues, les études de spectrofluorimétrie ont été réalisées.

Tableau III.1 : Détermination par spectroscopie UV-Visible, des longueurs d'onde d'absorption maximale (λ_{\max}) et des temps nécessaires pour observer l'équilibre des complexations correspondant à chaque couple de molécule organoborée/diol, dans chacun des deux milieux.

	λ_{\max} (nm) ³	Tampon phosphate ¹			λ_{\max} (nm) ³	DMSO/tampon phosphate ²		
		Temps d'homogénéisation (min)				Temps d'homogénéisation (min)		
		ARS (22)	D-fructose (78)	Catéchol (79)		ARS (22)	D-fructose (78)	Catéchol (79)
7	459	< 10	< 10	< 10	465	< 10	< 40	< 60
9	468	< 10	< 10	< 10	483	< 10	< 10	< 20
53	-	-			466	< 10	< 10	< 30
77	-	-			479	< 20	< 10	< 10

¹ Tampon de phosphate de potassium à pH 7,4 et 40 mM.

² Mélange DMSO/tampon phosphate à 60/40 % (v/v), préparé à partir du tampon phosphate de potassium à pH 7,4 et 40 mM.

³ Longueur d'onde correspondant à la longueur d'onde d'excitation utilisée en spectrofluorimétrie (λ_{excit}).

b. Mesures de la fluorescence

Les valeurs de fluorescence ont été menées selon le protocole de Wang *et al.*¹³⁻¹⁶

Afin de déterminer chaque constante apparente de complexation ($K_{\text{app}, 1}$ et $K_{\text{app}, 2}$) entre une molécule organoborée et un diol, quatre solutions sont préparées, à partir de la solution de tampon phosphate (pH 7,4, 40 mM) ou du mélange DMSO/tampon phosphate à 60/40 % (v/v), préparé à partir du tampon phosphate de potassium à pH 7,4 et 40 mM, comme décrit ci-dessous (Tableau III.2) :

Tableau III.2 : Conditions de préparation des solutions utilisées en spectrofluorimétrie afin de déterminer les constantes apparentes de complexation ($K_{\text{app}, 1}$ et $K_{\text{app}, 2}$) dans le tampon phosphate (pH 7,4, 40 mM) ou le mélange DMSO/tampon phosphate (à 60/40 % (v/v), pH 7,4, 40 mM).

	[ARS]	[Molécule organoborée]	[Diol]
Solution A	$9,0 \cdot 10^{-6}$ M	-	-
Solution B	$9,0 \cdot 10^{-6}$ M	$3,0 \cdot 10^{-3}$ M	-
Solution C	$9,0 \cdot 10^{-6}$ M	$2,0 \cdot 10^{-3}$ M	-
Solution D	$9,0 \cdot 10^{-6}$ M	$2,0 \cdot 10^{-3}$ M	$5,0 \cdot 10^{-1}$ M

i. Détermination de la première constante apparente de complexation ($K_{\text{app}, 1}$) entre l'ARS et une molécule organoborée

La première constante apparente de complexation entre l'ARS (**22**) et une molécule organoborée (Figure III.4.a) est déterminée à partir des solutions A et B (Tableau III.2). La cuve en quartz de fluorescence est remplie à l'aide de la solution A et le spectre d'émission de fluorescence initial est alors enregistré. Puis, la solution B est progressivement ajoutée dans la cuve afin d'enregistrer la croissance de la fluorescence, proportionnelle à la concentration du complexe formé au fur et à mesure de l'introduction de la molécule organoborée. Après chaque ajout, la cuve est manuellement

agitée et laissée à équilibrer en fonction de la cinétique de complexation des espèces mises en jeu (Tableau III.1, Figure III.4.b). Cette étape est réalisée jusqu'à ce que 200 équivalents de la molécule organoborée, par rapport à l'ARS (Figure III.4.c).

Les données sont ensuite analysées suivant les équations présentées ci-dessus (voir paragraphe A.1.a.i, pp 105-106) pour obtenir la constante apparente de complexation entre l'ARS (**22**) et la molécule organoborée ($K_{app,1}$) (Figure III.4.d). Afin d'estimer l'erreur associée à ce type de mesure, chaque analyse a été réalisée à minima trois fois. La valeur finale par la suite considérée est une moyenne de ces mesures.

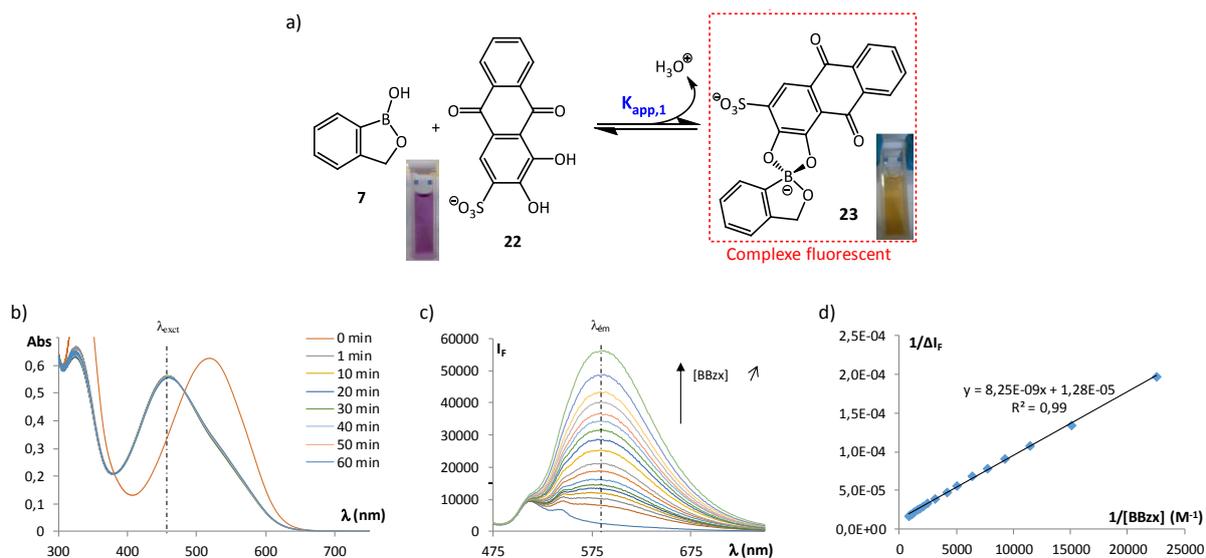


Figure III.4 : a) Représentation de l'équilibre de complexation entre l'ARS (**22**) et le BBzx (**7**) observé. b) Présentation des spectres obtenus lors de l'étude de la cinétique de complexation de ce même couple par spectroscopie UV-Visible et détermination de la longueur d'onde d'excitation utilisée pour les études de fluorescence (λ_{ext}). c) Croissance de l'intensité de fluorescence ($\lambda_{ém}$) au fur et à mesure de la formation du complexe. d) Extrapolation linéaire des données obtenues expérimentalement et utilisées pour extraire la constante apparente de complexation entre **22** et **7**.

ii. Détermination de la seconde constante apparente de complexation ($K_{app,2}$) entre une molécule organoborée et le *cis*-diol d'intérêt

La seconde constante apparente de complexation est mesurée à partir des solutions C et D (Figure III.5.a). Le spectre d'émission de fluorescence est enregistré à partir de la solution C. La solution D est ensuite progressivement introduite dans la cuve. De la même manière que précédemment, la cuve est alors manuellement agitée afin d'homogénéiser la solution puis laissée le temps que la complexation soit à son équilibre (suivant la cinétique de complexation déterminée par spectroscopie UV-visible pour chaque couple, Tableau III.1 et Figure III.5.b). La solution D est alors introduite de manière contrôlée jusqu'à ce que 60 % de décroissance de l'intensité de la fluorescence soit observée (Figure III.5.c).

Les données sont ensuite analysées suivant les équations mentionnées précédemment (voir paragraphe A.1.a.ii, pp 106-107) pour obtenir la constante apparente entre la molécule organoborée et le diol d'intérêt ($K_{app,2}$) (Figure III.5.d). Comme précédemment, afin d'estimer l'erreur associée à ce

type de mesure, chaque analyse est réalisée à minima trois fois. La valeur par la suite considérée est une moyenne de ces mesures.

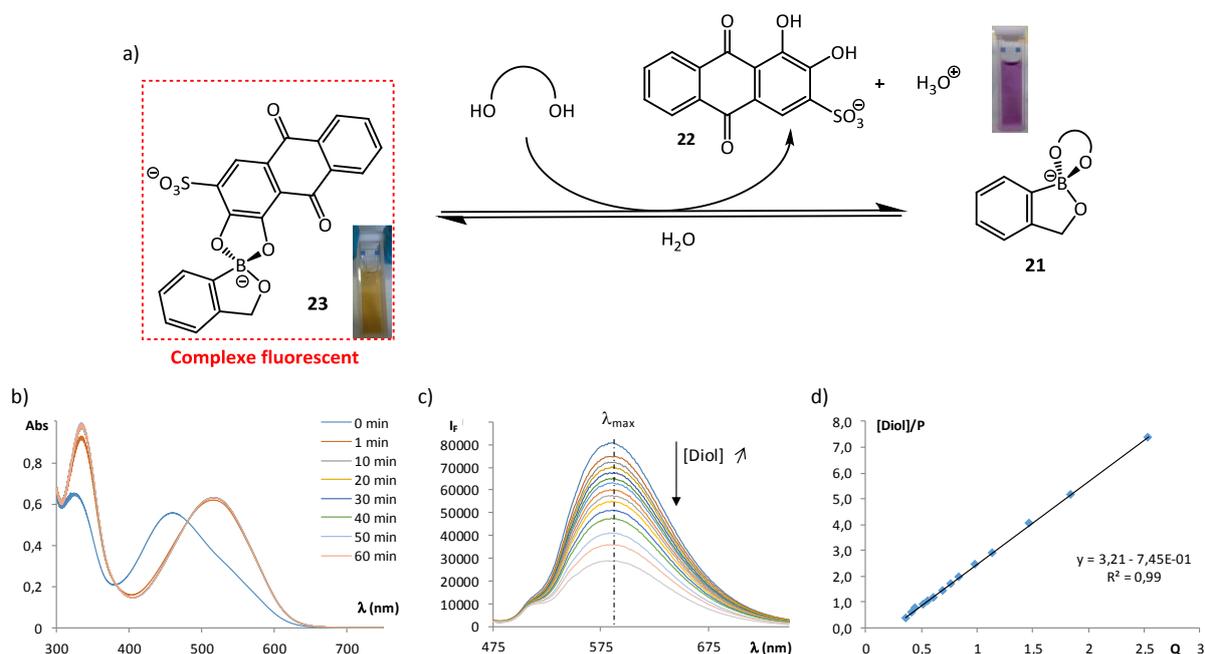


Figure III.5 : a) Représentation de l'interaction de compétition qui a lieu entre l'ARS (22) et le diol. b) Présentation des spectres obtenus lors de l'étude de la cinétique de ce mélange par spectroscopie UV-Visible. c) Décroissance de l'intensité de fluorescence ($\lambda_{ém}$) au fur et à mesure de la formation du complexe 7/diol. d) Extrapolation linéaire des données obtenues expérimentalement et utilisées pour extraire la constante de complexation entre 7 et le diol, ici le D-fructose.

iii. Analyse des constantes mesurées

Les valeurs des constantes de complexation sont reportées par le tableau III.3 ci-dessous.

Il est important de noter que les valeurs des constantes de complexation enregistrées avec le D-fructose (**78**) et le catéchol (**79**) sont en accord avec celles reportées dans la littérature (Tableau III.3).^{1,3,10,14,16} Dans les deux cas, pour l'acide phénylboronique (**9**) ou le benzoxaborole (**7**), la complexation avec le catéchol est plus forte que celle observée avec le D-fructose.^{1,14}

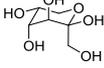
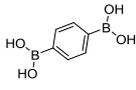
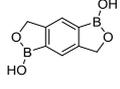
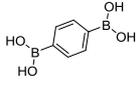
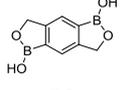
La transposition de cette méthode d'analyse aux molécules présentant plusieurs fonctions organoborées (PBB (**77**) et BisPBBzx (**53**)) s'est montrée plus complexe. Les molécules bivalentes étant moins solubles (notamment **53**), les mesures ont dû être réalisées dans un mélange de DMSO/tampon phosphate (pH 7,4, 40 mM), à un ratio de 60/40 % (v/v). Ce ratio a été optimisé afin de solubiliser les molécules organoborées dans un minimum de DMSO. Pour que les valeurs soient comparables, toutes les constantes ont aussi été ré-enregistrées dans ce milieu.

La comparaison des valeurs des constantes de complexation enregistrées dans les deux milieux met en évidence une plus forte complexation de chaque couple dans le milieu DMSO/tampon phosphate (Tableau III.3).

Le problème principal concerne la complexation de diols sur des molécules organoborées bivalentes dont les motifs ne sont pas indépendants. Si les deux fonctions organoborées sont non-indépendantes,

le traitement des données d'émission de fluorescence est insatisfaisant. La droite théorique ne s'accorde pas avec les données expérimentales (Figure III.6).

Tableau III.3 : Constantes apparentes de complexation ($K_{app, 2}$) déterminées par spectrofluorimétrie entre les molécules organoborées (9, 7, 77 et 53) et les *cis*-diols (78 et 79). Les valeurs correspondent à la moyenne d'au moins trois mesures indépendantes. Les valeurs des molécules organoborées bivalentes sont en italique car elles sont obtenues comme première approximation à partir des équations préalablement présentées. Pour les mesures des constantes de complexation de 9 et 7 dans le tampon phosphate une comparaison avec les constantes de complexation communiquées dans la littérature est reportée en tant que référence dans le tableau.

	Molécule organoborée	$K_{app, 2}$ (M^{-1})		
		Tampon Phosphate ^a		DMSO/tampon phosphate ^b
		Notre étude	Références	Notre étude
 78	 9	180 ± 40	160 ^{c, 14,16} 210 ± 2 ^{c, 10} 79 ^{d, 3}	1020 ± 100
	 7	560 ± 80	664 ^{c, 16} 606 ^{d, 3} 508 ^{e, 10}	4000 ± 200
	 77	ND ^f	-	1940 ± 410
	 53	ND ^f	-	2410 ± 570
 79	 9	900 ± 200	830 ^{c, 14}	2200 ± 190
	 7	1470 ± 20	-	10660 ± 610
	 77	ND ^f	-	6450 ± 2500
	 53	ND ^f	-	24100 ± 1240

^a Tampon phosphate à pH = 7,4 et à 40 mM.

^b DMSO/tampon phosphate (pH = 7,4, 40 mM), à 60/40 % (v/v).

^c Mesure des constantes de complexation reportées dans la littérature mesure réalisée par méthode avec l'ARS.

^d Mesure des constantes de complexation reportées dans la littérature réalisée par RMN ¹H.

^e Mesure des constantes de complexation reportées dans la littérature réalisée par ITC.

^f Non-déterminée en raison d'une trop faible solubilité.

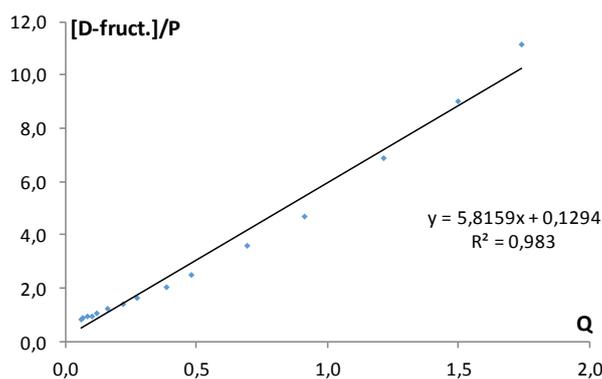


Figure III.6 : Comparaison entre les données expérimentales (points bleus) et l'analyse en première approximation à partir des équations préalablement présentées (droite noire) pour la mesure de la constante apparente de complexation entre PBB/D-fructose dans le milieu DMSO/tampon phosphate (à 60/40 % v/v., pH = 7,4, 40 mM).

En continuant l'analyse des résultats entre les molécules mono- et bi-valentes, des incohérences sont notables. Le calcul des ratios entre les constantes apparentes de complexation du PBA (**9**) et du PBB (**77**) avec le D-fructose (**78**) et le catéchol (**79**) ne donnent pas un facteur multiplicatif de 2 comme attendu mais, respectivement, un facteur de 1,9 et 2,9. En effet, les valeurs des constantes apparentes de complexation, dans le milieu DMSO/tampon phosphate à 60/40 % v/v., des couples **9/78** et **77/78** sont respectivement de 1020 M^{-1} et 1940 M^{-1} correspondant au facteur 1,9 calculé. Le même problème est observé pour les constantes apparentes de complexation de **7** et de **53** avec le diol **79**, le facteur multiplicatif étant de 2,2 (respectivement de 10660 M^{-1} et 24100 M^{-1}). À l'inverse, les constantes apparentes de complexation du **7** et du **53** avec le diol **78** décroissent avec un facteur de 1,6 (respectivement de 4000 M^{-1} et 2410 M^{-1}). Cette valeur contre-intuitive ne peut pas être expliquée par une hypothétique perte de coopérativité entre les deux fonctions organoborées. Cela met en évidence que l'équilibre en solution de ces complexations n'est pas si simple, et nécessite des outils d'analyse supplémentaires.

3. Bilan

Malgré le fait que la spectroscopie de fluorescence soit une méthode d'analyse sensible, l'étude des complexations par interaction de compétition avec un intermédiaire fluorescent (ARS, **22**) met en évidence plusieurs limitations.

La première limitation concerne la détermination de la stœchiométrie des différents complexes formés en solution. Cette méthode ne détermine pas clairement la stœchiométrie mise en jeu entre les molécules organoborées multivalentes et les *cis*-diol. Une autre méthode d'analyse est nécessaire pour pouvoir appréhender plus en avant ces complexations, et ainsi déterminer les différentes stœchiométries mises en jeu et l'interdépendance (ou non) des sites de complexation de molécules multivalentes.

Il faut aussi tenir compte des contraintes liées à la mesure des constantes apparentes de complexations par spectrofluorimétrie. Pour chaque mesure, des expériences préliminaires sont nécessaires. La mesure préalable de la longueur d'onde d'excitation ainsi que de la cinétique de

complexation de chaque équilibre mis en jeu doivent être déterminées par spectroscopie UV-visible. De plus, pour chaque couple molécules organoborée/*cis*-diol, deux jeux de mesure doivent être enregistrés : la constante apparente de complexation entre la molécule organoborée et l'ARS ($K_{app,1}$) et la constante apparente de complexation entre la molécule organoborée et le *cis*-diol d'intérêt ($K_{app,2}$). Cette contrainte, en plus d'augmenter considérablement le temps d'analyse, favorise une marge d'erreur plus importante puisque la mesure expérimentale de $K_{app,1}$ intervient dans le calcul de $K_{app,2}$.

En mettant en évidence ces limitations, le nombre croissant de synthèse de molécules organoborées multivalentes impose la mise en place d'un autre outil d'analyse de ces complexations. C'est dans ce contexte que l'utilisation de la RMN multi-nucléaire a été envisagée.

C. Étude RMN multinucléaire

Les expériences RMN se sont été concentrées sur les études des complexations des molécules organoborées avec le catéchol. En effet, en plus d'avoir une interaction plus forte avec les molécules organoborées^{15,28,29}, celui-ci a l'avantage de donner un spectre RMN ^1H plus simple que les autres diols (D-fructose et ARS).

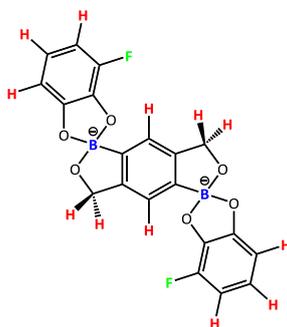


Figure III.7 : Représentation de la complexation entre le BisPBBzx (53), et le F-catéchol (80).

Comme illustré ci-dessus (Figure III.7), les études de complexation peuvent être réalisées sur plusieurs noyaux. Les protons (^1H), présents dans toutes les molécules organiques, ont l'avantage d'être des sondes d'une excellente sensibilité en RMN. Cependant, les molécules contenant généralement plusieurs ^1H , le recouvrement des signaux des différents ^1H peut être observé et ainsi compliquer l'analyse et l'interprétation des spectres. Au cœur de la complexation est présent le noyau bore (^{11}B). La complexation se réalisant sur ce même noyau, il peut se révéler être une bonne sonde. Enfin, par l'introduction d'un fluor (^{19}F) sur les diols, la RMN du fluor peut être utilisée. Elle présente l'avantage très sensible comme la RMN ^1H , et présente avec une gamme de déplacements chimiques plus important.

Les RMN ^{13}C et ^{17}O pourraient aussi être de bons outils pour l'analyse de ces complexations. Cependant, de par leur faible sensibilité, ces deux noyaux ne sont pas utilisés dans le cadre de ces

travaux. En effet, la faible abondance naturelle en isotopes ^{13}C et ^{17}O (respectivement de 1,1 et 0,04%), détectables en RMN, induit une faible intensité des signaux et donc une accumulation des spectres importante afin d'obtenir un rapport signal/bruit significatif. Une autre solution consisterait à enrichir les échantillons avec les isotopes ^{13}C et ^{17}O . Cependant, cette méthode en plus d'être coûteuse, compliquerait la procédure.

1. Résultats des études de complexation par RMN

Les expériences RMN ont d'abord été réalisées sur les molécules organoborées monovalentes, tels que le PBA (**9**) et le BBzx (**7**). Ces études ont permis de se familiariser avec les systèmes étudiés : tant sur les conditions d'enregistrement (temps de recyclage, nombre d'accumulation...) que sur l'allure des spectres (déplacements chimiques ou shift des signaux, et changement de multiplicité). Ces expériences préliminaires ont mis en évidence les tendances générales de ces équilibres de complexation.

Pour ces expériences, le tampon phosphate à pH 7,4 (40 mM) et le milieu DMSO/tampon phosphate à 60/40 % (pH = 7,4, 40 mM), tous deux préparés à l'aide de solvants deutérés, ont été aussi utilisés comme dans la méthode de fluorescence.

a. RMN ^1H

Au travers des expériences réalisées sur la complexation entre le benzoxaborole (**7**) et le catéchol (**79**) dans les deux milieux (Figure III.8), la tendance observée en spectrofluorimétrie est confirmée par la RMN ^1H .

La complexation est favorisée dans le milieu DMSO/tampon phosphate à 60/40 % comme nous le montre les spectres bleus de la figure III.8. En effet, la formation du complexe est majoritaire et seules des traces de molécules libres sont observables dans le milieu DMSO/tampon phosphate, contrairement aux spectres obtenus dans le tampon phosphate.

Dans les deux cas, un décalage des signaux des ^1H vers les déplacements chimiques plus faibles est observé. En analysant la superposition des spectres ^1H pour le milieu DMSO/tampon phosphate deutéré, ce shift est très net. Les protons aromatiques de **7** compris entre 7,6 et 7,2 ppm sous sa forme libre, se décalent entre 7,2 et 7,0 ppm. La même observation est faite pour les ^1H du groupement méthylène de **7** qui se déplacent de 4,8 à 4,65 ppm une fois complexé. Enfin, les ^1H aromatiques de **79** sont décalés aussi vers des déplacements chimiques plus faibles : de 6,7 à 6,5 ppm à $\sim 6,5$ ppm.

Les multiplicités correspondent à celles attendues sauf pour les signaux des ^1H aromatiques de **79** complexé. La multiplicité des ^1H non-équivalents de **79** est perdue une fois le complexe formé : les signaux se présentent sous la forme d'un singulet élargi. L'augmentation de la température permet cependant de retrouver la multiplicité de ce signal et de mettre en évidence les différents protons aromatiques du catéchol (Figure III.8, insert).

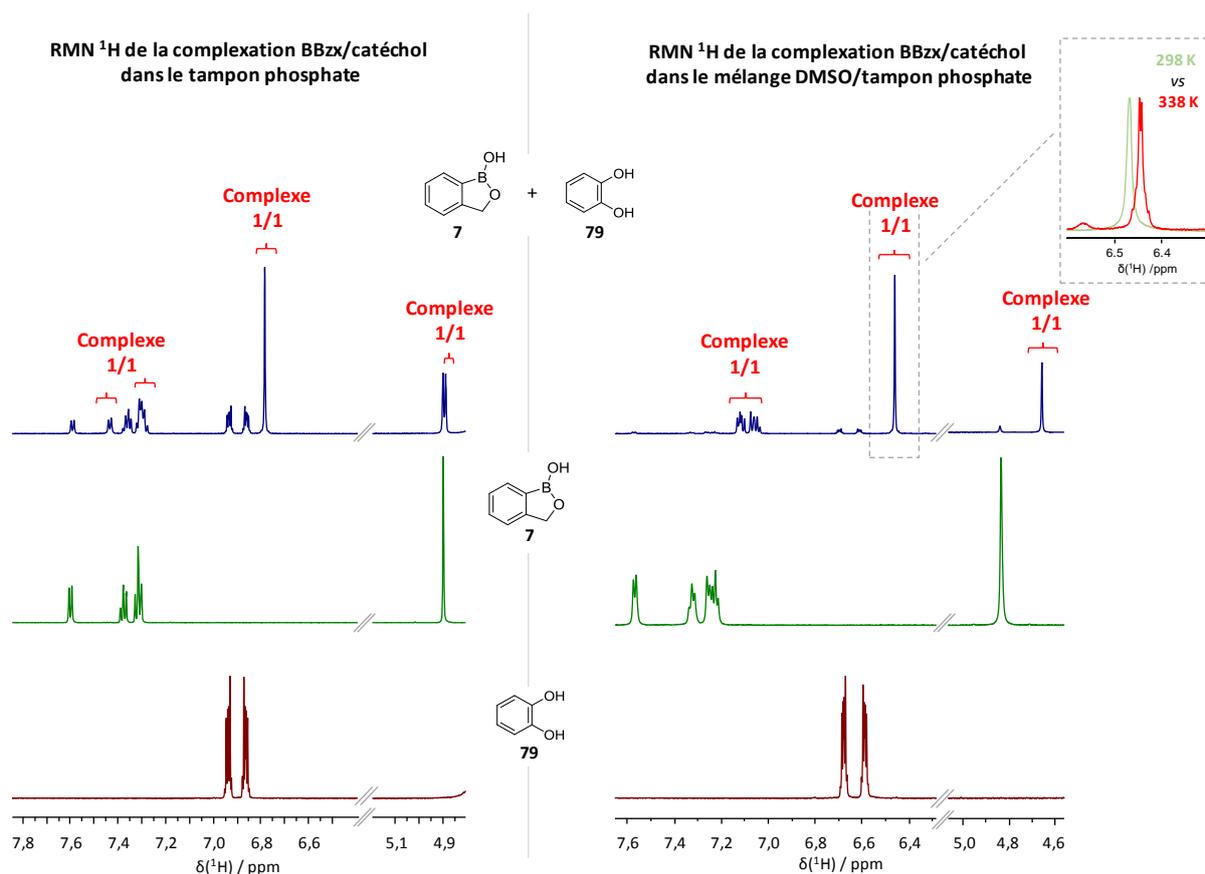


Figure III.8 : Etude RMN ^1H de la complexation d'un mélange BBzx/catéchol à 50/50, dans le tampon phosphate deutéré (à gauche) et dans le mélange DMSO/tampon phosphate deutéré (à droite). La multiplicité du signal des protons aromatiques du catéchol est mise en évidence par acquisition des spectres RMN ^1H à haute température (65 °C).

En s'inspirant de ces tendances, la complexation entre les diols de type catéchol, le catéchol et le F-catéchol, et les molécules organoborées bivalentes, **77** et **53**, plusieurs signaux sont observés et peuvent être assignés à la formation de complexes, tels que des complexes de stœchiométrie 1/1 ou 1/2 (Figure III.9.a et b).

La complexation entre les diols de type catéchol (le catéchol et le F-catéchol) et les molécules organoborées bivalentes (**77** et **53**) a alors été étudiée. Plusieurs signaux sont observés, qui peuvent être assignés à la formation de complexes, tels que des complexes de stœchiométrie 1/1 ou 1/2 (Figure III.9).

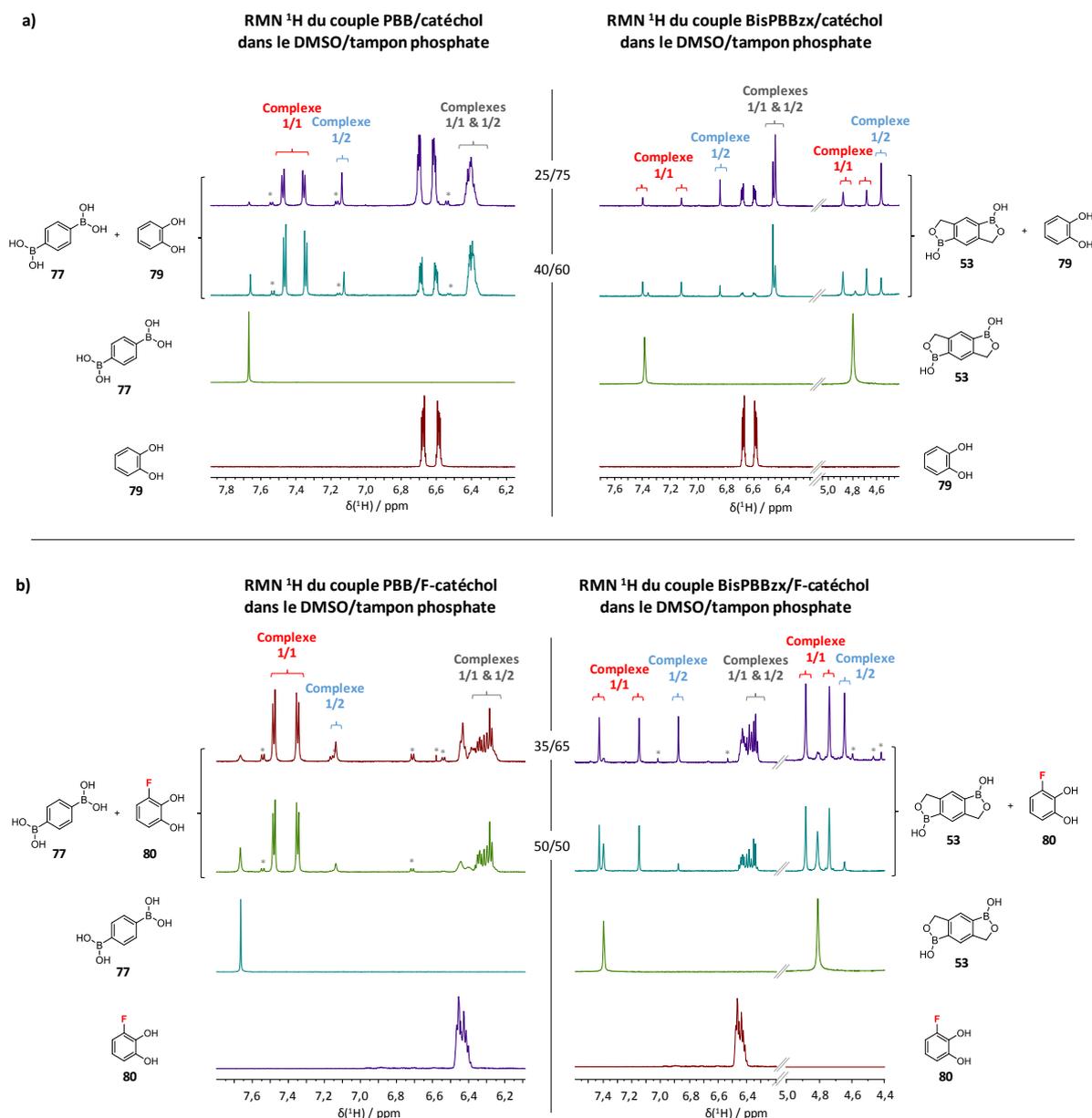


Figure III.9 : RMN ¹H des complexations entre les molécules organoborées bi-valentes, PBB (**77**, à gauche) et BisPBBzx (**53**, à droite), avec le catéchol (**79**, a) ou le F-catéchol (**80**, b) dans le milieu DMSO/tampon phosphate à 60/40 % (pH = 7,4, 40 mM). Pour les solutions contenant les deux molécules, les ratios entre la molécule organoborée et le diol correspondent à ~ 40/60 et ~ 25/75 pour **79** et ~ 50/50 et ~ 35/65 pour **80**. Le symbole « * » correspond à des espèces non-identifiées.

Il est important de noter que, dans tous les cas, la formation du complexe 1/1 entraîne une désymétrisation du complexe et par conséquent à une différenciation des ¹H de la molécule organoborée. Pour **53**, deux singulets sont alors observables pour les ¹H aromatiques et deux singulets pour le groupement méthylène, respectivement à ~7,4 et 7,1 ppm et à ~ 4,9 et 4,7 ppm. Pour **77**, les protons aromatiques apparaissent comme des doublets à ~7,5 et 7,3 ppm. Si un excès de *cis*-diol est introduit, la formation du complexe 1/2 est favorisée. L'équivalence des protons étant restaurée, les spectres RMN ¹H se simplifient. Le signal des ¹H aromatiques, de nouveau équivalents, du PBB redevient un singulet à ~ 7,1 ppm. Cette analyse est transposable à la formation du complexe 1/2 avec

53 dont les signaux des ^1H , de nouveau équivalents, sont observables à $\sim 6,9$ ppm pour les ^1H aromatiques et 4,6 ppm pour les groupements méthylène.

Dans les deux cas, la complexation entraîne un décalage des signaux vers des déplacements chimiques plus faibles, comme il avait été observé pour les complexes formés à partir des molécules monovalentes.

L'équilibre de complexation est plus déplacé entre **53** et le catéchol (**79**), ou F-catéchol (**80**), que pour son analogue **77**. Cette tendance, déjà observée en spectrofluorimétrie, est donc confirmée par la comparaison des spectres ^1H . Pour un même mélange, la proportion de complexe 1/2 formé est plus importante pour **53**.

L'attribution des signaux RMN est, après analyse par comparaison des tendances avec le complexe 1/1 des molécules monovalentes, confirmée grâce aux intégrales et multiplicité de pics. L'introduction à différents ratios de **79** (ou **80**) dans le tube permet aussi d'observer le déplacement de l'équilibre vers la formation du complexe 1/1 puis 1/2 lorsque le ratio en *cis*-diol augmente. Enfin, pour confirmer l'attribution des pics, une RMN ^1H 2D, de type DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) a aussi été effectuée (Figure III.10).

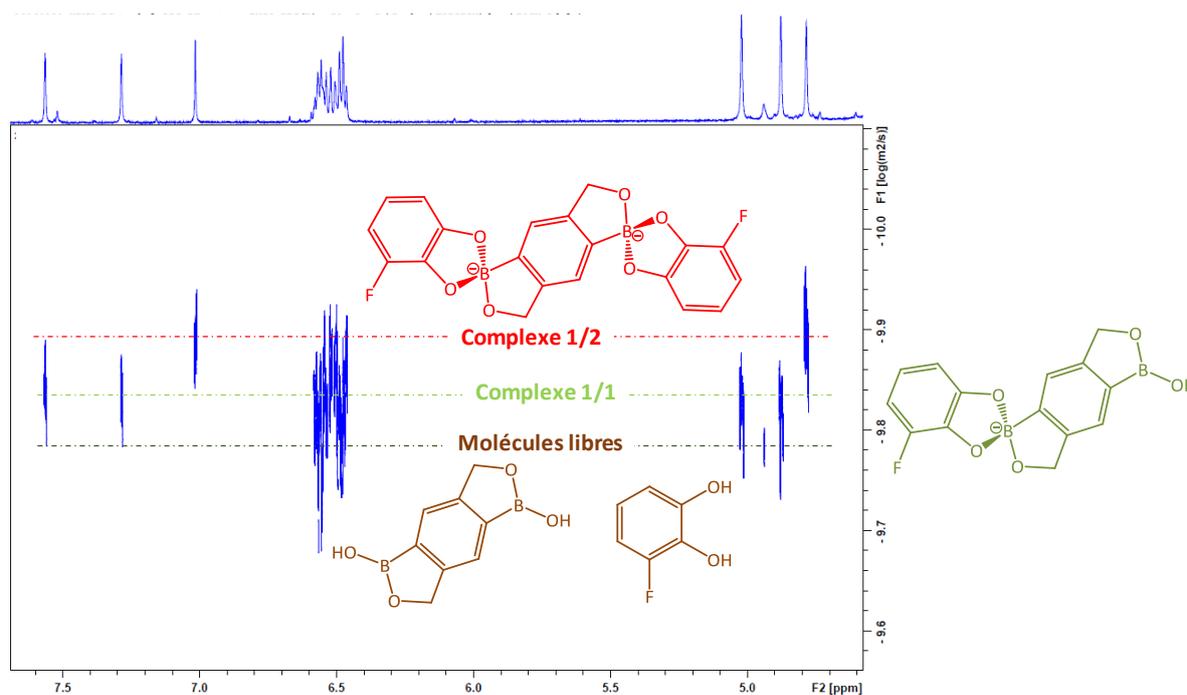


Figure III.10 : Analyse RMN ^1H DOSY de la complexation entre le F-catéchol (**80**) et le BisPBBzx (**53**) dans le milieu DMSO/tampon phosphate permettant la mise en évidence des différents coefficients de diffusion spécifiques à chaque complexe et donc l'attribution des pics à chacun.

La RMN ^1H DOSY est une expérience dans laquelle, par application d'un gradient de champ magnétique pulsé, différentes espèces en solution sont séparées suivant leur coefficient de diffusion (D en $\mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Ce dernier est inversement proportionnel au rayon hydrodynamique (r_s) de la molécule (Eq. 3), lui-même dépendant de la masse molaire, la taille, la forme, ou encore la charge, ainsi que de l'environnement (la température, l'état d'agrégation) de chaque entité.

$$D = \frac{\kappa_B \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot r_S} \quad (\text{Éq. 3})$$

avec D : le coefficient de diffusion ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), κ_B : la constante de Boltzmann ($\kappa_B = 1,38064852 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$), T : la température (K), η : la viscosité (Pa.s) et r_S : le rayon hydrodynamique de l'entité (m).

L'intensité des pics étant proportionnelle à l'exponentielle de $\{-D\}$ ($I \propto e^{-D}$), le coefficient de diffusion est estimé par l'analyse de la décroissance exponentielle du signal en fonction du gradient de champ magnétique pulsé appliqué. Les signaux de petites molécules, ayant un coefficient de diffusion plus élevé, décroissent plus rapidement que les signaux des grosses molécules, avec un faible coefficient de diffusion. La série des spectres 1D RMN ^1H enregistrés permet, par leur superposition en fonction de l'amplitude du gradient de champ magnétique pulsé appliqué, l'obtention du spectre DOSY qui sépare les différents signaux suivant D . Toutes les tâches appartenant à une même espèce sont alignées et les coefficients de diffusion peuvent être mesurés.

Dans notre cas, les espèces libres, le complexe 1/1 et le complexe 1/2 sont ainsi séparés, suivant leur coefficient de diffusion. L'attribution des pics est confirmée.

Afin de prouver l'utilisation possible de cette méthode pour l'analyse des complexations de divers couples benzoxaborole/diol, l'étude a été réalisée avec d'autres diols, notamment avec l'ARS (**22**) (Figure III.11).

La RMN ^1H s'est montrée suffisamment résolue pour les études de complexation avec les quatre molécules organoborées étudiées, BBzx (**7**), PBA (**9**), BisPBBzx (**53**), PBB (**77**). Dans le cas de **53** (Figure III.11), le singulet à environ 8 ppm, indiqué par une flèche rouge sur la figure, désignant le proton aromatique isolé de l'ARS (en rouge sur la figure), permet l'identification des espèces complexées. Comme observé précédemment, ce pic devient blindé lorsque l'ARS (**22**) est complexé avec une molécule organoborée. Les autres signaux du complexe 1/1 entre **53** et **22** sont observables : $\sim 8,1$ et $7,8$ ppm pour **22** complexé et $\sim 7,5$, $7,2$ et $4,9$ ppm pour **53** complexé. Le dédoublement des signaux de **53** complexé confirme bien la formation d'un complexe de stœchiométrie 1/1.

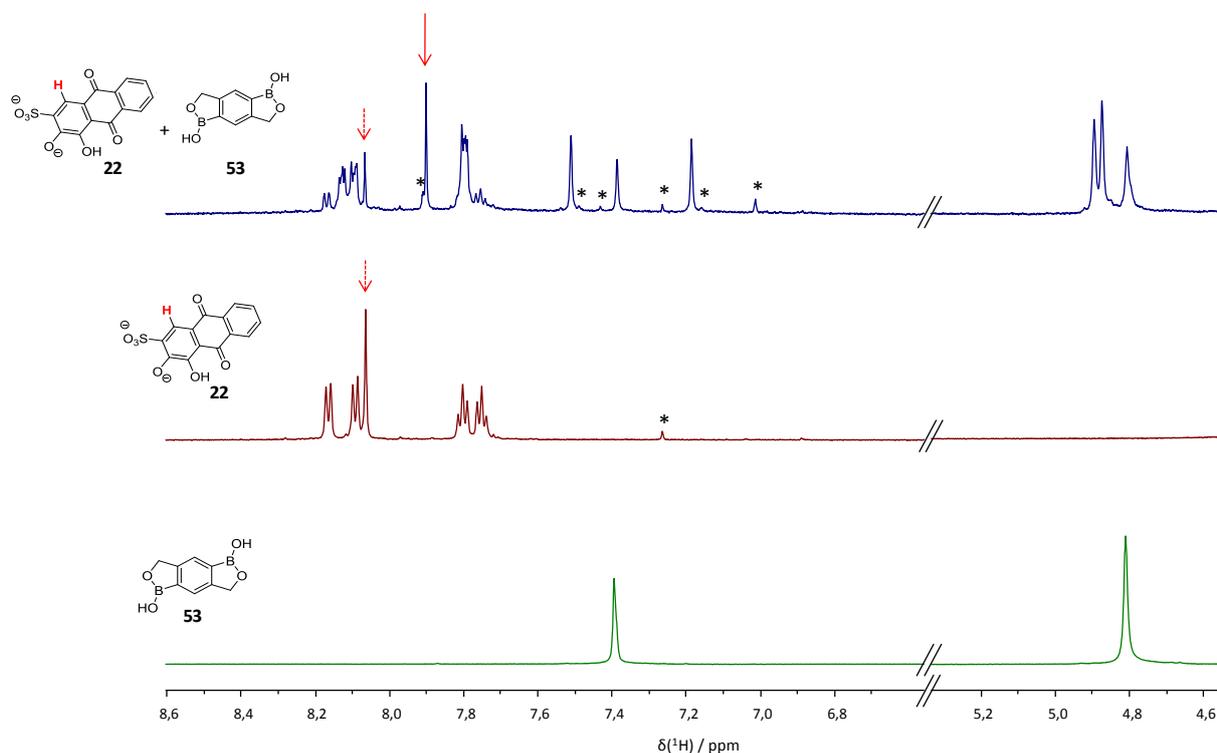


Figure III.11 : RMN ^1H de la complexation entre l'ARS (22) et le BisPBBzx (53) dans le milieu DMSO/tampon phosphate, à un ratio molécule organoborée/ARS à 50/50. Le déplacement du proton aromatique isolé de 22 (indiqué par une flèche rouge) permet l'identification des différentes espèces en solution. Le signe « * » indique les espèces non-identifiées.

b. RMN ^{11}B

Afin de s'affranchir de la contrainte des milieux deutérés, une alternative possible pour l'étude de ces complexations est la spectroscopie RMN hétéronucléaire. Au cœur de cette complexation se situe le bore. Il a été démontré dans la littérature que ce noyau pouvait être une bonne sonde pour l'analyse des complexations des acides boroniques et des benzoxaboroles avec les *cis*-diols en solution.^{12,30,31} En effet, l'isotope ^{11}B est un noyau intéressant pour les études de RMN puisqu'il possède un spin non-nul ($I = 3/2$) et que son abondance naturelle est élevée (80 %). De plus, le déplacement chimique du ^{11}B devient plus blindé lorsque celui passe d'une configuration trigonale plane (sp^2) à une configuration tétraédrique (sp^3) caractéristique des complexes molécules organoborées/*cis*-diols formés.^{32,33}

Comme illustré figure III.12, les molécules organoborées passent d'un bore trigonal plan (sp^2), sous la forme acide, dont le signal se situe à environ 29 ppm, à un environnement tétraédrique (sp^3) caractérisé par un signal vers 11 ppm pour les acides boroniques et vers 15 ppm pour les benzoxaboroles, sous leur forme basique. Il est impossible de déterminer la stœchiométrie de complexation ainsi que le taux de conversion des molécules organoborées multivalentes en complexe 1/1 et 1/2. Les signaux des espèces libres et le ^{11}B libre des complexes 1/1 ainsi que les signaux des complexes 1/2 et du ^{11}B complexé des espèces 1/1 se superposent. La nature quadrupolaire du ^{11}B ($I > 1$) implique des pics beaucoup plus larges que ceux observés en RMN ^1H . La distribution des charges au sein du noyau quadrupolaire est ellipsoïdale (contrairement à une distribution classiquement sphérique) et est due à la contribution, en plus du moment quadrupolaire magnétique, d'un moment quadrupolaire électrique. Ce moment quadrupolaire électrique va perturber le champ magnétique dans

l'environnement du noyau, qui devient alors non-homogène (noyau ellipsoïdale). A ce phénomène, s'ajoute la relaxation rapide des noyaux quadrupolaires. En effet, plus le moment quadrupolaire électrique du noyau est fort, plus celui-ci est ellipsoïdale (non-homogène) et plus la relaxation est rapide. Par conséquent, l'élargissement des pics est donc plus important. Ce manque de résolution des spectres s'oppose à l'identification correcte de toutes les espèces présentes en solution. Plusieurs résonances se superposent lorsque des molécules multivalentes sont mises en jeu. La RMN ^{11}B n'est pas dans ce cas, l'outil le plus approprié.

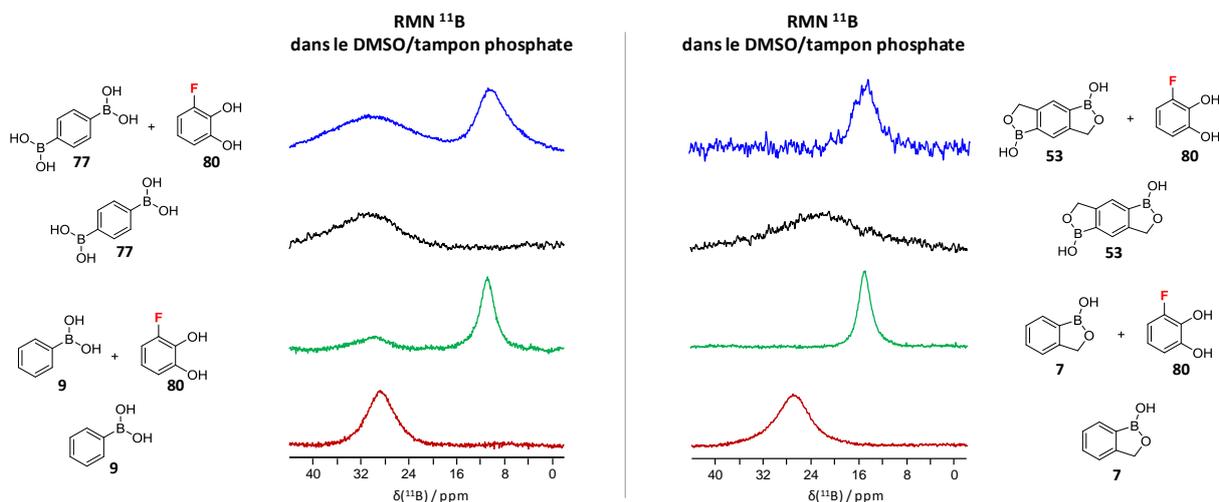


Figure III.12 : RMN ^{11}B des différents équilibres de complexation entre les molécules organoborées (BBzx, PBA, BisPBBzx, PBB) et le F-catéchol (80), à des ratios de 50/50, dans les deux milieux ; le tampon phosphate (à gauche), et le milieu DMSO/tampon phosphate (à droite).

c. RMN ^{19}F

Plus récemment, une autre technique utilisant la spectroscopie RMN ^{19}F a suscité un intérêt pour l'étude des équilibres de complexation entre les molécules organoborées fluorées et les *cis*-diols.^{11,17-21} La RMN ^{19}F a l'avantage d'avoir des signaux très intenses avec une grande gamme de déplacements chimiques, la rendant très sensible.

Ainsi, le déplacement chimique du ^{19}F , substituant du cycle aromatique des acides aryl boroniques ou des benzoxaboroles, varie considérablement suivant la complexation des molécules organoborées : les signaux se blindent de quelques 4 à 8 ppm une fois le complexe formé.

En se basant sur ces observations, l'utilisation de *cis*-diols fluorées comme moyen de comparaison des différentes propriétés de complexation des molécules organoborées selon les milieux a été testée. En raison de la forte affinité de complexation des catéchols avec les molécules organoborées, le *cis*-diol utilisé pour ces études est le 3-fluorocatéchol (F-catéchol, **80**).

Comme précédemment et afin d'observer les tendances et de caractériser le signal du complexe 1/1, les analyses par spectroscopie RMN ^{19}F ont d'abord été réalisées sur les molécules monovalentes : BBzx (**7**) et PBA (**9**) (Figure III.13). Les deux milieux (tampon phosphate deutéré, à pH = 7,4 et 40 mM, et DMSO/tampon phosphate deutéré, à 60/40 %) ont été étudiés.

La complexation de **80** avec une molécule organoborée conduit à un décalage du déplacement chimique du ^{19}F (Figure III.13.b). Le signal est alors blindé d'environ 6 ppm dans les deux milieux testés par rapport au signal de la molécule libre : de -138 ppm à -143 ppm pour le complexe de **7** avec **80** (spectre rouge à droite, Figure III.13.b) dans le DMSO/tampon phosphate deutéré à 60/40 % (v/v.). De plus, si nous comparons l'intensité relative du signal caractéristique de ce même complexe (de **7** avec **80**) à -143 ppm dans les deux milieux, il est facile de remarquer que le signal du complexe est plus intense dans le milieu DMSO/tampon phosphate deutéré. En effet, l'équilibre est très majoritairement déplacé vers la formation du complexe dans ce milieu.

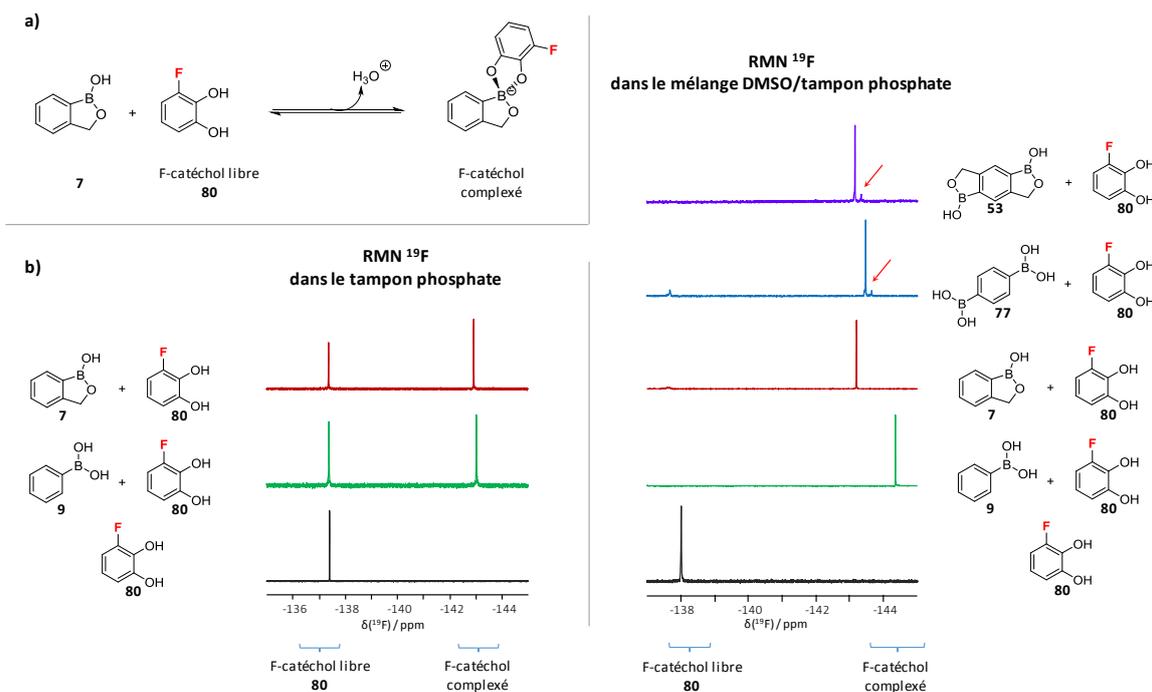


Figure III.13 : a) Équilibre de complexation entre le F-catéchol (80**) et le BBzx (**7**). b) Spectres RMN ^{19}F des études des complexations entre les molécules organoborées (**7**, **9**, **53**, **77**) avec **80** dans le tampon phosphate deutéré (à droite) et le mélange DMSO/tampon phosphate deutéré (à gauche). Les molécules sont introduites dans un ratio moléculaire de 50/50.**

Afin de comparer l'intensité des pics relatifs des molécules libres et des complexes, les spectres RMN ^{19}F des équilibres de complexation entre une molécule organoborée fluorée, l'acide *p*-fluorobenzèneboronique (**82**), et le F-catéchol (**80**) sont enregistrés (Figure III.14). La comparaison des intensités relatives des pics des molécules libres et du complexe confirme leur attribution. Un shift vers les déplacements chimiques plus blindés, d'environ 6 ppm, est observé pour des deux ^{19}F chacun porté par l'une des deux molécules impliquées dans la complexation (**80** ou **82**).

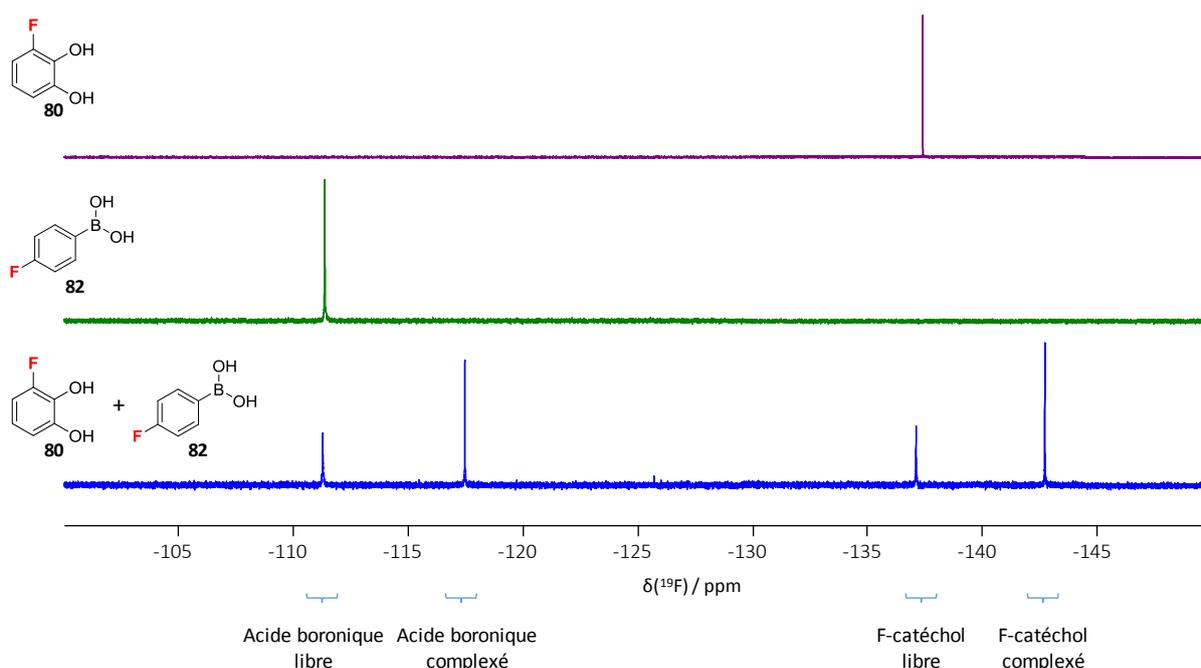


Figure III.14 : Analyse par RMN ^{19}F de la complexation entre l'acide *p*-fluorobenzèneboronique (**82**) et le F-catéchol (**80**) dans le tampon phosphate deutéré (pH = 7,4, 40 mM) confirmant l'attribution et le blindage des pics du complexe formé.

Dans le cas des molécules organoborées bivalentes, PBB (**77**) et BisPBBzx (**53**), plusieurs résonances sont observées par RMN ^{19}F dans la zone correspondant au signal ^{19}F du F-catéchol (**80**) complexé (Figure III.13). L'intensité de ces signaux est dépendante du ratio moléculaire entre les molécules organoborées bivalentes et **80**. Le signal le plus blindé (indiqué par une flèche rouge sur la figure III.13.b et mis en évidence à la Figure III.15), augmente proportionnellement avec le ratio en **80** introduit. Comme observé en RMN ^1H , l'introduction du diol en excès favorise la formation du complexe 1/2. Les signaux peuvent donc être attribués au complexe 1/1, à environ -143,5 ppm et -143,2 ppm, et au complexe 1/2, à environ -143,7 ppm et -143,4 ppm, respectivement dans les milieux tampon phosphate deutéré et DMSO/tampon phosphate deutéré à 60/40 % (v/v).

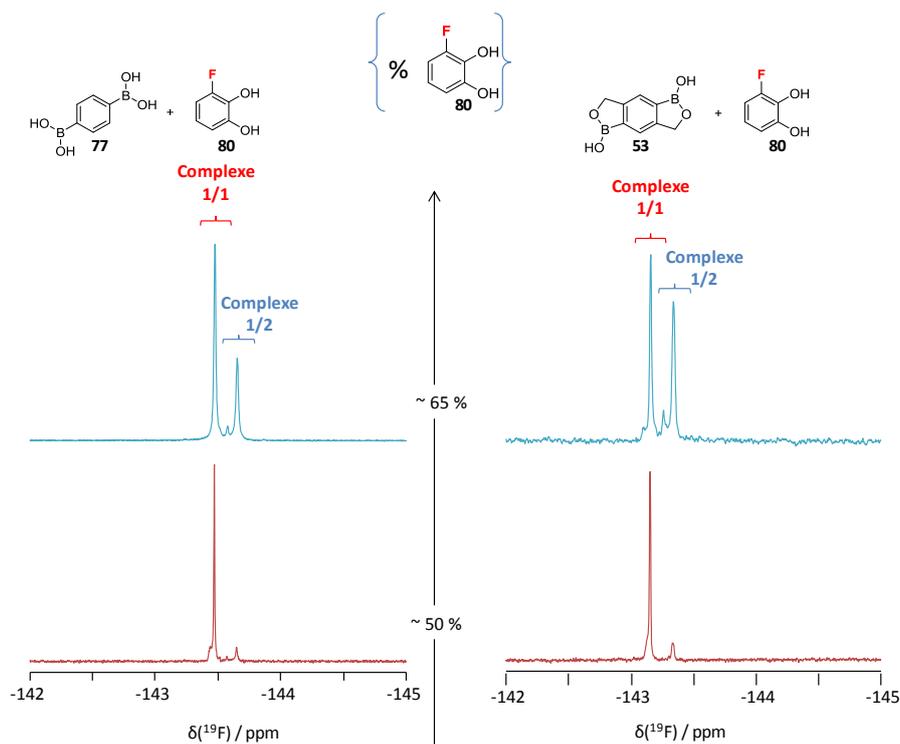


Figure III.15 : Spectres RMN ^{19}F des complexations entre le F-catéchol (80) et les molécules organoborées bi-valentes, PBB (9, à gauche) et BisPBBzx (53, à droite), dans le milieu DMSO/tampon phosphate deutéré, à différentes proportions de 80 introduit. Plusieurs pics minoritaires non-identifiés sont aussi présents sur les spectres.

2. Bilan

Pour ce type d'étude, les spectroscopies RMN ^1H et ^{19}F se sont montrées bien plus sensibles et informatives que la RMN ^{11}B . L'attribution et la quantification des différents signaux pour les complexes 1/1 et 1/2 observées en RMN ^1H et ^{19}F , n'est pas possible en RMN ^{11}B . La faible sensibilité de la RMN ^{11}B et les signaux larges ne permettent pas de distinction entre les différentes espèces.

La spectroscopie RMN ^{19}F est un outil puissant dans l'identification des différentes espèces en solution. Elle pouvait être appliquée notamment pour les cas où la RMN ^1H n'est pas appropriée (solvants non-deutérés ou superposition des signaux dû à l'analyse de molécules plus complexes).

D. Conclusions

Dans ce chapitre de thèse, l'étude de la complexation de molécules organoborées bi-valentes simples avec les *cis*-diols a été réalisée. L'approche de cette étude par la spectroscopie RMN multi-nucléaire montre de nombreux avantages contrairement à la spectrofluorimétrie. Les différentes forces de complexation entre les molécules organoborées mono- ou bi-valentes avec des *cis*-diols ont été mises en évidence.

De manière générale, les benzoxaboroles ont une affinité plus importante avec les *cis*-diols que leur analogues acides boroniques. Il a été observé que le milieu joue un rôle prédominant dans cette complexation, puisque la complexation est favorisée dans le mélange DMSO/tampon phosphate par rapport au milieu tampon phosphate simple. Enfin, les résultats obtenus pour les molécules organoborées bivalentes, BisPBBzx (**53**) et PBB (**77**), témoignent de la forte coopérativité des sites de complexation entre-eux. Ceci s'explique au travers de la répulsion des charges négatives portées par les deux bores tétraédriques qui ne sont alors séparés que par un cycle aromatique.

La RMN ^1H est très informative sur la stœchiométrie de complexation, et la proportion de chaque entité en solution, contrairement à la spectrofluorimétrie peu instructive. Les spectroscopies optiques (UV, Fluo...), la méthode de titration calorimétrique isotherme (ITC)¹⁰ ou encore l'électrophorèse capillaire⁹ ne permettent pas de pousser aussi loin les études de complexation. La spectroscopie RMN ^1H se révèle, comme technique d'analyse, un outil important pour comprendre ces systèmes.

En complément à la spectroscopie RMN ^1H , la RMN ^{19}F est proposée comme un nouvel outil pour étudier ces complexations. Par l'utilisation de *cis*-diols fluorés, elle se montre suffisamment résolue et sensible afin d'observer les différentes espèces présentes en solution. Plus spécialement, cette méthode d'analyse permet d'aller vers des milieux plus diversifiés, en s'affranchissant partiellement des milieux deutérés imposés par la RMN ^1H (seul 10 % sont nécessaires pour *lock*). Ce premier avantage permet de tester rapidement, en jouant sur les paramètres tels que le pH, la température, les solvants et la force ionique, le milieu le plus approprié pour réaliser ces complexations. Le fait que la RMN ^{19}F possède une large gamme de déplacement chimique et que les molécules contiennent, généralement, peu d'atomes de fluor, entraîne une simplification des spectres : la superposition des pics de résonances est donc moins probable. Cela permet d'aller vers l'étude rapide de complexation avec des molécules dont les spectres RMN ^1H sont plus complexes. Cependant, cela implique l'introduction d'un fluor sur les molécules, modifiant ainsi la réactivité de celles-ci.

Grâce à ces deux méthodes d'analyse complémentaires, RMN ^1H et ^{19}F , l'étude des complexations est complète. Ces méthodes ont permis de tester différents paramètres de synthèse. Ces connaissances acquises nous seront utiles pour orienter les conditions d'élaboration des architectures supramoléculaires visées (Chapitre IV). Or, l'isolation des complexes de benzoxaboroles et *cis*-diols multivalents n'est possible que si l'équilibre est totalement déplacé vers la formation de ces complexes. En se basant sur ces premiers résultats, la présence de contre-cations qui compensent les charges formelles formées et la composition du milieu réactionnel (ici avec la présence du DMSO) sont déterminants. Plusieurs conditions devront donc être testées afin d'isoler ces nouveaux complexes.

RÉFÉRENCES

1. A. Adamczyk-Woźniak, K. M. Borys, A. Sporzyński, "Recent Developments in the Chemistry and Biological Applications of Benzoxaboroles", *Chem. Rev.*, **2015**, 115, 5224-5247.
2. M. Bérubé, M. Dowlut, D. G. Hall, "Benzoboroxoles as Efficient Glycopyranoside-Binding Agents in Physiological Conditions: Structure and Selectivity of Complex Formation", *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 6471-6479.
3. M. Dowlut, D. G. Hall, "An Improved Class of Sugar-Binding Boronic Acids, Soluble and Capable of Complexing Glycosides in Neutral Water", *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 4226-4227.
4. Q. Li, H. Guo, Y. Wu, X. Zhang, Y. Liu, J. Zhao, "Enhanced Enantioselective Recognition with Diastereoisomeric BINOL Based Chiral Fluorescent Boronic Acid Sensors", *J. Fluorescence*, **2011**, 21, 2077-2084.
5. S. Sene, J. McLane, N. Schaub, S. Begu, P. Hubert Mutin, L. Ligon, R. J. Gilbert, D. Laurencin, "Formulation of benzoxaborole drugs in PLLA: from materials preparation to in vitro release kinetics and cellular assays", *J. Mat. Chem. B*, **2016**, 4, 257-272.
6. V. Alterio, R. Cadoni, D. Esposito, D. Vullo, A. D. Fiore, S. M. Monti, A. Caporale, M. Ruvo, M. Sechi, P. Dumy, C. T. Supuran, G. D. Simone, J.-Y. Winum, "Benzoxaborole as a new chemotype for carbonic anhydrase inhibition", *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 11983-11986.
7. J. D. Badjić, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull, J. F. Stoddart, "Multivalency and Cooperativity in Supramolecular Chemistry", *Acc. Chem. Res.*, **2005**, 38, 723-732.
8. A. Adamczyk-Woźniak, K. Ejsmont, B. Gierczyk, E. Kaczorowska, A. Matuszewska, G. Schroeder, A. Sporzyński, B. Zarychta, "Novel 2,6-disubstituted phenylboronic compounds – Synthesis, crystal structures, solution behaviour and reactivity", *J. Org. Chem.*, **2015**, 788, 36-41.
9. C. Lü, H. Li, H. Wang, Z. Liu, "Probing the Interactions between Boronic Acids and *cis*-Diol-Containing Biomolecules by Affinity Capillary Electrophoresis", *Anal. Chem.*, **2013**, 85, 2361-2369.
10. S. Schumacher, M. Katterle, C. Hettrich, B.-R. Paulke, D. G. Hall, F. W. Scheller, N. Gajovic-Eichelmann, "Label-free detection of enhanced saccharide binding at pH 7.4 to nanoparticulate benzoboroxole based receptor units", *J Mol. Recognit.*, **2011**, 24, 953-959.
11. J. Axthelm, H. Görls, U. S. Schubert, A. Schiller, "Fluorinated Boronic Acid-Appended Bipyridinium Salts for Diol Recognition and Discrimination via ¹⁹F NMR Barcodes", *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137, 15402-15405.
12. J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, "Examination of the Reactivity of Benzoxaboroles and Related Compounds with a *cis*-Diol", *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 11200-11209.
13. G. Springsteen, B. Wang, "Alizarin Red S. as a general optical reporter for studying the binding of boronic acids with carbohydrates", *Chem. Commun.*, **2001**, 1608-1609.
14. G. Springsteen, B. Wang, "A detailed examination of boronic acid–diol complexation", *Tetrahedron*, **2002**, 58, 5291-5300.

15. A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, I. D. Madura, A. Pawelko, E. Tomecka, K. Zukowski, "Lewis acidity and sugar receptor activity of 3-amino-substituted benzoxaboroles and their ortho-aminomethylphenylboronic acid analogues", *New J. Chem.*, **2013**, 37, 188-194.
16. A. Mahalingam, A. R. Geonnotti, J. Balzarini, P. F. Kiser, "Activity and Safety of Synthetic Lectins Based on Benzoboroxole-Functionalized Polymers for Inhibition of HIV Entry", *Mol. Pharm.*, **2011**, 8, 2465-2475.
17. L. Iannazzo, E. Benedetti, M. Catala, M. Etheve-Quelquejeu, C. Tisne, L. Micouin, "Monitoring of reversible boronic acid-diol interactions by fluorine NMR spectroscopy in aqueous media", *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 13, 8817-8821.
18. S. Vshyvenko, M. L. Clapson, I. Suzuki, D. G. Hall, "Characterization of the Dynamic Equilibrium between Closed and Open Forms of the Benzoxaborole Pharmacophore", *ACS Med. Chem. Lett.*, **2016**, 7, 1097-1101.
19. J. Axthelm, S. H. C. Askes, M. Elstner, U. R. G. H. Görls, P. Bellstedt, A. Schiller, "Fluorinated Boronic Acid-Appended Pyridinium Salts and ^{19}F NMR Spectroscopy for Diol Sensing", *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 11413-11420.
20. R. E. London, S. A. Gabel, "Fluorine-19 NMR Studies of Fluorobenzeneboronic Acids. 1. Interaction Kinetics with Biologically Significant Ligands", *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 2562-2569.
21. S. L. Yeste, M. E. Powell, S. D. Bull, T. D. James, "Simple Chiral Derivatization Protocols for ^1H NMR and ^{19}F NMR Spectroscopic Analysis of the Enantiopurity of Chiral Diols", *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 427-430.
22. J. C. Norrild, H. Eggert, "Evidence for Mono- and Bidentate Boronate Complexes of Glucose in the Furanose Form. Application of $^1\text{J}_{\text{C-C}}$ Coupling Constants as a Structural Probe", *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 1479-1484.
23. J. C. Norrild, H. Eggert, "Boronic acids as fructose sensors. Structure determination of the complexes involved using $^1\text{J}_{\text{CC}}$ coupling constants", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1996**, 2583-2588.
24. M. Bielecki, H. Eggert, J. Chr. Norrild, "A fluorescent glucose sensor binding covalently to all five hydroxy groups of [small alpha]-D-glucofuranose. A reinvestigation", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1999**, 449-456.
25. J. C. Norrild, I. Sotofte, "Design, synthesis and structure of new potential electrochemically active boronic acid-based glucose sensors", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2002**, 303-311.
26. S. P. Draffin, P. J. Duggan, S. A. M. Duggan, J. C. Norrild, "Highly selective lipophilic diboronic acid that transports fructose as the tridentate 2,3,6- β -D-fructofuranose ester", *Tetrahedron*, **2003**, 59, 9075-9082.
27. B. Gierczyk, M. Kazmierczak, G. Schroeder, A. Sporzynski, " ^{17}O NMR studies of boronic acids and their derivatives", *New J. Chem.*, **2013**, 37, 1056-1072.
28. E. Faure, C. Falentin-Daudré, C. Jérôme, J. Lyskawa, D. Fournier, P. Woisel, C. Detrembleur, "Catechols as versatile platforms in polymer chemistry", *Prog. Polym. Sci.*, **2013**, 38, 236-270.

29. F. Coumes, P. Woisel, D. Fournier, "Facile Access to Multistimuli-Responsive Self-Assembled Block Copolymers via a Catechol/Boronic Acid Ligation", *Macromolecules*, **2016**, 49, 8925-8932.
30. T. Okamoto, A. Tanaka, E. Watanabe, T. Miyazaki, T. Sugaya, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, A. Odani, K. Ishihara, "Relative Kinetic Reactivities of Boronic Acids and Boronate Ions toward 1,2-Diols", *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2014**, 2014, 2389-2395.
31. J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, "Elucidation of the Mechanism of the Reaction between Phenylboronic Acid and a Model Diol, Alizarin Red S", *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 2098-2106.
32. M. Sanjoh, D. Iizuka, A. Matsumoto, Y. Miyahara, "Boronate Based Metal-Free Platform for Diphosphate-Specific Molecular Recognitions", *Org. Lett.*, **2015**, 17, 588-591.
33. S. Sene, S. Bégu, C. Gervais, G. Renaudin, A. Mesbah, M. E. Smith, P. H. Mutin, A. van der Lee, J.-M. Nedelec, C. Bonhomme, D. Laurencin, "Intercalation of Benzoxaborolate Anions in Layered Double Hydroxides: Toward Hybrid Formulations for Benzoxaborole Drugs", *Chem. Mat.*, **2015**, 27, 1242-1254.

ANNEXES– **Réactifs :**

L'acide phénylboronique (PBA, $C_6H_7BO_2$, 98%, Alfa Aesar), l'acide benzène-1,4-diboronique (PBB, $C_6H_8B_2O_4$, 95%, Aldrich), l'acide 2-(hydroxyméthyl)phénylboronique cyclique monoester (BBzx, $C_7H_7BO_2$, 97%, Aldrich) et l'acide *p*-fluorophénylboronique ($C_6H_6BFO_2$, 97%, Alfa Aesar) ont été achetés via des sources commerciales et utilisés sans aucune purification après avoir vérifié l'absence d'acide borique par RMN ^{11}B).

Les diols (l'Alizarin Red S (ARS, $C_{14}H_7NaO_7S$, Acros Organics), le D-fructose ($C_6H_{12}O_6$, 99%, Fluka BioChemika), le catéchol ($C_6H_6O_2$, 99%, Aldrich) et le 3-fluorocatéchol ($C_6H_5FO_2$, 99%, Alfa Aesar)) ont été achetés via des sources commerciales et utilisés sans aucune purification.

Le phénylbisbenzoxaborole (BisPBBzx) a été synthétisé au laboratoire par S. Bou et K. Grollier (stagiaires IUT) par adaptation d'un protocole publié.⁵

Tous les solvants deutérés (DMSO- d_6 , 99,8% et D_2O , 99,9%) ont été achetés chez Eurisotop. La solution d'hydroxyde de sodium deutéré (NaOD – 40 % massique dans D_2O , 99,98%) et le sel de phosphate monobasique deutéré (KD_2PO_4 , 98%) proviennent d'Aldrich.

Les solvants (DMSO, 99,9%, et l'eau ultra-pure de pureté HPLC) utilisés pour les expériences de spectrofluorimétrie ont été achetés chez Aldrich.

– **Préparation du tampon phosphate à pH = 7,4 (40 mM) :**

1,361 g (10 mmol) de KH_2PO_4 sont dissouts dans 250 mL d'eau ultra-pure et le pH est ajusté avec une solution de NaOH à 3 M.

La solution est stockée à 4 °C et utilisée sur une période de 15 jours maximum.

– **Conditions expérimentales des études par spectroscopie UV-Visible des constants apparentes de complexation des acides boroniques ou des benzoxaboroles avec les diols :**

Toutes les mesures d'absorbance ont été réalisées sur un appareil Analytik Jena (Specord 210Plus). Les cuves sont en quartz suprazil, avec un trajet optique de 10 mm.

Les spectres d'absorbance ont été enregistrés à température ambiante de 300 nm à 750 nm, par pas de 0,1 nm et une vitesse de balayage de 0,10 nm.s⁻¹.

⁵ R. Berger, A. Giannakopoulos, P. Ravat, M. Wagner, D. Beljonne, X. Feng, K. Müllen, "Synthesis of Nitrogen-Doped ZigZag-Edge Peripheries: Dibenzo-9a-azaphenalene as Repeating Unit", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 10520-10524.

- **Conditions expérimentales des études par spectrofluorimétrie des constantes apparentes de complexation (K_{app}) des acides boroniques ou des benzoxaboroles avec les diols :**

Tous les spectres ont été enregistrés à l'aide d'un appareil Edinburgh Instruments, Xe 900, NIR 300/2. Les cuves sont en quartz Suprazil, de dimension 10x10 mm.

Les spectres d'émission sont enregistrés, à température ambiante, de $\lambda_{excit} + 15$ nm à 750 nm (λ_{excit} , dépendant du complexe molécule organoborée/ARS formé), par pas de 1 nm et avec une accumulation de 1 s. Tous les spectres sont accumulés trois fois.

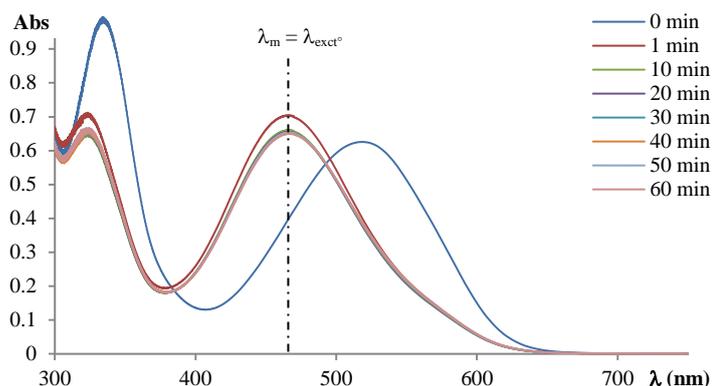
K_{app.1}, ARS/PBA, TAMPON PHOSPHATE


Figure III.16 : Etude de la complexation entre l'ARS et le PBA, dans le tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit^*} , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 468 nm.

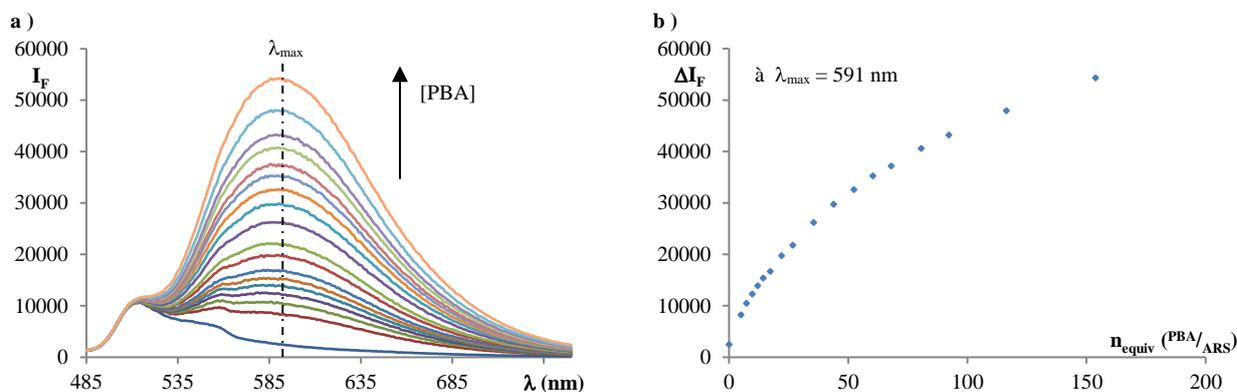


Figure III.17 : Croissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de PBA dans la cuve (de 0 à 200 équiv. par rapport à l'ARS). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 591$ nm (b).

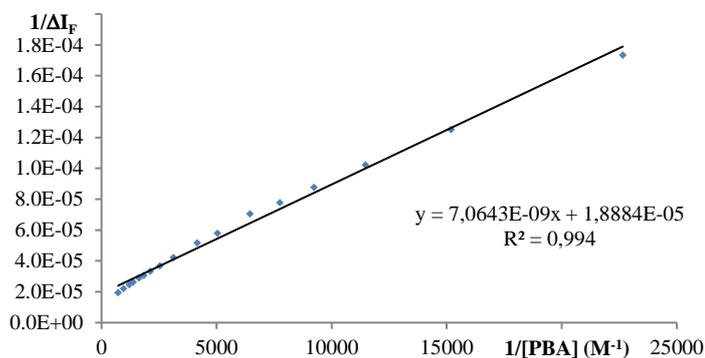


Figure III.18 : Extrapolation des données de la figure III.17.b par une droite (voir Eq 1).

$$\mathbf{K_{app.1, ARS/PBA, TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 2510 \pm 320 M^{-1}}$$

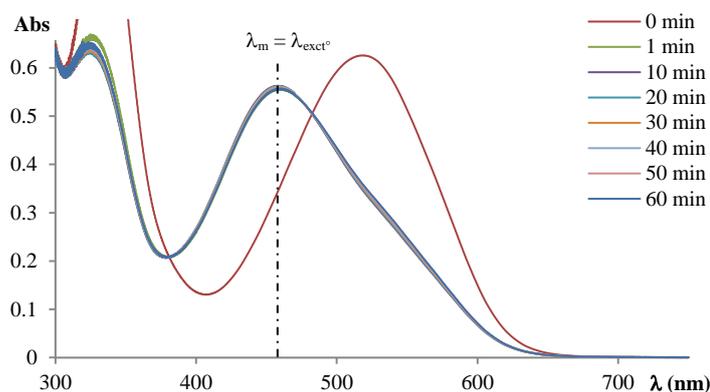
K_{app.1}, ARS/BBzx, TAMPON PHOSPHATE


Figure III.19 : Etude de la complexation entre l'ARS et le BBzx, dans le tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit^*} , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 459 nm.

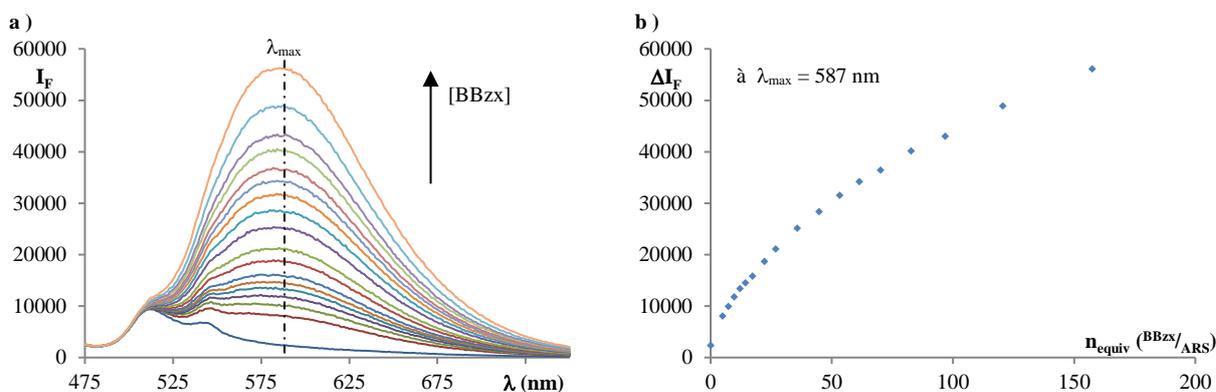


Figure III.20 : Croissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de BBzx dans la cuve (de 0 à 200 équiv. par rapport à l'ARS). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 587$ nm (b).

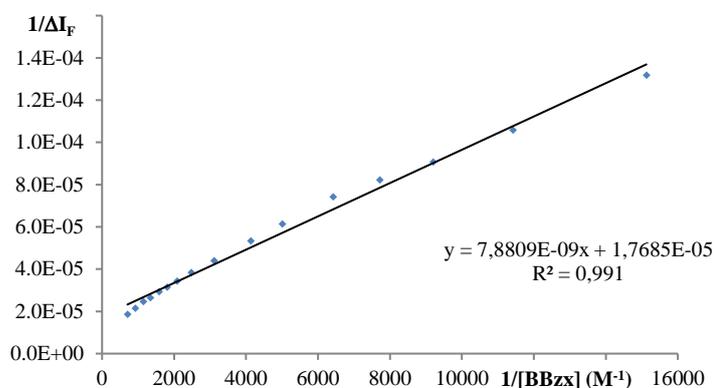


Figure III.21 : Extrapolation des données de la figure III.20.b par une droite (voir Eq 1).

$$\mathbf{K_{app.1, ARS/BBzx, TAMPON PHOSPHATE, Moyenne} = 1950 \pm 300 \text{ M}^{-1}}$$

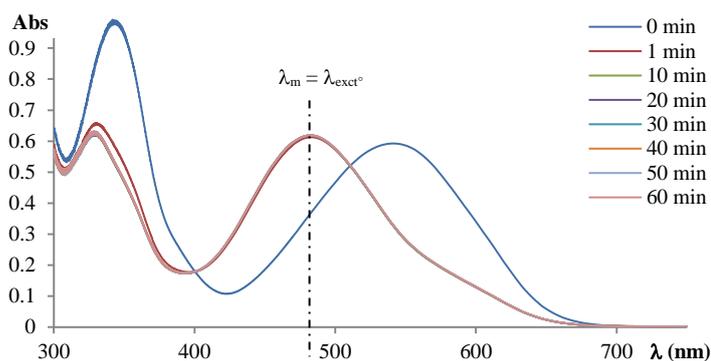
K_{app.1}, ARS/PBA, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.22 : Etude de la complexation entre l'ARS et le PBA, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{exct} , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 483 nm.

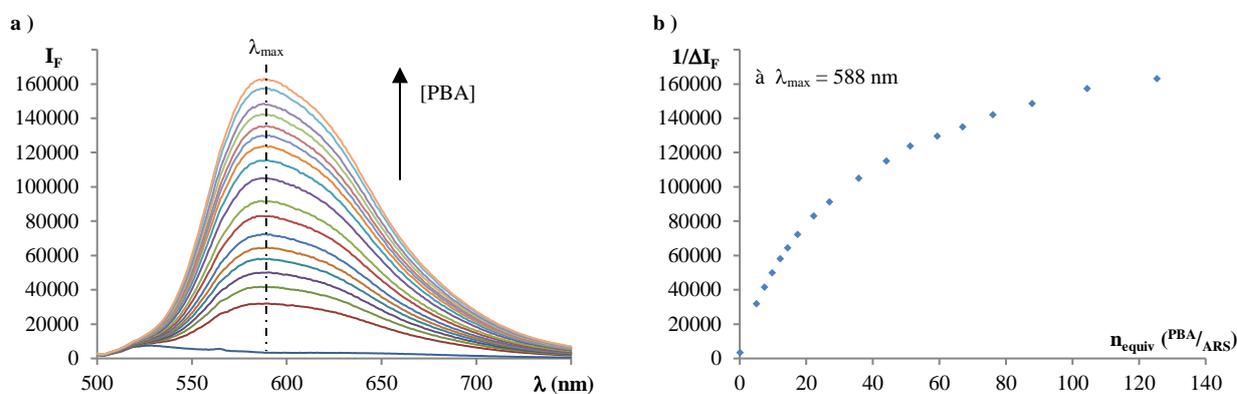


Figure III.23 : Croissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de PBA dans la cuve (de 0 à 200 équiv. par rapport à l'ARS). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{\text{max}} = 588 \text{ nm}$ (b).

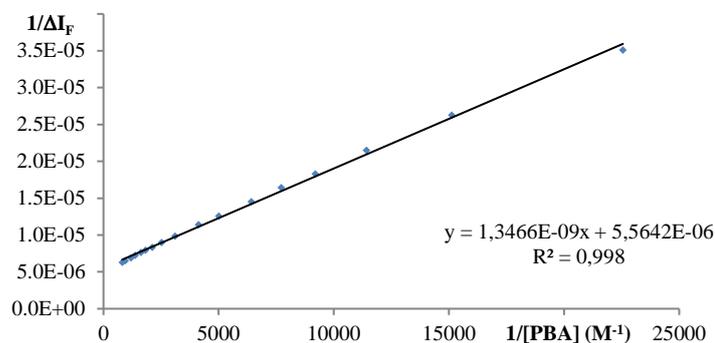


Figure III.24 : Extrapolation des données de la figure III.23.b par une droite (voir Eq 1).

$$\mathbf{K_{app.1, ARS/PBA, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 3980 \pm 315 \text{ M}^{-1}}$$

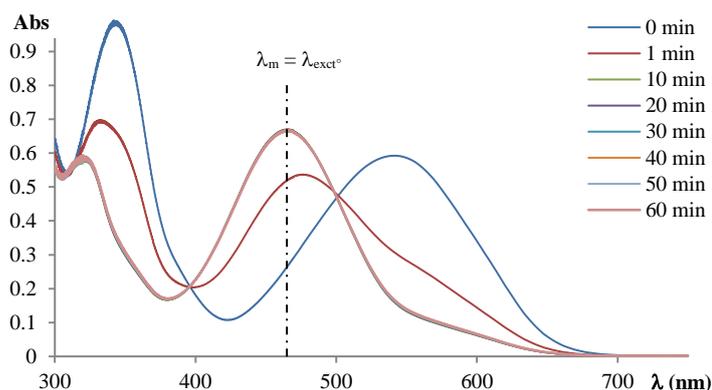
K_{app.1}, ARS/BBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.25 : Etude de la complexation entre l'ARS et le BBzx, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 465 nm.

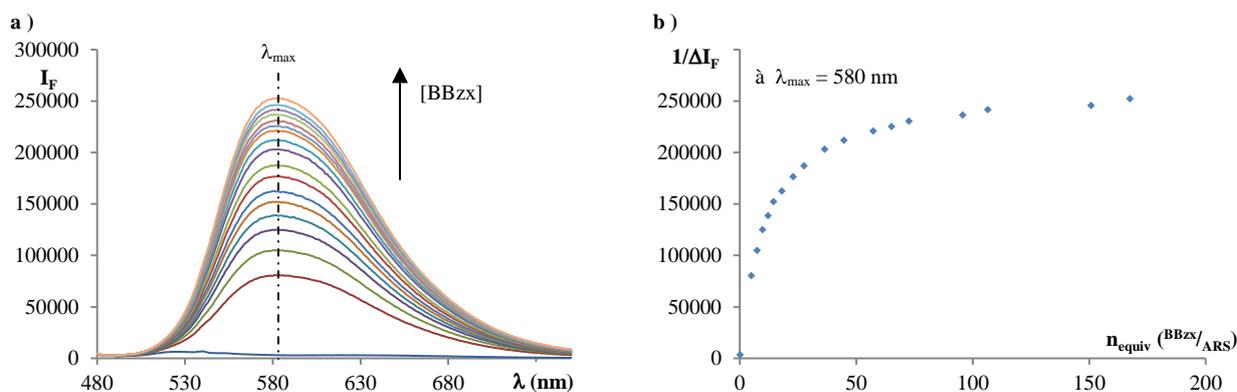


Figure III.26 : Croissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de BBzx dans la cuve (de 0 à 200 équiv. par rapport à l'ARS). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 580$ nm (b).

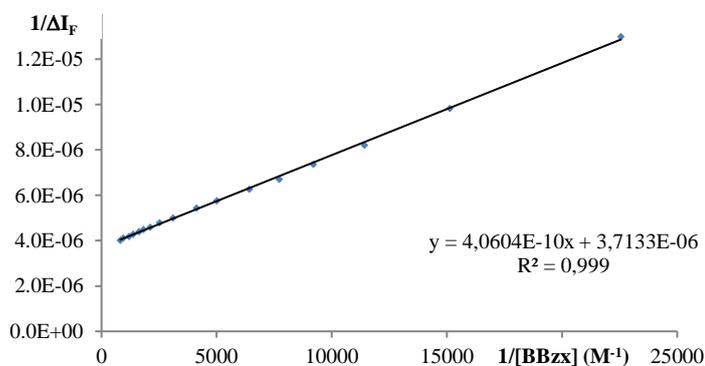


Figure III.27 : Extrapolation des données de la figure III.26.b par une droite (voir Eq 1).

$$\mathbf{K_{app.1, ARS/BBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 9190 \pm 430 M^{-1}}$$

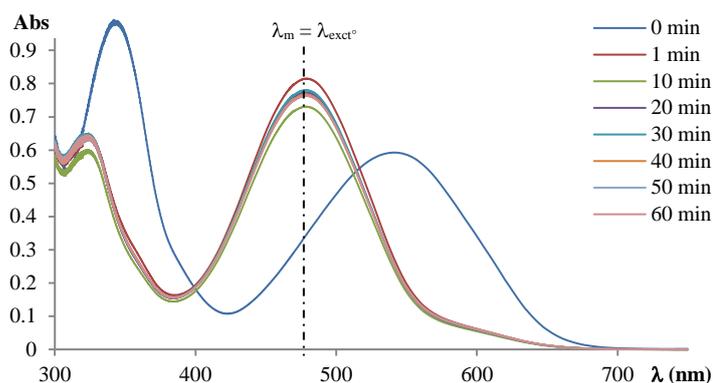
K_{app.1}, ARS/PBB, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.28 : Etude de la complexation entre l'ARS et le PBB, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 20 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 479 nm.

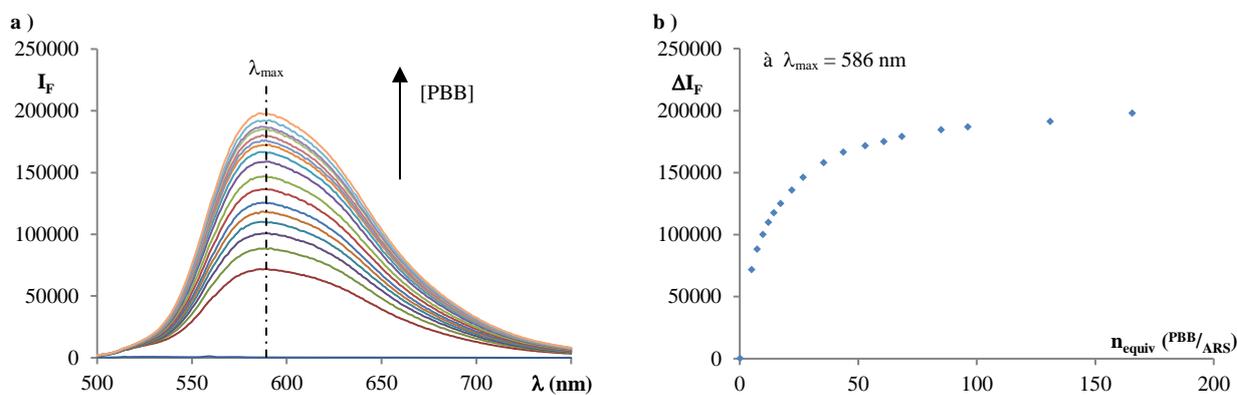


Figure III.29 : Croissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de PBB dans la cuve (de 0 à 200 équiv. par rapport à l'ARS). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 586$ nm (b).

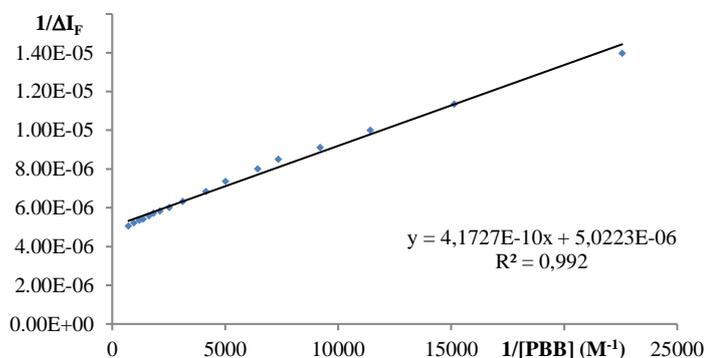


Figure III.30 : Extrapolation des données de la figure III.29.b par une droite (voir Eq 1).

$$\mathbf{K_{app.1, ARS/PBB, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 11560 \pm 1910 M^{-1}}$$

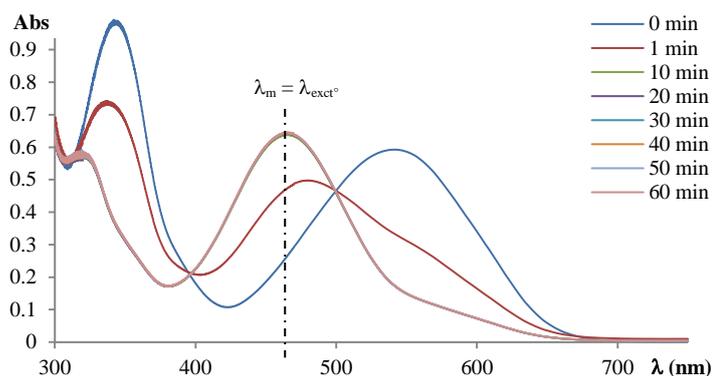
K_{app.1}, ARS/BisPBBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.31 : Etude de la complexation entre l'ARS et le BisPBBzx, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 466 nm.

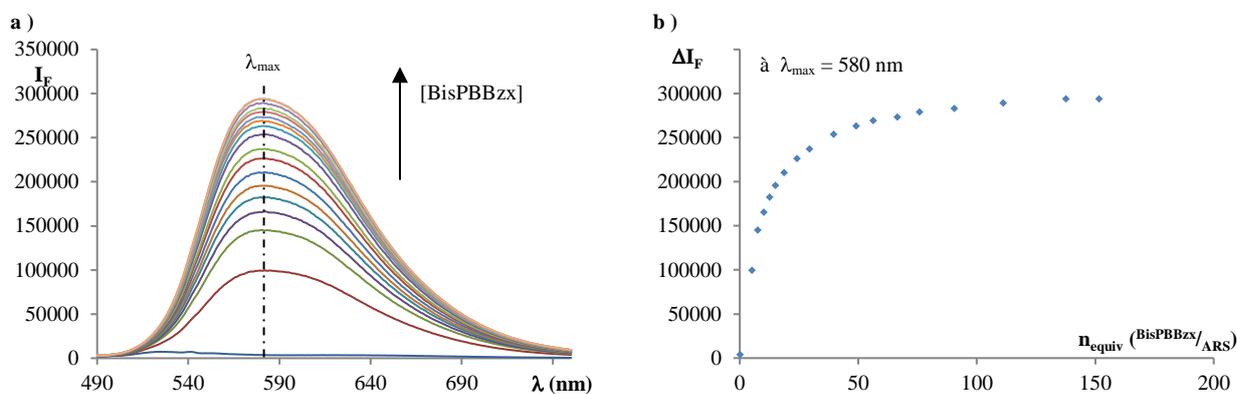


Figure III.32 : Croissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de BisPBBzx dans la cuve (de 0 à 200 équiv. par rapport à l'ARS). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 580$ nm (b).

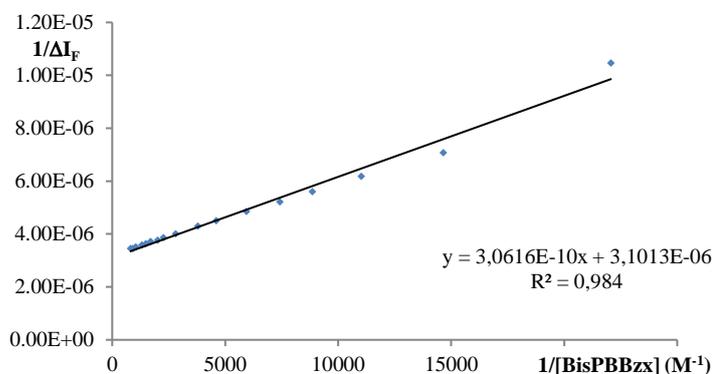


Figure III.33 : Extrapolation des données de la figure III.32.b par une droite (voir Eq 1).

$$\mathbf{K_{app.1, ARS/BisPBBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne} = 10481 \pm 329 \text{ M}^{-1}}$$

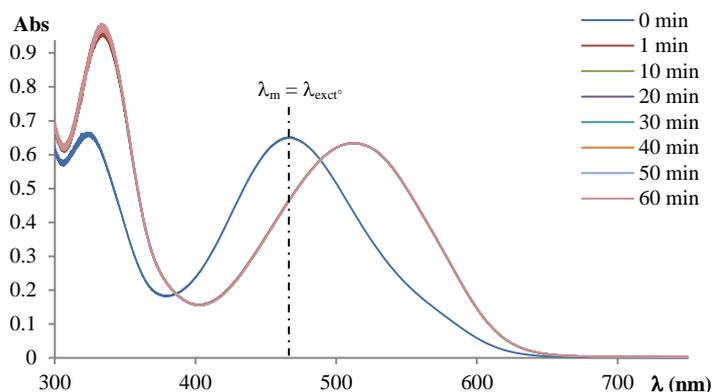
K_{app.2}, D-fructose/PBA, TAMPON PHOSPHATE


Figure III.34 : Etude de la complexation entre le D-fructose et le PBA, dans le tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit^*} , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 468 nm.

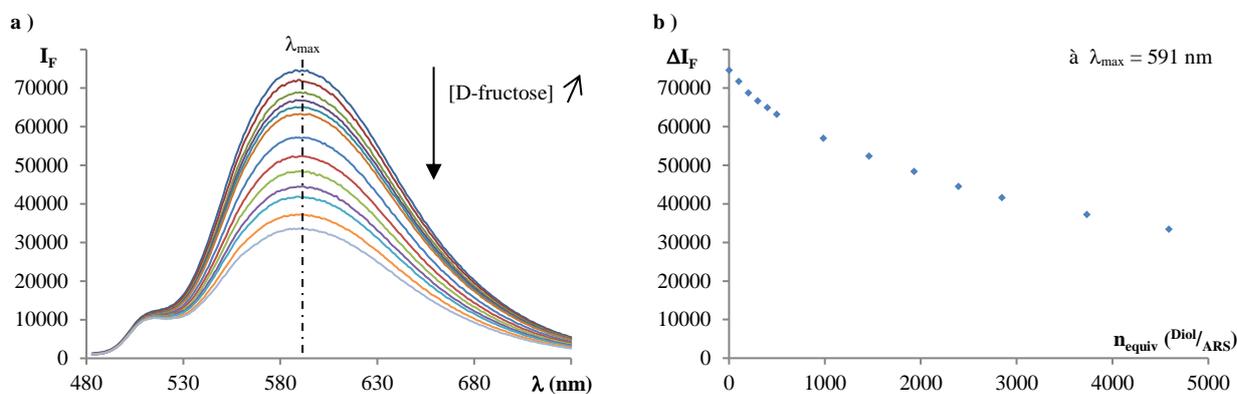


Figure III.35 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de D-fructose dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 591$ nm (b).

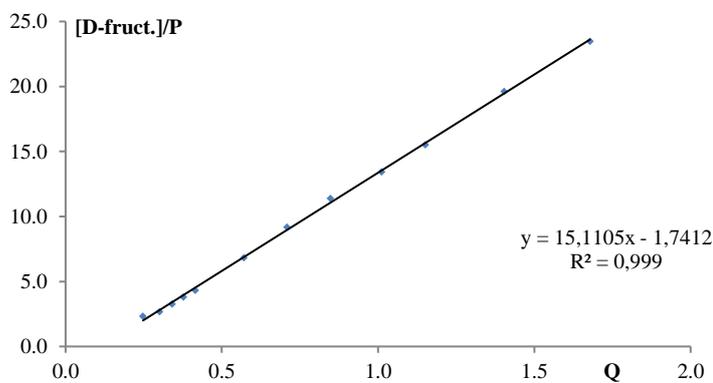


Figure III.36 : Extrapolation des données de la figure III.35.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, D-fructose/PBA, TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 177 ± 35 M⁻¹

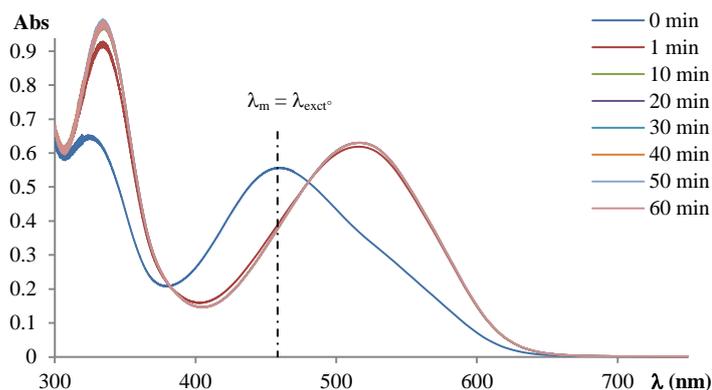
K_{app.2}, D-fructose/BBzx, TAMPON PHOSPHATE


Figure III.37 : Etude de la complexation entre le D-fructose et le BBzx, dans le tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 459 nm.

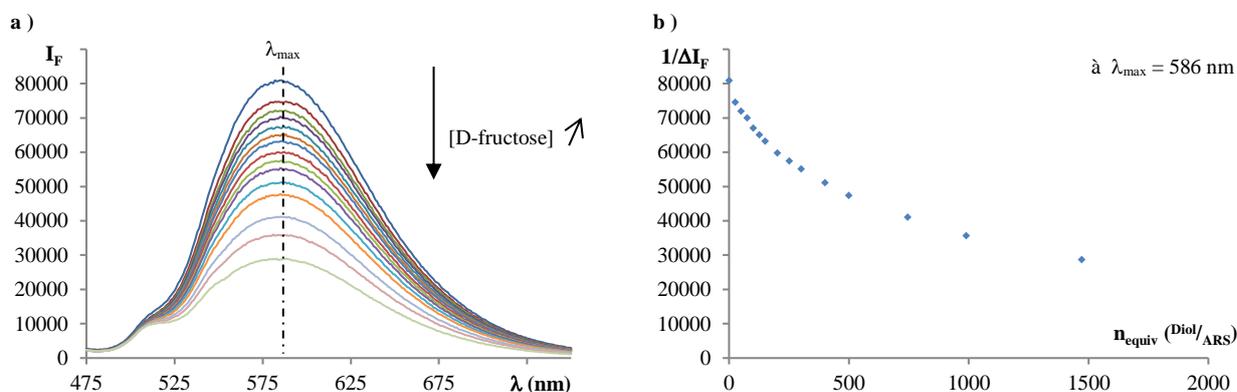


Figure III.38 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de D-fructose dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 586$ nm (b).

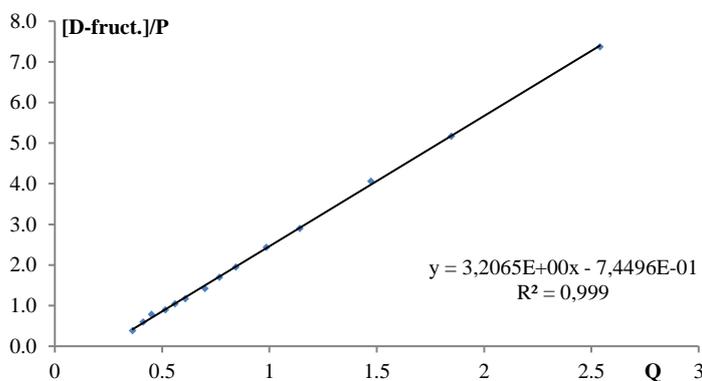


Figure III.39 : Extrapolation des données de la figure III.38.b par une droite (voir Eq 2).

$$\mathbf{K_{app.2, D-fructose/BBzx, TAMPON PHOSPHATE, Moyenne} = 558 \pm 74 \text{ M}^{-1}}$$

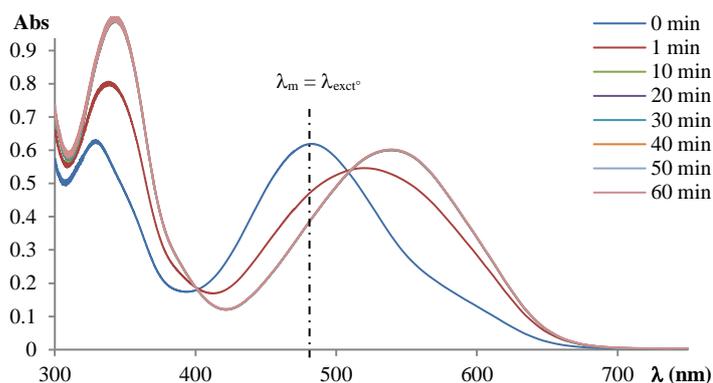
K_{app.2}, D-fructose/PBA, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.40 : Etude de la complexation entre le D-fructose et le PBA, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 483 nm.

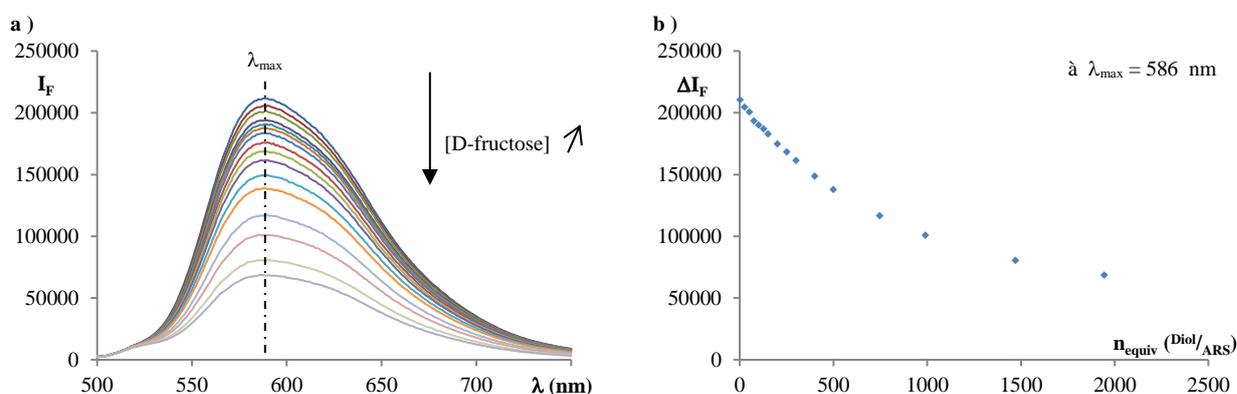


Figure III.41 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de D-fructose dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 586$ nm (b).

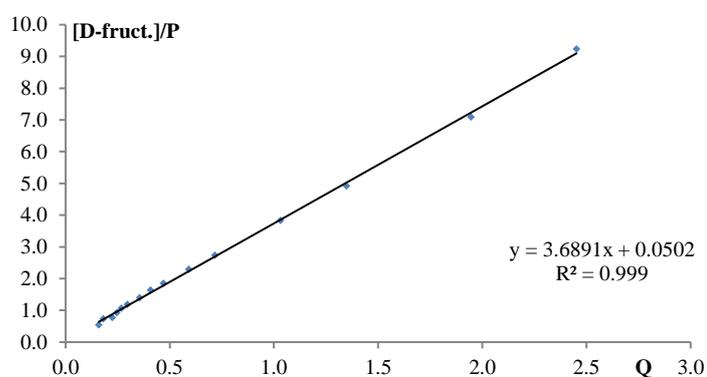


Figure III.42 : Extrapolation des données de la figure III.41.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, D-fructose/PBA, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 1022 ± 102 M⁻¹

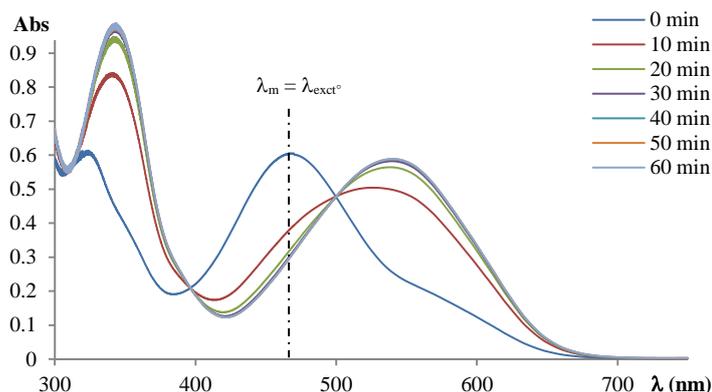
K_{app.2}, D-fructose/BBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.43 : Etude de la complexation entre le D-fructose et le BBzx, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 30 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 465 nm.

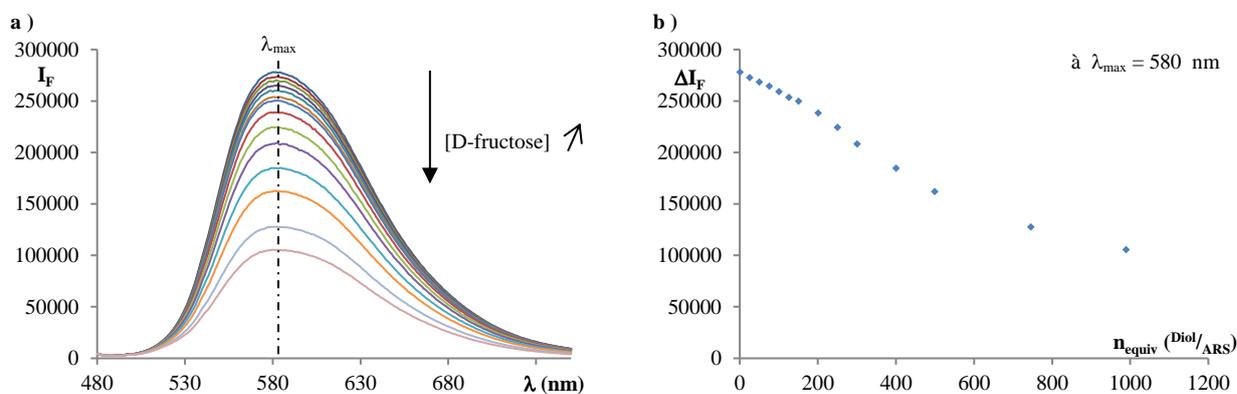


Figure III.44 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de D-fructose dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 580$ nm (b).

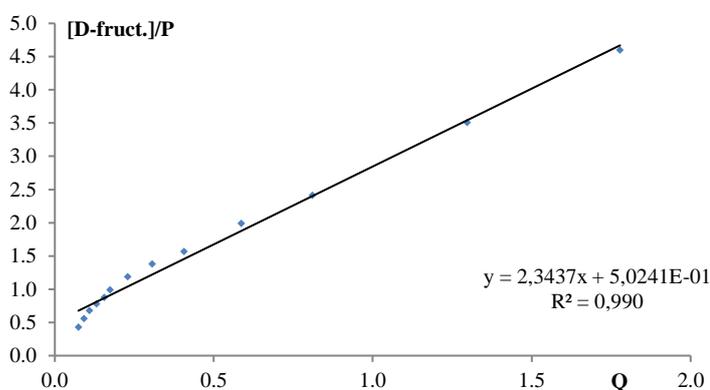


Figure III.45 : Extrapolation des données de la figure III.44.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, D-fructose/BBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 4001 ± 208 M⁻¹

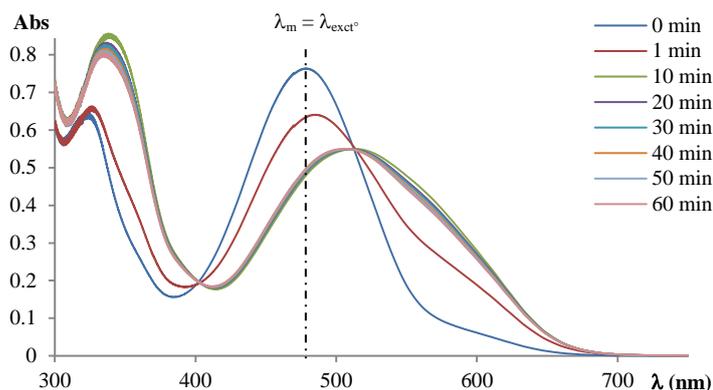
K_{app.2}, D-fructose/PBB, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.46 : Etude de la complexation entre le D-fructose et le PBB, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 479 nm.

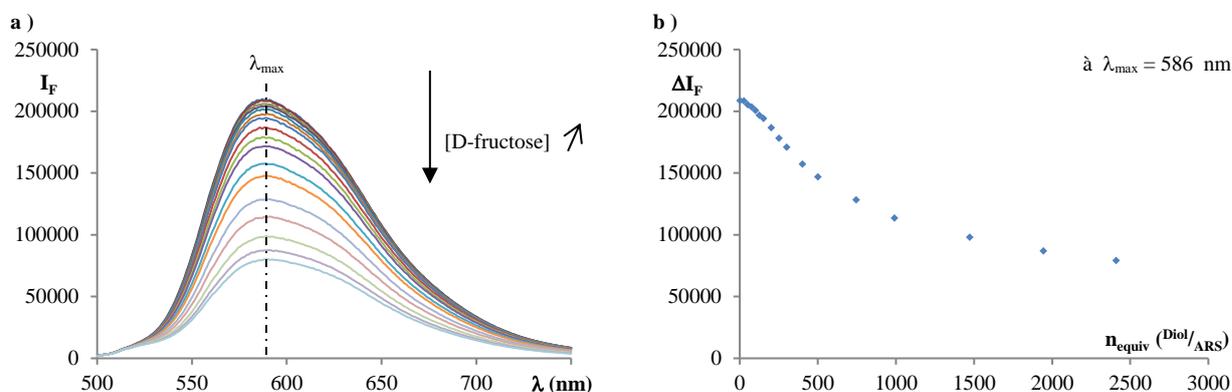


Figure III.47 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de D-fructose dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 586$ nm (b).

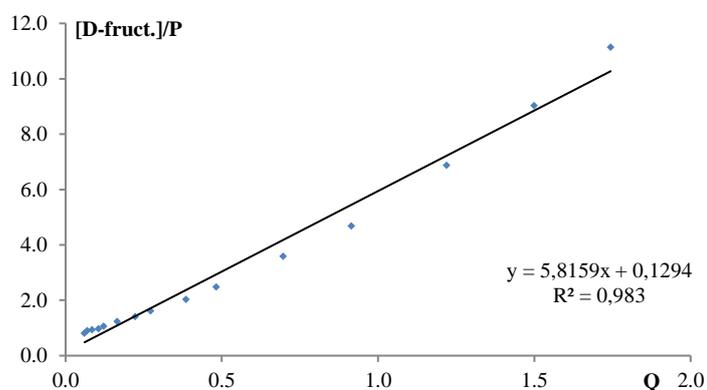


Figure III.48 : Extrapolation des données de la figure III.47.b par une droite (voir Eq 2).

$$\mathbf{K_{app.2, D-fructose/PBB, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 1938 \pm 412 M^{-1}}$$

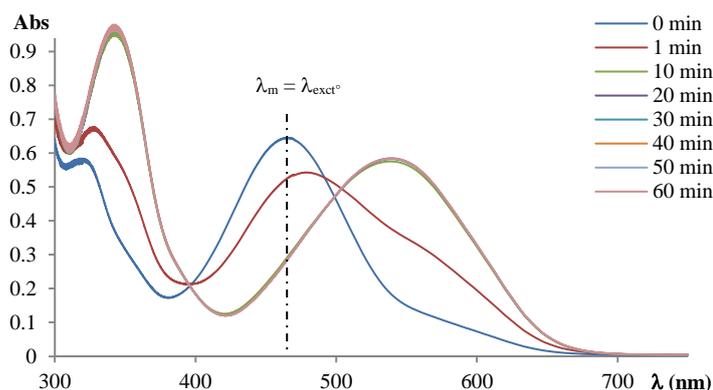
K_{app.2}, D-fructose/BisPBBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.49 : Etude de la complexation entre le D-fructose et le BisPBBzx, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit^*} , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 466 nm.

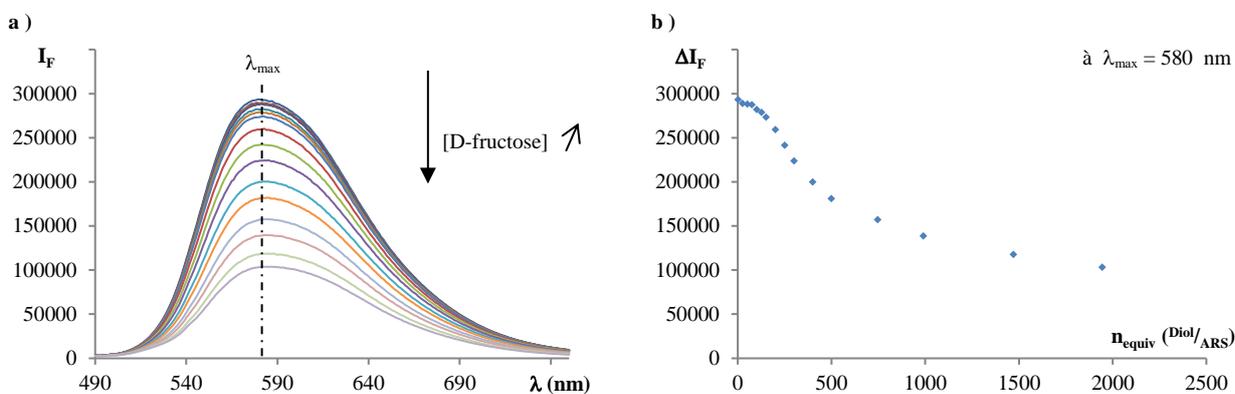


Figure III.50 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition de D-fructose dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 580$ nm (b).

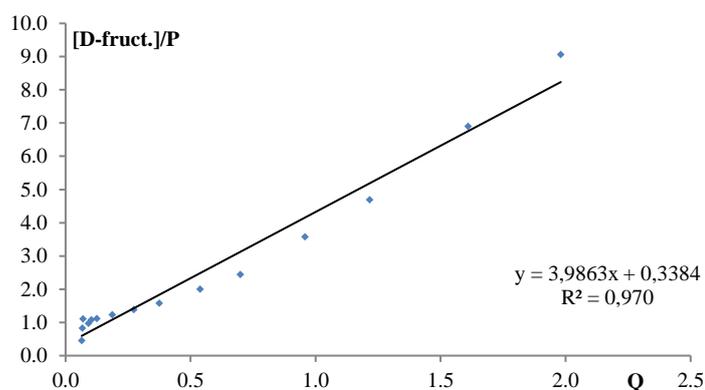


Figure III.51 : Extrapolation des données de la figure III.50.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, D-fructose/BisPBBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 2411 ± 569 M⁻¹

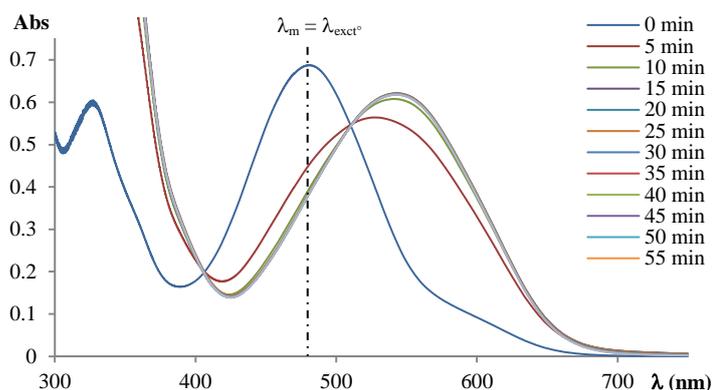
K_{app}.2, Catéchol/PBA, TAMPON PHOSPHATE


Figure III.52 : Etude de la complexation entre le catéchol et le PBA, dans le tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit^*} , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 468 nm.

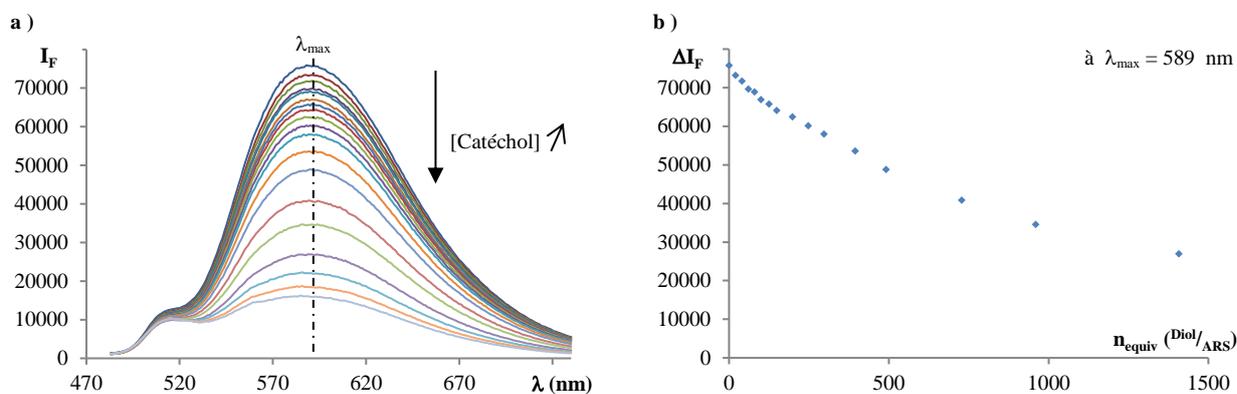


Figure III.53 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition du catéchol dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 589$ nm (b).

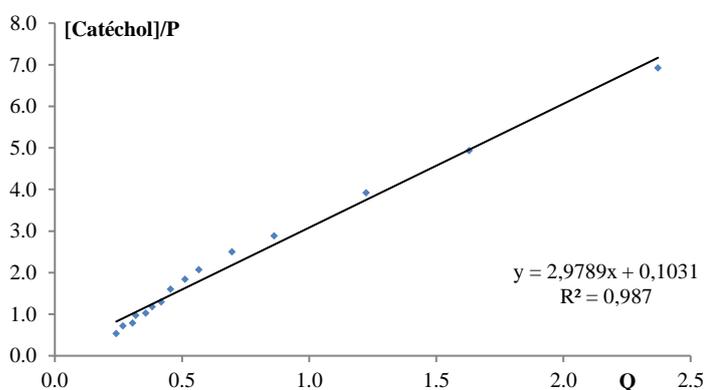


Figure III.54 : Extrapolation des données de la figure III.53.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app}.2, Catéchol/PBA, TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 904 ± 203 M⁻¹

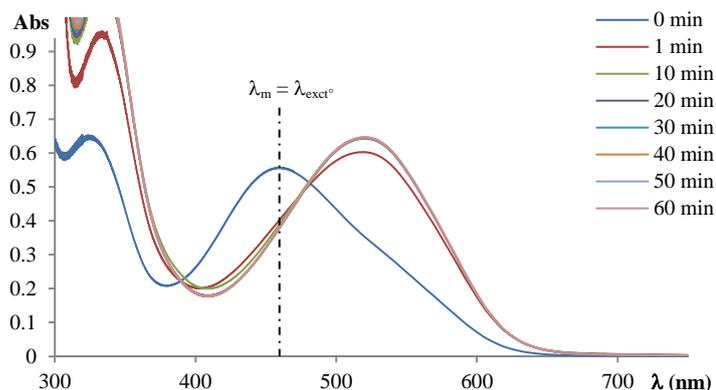
K_{app.2}, Catéchol/BBzx, TAMPON PHOSPHATE


Figure III.55 : Etude de la complexation entre le catéchol et le BBzx, dans le tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 459 nm.

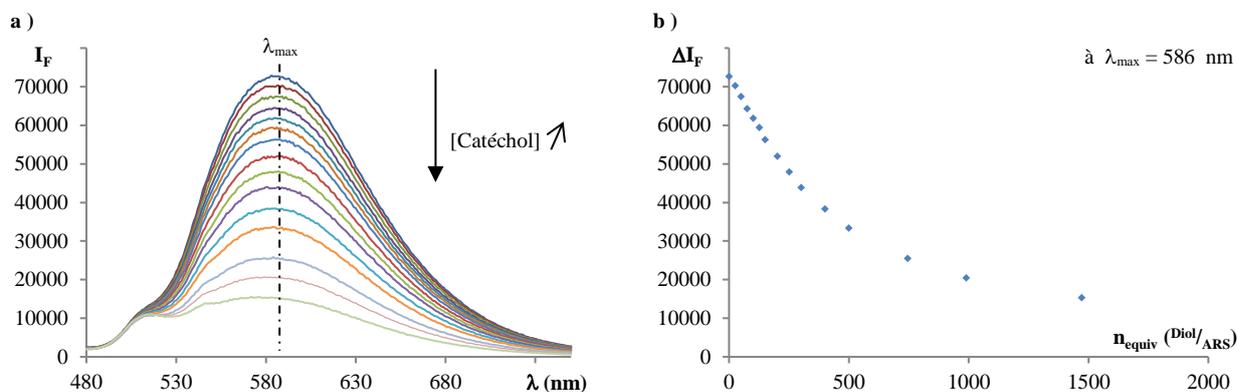


Figure III.56 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition du catéchol dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 586$ nm (b).

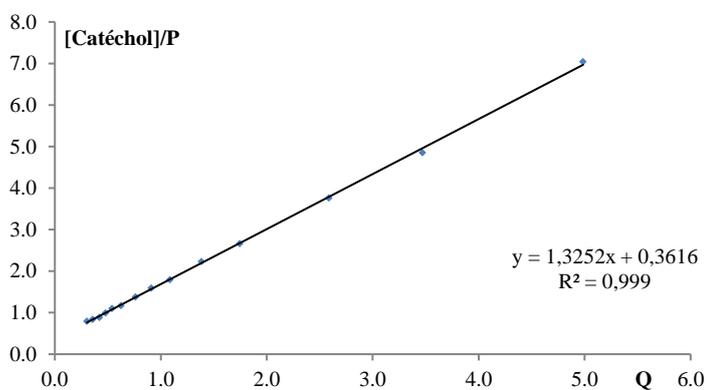


Figure III.57 : Extrapolation des données de la figure III.56.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, Catéchol/BBzx, TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 1472 ± 12 M⁻¹

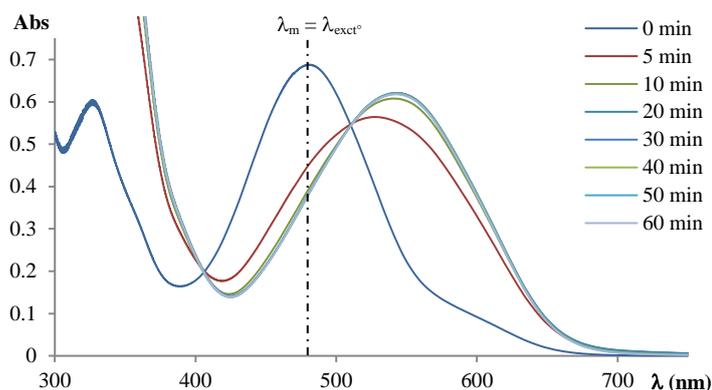
K_{app.2}, Catéchol/PBA, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.58 : Etude de la complexation entre le catéchol et le PBA, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 20 min et λ_{excit} , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 483 nm.

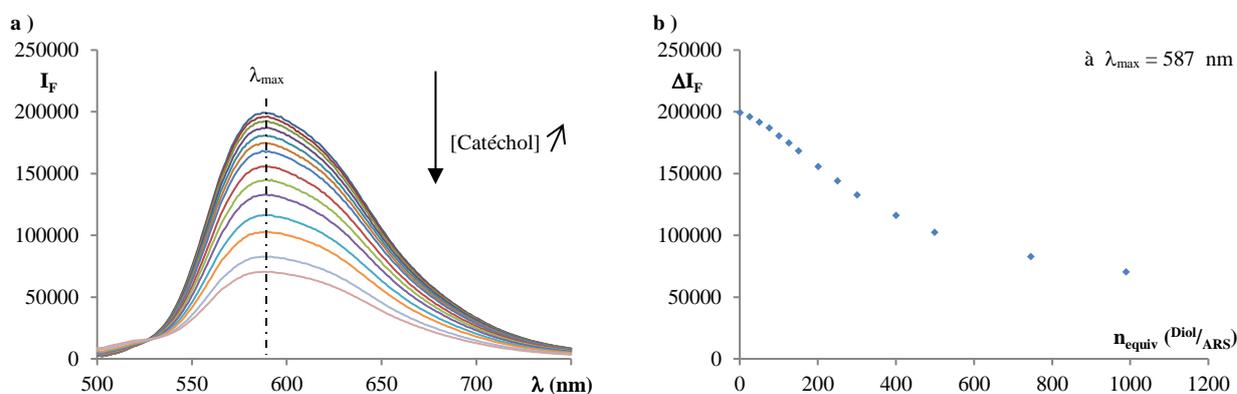


Figure III.59 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition du catéchol dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 587$ nm (b).

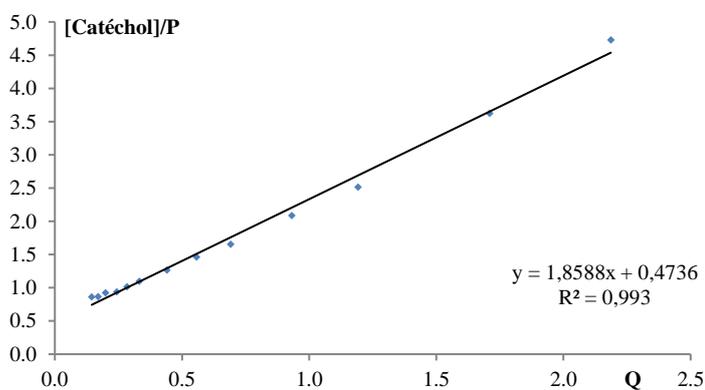


Figure III.60 : Extrapolation des données de la figure III.59.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, Catéchol/PBA, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = $2200 \pm 195 \text{ M}^{-1}$

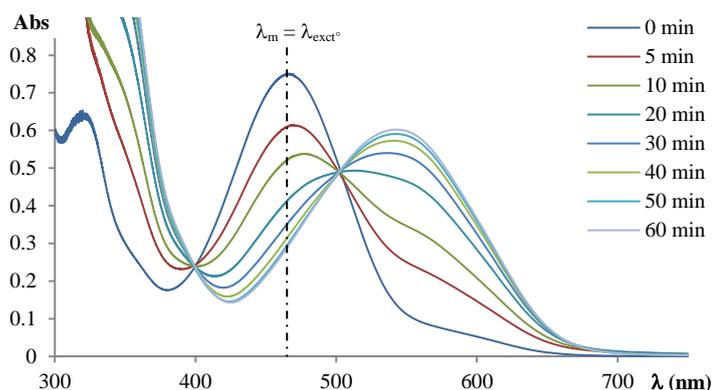
K_{app.2}, Catéchol/BBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.61 : Etude de la complexation entre le catéchol et le BBzx, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 60 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 465 nm.

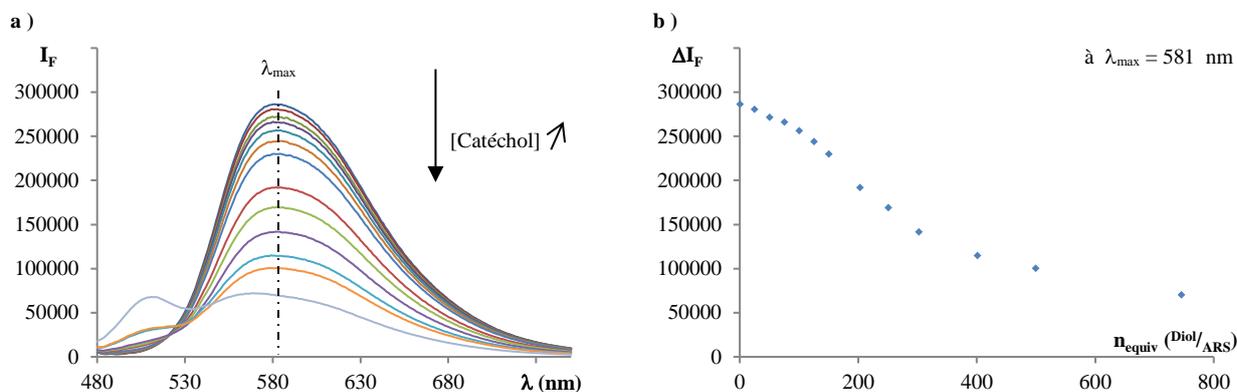


Figure III.62 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition du catéchol dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 581$ nm (b).

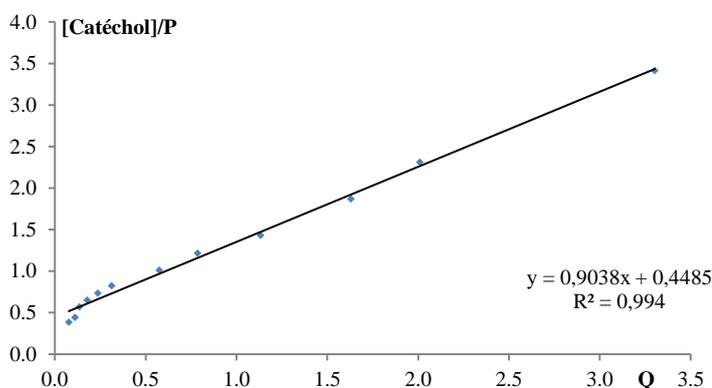


Figure III.63 : Extrapolation des données de la figure III.62.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, Catéchol/BBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 10661 ± 610 M⁻¹

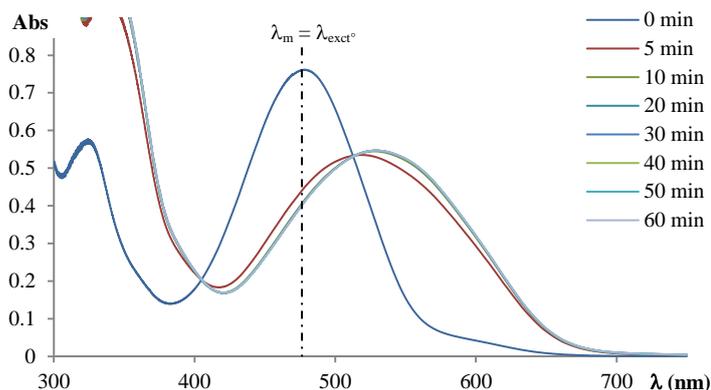
K_{app.2}, Catéchol/PBB, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.64 : Etude de la complexation entre le catéchol et le PBB, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 10 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 479 nm.

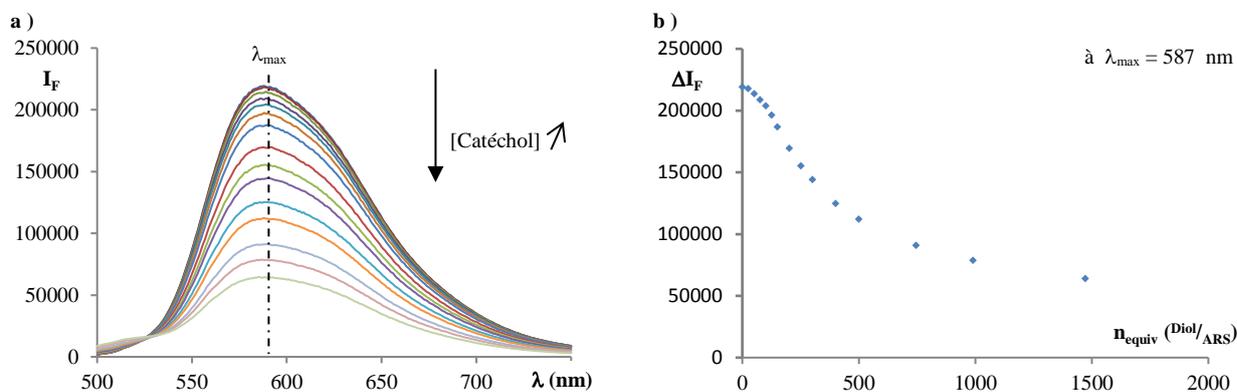


Figure III.65 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition du catéchol dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 587$ nm (b).

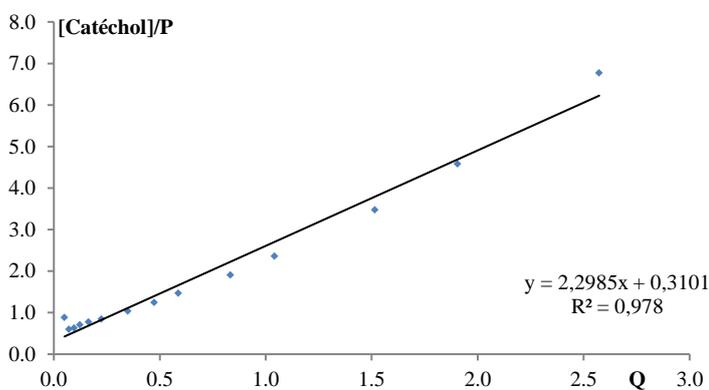


Figure III.66 : Extrapolation des données de la figure III.65.b par une droite (voir Eq 2).

$$\mathbf{K_{app.2, Catéchol/PBB, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 6448 \pm 2502 M^{-1}}$$

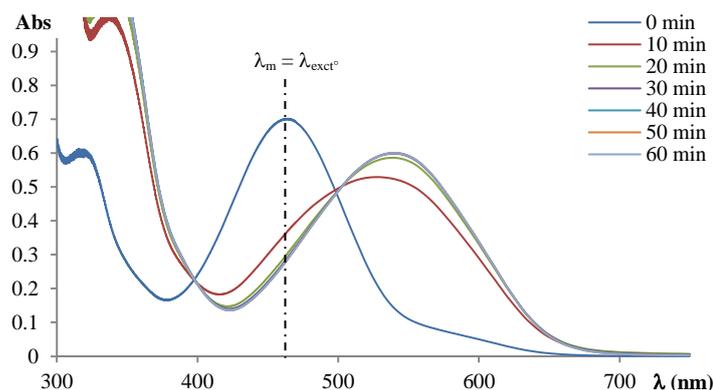
K_{app.2}, Catéchol/BisPBBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE


Figure III.67 : Etude de la complexation entre le catéchol et le BisPBBzx, dans le milieu DMSO/tampon phosphate, par spectroscopie UV-Visible. Le complexe est obtenu en 30 min et λ_{excit° , utilisée pour les mesures de fluorescence, est égale à 466 nm.

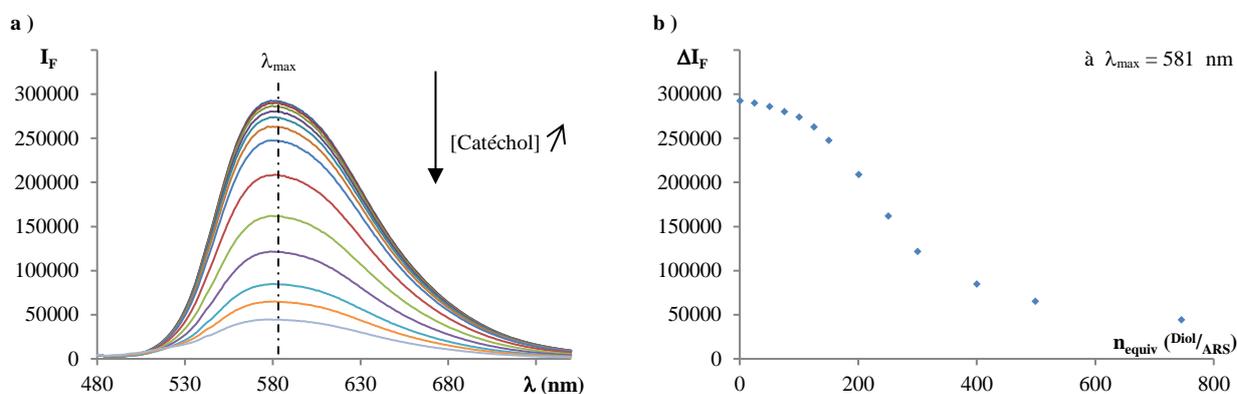


Figure III.68 : Décroissance de la fluorescence (I_F) au fur et à mesure de l'addition du catéchol dans la cuve (jusqu'à ce que la fluorescence décroisse d'environ 60 %). Représentation de l'évolution du spectre d'émission en entier (a) et à $\lambda_{max} = 581$ nm (b).

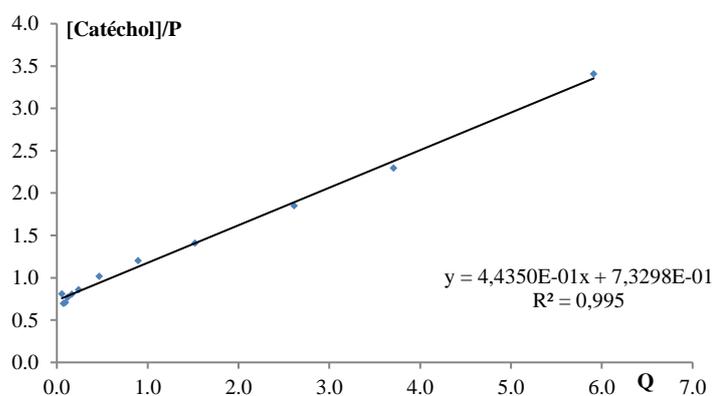


Figure III.69 : Extrapolation des données de la figure III.68.b par une droite (voir Eq 2).

K_{app.2}, Catéchol/BisPBBzx, DMSO/TAMPON PHOSPHATE, Moyenne = 24104 ± 1248 M⁻¹

- **Conditions expérimentales des études par spectroscopie RMN multinucléaire des complexations des acides boroniques ou des benzoxaboroles avec les diols :**

Conditions expérimentales :

Les spectres RMN ^1H ont été enregistrés à 298 K sur un spectromètre Bruker Avance III 600 MHz, à l'aide des sondes QXI et BBFO. Les spectres ont été calibrés grâce à la résonance du solvant deutéré utilisé (DMSO- d_6 , à 2,50 ppm et D_2O à 4,80 ppm). Les spectres 1D sont accumulés via la séquence Bruker « zgpr » pour pré-saturer les signaux intenses de solvant, dans notre cas l'eau. Pour chaque échantillon, les optimisations décrites ci-dessous ont été réalisées afin d'obtenir des données quantitatives :

- i. optimisation de la puissance de pré-saturation du signal de l'eau pour ne pas changer l'intensité relative des pics d'intérêt proches (notamment celui du méthylène des benzoxaboroles).
- ii. le temps de recyclage a été optimisé afin de s'assurer de la relaxation totale des protons (entre 18 et 28 s).
- iii. il a été vérifié que l'équilibre de complexation était bien atteint dans les tubes RMN.
- iv. entre 64 et 80 scans ont été enregistrés à chaque fois pour observer un bon rapport signal/bruit.

Les spectres 2D DOSY ^1H (Diffusion Ordered Spectroscopy) ont été enregistrés en utilisant la séquence Bruker « ledbpgp2spr » qui permet la pré-saturation des résonances intenses de solvant (dans notre cas l'eau). En plus des optimisations précédemment indiquées, le temps de diffusion ainsi que le gradient ont été optimisés ($\Delta = 0,1$ s et $\delta = 3,6$ ms) et le tube a été mis sous rotation (20 Hz). 32 spectres ont été accumulés sur 16 à 64 tranches par spectre (suivant l'échantillon analysé). Les données ont ensuite été traitées de façon standard sous Topspin.

Les spectres RMN ^{19}F ont été enregistrés à 298 K sur un spectromètre Bruker Avance III 400 MHz, à l'aide d'une SmartProbe optimisée pour le ^{19}F . Les spectres sont enregistrés avec la séquence Bruker « zgig » et la puissance du découplage ^1H a été optimisée. Pour chaque échantillon, le temps de recyclage a été testé afin de s'assurer de la totale relaxation des signaux (6 s ont été utiles dans nos études). Les spectres ont été accumulés entre 160 et 320 fois. Les déplacements chimiques ont été calibrés à l'aide d'une référence interne et externe. Après chaque acquisition d'un spectre RMN ^{19}F , une solution de CF_3COOH a été ajoutée directement dans le tube et le spectre ré-enregistré, pour ensuite calibrer la résonance du ^{19}F du CF_3COOH à, respectivement, - 76,5 ppm et - 75,0 ppm pour le tampon phosphate et le milieu DMSO/tampon phosphate. Cette référence interne a elle-même été calibrée à l'aide d'une référence externe ; une solution de trifluorotoluène dans le CDCl_3 (à - 63,7 ppm).

Les spectres RMN ^{11}B ont été enregistrés à 298 K sur un spectromètre Bruker Avance III 500 MHz, à l'aide d'une cryo-sonde BBO. Une séquence à une impulsion, avec une suppression de la ligne de base, a été utilisée pour enregistrer les spectres (séquence Bruker « zgbs »). Les échantillons ont été accumulés dans des tubes en quartz, entre 2 k et 10 k accumulations et le temps de recyclage défini entre 0,2 et 0,5 s suivant l'échantillon. Les spectres ont été calibrés de manière externe à l'aide d'une solution fraîche de $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (à 0 ppm).

Tous les spectres ont été traités et analysés à l'aide des logiciels TopSpin 3.2 et de MestRenova 7.0.3.

Méthodologie :

i. Préparation de la solution de tampon phosphate deutéré

55,2 mg de KD_2PO_4 sont dissouts dans 9,979 mL de D_2O et le pH est ajusté à $pH = 7,4$ par addition de 21,0 μL d'une solution de NaOD à 40 % massique dans D_2O .

La solution est stockée à 4 °C pendant maximum 15 jours.

ii. Concentration des solutions mères des différentes molécules mises en jeu lors des études RMN suivant le solvant deutéré

	Molécule	Tampon phosphate deutéré	DMSO.d ⁶
Concentration (mM)	BBzx (7)	10	10
	PBA (9)	10	10
	BisPBBzx (53)	-	2
	PBB (77)	-	10
	ARS (22)	5	10
	D-fructose (78)	10	10
	Catéchol (79)	10	10
	F- catéchol (80)	10	10

 iii. Préparation des tubes RMN à 2 mM (sauf pour **53** à 1,2 mM dû à la faible solubilité de celui-ci) pour l'analyse des différents complexes suivant le solvant deutéré pour les solutions à 50/50.

Milieu	Complexation		$V_{\text{Molécule organoborée}}$ (μL)	V_{Diol} (μL)	$V_{\text{Tampon phosphate deutéré}}$ (μL)	$V_{\text{DMSO.d6}}$ (μL)
	Molécule organoborée	Diol				
Tampon phosphate	7	22	100	200	200	-
		78		100	300	
		79				
		80				
	9	22	100			
		78		100	300	
		79				
		80				
DMSO.d ⁶ / Tampon phosphate à 60/40 % (v/v.)	7	22	100			100
		78		100	-	300
		79				
		80				
	9	22	100			
		78		100	-	300
		79				
		80				
	53	22	300			
		78		60	140	
		79				
		80				
	77	22	100			100
		78		100	-	300
		79				
		80				

Chapitre IV :
Élaboration de nouveaux
complexes

Chapitre IV : Élaboration de nouveaux complexes

SOMMAIRE

A. INTRODUCTION	159
B. ÉLABORATION DE COMPLEXES A PARTIR DU CATECHOL	180
1. Complexation du benzoxaborole simple	180
a. Synthèse.....	180
b. Caractérisation	180
c. Conclusion.....	182
2. Complexation du squarate-bisbenzoxaborole.....	183
a. Synthèse.....	183
b. Caractérisation	183
c. Conclusion.....	185
3. Bilan.....	185
C. ÉLABORATION DE COMPLEXES A PARTIR DE L'ALCOOL SALICYLIQUE	186
1. Synthèse du complexe benzoxaborole/alcool salicylique.....	186
2. Caractérisation.....	186
3. Conclusion.....	189
D. ÉLABORATION DE COMPLEXES A PARTIR DE L'ACIDE SALICYLIQUE.....	190
1. Complexation du benzoxaborole simple	190
a. Synthèse.....	190
b. Caractérisation	190
c. Conclusion.....	192
2. Complexation de l'AN2690.....	193
a. Synthèse.....	193
b. Caractérisation	193
c. Conclusion.....	195
3. Complexation du squarate-bisbenzoxaborole	196
a. Synthèse.....	196
b. Caractérisation	196
c. Conclusion.....	199
4. Bilan.....	199
E. DISCUSSION	199
F. CONCLUSION	201
RÉFÉRENCES.....	203
ANNEXES	207

A. Introduction

La complexation de molécules organoborées bivalentes simples avec des *cis*-diols mise en évidence au chapitre III ouvre la possibilité d'utiliser ce type de réactivité dans la formation de nouvelles architectures. En misant sur la complexation de motifs multivalents, tant pour les benzoxaboroles (synthétisés au Chapitre II) que pour les substrats, des assemblages supramoléculaires pourront *a priori* être obtenus (Figure IV.1). L'élaboration de ces nouveaux complexes est étudiée dans ce chapitre IV.

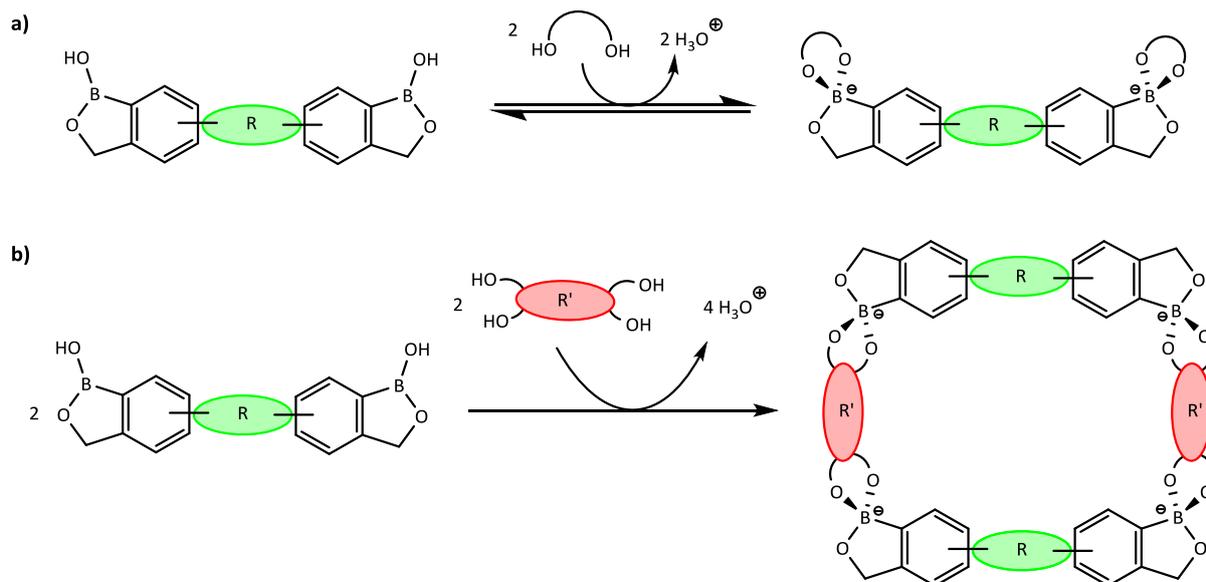


Figure IV.1 : a) Équilibre mis en jeu au chapitre III lors de la formation de complexe 1/2 entre une molécule organoborée bivalente et un diol. b) Utilisation de cette même réactivité, pour l'élaboration d'architectures supramoléculaires, entre un benzoxaborole multivalent et un motif présentant plusieurs fonctions diols.

Dans le cas des dérivés de l'acide borique et des acides boroniques, des travaux ont été réalisés sur la formation de complexes supramoléculaires et de matériaux (Tableau IV.1).¹⁻³⁸ Ces molécules ont la particularité de créer des interactions covalentes réversibles avec des substrats de type amine ou diol, leur attribuant des propriétés intéressantes. En observant plus attentivement le tableau IV.1, nous remarquons que divers protocoles sont utilisés. Lors de ces complexations benzoxaborole/diol, de l'eau est libérée (Figure IV.2). La plupart de ces protocoles ont donc pour but d'éliminer le sous-produit de ces complexations. En effet, en éliminant l'eau, l'équilibre est déplacé vers la formation de ces complexes.

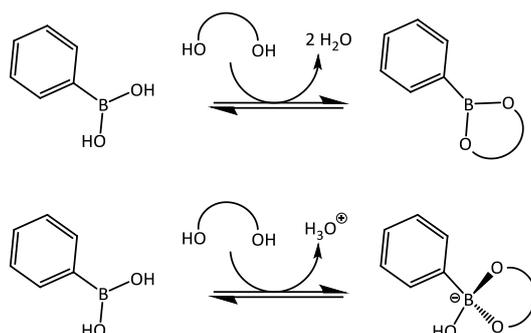


Figure IV.2 : Exemples d'équilibres mis en jeu lors de la complexation des acides boroniques avec des diols. a) Formation d'un complexe trigonal plan électriquement neutre. b) Formation d'un complexe tétraédrique portant une charge formelle négative.

Une étude bibliographique a été menée dans un premier temps afin de déterminer les paramètres les plus appropriés pour ce type de complexation.

Comme indiqué précédemment, l'équilibre est déplacé dans la plupart des protocoles par l'élimination de l'eau. Le déplacement de l'équilibre réactionnel est alors total favorisant ainsi la formation du produit désiré. L'un des protocoles les plus utilisés pour la synthèse de ce type de matériaux est le protocole par montage Dean-Stark. Par formation d'un azéotrope avec le solvant du milieu réactionnel (toluène, EtOH, ...) l'eau est entraînée et éliminée du milieu réactionnel (exemples 1-7, 10-12 du tableau IV.1). Un autre protocole utilise des tamis moléculaires afin d'emprisonner l'eau au fur et à mesure de sa libération dans le milieu réactionnel (exemples 13 et 23 du tableau IV.1).

D'autres protocoles testés à ce jour consistent à jouer sur la différence de solubilité entre les précurseurs et le produit formé. Dans de nombreux cas répertoriés dans le tableau IV.1 (exemples 8, 17-22, 25-29), le produit précipite, ce qui, en plus de déplacer l'équilibre en faveur de sa formation, permet de l'isoler. Un dernier protocole utilise le procédé solvothermal. Les précurseurs sont dissous dans des solvants organiques. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé dans un récipient fermé (autoclave ou tube scellé). L'augmentation de la température et de la pression au sein du système favorise la réactivité des précurseurs entre eux conduisant à la formation de précipités plus ou moins cristallins. Ce procédé est utilisé dans les exemples 14-16, 24, 30 et 32-34 du tableau IV.1.

Au sein de ces différents protocoles, d'autres paramètres peuvent être variés, notamment l'introduction de précurseurs supplémentaires et le traitement post-synthèse des matériaux.

L'introduction d'un troisième précurseur permet dans certain cas de contrôler la structure du matériau formé. Les exemples 18 à 22 du tableau IV.1 en sont l'illustration parfaite. La même synthèse est réalisée dans les mêmes conditions (par simple solubilisation dans du MeOH puis précipitation, à température ambiante). La seule différence est le troisième précurseur introduit. Sans celui-ci, la synthèse permet d'isoler un polymère insoluble (entrée 18 du tableau IV.1). Par simple introduction d'un composé aromatique permet d'isoler un produit sous la forme d'un macrocycle [2+2] ou [3+3] (respectivement, par introduction d'un toluène ou d'un naphthalène, ou par introduction d'un benzène ou d'un triphénylène).

Enfin, l'analyse des traitements post-synthèse met en évidence les différentes manières de purifier et d'isoler les complexes formés. Plusieurs post-traitements sont possibles : extraction, filtration puis

lavage, recristallisation... Le choix du post-traitement est décidé en fonction de l'état physique du brut réactionnel obtenu (liquide, solide), de sa solubilité et surtout de sa stabilité. Par exemple avec les entrées 46 et 47 (ou 48 et 49) du tableau IV.1, nous remarquons que suivant le contre-cation introduit le post-traitement est dans un cas une filtration puisqu'un précipité blanc est obtenu, tandis que dans l'autre cas, une extraction est effectuée pour obtenir le produit sous la forme d'un liquide ionique.

Cependant, contrairement aux acides boroniques, la complexation des benzoxaboroles par des substrats de type diol entraîne la formation systématique d'un complexe tétraédrique chargé (Figure IV.1.a). Afin d'isoler de manière stable ce complexe, la charge doit être compensée. Dans le cas des acides boriques et boroniques complexant sous la forme tétraédrique anionique, beaucoup d'exemples utilisent des substrats de type amine qui, via l'azote, compensent cette charge formelle.³⁻¹¹ L'exemple 3 du tableau IV.1 illustre cette réactivité : la complexation d'un diol sur un acide boronique entraîne l'apparition d'une charge formelle négative sur l'atome de bore. Cette charge est compensée par la formation d'une liaison dative entre le bore et l'azote du 4,4-dipyridyl.

Dans la même idée, la complexation des benzoxaboroles directement par des groupements de type amine a été réalisée par Raines *et al.* en 2013.¹² La charge formelle est donc directement compensée par le substrat. Cette étude a permis l'élaboration de groupements protecteurs par les benzoxaboroles. Dans ce travail, plusieurs groupements protecteurs ont été testés (Figure IV.3). Les groupements protecteurs impliquant la formation d'un cycle à 5 membres avec le bore (Figure IV.4.a) n'ont pas permis la formation de complexes suffisamment stables afin d'être isolés et caractérisés. Les groupements protecteurs induisant la formation d'un cycle à 6 membres avec l'atome de bore se sont révélés généralement plus stables permettant leur caractérisation (Figure IV.4.b). Cependant, leur complexation avec le benzoxaborole a été trop faible pour attester de leur utilisation en tant que groupements protecteurs dans des synthèses organiques. Seul le 1-diméthylamino-8-méthylaminonaphtalène (Figure IV.4.c), présentant une structure rigide et un fort caractère de base de Lewis, a été utilisé efficacement comme groupement protecteur du benzoxaborole.

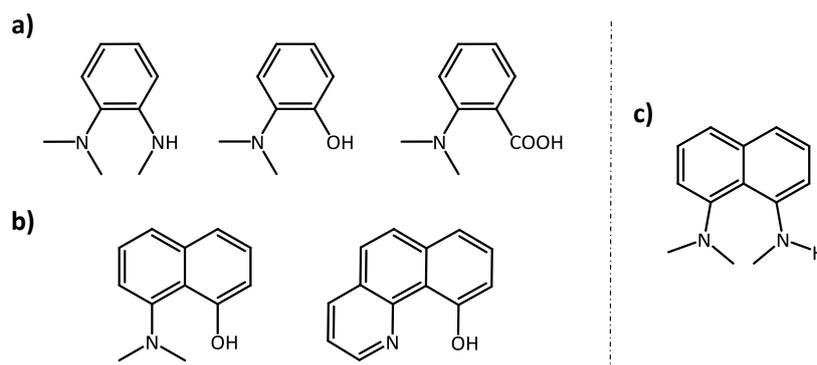


Figure IV.3 : Groupements protecteurs du benzoxaborole testés par Raines *et al.*¹² a) Groupements protecteurs induisant la formation de cycle à 5 membres instables lors de la complexation. b) Groupements protecteurs entraînant la formation de cycle à 6 membres lors de la complexation : complexes suffisamment stables pour les caractérisations mais non pour les réactions. c) Le 1-diméthylamino-8-méthylaminonaphtalène permet l'obtention d'un groupement protecteur stable par la formation d'un cycle à 6 membres.

La complexation covalente réversible de ces groupements protecteurs sur les benzoxaboroles est obtenue par évaporation de l'eau, sous forme d'azéotrope avec le toluène, en montage Dean-Stark. Une fois le complexe, benzoxaborole/1-diméthylamino-8-méthylaminonaphtalène, formé (Figure IV.4), plusieurs réactions (hydrogénation, amidation, formation de triflate, substitution nucléophile) ont pu être réalisées sur la fonction R en position 4 du noyau aromatique du benzoxaborole. Le groupement protecteur est ensuite retiré dans un milieu aqueux acide. Par cette stratégie, les produits désirés ont été obtenus sans modification de l'environnement du bore et avec de bons rendements ($77 < \eta < 95 \%$).

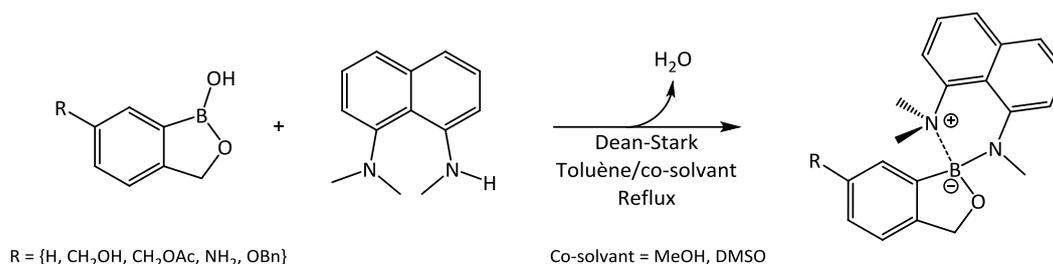


Figure IV.4 : Complexation d'un motif benzoxaborole par le 1-diméthylamino-8-méthylaminonaphtalène, par évaporation de l'eau en montage Dean-Stark.¹²

Plus récemment, le même type d'approche a été utilisée par Tomsho *et al.*¹³ Toujours dans le but de développer de nouveaux groupements protecteurs de ces molécules organoborées, des substrats présentant deux sites capables de se lier à l'atome de bore ont été testés. Ceux-ci présentent la caractéristique d'avoir une fonction phénol (facilement déprotonable), favorisant la formation d'une liaison covalente avec le bore, et une fonction amine ou imine, qui peut se lier à l'atome de bore et compenser la charge formelle formée. Comme pour les travaux de Raines *et al.*¹², ces complexes ont été obtenus par distillation azéotropique à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de toluène (Figure IV.5). Le complexe formé a montré une excellente stabilité dans des milieux aqueux faiblement acides et basiques. Cette stabilité a permis la synthèse de différents produits dérivés via des réactions de réduction, d'oxydation ou de substitution. Leur purification par extraction ou par colonne chromatographique suivie d'une déprotection en milieu acide a finalement permis l'obtention des produits désirés purs. Ces groupements protecteurs, en plus d'augmenter considérablement la solubilité des molécules organoborées dans les milieux organiques, sont compatibles avec une large gamme de conditions réactionnelles.

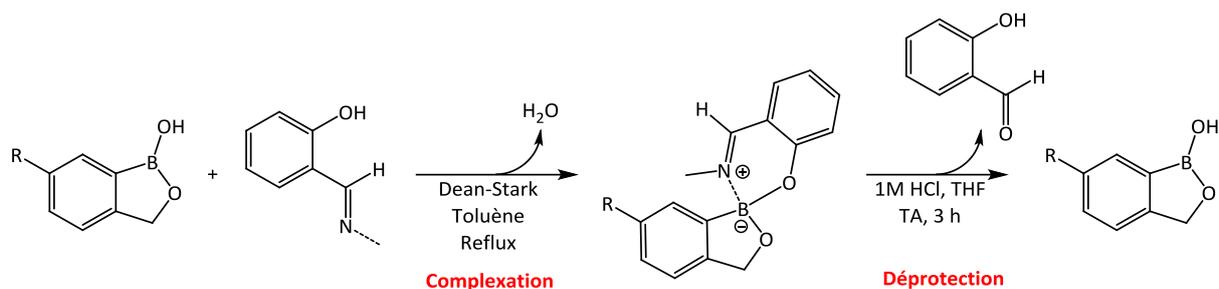


Figure IV.5 : Protocole de synthèse et de déprotection du complexe benzoxaborole/2-[(méthylimino)méthyl]phénol.¹³

Une autre manière de compenser la charge formelle formée lors de ces complexations est la mise en place d'interactions électrostatiques avec des cations ammonium ou un phosphonium (exemples 36 à 53 du tableau IV.1).

Les travaux de Duggan *et al.*^{3,8-11} utilisent des cations de type alkyl ammonium pour compenser la formation de la charge formelle induite par la complexation de deux diols sur un acide borique.^{3,8-11} La complexation d'un acide borique par deux diols a permis l'obtention d'un complexe d'ester de borate hydrosoluble avec des propriétés fongicides et termiticides intéressantes pour le traitement du bois. La complexation de deux diols sur un acide borique a été réalisée dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH) (Figure IV.6). Le complexe une fois formé a été stabilisé par le contre-cation TBA⁺, et a été obtenu pur par cristallisation.

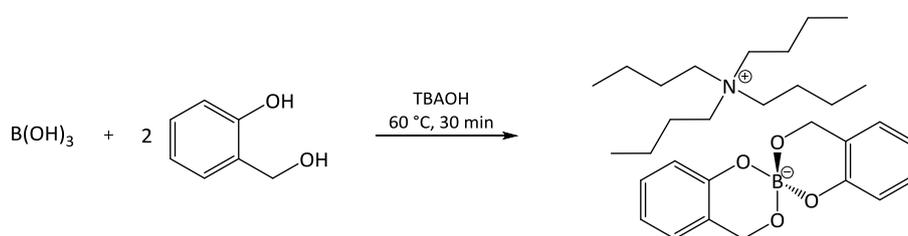


Figure IV.6 : Complexation de deux alcools salicyliques sur un acide borique dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium.

Par la complexation de différents substrats à l'acide borique, ces travaux ont mis en évidence la formation possible de différentes jonctions au niveau de l'atome de bore. Trois substrats (le catéchol, l'alcool salicylique et l'acide salicylique) ont notamment permis d'étudier la stabilité de cette complexation, mais aussi la relation structure/activité. Le complexe formé à partir de l'alcool salicylique (Figure IV.6) a démontré des propriétés fongicides et termiticides plus importantes.

Un protocole similaire a été utilisé par Antzutkin *et al.*¹⁴⁻¹⁹ La formation de complexes d'ester de borate en présence de cations phosphonium a permis la synthèse d'un liquide ionique ayant de bonne propriété de lubrifiant.

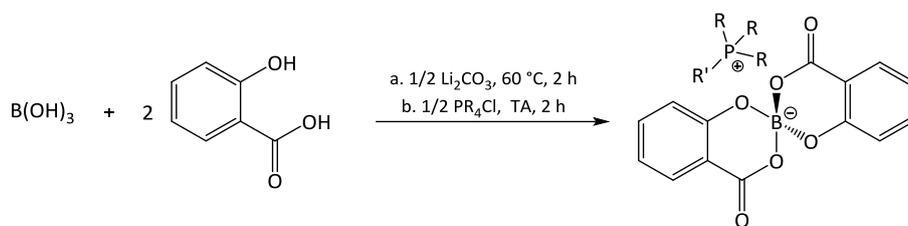
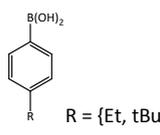
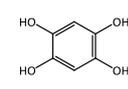
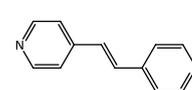
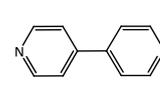
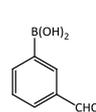
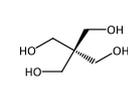
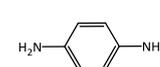
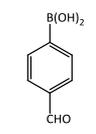
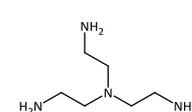
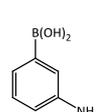
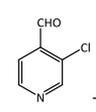
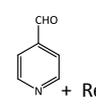
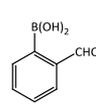
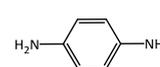
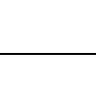
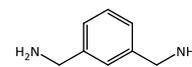
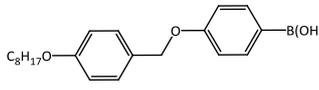
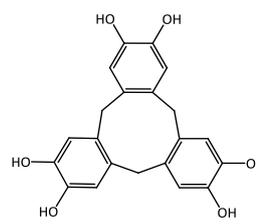


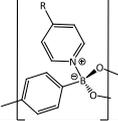
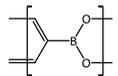
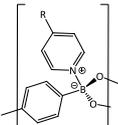
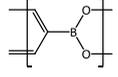
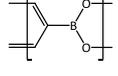
Figure IV.7 : Complexation de deux acides salicyliques sur un acide borique en présence de contre-cation phosphonium.

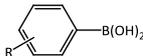
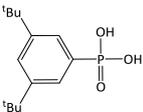
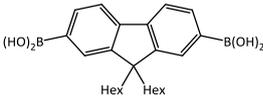
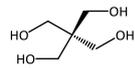
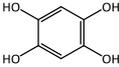
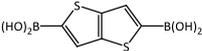
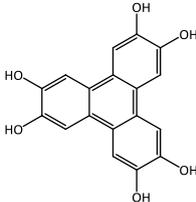
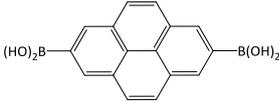
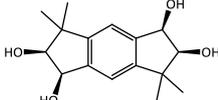
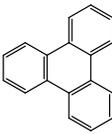
En s'inspirant de tous ces travaux et dans la continuité des études de complexation entre les benzoxaboroles et les diols réalisées au chapitre III de cette thèse, nous avons décidé de travailler sur trois substrats différents : le catéchol, l'alcool salicylique et l'acide salicylique. Le catéchol est un diol aromatique dont le motif est déjà très utilisé en chimie des acides boroniques et des benzoxaboroles. L'alcool et l'acide salicylique forment un cycle à 6 membres, en complexant l'atome de bore, plus stable.

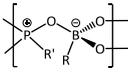
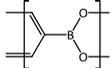
Deux protocoles de synthèse sont possibles : le montage Dean-Stark (en présence d'une amine) et le protocole de Duggan *et al.*^{3,8-11} Les premiers tests de complexation d'un bisbenzoxaborole par le catéchol en montage Dean-Stark en présence (ou non) de 4,4'-dipyridyl se sont montrés non concluants. Les expériences sont alors concentrées sur le second protocole : la complexation de benzoxaboroles dans une solution d'hydroxyde de tétrabutylammonium. Le protocole a dans un premier temps été mis en place sur la complexation du motif benzoxaborole simple (**7**) avec les trois substrats (le catéchol, l'alcool salicylique et l'acide salicylique). Une fois le protocole optimisé, l'expérience a été poursuivie vers des structures plus étendues.

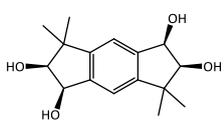
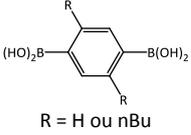
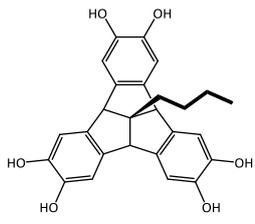
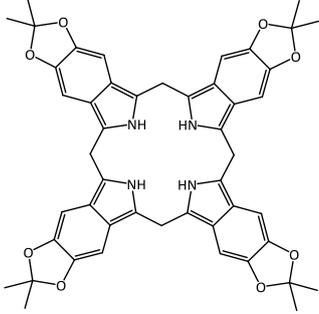
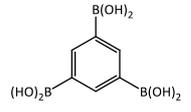
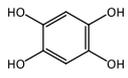
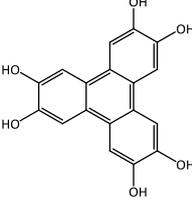
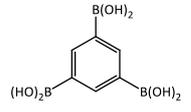
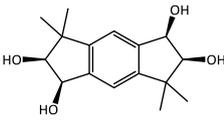
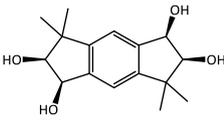
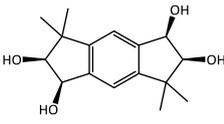
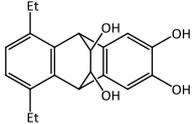
Tableau IV.1 : Bilan bibliographique des synthèses de matériaux réalisées à partir de complexations d'acides boroniques puis boriques avec divers substrats. Pour les acides boroniques, les exemples sont classés suivant la multivalence de l'acide boronique puis du diol.

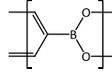
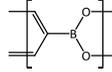
N°	Acide boronique	Diol	Autre réactif	Conditions de synthèse	Nombre d'équivalents (n)	
1	 R = {Et, tBu}			Benzène ^{Anh} , 90 mL, Reflux, Dean-Stark, 8 h	9/4,5/4,5 (x 10 ⁻¹ mmol)	
2			-			
3						
4				THF/Toluène, 1/2, 90 mL, Reflux, Dean-Stark, 7 h	2/1/1 (x 10 ⁻¹ mmol)	
5				EtOH, 80 mL, Reflux, Dean-Stark, 2 h	6/3/22 (x 10 ⁻¹ mmol)	
6			 + ReBr(CO) ₅	THF/Toluène, 1/2, 90 mL, Reflux, Dean-Stark, 6 h	2/1/2/1 (x 10 ⁻¹ mmol)	
7			 + ReBr(CO) ₅	THF/Toluène, 1/2, 60 mL, Reflux, Dean-Stark, 1 h	2/1/2/1 (x 10 ⁻¹ mmol)	
8				DMF, 350 µL, 50 °C, 2 jours	8/4/4 (x 10 ⁻² mmol)	
9				DMF, 700 µL, Ar, TA, 1 nuit	6/2,1/3 (x 10 ⁻² mmol)	
10				-	Toluène, 36 mL, Ar, Reflux, Dean-Stark, 68 h	1,23/0,41 (x 1 mmol)

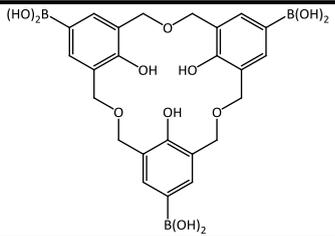
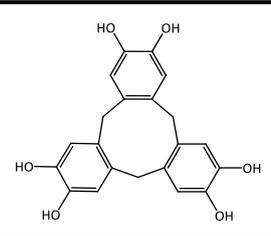
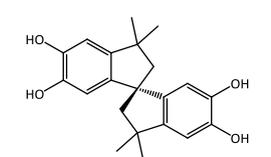
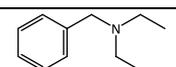
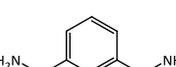
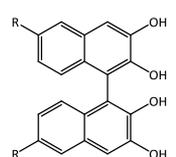
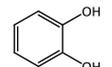
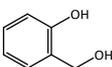
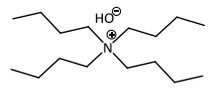
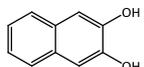
Post-traitement	Détails du post-traitement	Structure	Configuration du Bore	Analyses	η	Réf.
– Filtration à chaud – Précipitation à froid – Recrystallisation CHCl_3 /pentane	– Filtration de la suspension à chaud – Refroidissement du filtrat à TA – Précipitation, filtration et lavage au pentane – Séchage sous-vide – Recrystallisation par diffusion lente du pentane dans le CHCl_3	Polymère (Chaîne)		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B DRX	80 % (196 mg)	4
		Cristaux sous forme d'aiguille.			58 % (93 mg)	4, 20
		Polymère, chaîne « zig-zag »			74 % (176 mg)	4
– Filtration à chaud – Précipitation – Filtration – Recrystallisation CHCl_3 /pentane	– Filtration de la suspension à chaud (précipité orange) – Récupération et concentration de la phase organique (jusqu'à ~10 mL) – Précipitation d'un solide blanc – Recrystallisation : CHCl_3 /Hexane – Séchage sous-vide – Recrystallisation par diffusion lente de pentane dans une solution de CHCl_3	Macrocycle [4+2+2] + 2 CHCl_3 $\phi = 17,2 \text{ \AA}$		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B (CDCl_3) DRX	44 % (19,3 mg)	21
– Précipitation à froid – Filtration – Recrystallisation CHCl_3 /pentane	– Précipitation observé au bout de quelques minutes – Précipitation à froid – Filtration, lavage au pentane puis séchage sous-vide – Recrystallisation par diffusion lente de pentane dans une solution de CHCl_3	Cage [6+3+2] + 4 CHCl_3 $\phi = 20,5 \text{ \AA}$		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B (CDCl_3) DRX	82 % (110,5 mg)	
– Précipitation à l'hexane – Recrystallisation CHCl_3 /Pentane	– Concentration de la phase organique (jusqu'à ~ 10 mL) – Précipitation d'un solide jaune par addition de 10 mL d'hexane – Filtration et recrystallisation : CHCl_3 /Hexane – Séchage sous-vide – Recrystallisation par diffusion lente de pentane dans une solution de CHCl_3	Macrocycle [4+2+4+2] + 2 DCE $\phi \approx 24 \text{ \AA}$		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B (CDCl_3) IR DRX	58 % (54,8 mg)	
– Filtration à chaud – Précipitation au pentane	– Filtration de la suspension à chaud (précipité orange) – Précipitation à froid par ajout de pentane d'un solide jaune – Filtration, lavage au pentane puis séchage sous-vide	Macrocycle		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B (CDCl_3) IR	29 % (25,3 mg) Pb solubilité	5
– Filtration	– Dissolution des précurseurs après 1 h de chauffage à 50 °C – Après 2 jours à 50 °C, observation de cristaux	Macrocycle [4+2+2]		RMN DRX SM	-	
-	Non-isolé : formation du produit observé par RMN ^1H et ^{13}C .	Cage trigonale [6+2+3]		RMN ^1H , ^{13}C (DMF-d^7) SM	-	
– Filtration à chaud – Évaporation	– Filtration de la suspension à chaud pour éliminer le précipité – Évaporation du liquide – Obtention d'un solide blanc Test de formation d'un gel	-		RMN ^1H , ^{13}C MALDI-TOF	73 % (396 mg)	22

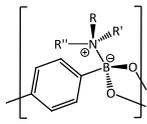
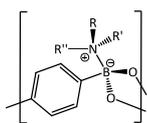
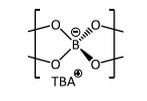
N°	Acide boronique	Diol	Autre réactif	Conditions de synthèse	Nombre d'équivalents (n)
11			-	Toluène, 48 mL, Ar, Reflux, Dean-Stark, 3 h	1/1 (x 1,2 mmol)
12			-	Toluène ^{Anh.} , 60 mL, Ar, Reflux, Dean-Stark, 1 h 15	0,5/5,3 (x 1 mmol)
13			-	Toluène/MeOH, 9/1, 44 mL, Reflux, 1 h 30 + Tamis moléculaire (3 Å)	1,2/1,8 (x 1 mmol)
14			-	Mésitylène/Dioxane, 50/50, 1 mL, 150 °C, Autoclave, 3 jours	0,51/0,34 (x 10 ⁻¹ mmol)
15				Mésitylène/Dioxane, 50/50, 1 mL, 100 °C, Tube scellé, 3 jours	1,5/0,5 (x 10 ⁻¹ mmol)
16				Mésitylène ^{Anh.} /Dioxane ^{Anh.} , 50/50, 50 mL, Ar, 85 °C, Tube scellé, 3 jours	2/1,4 (x 1 mmol)
17				Dioxane ^{Anh.} /Mésitylène ^{Anh.} , 1/1, 10 mL, Ar, 85 °C, 3 jours	3,5/2,3 (x 10 ⁻¹ mmol)
18			-	MeOH, 8,7 mL, TA, 3 h	1,1/1,13 (x 10 ⁻¹ mmol)
19					1,1/1,13/0,55 (x 10 ⁻¹ mmol)
20					1,1/1,13/0,55 (x 10 ⁻¹ mmol)

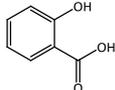
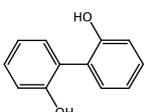
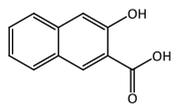
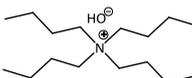
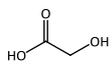
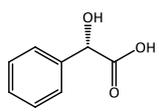
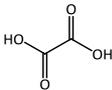
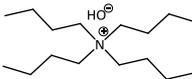
Post-traitement	Détails du post-traitement	Structure	Configuration du Bore	Analyses	η	Réf.
– Recristallisation hexane/toluène	<ul style="list-style-type: none"> Après 3 h de reflux, le milieu réactionnel est évaporé à sec. La poudre blanche ainsi obtenu est recristallisée dans un mélange hexane/toluène suivant le cas. 	Cage (Tétramère ou hexamère)		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B , ^{31}P DRX HR-SM Anal. Él.	12-50 %	23
– Filtration du filtrat	– Après refroidissement à TA, filtration de la suspension	Polymère (Chaîne)		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B GPC	85-94 % (255 mg)	24
– Évaporation	– Évaporation à sec sous pression réduite pour obtenir le produit pur et cristallisé	Polymère (Chaîne)		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B IR SM	69 % (243 mg)	25
– Précipitation pendant la réaction	– Les deux précurseurs sont mis en suspension dans 1 mL de mélange de solvants	Macrocycle $\phi = 30 \text{ \AA}$		DRX	-	26
– Filtration	– L'autoclave est mis à 150 °C pendant 3 jours	Macrocycle $\phi = 27 \text{ \AA}$		BET		27
– Filtration	– Un précipité est formé, filtré puis rincé avec 30 mL d'acétone anhydre.	Macrocycle $\phi \approx 32 \text{ \AA}$		MET		28
– Filtration	– Précipitation du produit pendant la réaction	Macrocycle $\phi = 32 \text{ \AA}$		Anal. Él.	73 % (15 mg)	27
– Filtration	– Filtration et lavage à l'acétone	Macrocycle $\phi \approx 32 \text{ \AA}$		DRX		28
– Filtration	– Séchage sous-vide à 85 °C	Macrocycle $\phi \approx 32 \text{ \AA}$		BET		28
– Filtration	– Séchage sous-vide à 85 °C	Macrocycle $\phi \approx 32 \text{ \AA}$		IR (KBr)	67 % (530 mg)	28
– Filtration	– Filtration et lavage à l'acétone	Macrocycle $\phi = 32 \text{ \AA}$	Anal. Él.		28	
– Filtration	– Séchage sous-vide à 85 °C	Macrocycle $\phi = 32 \text{ \AA}$	DRX		28	
– Centrifugation	En Schlenk : – Précipitation du produit pendant la réaction	Macrocycle $\phi = 32 \text{ \AA}$	RMN ^1H , ^{13}C , MALDI-TOF, SM, IR, MET, DRX, BET	90 % (123 mg)	29	
– Filtration	– Isolation par centrifugation et lavage à l'aide d'acétone anhydre	Polymère	RMN ^1H , ^{13}C (CDCl ₃) IR FAB-SM	96 % (38,8 mg)	30	
– Filtration	– Solubilisation progressive des précurseurs	Macrocycle [2+2] + Naphtalène		Polymère insoluble		
– Filtration	– Précipitation du produit pendant la réaction	Macrocycle [3+3] + Triphénylène		87 %		
– Filtration	– Concentration du milieu réactionnel	Macrocycle [3+3] + Triphénylène		86 %		
– Filtration	– Filtration et lavage au CHCl ₃	Macrocycle [3+3] + Triphénylène				
– Filtration	– Séchage sous-vide d'une poudre blanche	Macrocycle [3+3] + Triphénylène				

N°	Acide boronique	Diol	Autre réactif	Conditions de synthèse	Nombre d'équivalents (n)	
21				MeOH/Toluène, 2/1, 9 mL, TA, 30 min	1,1/1,13 (x 10 ⁻¹ mmol)	
22					1,1/1,13 (x 10 ⁻¹ mmol)	
23			-	THF, 15 mL, 5 jours + Tamis moléculaire 4 Å	0,671/0,447 (x 1 mmol)	
24			BF ₃ OEt ₂	Mésitylène/DCE, 1/1, 1,5 mL, 120 °C, Tube scellé, 6 jours	11/4/12 (x 10 ⁻² mmol)	
25			-	THF/MeOH, 98/2, 12 mL, Ar, Reflux, 72 h	1 / 2,5 (x 1 mmol)	
26			-	Mésitylène ^{Anh.} /Dioxane ^{Anh.} , 1/1, 50 mL, Ar, 85 °C, Tube scellé, 5 jours	1,2/1,2 (x 1 mmol)	
27				-	MeOH, 6,8 mL, TA, 2/3 jours	1,6/2,2 (x 10 ⁻¹ mmol)
28			Benzène ou Toluène (220 éq.) p-xylène ou m-xylène (29 éq.)			
29			o-xylène (0,66 et 29 éq.)			
30		-	CHCl ₃ , 40 mL, Ar, 100 °C, Tube scellé, 1 nuit	67/100 (x 10 ⁻³ mmol)		

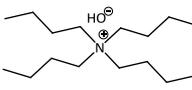
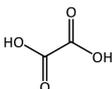
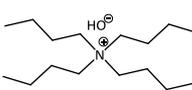
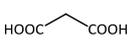
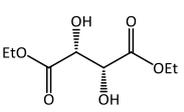
Post-traitement	Détails du post-traitement	Structure	Configuration du Bore	Analyses	η	Réf.	
– Filtration	– Précipitation du produit pendant la réaction – Filtration Changement de la structure du macrocycle possible par solubilisation des produits, respectivement, dans le benzène ou le toluène pur.	Macrocycle [2+2] + 1 Toluène		RMN ^1H , ^{13}C (CDCl_3)	90 % (41,8 mg)	30	
		Macrocycle [3+3] + 2 Benzène		IR (KBr) DRX	94 %		
– Filtration – Lavage au THF – Dissolution au CHCl_3 – Séché sous-vide	– Solubilisation des précurseurs dans le THF – Ajout du tamis moléculaire – Après plusieurs jours, apparition d'un précipité – Précipitation ou non, suivant le cas, à l'hexane – Filtration, lavage au THF ou à l'hexane – Solubilisation au CHCl_3 (pour R = nBu) – Séchage sous-vide	Cube [12+8] $\varnothing \approx 32 \text{ \AA}$		RMN ^1H , DOSY IR MALDI-TOF SM	53-94 % (137 mg)	31	
		– Filtration – Après 15 min de sonication, la suspension est transvasée dans un tube scellé – Après 6 jours, la réaction est laissée refroidir à TA – Le précipité est filtré, rincé avec du CH_3CN anhydre puis séché		Macrocycle [2+1] $\varnothing \approx 23 \text{ \AA}$	RMN ^1H MALDI-TOF IR (ATR) DRX ATG	48 % (16 mg)	32
– Filtration	– Départ d'une suspension et précipitation du produit pendant la réaction – Refroidissement à TA – Filtration, lavage au THF et séchage sous-vide à 70 °C pendant 24 h	Macrocycle $\varnothing = 18 \text{ \AA}$		RMN ^1H , ^{11}B IR DRX	85-95 %	33	
– Filtration	– Précipitation du produit pendant la réaction – Filtration et lavage à l'acétone – Séchage sous-vide à 85 °C	Macrocycle $\varnothing \approx 7 \text{ \AA}$		Anal. Elt. IR (KBr) DRX	76 % (580 mg)	28	
– Filtration – Recristallisation toluène/pentane ou $\text{CHCl}_3/\text{Et}_2\text{O}$	– Précipitation du produit pendant la réaction – Recristallisation par diffusion lente de pentane dans le Toluène ou d' Et_2O dans le CHCl_3	Cage [3+2]			RMN ^1H , ^{13}C	90 % (69,4 mg)	34
		Cage [3+2] + solvant			DRX IR (KBr)	80-90 %	
		Cage [3+2] + xylène			FAB-SM	90 %	
– Précipitation à l'hexane – Filtration	– Départ d'une suspension – Dégazage à l'Ar puis scellage du tube – Après une nuit, obtention d'une solution – Concentration ($V < 5 \text{ mL}$), précipitation à l'hexane et filtration	Cage [8+12] hexagonale $\varnothing = 30,3 \text{ \AA}$			RMN ^1H , ^{13}C IR (KBr) Anal. Él.	-	35

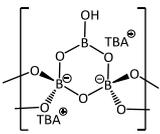
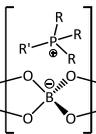
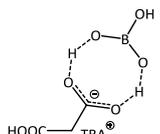
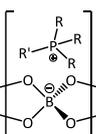
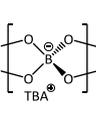
N°	Précurseur au bore	Diol	Autre réactif	Conditions de synthèse	Nombre d'équivalents (n)
31			Et ₃ N ou Bu ₃ N	CD ₃ OD/CD ₃ CN, 4/1, (ou DMSO/CD ₃ OD), TA	1/1/3 (x 10 ⁻¹ mmol)
32	B(OCH ₃) ₃		(Et ₃ N)	MeOH/Et ₃ N, 5/1, 6 mL, 160 °C, Tube scellé, 2 jours	2,9/2,6 (x 10 ⁻¹ mmol)
33			 (Benzyl-diéthylamine, BzEt ₂ N)	MeOH/BzEt ₂ N, 10/3, 1,3 mL, 160 °C, Tube scellé, 2 jours	1,7/1 (x 10 ⁻¹ mmol)
34				MeOH, 5 mL, 160 °C, Tube scellé, 2 jours	2,5/2,5/0,6 (x 1 mmol)
35			-	DMF, 20 mL, Ar, Reflux, 12 h	2/2 (x 1 mmol)
36	B(OH) ₃			H ₂ O, 6 mL, 60 °C, 40 min	1/2/1 (x 9,1 mmol)
37			 (TBAOH, à 40 % massique dans H ₂ O)	H ₂ O, 33 mL, 60 °C, 1 h 10	1/2/1 (x 50 mmol)
38				H ₂ O, 31,2 mL, 30-40 °C, 30 min	1/2/1 (x 32 mmol)

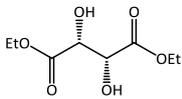
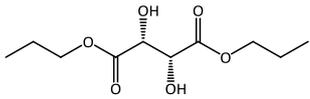
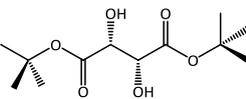
Post-traitement	Détails du post-traitement	Structure	Configuration du Bore	Analyses	η	Réf.
-	Non-isolé, synthèse réalisée directement dans le tube RMN. Auto-assemblage non-formé en milieu protique sans Et ₃ N ou Bu ₃ N. Auto-Assemblage détruit en milieu acide.	-		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B FAB- et ESI-SM	-	36, 37
- Filtration	- Précipitation de cristaux incolores - Lavage au MeOH - Séchage à l'air	Macrocycle [4+4+4] Ø = 13,2 Å Macrocycle [4+4+4] Macrocycle [4+4+4] + 4 MeOH		RMN Anal. Élt. DRX	53 % (67,3 mg) 62 % (34,7 mg) 41 % (468 mg)	6
- Précipitation dans l'Et ₂ O - Filtration - Recristallisation DMF/Et ₂ O	- Concentration du milieu réactionnel (jusqu'à 3 mL) - Ajout au goutte-à-goutte du brut réactionnel dans 50 mL d'Et ₂ O sous forte agitation - Précipitation, filtration, lavage (Et ₂ O) - Séchage sous-vide puis recristallisation par diffusion de vapeur d'Et ₂ O dans le DMF	Macrocycle [3+3] Ø = 17 Å Double interaction « Host-Guest »		RMN ¹ H, ¹³ C IR (KBr) DRX ESI-SM	84 % (794 mg)	7
- Obtention d'un solide blanc - Filtration - Recristallisation THF	- Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium - Ajout du catéchol par portion - La solution est agitée pendant 10 min à TA, puis à 60 °C pendant 30 min - Obtention d'un solide blanc lavé avec de l'hexane - Recristallisation dans le THF	Cristaux sous forme d'aiguille blanche		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM	75 % (3,2 g)	3
- Obtention d'un solide blanc - Filtration - Recristallisation MeOH/Et ₂ O	- Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium - 1 équivalent d'alcool salicylique est ajouté - La solution est agitée pendant 10 min à 60 °C - Le second équivalent d'alcool salicylique est ajouté au milieu réactionnel devenu visqueux - Le milieu réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 1 h - Obtention d'un solide blanc lavé avec Et ₂ O et recristallisé dans MeOH/Et ₂ O				53 % (14,0 g)	
- Obtention d'un solide blanc - Filtration - Séchage à 110 °C - Recristallisation THF	- Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium et 10 mL d'H ₂ O - Le Naphtalène-2,3-diol est ajouté par portion à 30-40 °C sur 30 min - Un précipité blanc se forme, le milieu réactionnel est concentré puis filtré - Le produit est séché à 110 °C puis recristallisé dans le THF	Cristallin		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM Anal. Élt.	35 % (6,4 g)	9

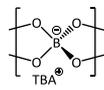
N°	Acide borique	Diol	Autre réactif	Conditions de synthèse	Nombre d'équivalents (n)
39	B(OH) ₃		Li ₂ CO ₃ puis 	H ₂ O, 50 mL, 60 °C, 2 h	1/2/0,5/1 (x 10 mmol)
40				H ₂ O, 35,4 mL, 80 °C, 30 min	1/2/1 (x 39 mmol)
41				H ₂ O, 7,1 mL, 80 °C, 30 min	1/2/1 (x 3,2 mmol)
42			(TBAOH, à 40 % massique dans H ₂ O)	H ₂ O, 5,3 mL, 60 °C, 4 h	1/2/1 (x 8,1 mmol)
43				H ₂ O, 5,3 mL, 60 °C, 4 h	1/2/1 (x 8,1 mmol)
44			Li ₂ CO ₃ puis 	H ₂ O, 50 mL, 60 °C, 2 h	1/2/0,5/1 (x 10 mmol)
43				(TBAOH, à 40 % massique dans H ₂ O)	H ₂ O, 7,8 mL, 50 °C, 1 nuit

Post-traitement	Détails du post-traitement	Structure	Configuration du Bore	Analyses	η	Réf.
<ul style="list-style-type: none"> – Extraction au CH₂Cl₂ – Séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours – Obtention d'un liquide ionique incolore 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide salicylique dans une solution aqueuse contenant Li₂CO₃ et B(OH)₃ – Le milieu réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 2 h – Une fois redescendu à TA, 1 équivalent de chlorure de tributylsilylphosphonium est ajouté – Le milieu est agité, à TA, pendant 2 h, avant d'extraire la phase organique à l'aide de 80 mL de CH₂Cl₂ – Après lavage de la phase organique par 3 x 100 mL d'H₂O, elle est concentrée par séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours 	Liquide ionique incolore		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B, ³¹ P SM	88 % (5,28 g)	17, 38
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Filtration – Séchage – Recristallisation MeOH 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium et 10 mL d'H₂O – Le diol est ajouté par portion à 60 °C sur 10 min 	Cristaux sous forme d'aiguille blanche		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM DRX Anal. Élt.	64 % (15,6 g)	9
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Filtration – Séchage – Recristallisation THF/ACN 	<ul style="list-style-type: none"> – Le milieu réactionnel est chauffé à 80 °C pendant 30 min – Le précipité est filtré et séché – Recristallisation dans MeOH ou dans THF/ACN 	Solide cristallin jaunâtre		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM Anal. Élt	50 % (1,0 g)	
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Séché sous-vide, à chaud puis sous P₂O₅ – Recristallisation iso-propanol/ Et₂O 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium – L'acide est ajouté par portion à 30 °C – La solution est agitée pendant 4 h à 60 °C – Le solide blanc obtenu est séché sous-vide à 80 °C puis toujours sous-vide en présence de P₂O₅ – Recristallisation dans un mélange iso-propanol/Et₂O à - 25 °C 	Solide cristallin blanc		IR (KBr) SM Anal. Élt	74 % (2,4 g)	11
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Séché sous-vide, à chaud puis sous P₂O₅ – Recristallisation iso-propanol/ Et₂O 	<ul style="list-style-type: none"> – Le solide blanc obtenu est séché sous-vide à 80 °C puis toujours sous-vide en présence de P₂O₅ – Recristallisation dans un mélange iso-propanol/Et₂O à - 25 °C 			IR (KBr) SM Anal. Élt	54 % (2,4 g)	11
<ul style="list-style-type: none"> – Extraction au CH₂Cl₂ – Séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours – Obtention d'un liquide ionique incolore 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide mandélique dans une solution aqueuse contenant Li₂CO₃ et B(OH)₃ – Le milieu réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 2 h – Une fois redescendu à TA, 1 équivalent de chlorure de tributylsilylphosphonium est ajouté – Le milieu est agité, à TA, pendant 2 h, avant d'extraire la phase organique à l'aide de 80 mL de CH₂Cl₂ – Après lavage de la phase organique par 3 x 100 mL d'H₂O, elle est concentrée par séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours 	Liquide ionique incolore		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B, ³¹ P SM	81 % (5,75 g)	14, 16, 38
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Séché sous-vide, à chaud puis sous P₂O₅ – Recristallisation MeOH 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium – L'acide est ajouté par portion à 50 °C – La solution est agitée à 50 °C pendant une nuit – Le solide blanc obtenu est séché sous-vide à 80 °C puis toujours sous-vide en présence de P₂O₅ – Recristallisation dans MeOH à TA 	Cristaux incolores		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM Anal. Élt.	80 % (4,1 g)	11

N°	Acide borique	Diol	Autre réactif	Conditions de synthèse	Nombre d'équivalents (n)
46	B(OH) ₃		 (TBAOH, à 40 % massique dans H ₂ O)	H ₂ O, 7,8 mL, 50 °C, 1 nuit	1/2,75/1 (x 12 mmol)
47			Li ₂ CO ₃ puis 	H ₂ O, 50 mL, 60 °C, 2 h	1/2/0,5/1 (x 10 mmol)
48			 (TBAOH, à 40 % massique dans H ₂ O)	H ₂ O, 16 mL, TA, 10 min	1/2/1 (x 24 mmol)
49			Li ₂ CO ₃ puis 	H ₂ O, 50 mL, 60 °C, 2 h	1/2/0,5/1 (x 10 mmol)
50			KHCO ₃	H ₂ O, 3 mL, TA, 20 min	1/2/1 (x 8,1 mmol)

Post-traitement	Détails du post-traitement	Structure	Configuration du Bore	Analyses	η	Réf.
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Filtration – Recristallisation ACN 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium – L'acide est ajouté en 3 portions sur 10 min – La solution est ensuite agitée à TA pendant 10 min – Le solide blanc obtenu est filtré puis séché – Recristallisation dans ACN à TA 	Cristaux incolores		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B IR (KBr) DRX	33 % (2,3 g)	11
<ul style="list-style-type: none"> – Extraction au CH_2Cl_2 – Séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours – Obtention d'un liquide incolore 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide oxalique dans une solution aqueuse contenant Li_2CO_3 et $\text{B}(\text{OH})_3$ – Le milieu réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 2 h – Une fois redescendu à TA, 1 équivalent de chlorure de tributylcloctylphosphonium est ajouté – Le milieu est agité, à TA, pendant 2 h, avant d'extraire la phase organique à l'aide de 80 mL de CH_2Cl_2 – Après lavage de la phase organique par 3 x 100 mL d'H_2O, elle est concentrée par séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours 	Liquide ionique incolore		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B , ^{31}P SM	85 % (5,70 g)	18, 19, 38
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Filtration – Recristallisation ACN/Et_2O 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium – L'acide est ajouté en 3 portions sur 10 min – La solution est ensuite agitée à TA pendant 10 min – Le solide blanc obtenu est filtré puis séché – Recristallisation dans ACN/Et_2O à TA 	Cristaux incolores		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B IR (KBr) DRX Anal. Élt.	49 % (4,7 g)	11
<ul style="list-style-type: none"> – Extraction au CH_2Cl_2 – Séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours – Obtention d'un liquide incolore 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide malonique dans une solution aqueuse contenant Li_2CO_3 et $\text{B}(\text{OH})_3$ – Le milieu réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 2 h – Une fois redescendu à TA, 1 équivalent de chlorure de tributylcloctylphosphonium est ajouté – Le milieu est agité, à TA, pendant 2 h, avant d'extraire la phase organique à l'aide de 80 mL de CH_2Cl_2 – Après lavage de la phase organique par 3 x 100 mL d'H_2O, elle est concentrée par séchage sous-vide à 60 °C pendant 2 jours 	Liquide ionique incolore		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B , ^{31}P SM	88 % (6,15 g)	38
<ul style="list-style-type: none"> – Évaporation de l'eau par formation d'azéotrope avec le MeOH – Cristallisation à TA – Filtration, lavage, séchage 	<ul style="list-style-type: none"> – Solubilisation de l'acide borique dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium – L'acide est ajouté par portion – Évaporation de l'eau par formation de l'azéotrope avec le MeOH (50 mL) à 50 °C à l'évaporateur rotatif (étape répétée 4 fois) pour obtenir une huile – Après 3 mois d'évaporation à TA, obtention d'aiguilles blanches – Filtrées, lavées avec du THF froid puis séchées 	Cristaux sous forme d'aiguille blanche		RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B IR (KBr) SM DRX Anal. Élt.	12 % (0,20 g)	3

N°	Acide borique	Diol	Autre réactif	Conditions de synthèse	Nombre d'équivalents (n)
51	B(OH) ₃		KHCO ₃	H ₂ O, 3 mL, TA, 20 min	1/2/1 (x 8,1 mmol)
52					
53					1/2/1 (x 7,6 mmol)

Post-traitement	Détails du post-traitement	Structure	Configuration du Bore	Analyses	η	Réf.
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Filtration, lavage (acétone), séchage 	<ul style="list-style-type: none"> – Ajout au goutte-à-goutte de tartrate de diéthyl dans une solution de B(OH)₃ et de KHCO₃ dans H₂O – Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 20 min – Le précipité formé est filtré, lavé avec de l'acétone, ou Et₂O, et séché 	Poudre blanche		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM DRX Anal. Élt.	93 % (3,4 g)	3
<ul style="list-style-type: none"> – Obtention d'un solide blanc – Filtration, lavage (Et₂O), séchage 	<p>Échange du cation (K⁺ en TBA⁺) possible par dissolution du produit dans du DCM (30 mL) en présence de TBABr, à TA, pendant une nuit. Filtration du sel de KBr, puis évaporation à sec pour obtenir le produit (80 % <math>\eta</math> <math>< 100\%</math>).</p>			RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM Anal. Élt.	80 % (3,4 g)	
<ul style="list-style-type: none"> – Évaporation de l'eau par formation d'un azéotrope avec l'ACN 	<ul style="list-style-type: none"> – Ajout au goutte-à-goutte de tartrate de diéthyl dans une solution de B(OH)₃ et de KHCO₃ dans H₂O – Le milieu réactionnel est agité à TA jusqu'à ce qu'aucun dégagement gazeux de CO₂ ne soit observé – Évaporation de l'eau par formation d'un azéotrope avec l'ACN (160 mL) – Lorsque le volume atteint ~ 40 mL, évaporation des solvants sous-vide à 50 °C – Obtention d'une huile incolore très visqueuse <p>Échange du cation (K⁺ en TBA⁺) possible par dissolution du produit dans du DCM (30 mL) en présence de TBABr, à TA, pendant une nuit. Filtration du sel de KBr, puis évaporation à sec pour obtenir le produit en quantité quantitative.</p>	Huile visqueuse incolore		RMN ¹ H, ¹³ C, ¹¹ B IR (KBr) SM Anal. Élt.	100 % (4,3 g)	

B. Élaboration de complexes à partir du catéchol

1. Complexation du benzoxaborole simple

a. Synthèse

La synthèse du complexe benzoxaborole (**7**) / catéchol (**79**) a été réalisée par simple solubilisation des deux précurseurs dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole (Figure IV.8). Après quelques minutes d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel a pris en masse. Le brut réactionnel se présente sous la forme d'un solide. Il est pur, d'après les analyses RMN ^1H et ^{11}B , et il a été cristallisé dans un minimum de THF.

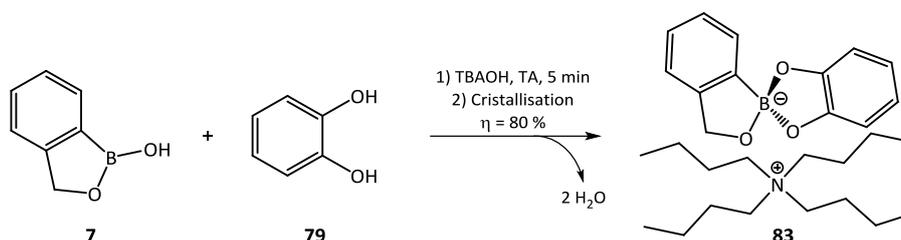


Figure IV.8 : Bilan réactionnel de la synthèse du complexe benzoxaborole/catéchol (**83**), stabilisé par le contre-cation TBA.

Le produit **83** est ainsi obtenu, sous forme de plaquettes, avec un bon rendement (80 %).

b. Caractérisation

Le complexe a été caractérisé par différentes techniques.

Les spectres RMN 1D (^1H , ^{13}C , ^{11}B), 2D $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY (COrrelation Spectroscopy), 2D $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC (Heteronuclear Single-Quantum Correlation) et 2D $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation), ont été analysés (Figure IV.9 pour les spectres 1D, et en annexe pour les données 2D).

Les mêmes tendances s'observent ici que dans les études de complexation par RMN multi-nucléaire (chapitre III de cette thèse). De manière générale, un décalage vers les déplacements chimiques plus faibles s'observe pour les signaux du complexe à la fois en RMN ^1H et ^{11}B . En RMN ^1H , le groupement méthylène caractéristique du benzoxaborole libre, qui résonne à 5,1 ppm, est blindé à 4,8 ppm. Pour le catéchol, les signaux des protons aromatiques, observables entre 6,9 et 6,7 ppm, se groupent en un singulet élargi à 6,5 ppm. Ce phénomène avait été observé, au chapitre III de cette thèse, lors de l'étude de la complexation par RMN ^1H du benzoxaborole avec le catéchol dans les deux milieux étudiés. Enfin, en RMN ^{11}B , un décalage vers les signaux plus blindés est observé, de 33 ppm à 15 ppm, confirmant le passage d'un bore trigonal plan à un bore tétraédrique, et donc la formation du complexe désiré. De plus, la largeur à mi-hauteur du pic du ^{11}B diminue une fois le complexe formé³⁹ : **7** a un $\Delta\delta = 123$ Hz (soit 0,77 ppm) tandis que **83** a un $\Delta\delta = 109$ Hz (soit 0,68 ppm). Cet affinement du pic confirme le passage du bore trigonal plan au bore tétraédrique. En effet, le passage à une géométrie tétraédrique, plus symétrique, réduit l'effet du moment quadropolaire électrique et donc la largeur à mi-hauteur du pic.⁴⁰ Il est important de noter que le signal RMN ^{11}B de l'atome de bore trigonal plan de **7**, enregistré

dans d'autre milieu deutéré, est généralement plus large ($\Delta\delta = 379$ et 195 Hz dans le DMSO- d_6 et le D_2O , respectivement). L'affinement du pic dans le CD_2Cl_2 pourrait être dû à la faible viscosité de ce solvant.⁴⁰

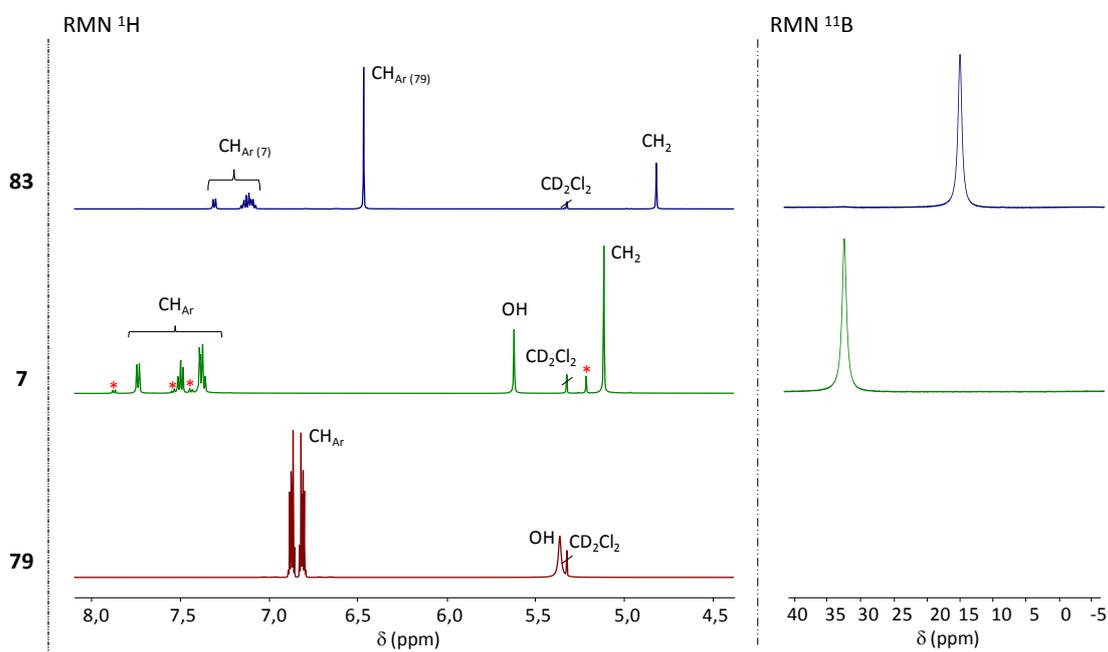
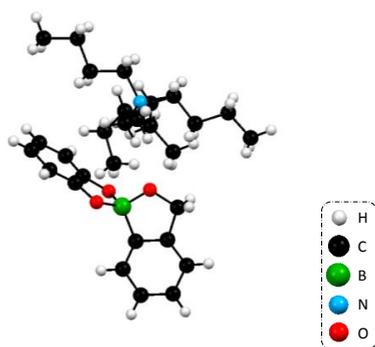


Figure IV.9 : Spectres RMN 1H et ^{11}B du complexe **83 superposé aux deux précurseurs **7** et **79** dans le CD_2Cl_2 (500 MHz). Les pics signalés par * sur le spectre 1H de **7** illustrent une autre forme de **7** dans le solvant deutéré (CD_2Cl_2) : ces pics ne sont pas observés dans d'autres solvants deutérés (DMSO- d_6 et D_2O). La région caractéristique du cation TBA $^+$ n'est pas montrée ici pour le complexe **83**.**

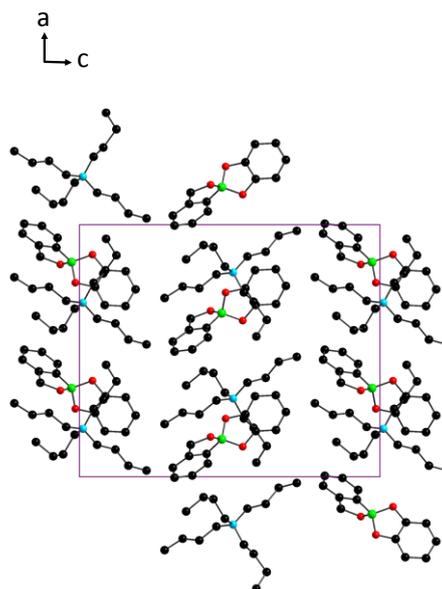
L'obtention de monocristaux a permis de confirmer la structure du complexe (Figure IV.10).

Dans la structure cristalline de **83**, l'alternance entre les anions et les cations dans la structure du monocristal confirme la compensation de la charge formelle formée lors de la complexation par le contre-cation TBA $^+$. De plus, d'un point de vue structural, l'environnement local de l'atome de bore de **83** a une géométrie plus proche de celle de l'anion benzoxaborolate (**9**)⁴¹ que du benzoxaborole (**7**)⁴².

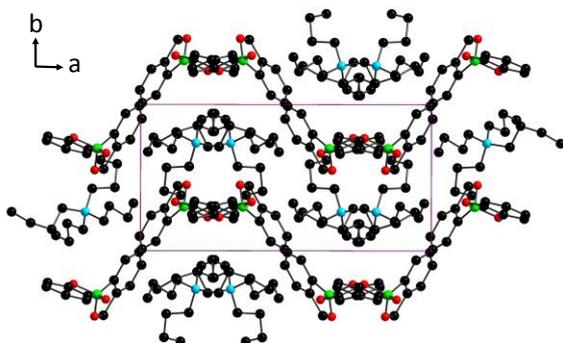
a) Agrandissement sur un complexe et le contre-cation TBA



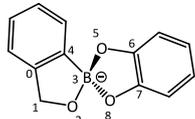
b) Projection suivant l'axe b



c) Projection suivant l'axe c



d) Comparaison des distances dans le complexe 83 avec celles des structures cristallines contenant le benzoxaborole (7) ou le benzoxaborolate (9)



	7 ⁴²	9 ⁴¹	83
$d(\text{B}_3 \dots \text{O}_2)$ (Å)	1,35	1,51	1,47
$d(\text{B}_3 \dots \text{O}_5)$ (Å)	1,40	1,47	1,50
$d(\text{B}_3 \dots \text{O}_8)$ (Å)	-	1,49	1,53
$d(\text{B}_3 \dots \text{C}_4)$ (Å)	1,55	1,61	1,63
$d(\text{C}_1 \dots \text{O}_2)$ (Å)	1,45	1,43	1,42

Figure IV.10 : Structure obtenue par diffraction des rayons X sur monocristal du complexe **83** : l'agrandissement sur le complexe **83** (a), et les projections suivant les axes b (b) et c (c) (les protons sont omis dans ces cas pour plus de clarté). d) Comparaison des distances dans le complexe **83** avec les structures cristallines contenant du benzoxaborole (7)⁴² ou du benzoxaborolate (9)⁴¹.

c. Conclusion

Le complexe **83** entre le benzoxaborole simple et le catéchol a été obtenu et isolé. Le contre-cation TBA⁺ compense la charge formelle du bore tétraédrique. La cristallisation du complexe nous indique que la liaison covalente réversible entre le diol et le benzoxaborole est assez stable. Cependant, la force de cette complexation est limitée en présence de solvants de type alcool (MeOH, EtOH, ...). En effet, le complexe se dégrade partiellement dans ce type de solvants.

2. Complexation du squarate-bisbenzoxaborole

Les résultats recueillis au travers de **83** étant prometteurs, la complexation d'un bisbenzoxaborole par deux catéchols a été réalisée. Le squarate-bisbenzoxaborole (**75**) a été choisi pour effectuer ces tests.

a. Synthèse

Le protocole de synthèse précédent (utilisé pour former le complexe **83**) n'a pas fonctionné avec le squarate-bisbenzoxaborole (**75**). Deux problèmes se superposent et empêchent la formation du complexe. Le protocole de synthèse a donc été modifié pour contrer ces deux difficultés et réussir à former ce nouveau complexe.

La première difficulté est la faible solubilité du squarate-bisbenzoxaborole dans la solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium. Les précurseurs ont donc été préalablement dissous dans un minimum de DMSO. La seconde difficulté a été de parvenir à moduler les conditions de synthèse afin de favoriser la complexation plutôt que la dégradation du **75** dans le mélange TBAOH/DMSO, **75** se dégradant rapidement dans ce milieu.

Le nouveau protocole a consisté à dissoudre les deux précurseurs (**75** et **79**) dans un minimum de DMSO. Une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) a alors été ajoutée à hauteur de deux équivalents de TBAOH par rapport au bisbenzoxaborole. La complexation a ensuite été forcée par déshydratation. L'eau a été entraînée et évaporée en même temps que le DMSO, en chauffant le milieu réactionnel à 55 °C sous-vide (Figure IV.11).

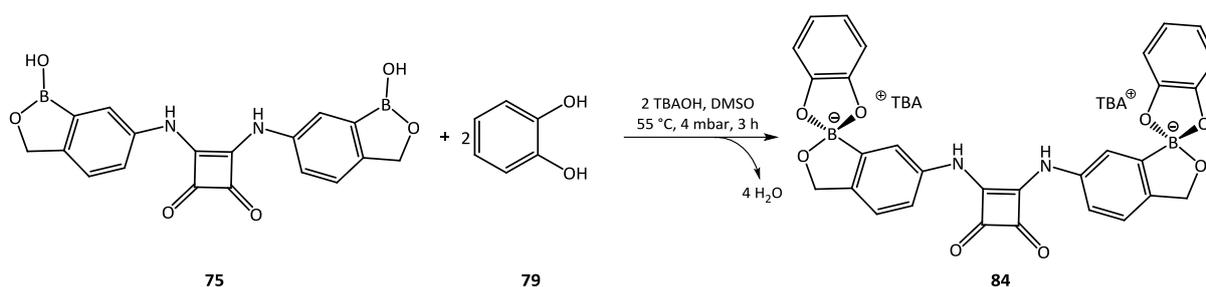


Figure IV.11 : Bilan réactionnel de la formation du complexe **84**.

b. Caractérisation

Le brut réactionnel a été analysé par RMN ¹H et ¹¹B (Figure IV.12).

La majorité des signaux ¹H du complexe sont moins blindés que ceux des molécules libres dans le même milieu (DMSO + solution aqueuse de TBAOH), alors sous sa forme bisbenzoxaborolate, ce qui montre qu'un nouveau produit s'est formé. De plus, si nous comparons le déplacement chimique des protons des groupements méthylène du complexe **84** (4,61 ppm) par rapport à celui de la molécule **75** libre dans le DMSO seul (4,97 ppm), nous observons bien un décalage vers les plus faibles déplacements chimiques comme attendu.³⁹ Néanmoins, au vu des spectres RMN enregistrés, le produit **84** n'est pas pur. Le produit n'ayant pas été isolé pur à l'heure actuelle, ces spectres ont quand même été analysés. En allant plus loin dans l'analyse du spectre ¹H du complexe **84**, une symétrie du complexe est déduite. En effet, le spectre est simple, avec seulement quatre jeux de signaux pour les protons aromatiques : trois signaux pour les protons aromatiques non-équivalents du motif bisbenzoxaborole et l'autre pour les protons du catéchol. Ceci atteste la présence d'un axe de symétrie

dans la molécule conformément à ce qu'on attendait pour la complexation des deux motifs benzoxaborole de **75** par un catéchol. Comme en RMN ^1H , la RMN ^{11}B montre un décalage vers les signaux moins blindés, de 9 ppm à 15 ppm. Le même déplacement chimique du signal de l'atome de bore (15 ppm) avait été obtenu pour le complexe **83**. Cependant, la comparaison des largeurs à mi-hauteur des pics RMN ^{11}B du composé **75** (en présence de 4 équivalents de TBAOH) et du complexe **84** montre qu'il y a une augmentation de $\Delta\delta = 395$ à 590 Hz (soit 2,5 à 3,7 ppm) pour, respectivement, **75** (+ 4 équivalents de TBAOH) et **84**. Cet élargissement du pic peut être expliqué par la formation du complexe. L'atome de bore complexé par le motif catéchol est plus encombré que l'atome de bore (sous la forme tétraédrique, substitué par deux groupements hydroxydes) de **75** en présence de 4 équivalents de TBAOH. Cet encombrement stérique pourrait dans le cas des noyaux quadrupolaires, comme le ^{11}B , impliquer un élargissement des pics.

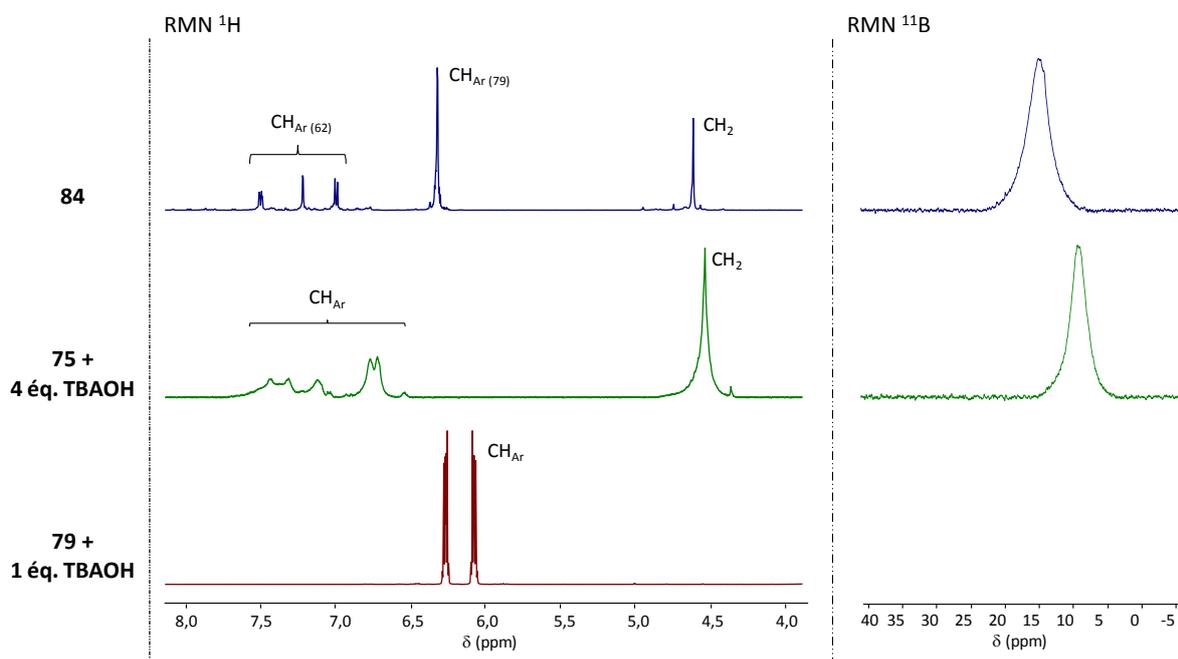


Figure IV.12 : Spectres RMN ^1H et ^{11}B (500 MHz, DMSO.d^6) du brut du complexe **84** superposé aux deux précurseurs (**75** et **79**) en présence de TBAOH (4 équivalents pour **75** et 1 équivalent pour **79**). Le même spectre ^1H est obtenu pour **75** en présence de 2 équivalents de TBAOH.

La formation du complexe **84** est finalement confirmée par enregistrement d'une RMN ^1H 2D DOSY (Diffusion Order Spectroscopy). La DOSY permet de déterminer les coefficients de diffusion, D ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$), de chaque entité. La définition de ce coefficient a été donnée dans le chapitre III (Chapitre III.B.1.a).

Ce coefficient de diffusion, inversement proportionnel au rayon hydrodynamique (r_s) de chaque entité, informe dans notre cas sur la formation (ou non) d'une entité plus volumineuse en solution. Dans des tubes indépendants, les coefficients de diffusion du catéchol (**79**) libre et du complexe (**84**) ont été mesurés (Figure IV.13). Malheureusement, le squarate-bisbenzoxaborole (**75**) seul se dégradant trop rapidement dans ce milieu, son spectre DOSY n'a pas pu être enregistré. La comparaison des spectres DOSY de **79** et **84** met en évidence la formation d'une nouvelle entité plus volumineuse, avec un coefficient de diffusion plus faible ($1,58.10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$, contre $3,52.10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ pour le catéchol libre). Enfin, nous pouvons noter que le contre-cation TBA^+ possède le même coefficient de diffusion pour les

deux spectres : catéchol libre ou complexe **84**. Les deux entités ioniques du complexe **84** ne forment donc pas de paire d'ion dans le milieu utilisé (mélange DMSO + solution aqueuse de TBAOH).

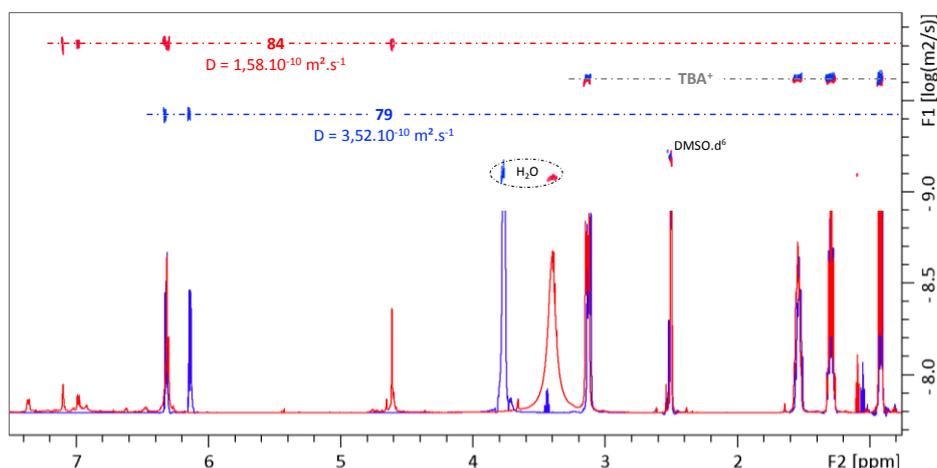


Figure IV.13 : Spectres RMN ^1H 2D DOSY de **79** en présence d'un équivalent de TBAOH (en bleu) et du complexe **84** (en rouge) dans le DMSO. d^6 .

Toutes ces analyses convergent vers la formation du complexe 1/2 **84**, le brut réactionnel étant majoritairement composé de celui-ci.

c. Conclusion

Malgré une bonne complexation de **75** par deux motifs catéchol, le brut réactionnel n'est pas, à l'heure actuelle, pur. Ce composé, peu soluble, se décomplexe partiellement dès l'ajout d'autres solvants (sans doute à cause de la présence même infime d'eau). Sa purification par cristallisation paraît la plus appropriée, mais aucun monocristal n'a pu être obtenu à ce jour. Un travail reste donc à faire sur le protocole de synthèse et de purification, pour l'isoler pur.

3. Bilan

Le complexe 1/1 **83** a été synthétisé et isolé. La liaison covalente réversible entre le catéchol **79** et le benzoborole **7** est assez forte pour isoler le produit mais pas assez pour rester sous la forme d'un complexe une fois solubilisé dans des solvants de type alcools (MeOH, EtOH). Les tests de cristallisation dans ces milieux ne sont pas concluants et le brut récupéré par évaporation des solvants présente, sur les spectres ^1H ré-enregistrés, une fraction de molécules dé-complexées.

Les tests de complexation avec le squarate-bisbenzoborole (**75**) sont encourageants. Après adaptation du protocole, les premiers résultats montrent bien la formation d'un complexe 1/2 **84**. Un travail d'optimisation du protocole de synthèse et de purification reste à réaliser afin d'obtenir et isoler ce complexe pur.

Enfin, un premier test de complexation de trois benzoboroles sur un 2,3,6,7,10,11-hexahydroxytriphénylène a été réalisé. Les résultats n'ont pas été concluants, mais seul le protocole par simple dissolution dans la solution d'hydroxyde de tétrabutylammonium a été testé à

ce jour. Le second protocole, impliquant la dissolution des précurseurs dans du DMSO puis la concentration du milieu réactionnel par chauffage sous-vide, devra être testé.

C. Élaboration de complexes à partir de l'alcool salicylique

Dans une publication de 2013 de Raines *et al.*, les complexes formant des cycles à six-membres se sont montrés plus stables permettant leur purification par colonne chromatographique ou par extraction.¹² Au vu de ces résultats et de nos premiers tests, les complexations ont été poursuivies avec un diol permettant la formation d'un cycle à six-membres. L'alcool salicylique répond à ces critères.

1. Synthèse du complexe benzoxaborole/alcool salicylique

La synthèse du complexe benzoxaborole (**7**) / alcool salicylique (**85**) a été réalisée par simple solubilisation des deux précurseurs dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole. Après trente minutes d'agitation à reflux, le milieu réactionnel devient très visqueux (Figure IV.14). Le brut réactionnel se présente sous la forme d'une huile visqueuse. Ce produit a été recristallisé par diffusion liquide/liquide d'Et₂O dans un minimum de CHCl₃.

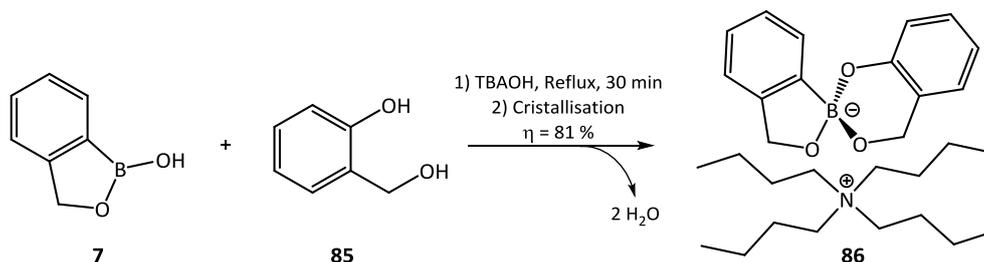


Figure IV.14 : Bilan réactionnel de la synthèse du complexe benzoxaborole/alcool salicylique (**86**), stabilisé par le contre-cation TBA.

Le produit **86** est obtenu pur, sous la forme de plaquettes, avec un bon rendement (81 %).

2. Caractérisation

Les cristaux ont été analysés par RMN ¹H et ¹¹B (Figure IV.15).

Tous les signaux RMN ¹H du complexe sont plus blindés que ceux des molécules libres. La particularité ici est la formation d'un centre asymétrique au niveau de l'atome de bore lors de la complexation. De ce fait, les deux protons des deux groupements méthylène (du benzoxaborole (**7**) et de l'alcool salicylique (**85**)) deviennent non-équivalents. Les protons germinaux H_AH_B couplent l'un avec l'autre. A ce phénomène s'ajoute un fort effet de toit caractéristique des protons H_AH_B, ce qui donne la forme particulière des deux multiplets dans la zone des déplacements chimiques des groupements méthylènes. Tous les signaux ont été attribués à l'aide d'expériences RMN 2D COSY (¹H/¹H), HSQC

($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) et HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$), fournies en annexe. Le multiplet à 4,8 ppm correspond au groupement méthylène de **7** tandis que les signaux du groupement méthylène de **85** se scindent en deux doublets plus distincts à 4,9 et 4,7 ppm. Quant à la RMN ^{11}B , elle montre un décalage du signal à 9 ppm, confirmant le passage d'un bore trigonal plan à un bore tétraédrique, donc la formation du complexe désiré. De plus, la largeur à mi-hauteur du pic de l'atome de bore diminue une fois le complexe formé^{39,40} : **7** a un $\Delta\delta = 123$ Hz (soit 0,77 ppm) tandis que **86** a un $\Delta\delta = 96$ Hz (soit 0,60 ppm). Cet affinement du pic confirme le passage du bore trigonal plan au bore tétraédrique.

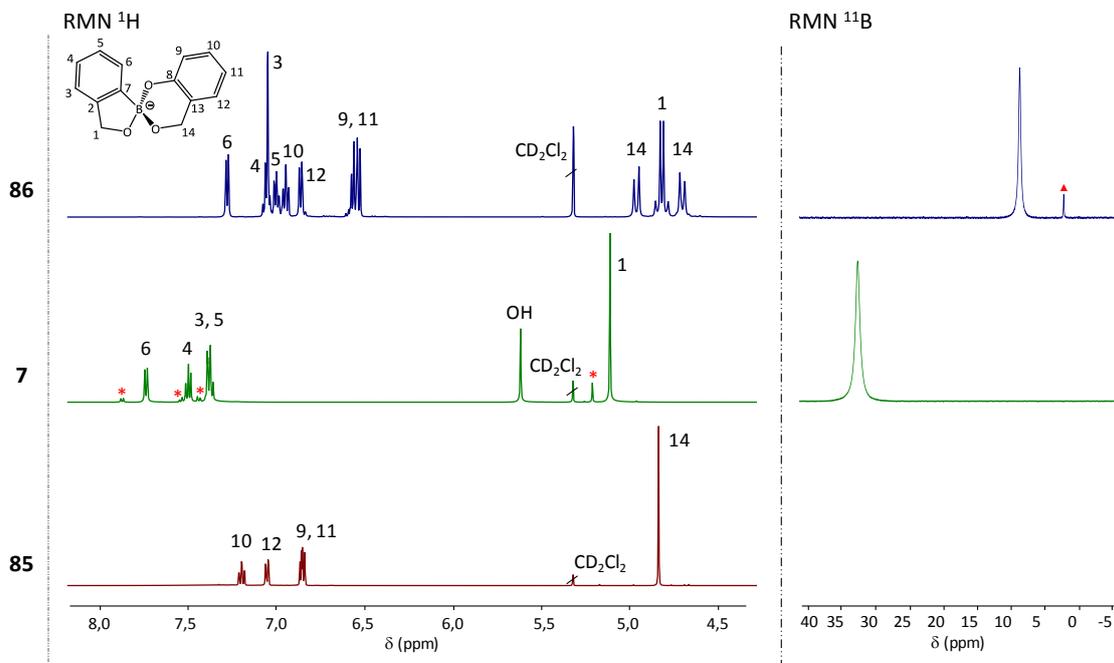


Figure IV.15 : Spectres RMN ^1H et ^{11}B (500 MHz, CD_2Cl_2) du complexe **86** superposé aux deux précurseurs (**7** et **85**). Les pics signalés par * sur le spectre ^1H de **7** illustrent une autre forme de **7** dans le solvant deutéré (CD_2Cl_2) : ces pics ne sont pas observés dans d'autres solvants deutérés (DMSO-d_6 et D_2O). Le pic annoté par \blacktriangle sur le spectre RMN ^{11}B de **86** correspond au déplacement chimique de l'anion borate.

Le signal vers 2 ppm (Figure IV.15) est caractéristique d'un déplacement chimique de borate. La présence de borate dans le milieu réactionnel pourrait être due à la dégradation partielle du benzoxaborole dans le milieu réactionnel, mais aussi à la dégradation du verre du ballon dans lequel la synthèse a été réalisée (constitué partiellement de borosilicates partiellement solubles en milieu basique). Pour étudier ces deux hypothèses, des expériences ont été réalisées (Figure IV.16) :

- le benzoxaborole (**7**) a été dissous dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole. L'évolution du signal de l'atome de bore de **7** alors sous la forme d'un benzoxaborolate **9** a été suivie par RMN ^{11}B (dans du D_2O) à différents temps (10, 20, 30, 60 et 120 minutes suivant les cas) et différentes températures (20, 40, 60, 80 et 100 °C).
- la solution d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) seule a été chauffée à reflux pendant 30 minutes, puis une analyse RMN ^{11}B (dans du D_2O) a été réalisée.

Les résultats sont présentés à la figure IV.16. Dans un premier temps, il est important de noter que la formation de borate est observée dans un milieu réactionnel ne contenant que du TBAOH chauffé à reflux pendant 30 minutes (spectre f de la figure IV.16). Ceci peut être expliqué par la dégradation du

verre du ballon qui entraîne la libération d'anions de type borate. Cependant, la proportion de borate formée reste négligeable puisque le rapport signal/bruit est faible contrairement à celui observé dans le spectre RMN ^{11}B du complexe **86** (Figure IV.15). De plus, la formation de borate est observée en proportion plus considérable dans les tests réalisés en présence de **7**. Dans le milieu contenant **7** en présence d'un équivalent de TBAOH, chauffé à reflux, la proportion de borate augmente au fur et à mesure (spectres c, d et e de la figure IV.16, à reflux, à respectivement 10, 20 et 30 minutes). En baissant la température, la dégradation de **7** en borate est diminuée jusqu'à ce que la dégradation ne soit plus observée à partir de 60 °C et ce même après 2 heures de chauffage (spectre a de la Figure IV.16). Nous pouvons donc conclure que la présence du borate dans le milieu réactionnel est majoritairement dû à la dégradation de **7** dans le milieu mais aussi, en partie, à la dégradation du verre du ballon.

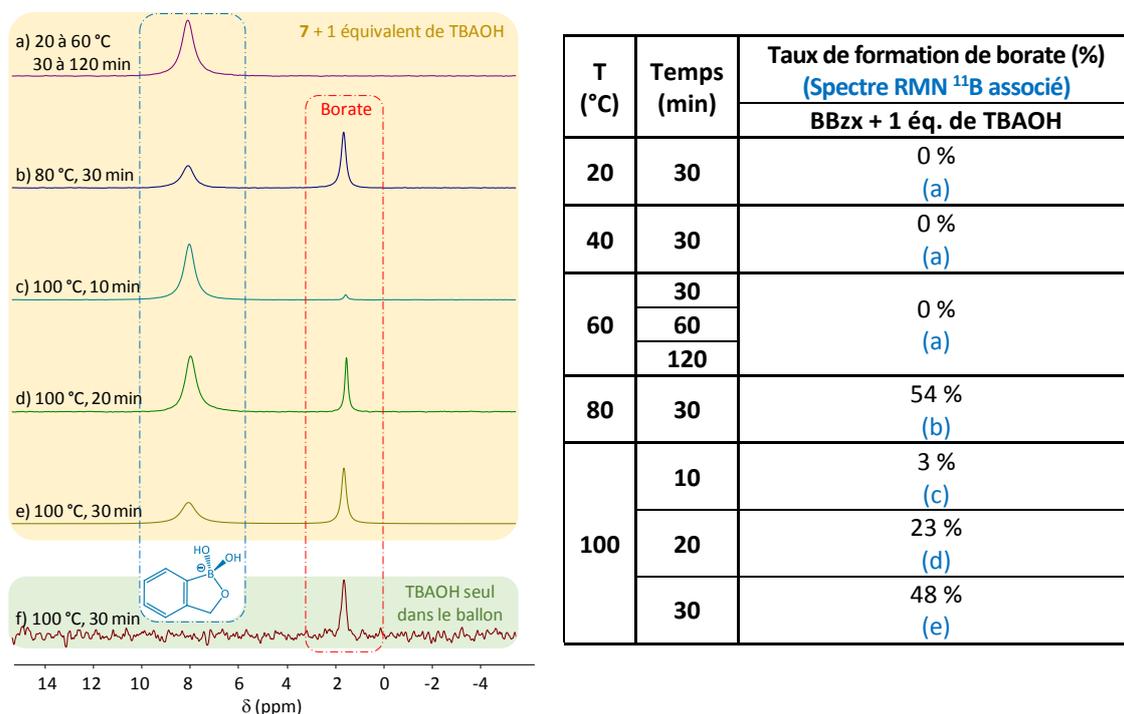


Figure IV.16 : Suivi du taux de formation de borate par RMN ^{11}B (400 MHz, D_2O) par dégradation de :

- (a) **7** en présence d'un équivalent de TBAOH à 20, 40 et 60 °C après 30, 60 et 120 minutes
- (b) **7** en présence d'un équivalent de TBAOH à 80 °C après 30 minutes
- (c) **7** en présence d'un équivalent de TBAOH à reflux pendant 10 minutes
- (d) **7** en présence d'un équivalent de TBAOH à reflux pendant 20 minutes
- (e) **7** en présence d'un équivalent de TBAOH à reflux pendant 30 minutes
- (f) borosilicates du verre du ballon en présence de TBAOH à reflux pendant 30 minutes

Le tableau de droite récapitule le taux de borate formé dans les différents cas (déterminé suivant le rapport des intensités des intégrales).

L'obtention de monocristaux a permis l'enregistrement d'une structure cristallographique par diffraction des rayons X (Figure IV.17).

Le monocristal du complexe **86** met en évidence deux environnements très proche pour les atomes de bore. Les moyennes des distances de liaison intramoléculaires autour de l'atome de bore pour ces

deux environnements sont regroupées dans le tableau fourni dans la figure IV.17 (figure IV.17.b). Le détail des deux environnements (très proches) est donné en annexe de ce chapitre. D'un point de vue structural, l'environnement local de l'atome de bore de **86** a une géométrie plus proche de celle de l'anion benzoxaborolate (**9**)⁴¹ que du benzoxaborole (**7**)⁴².

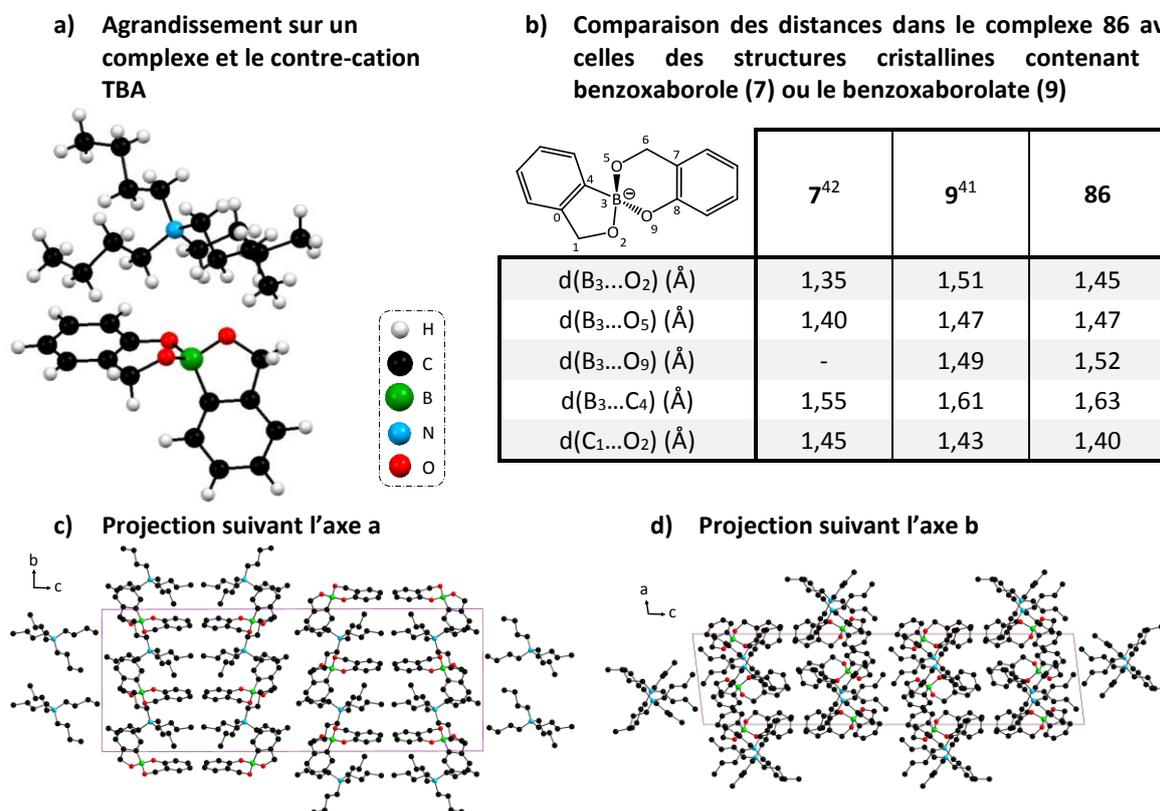


Figure IV.17 : Structure obtenue par diffraction des rayons X sur monocristal du complexe **86** : l'agrandissement sur le complexe **86** (a), et les projections suivant les axes a (c) et b (d) (les protons sont omis dans ces cas pour plus de clarté). b) Comparaison des distances dans le complexe **86** avec celles des structures cristallines contenant du benzoxaborole (**7**)⁴² ou le benzoxaborolate (**9**)⁴¹.

3. Conclusion

De la même manière que le complexe **83**, le complexe 1/1 **86** a pu être synthétisé et isolé. L'association entre le diol **85** et le benzoxaborole **7** semble plus forte que celle avec **79** pour le complexe **83**. En effet, des cristaux présentant la même structure ont été isolés par lente diffusion d'Et₂O dans un minimum d'EtOH. La résistance de cette complexation après solubilisation dans un solvant de type alcool atteste d'une association plus forte. Cette observation confirme celle de Raines *et al.*¹² sur l'association plus forte des complexations formant des cycles à 6 membres que celles formant des cycles à 5 membres.

Les premiers tests de complexation avec le squarate-bisbenzoxaborole (**75**) ont en revanche été peu concluants. Les deux protocoles proposés ci-dessus pour **84** ont été testés et suggèrent la formation d'un complexe 1/2. Cependant, les spectres RMN ¹H enregistrés sont difficiles à interpréter. L'équilibre réactionnel étant moins déplacé vers la formation du complexe **86**, les signaux des précurseurs se superposent aux signaux du complexe et induit une proportion observée en impuretés plus importante.

De plus, la RMN ^{11}B montre un taux important de borate, peut-être dû, en partie, à la dégradation de **75** dans le brut réactionnel. Un travail d'optimisation du protocole de synthèse afin de réussir à obtenir et isoler ce complexe reste à expérimenter.

D. Élaboration de complexes à partir de l'acide salicylique

Afin d'aller plus loin dans l'exploration de ces complexations, un dernier substrat a été testé : l'acide salicylique (**87**). En plus de présenter une fonction acide carboxylique permettant de former une nouvelle jonction, il est connu pour ses propriétés médicinales en tant qu'analgésique et antiseptique.⁴³

1. Complexation du benzoxaborole simple

a. Synthèse

La synthèse du complexe benzoxaborole (**7**) / acide salicylique (**87**) a été réalisée par simple solubilisation des deux précurseurs dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole. Après trente minutes d'agitation à reflux, le milieu réactionnel devient visqueux (Figure IV.18). Le brut réactionnel, pur, a été cristallisé par lente évaporation d'un mélange MeOH/mésitylène.

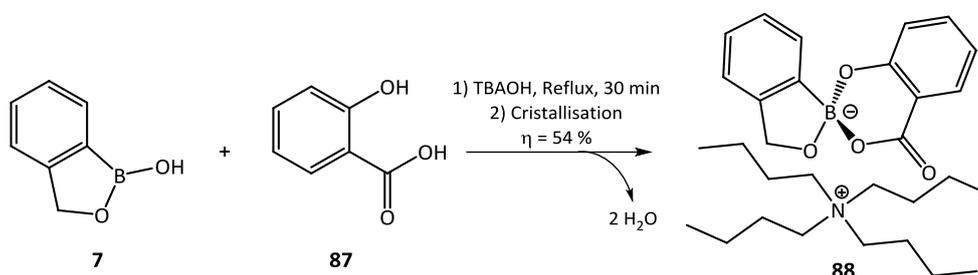


Figure IV.18 : Bilan réactionnel de la synthèse du complexe benzoxaborole/acide salicylique (**88**), stabilisé par le contre-cation TBA.

Le produit **88** cristallisé a été obtenu pur, sous la forme de plaquettes, avec un rendement correct (54 %).

b. Caractérisation

Les cristaux ont été analysés par RMN ^1H et ^{11}B (Figure IV.19).

Tous les signaux des protons du complexe sont plus blindés que ceux des précurseurs correspondants. Comme pour **86**, le bore devenant asymétrique lors de la complexation, les deux protons du groupement méthylène du benzoxaborole (**7**) complexé deviennent non-équivalents. Les protons germinaux $\text{H}_\text{A}\text{H}_\text{B}$ couplent l'un avec l'autre avec un fort effet de toit, ce qui donne la forme particulière du multiplet à 4,9 ppm. Tous les signaux ont été attribués à l'aide d'expériences RMN 2D COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) et HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$), fournies en annexe. La RMN ^{11}B montre un décalage du signal de l'atome de bore à

10 ppm, confirmant le passage d'un bore trigonal plan à un bore tétraédrique, donc la formation du complexe désiré. La largeur à mi-hauteur du pic de l'atome de bore diminue une fois encore avec la formation du complexe formé : **7** a un $\Delta\delta = 123$ Hz (soit 0,77 ppm) tandis que **89** a un $\Delta\delta = 88$ Hz (soit 0,55 ppm). Cet affinement du pic confirme à nouveau le passage du bore trigonal plan au bore tétraédrique.

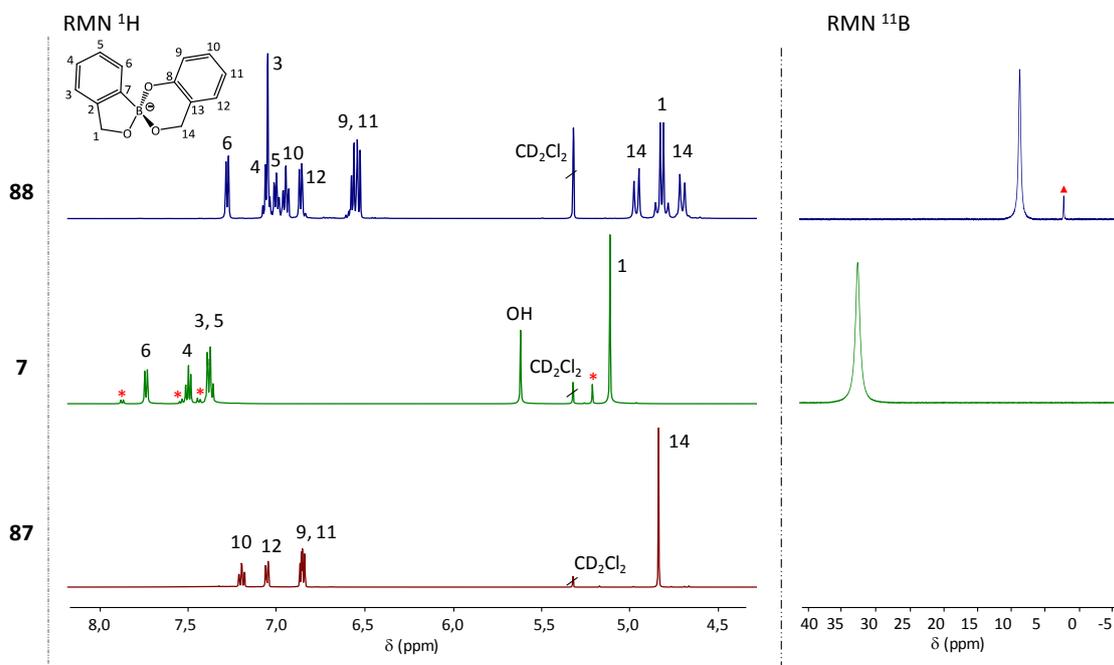


Figure IV.19 : Spectres RMN ¹H et ¹¹B (500 MHz, CD₂Cl₂) du complexe **88** superposés aux deux précurseurs (**7** et **87**). Les pics signalés par * sur le spectre ¹H de **7** illustrent une autre forme de **7** dans le solvant deutéré (CD₂Cl₂) : ces pics ne sont pas observés dans d'autres solvants deutérés (DMSO-d₆ et D₂O). Le pic annoté par ▲ sur le spectre RMN ¹¹B de **86** correspond au déplacement chimique de l'anion borate.

L'obtention de monocristaux a permis l'obtention d'une structure cristallographique par diffraction de rayon X (Figure IV.20).

De même que pour les complexes précédents **83** et **86**, l'analyse de la structure cristallographique du complexe **88** met en évidence une alternance entre les anions et les cations. D'un point de vue structural, **88** présente un seul environnement pour l'atome de bore, et avec une géométrie semblable à celle de l'anion benzoxaborolate (**9**).

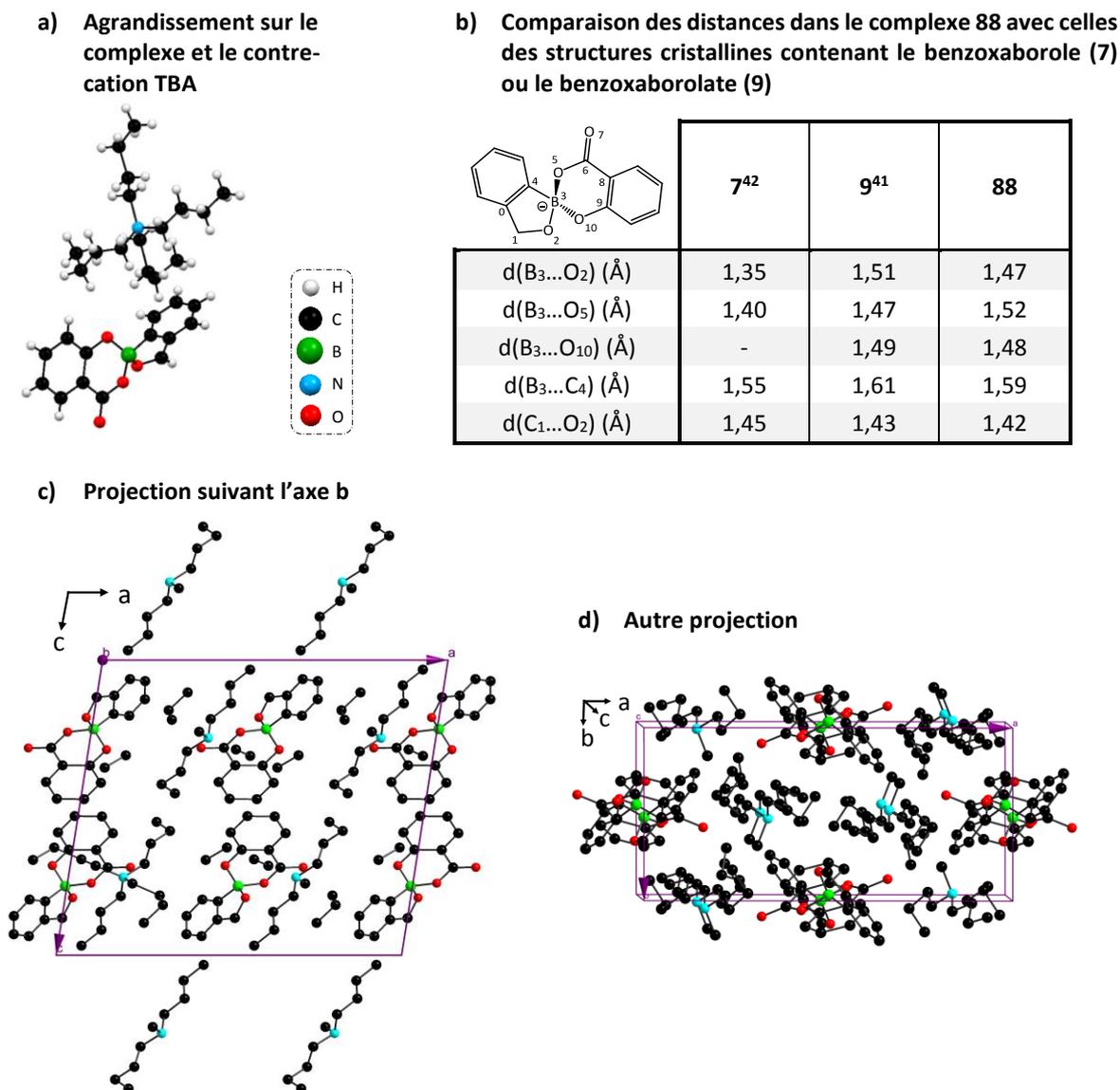


Figure 20 : Structure obtenue par diffraction des rayons X sur monocristal du complexe 88 : l'agrandissement sur le complexe 88 (a), et les projections (c et d) (les protons sont omis dans ces cas pour plus de clarté). b) Comparaison des distances dans le complexe 88 avec celles de structures cristallines contenant le benzoborole (7)⁴² ou le benzoborolate (9)⁴¹.

c. Conclusion

Comme pour le complexe 88, l'association entre 87 et 7 est plus forte que celle entre 79 et 7, puisque des cristaux sont isolés par lente évaporation du MeOH dans un mélange MeOH/mésitylène. La résistance de cette complexation dans un solvant alcoolique atteste d'une association plus forte.

2. Complexation de l'AN2690

Le succès de la synthèse du complexe **88** interroge sur la possibilité de complexer le principe actif AN2690 (**15**) avec l'acide salicylique (**87**). Ce complexe allierait idéalement les propriétés médicinales des deux composés, ce qui pourrait donner lieu à des applications intéressantes pour ce type de complexe.

a. Synthèse

La synthèse du complexe AN2690 (**15**) / acide salicylique (**87**) a été réalisée par simple solubilisation des deux précurseurs dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole. Après trente minutes d'agitation à reflux, le milieu réactionnel devient très visqueux (Figure IV.21). Le brut réactionnel, pur, est cristallisé par lente évaporation d'un mélange acétone/mésitylène.

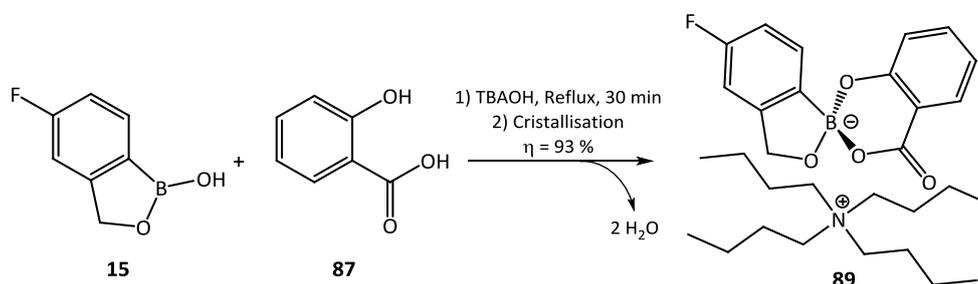


Figure IV.21 : Bilan réactionnel de la synthèse du complexe AN2690/acide salicylique (**89**), stabilisé par le contre-cation TBA.

Le produit **89** est obtenu pur et sous forme cristallisée (sous la forme de bâtonnets), avec un bon rendement (93 %).

b. Caractérisation

Les cristaux ont été analysés par RMN ^1H , ^{11}B et ^{19}F (Figure IV.22).

Une fois encore, les signaux des protons du complexe sont plus blindés que ceux des réactifs **15** et **87**, et les deux protons du groupement méthylène de l'AN2690 complexé deviennent non-équivalents, d'où la forme particulière du multiplet à 4,8 ppm. Tous les signaux ont été attribués à l'aide d'expériences RMN 2D COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) et HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$), fournies en annexe. La RMN ^{11}B montre un décalage vers les signaux plus blindés, vers 10 ppm, comme observé pour **88**. La largeur à mi-hauteur du pic de l'atome de bore diminue aussi une fois le complexe formé : **15** a un $\Delta\delta = 108$ Hz (soit 0,67 ppm) tandis que **89** a un $\Delta\delta = 96$ Hz (soit 0,60 ppm). Cet affinement du pic confirme le passage du bore trigonal plan au bore tétraédrique. L'AN2690 portant un atome de fluor en position para de l'atome de bore, la RMN ^{19}F est une bonne technique d'analyse pour suivre cette complexation. De la même façon que pour les deux autres atomes, un décalage vers les déplacements chimiques moins déblindés est observé, comme cela avait été aussi remarqué au chapitre III de cette thèse.³⁹

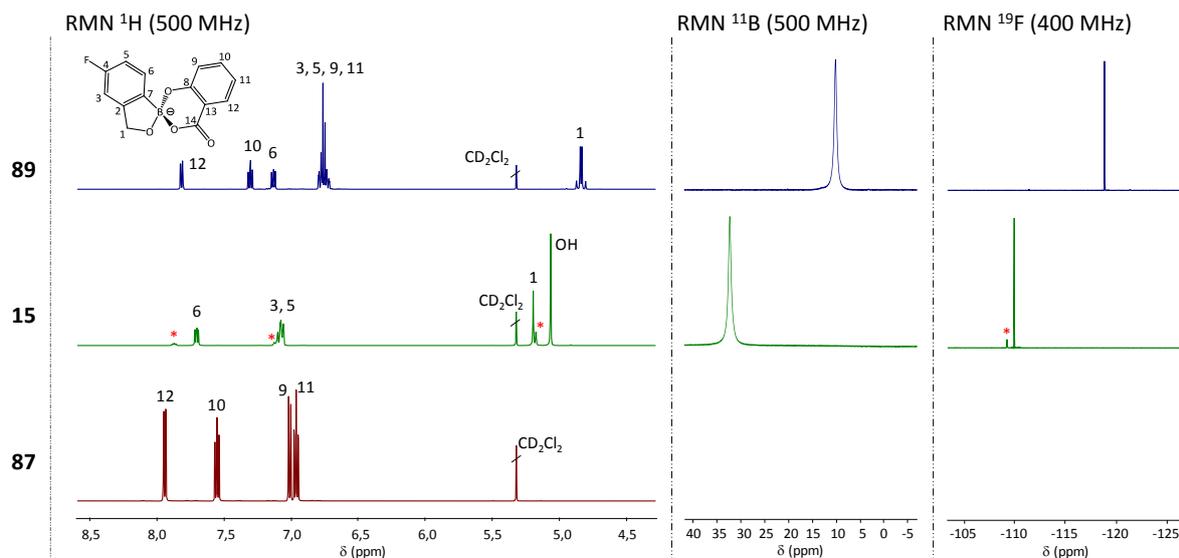
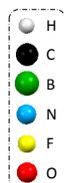
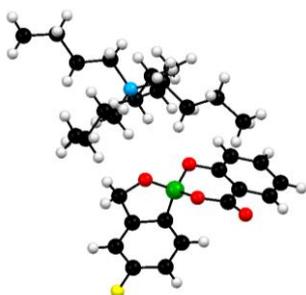


Figure IV.22 : Spectres RMN ^1H , ^{11}B et ^{19}F (CD_2Cl_2) du complexe **89** superposé aux deux précurseurs (**15** et **87**). Les pics signalés par * sur le spectre ^1H de **15** illustrent une autre forme de **15** dans le solvant deutéré (CD_2Cl_2) : ces pics ne sont pas observés dans d'autres solvants deutérés (DMSO-d_6 et D_2O).

L'obtention de monocristaux a permis de résoudre la structure de ce composé grâce à la diffraction des rayons X (Figure IV.23).

L'analyse du monocristal du complexe **89** met en évidence une alternance entre les anions et les cations. D'un point de vue structural, **89** présente un seul environnement pour l'atome de bore, avec une structure locale semblable à celle de l'anion benzoborolate (**9**)⁴¹ (molécule organoborée non-fluorée). Les distances sont généralement plus longues, par comparaison, que celles de l'AN2690 (**15**). Cette observation va dans le même sens que l'évolution des distances observée par comparaison de **7** avec **88**.

a) Agrandissement sur le complexe et le contre-cation TBA



b) Comparaison des distances dans le complexe 89 avec celles des structures cristallines contenant le benzoxaborole (7) ou le benzoxaborolate (9) (molécules organoborées non-fluorées) et l'AN2690 (15).

	7 ⁴²	9 ⁴¹	15 ⁴⁴	89
$d(\text{B}_3\text{...O}_2)$ (Å)	1,35	1,51	1,39	1,44
$d(\text{B}_3\text{...O}_5)$ (Å)	1,40	1,47	1,34	1,49
$d(\text{B}_3\text{...O}_{10})$ (Å)	-	1,49	-	1,51
$d(\text{B}_3\text{...C}_4)$ (Å)	1,55	1,61	1,55	1,62
$d(\text{C}_1\text{...O}_2)$ (Å)	1,45	1,43	1,45	1,41

c) Projection suivant l'axe c

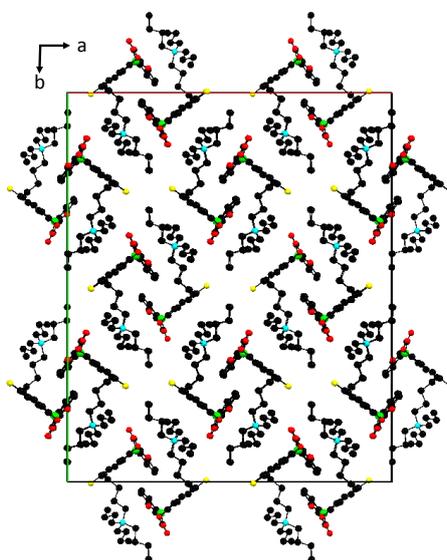


Figure IV.23 : Structure obtenue par diffraction des rayons X sur monocristal du complexe 89 : l'agrandissement sur le complexe 89 (a), et la projection (c) suivant l'axe c (les protons sont omis dans ce cas pour plus de clarté). b) Comparaison des distances dans le complexe 89 avec celles de structures cristallines contenant le benzoxaborole (7)⁴² ou le benzoxaborolate (9)⁴¹ (molécules non-fluorées) et l'AN2690 (15)⁴⁴.

c. Conclusion

Le complexe 89 a pu être isolé. L'association entre 87 et 15 est assez forte pour que la complexation résiste à des solvants de type alcool tels que le MeOH ou l'EtOH, puisque le complexe est resté stable après dissolution dans ces solvants. Cette complexation de deux principes actifs pourrait être intéressante pour des applications à visée thérapeutique. La combinaison d'un antibiotique connu et d'un fragment actif d'une petite molécule est en effet l'une des voies récemment envisagées pour s'affranchir de la résistance bactérienne.^{45,46}

3. Complexation du squarate-bisbenzoxaborole

Les résultats obtenus au travers de **84** étant prometteurs et la formation des complexes **88** et **89** étant plus stable, la complexation d'un motif bisbenzoxaborole par deux acides salicyliques a été réalisée.

a. Synthèse

Le même protocole que pour **84** a été mis en place. Les deux précurseurs (**75** et **87**), ont été dissous dans un minimum de DMSO. Une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) a alors été ajoutée à hauteur de deux équivalents de TBAOH par rapport au benzoxaborole. La complexation a ensuite été forcée par déshydratation, l'eau étant entraînée et évaporée en même temps que le DMSO, en chauffant le milieu réactionnel à 55 °C sous-vide (Figure IV.24).

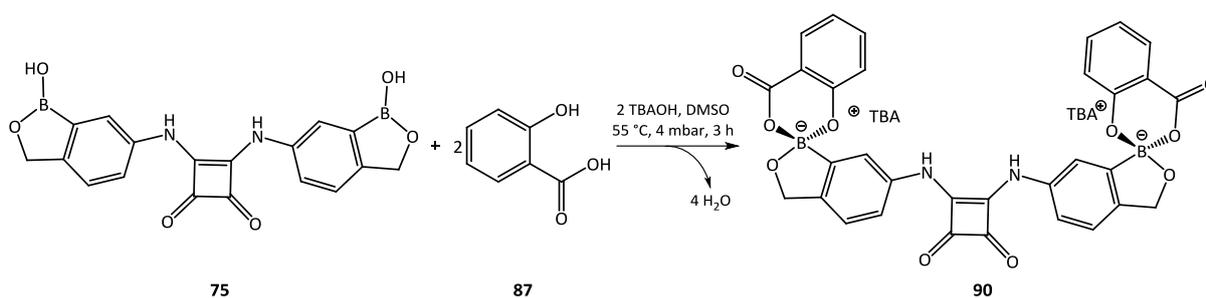


Figure IV.24 : Bilan réactionnel de la formation du complexe **90**.

b. Caractérisation

Le brut réactionnel a été analysé par RMN ^1H et ^{11}B (Figure IV.25).

De même que pour **84**, un décalage global des signaux ^1H vers les plus hauts déplacements chimiques est remarqué, par rapport à ceux des molécules libres dans le même milieu (DMSO + solution aqueuse de TBAOH). Par contre, le déplacement chimique des protons des groupements méthylène du bisbenzoxaborole dans le DMSO seul (4.97 ppm) est plus élevé que celui du complexe **90** (4,68 ppm) ce qui est conforme aux observations précédentes.³⁹ Néanmoins, au vu des spectres RMN enregistrés, le produit **90** n'est pas pur. Le produit n'ayant pas été isolé pur à l'heure actuelle, ces spectres sont analysés. Le signal caractéristique des groupements méthylène de **90**, à environ 4,7 ppm, se présente sous la même forme que pour les complexes **88** et **89**. Il est important de noter qu'un seul signal pour les protons des $-\text{CH}_2$ de **90** est observé, ce qui tend à confirmer la formation du complexe 1/2, avec un acide salicylique couplé à chacune des deux fonctions benzoxaboroles de **75**. Cependant, beaucoup de sous-produits, sûrement dûs à la dégradation de **75** dans ce milieu, sont notables dans la ligne de base du spectre. Cette complexité du milieu réactionnel est aussi suggérée par RMN ^{11}B . Sur le spectre ^{11}B du complexe **90**, dont le déplacement chimique se situe aux alentours de 10 ppm (comme pour **88**), un épaulement est observable à environ 7 ppm.

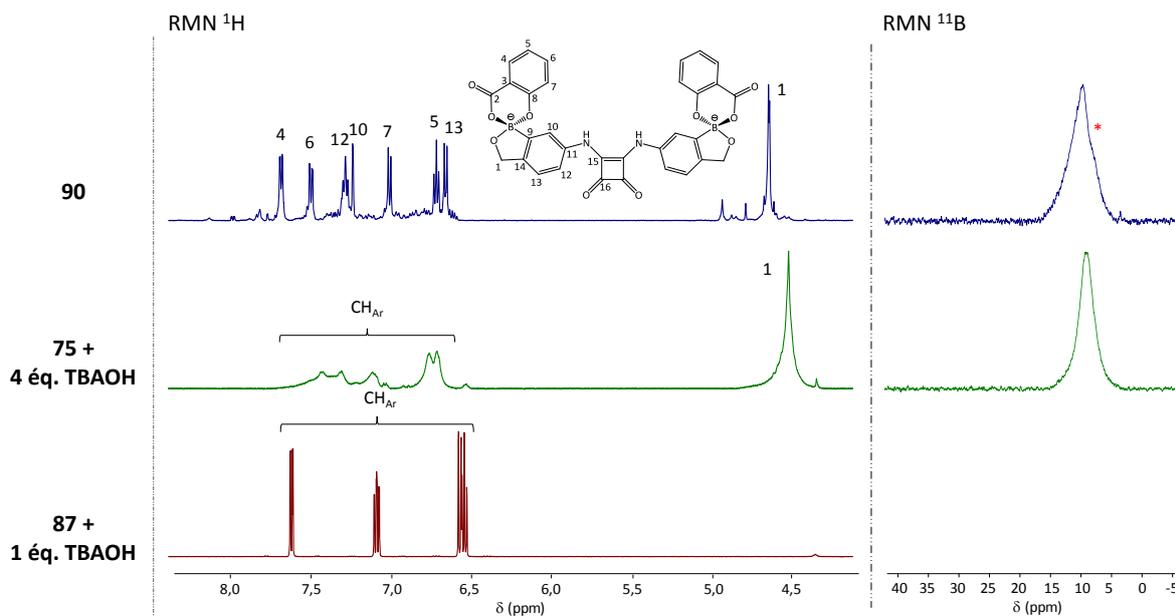


Figure IV.25 : Spectres RMN ^1H et ^{11}B (500 MHz, DMSO.d^6) du complexe **90** superposé aux deux précurseurs (**75** et **87**). L'épaule du pic de l'atome de bore du complexe **90** est annoté par « * » sur le spectre.

Afin de confirmer la formation d'un complexe 1/2, comme pour le complexe **84**, une RMN ^1H 2D DOSY a été réalisée. Par comparaison des coefficients de diffusion du substrat libre (**87**), et du complexe **90** dans le même milieu, la preuve de la formation de celui-ci a été obtenue (Figure IV.26). Enfin, nous pouvons noter que le contre-cation TBA^+ possède le même coefficient de diffusion pour les deux spectres DOSY : les deux entités ioniques du complexe **90** ne forment donc pas de paire d'ion dans le milieu utilisé (mélange DMSO + solution aqueuse de TBAOH).

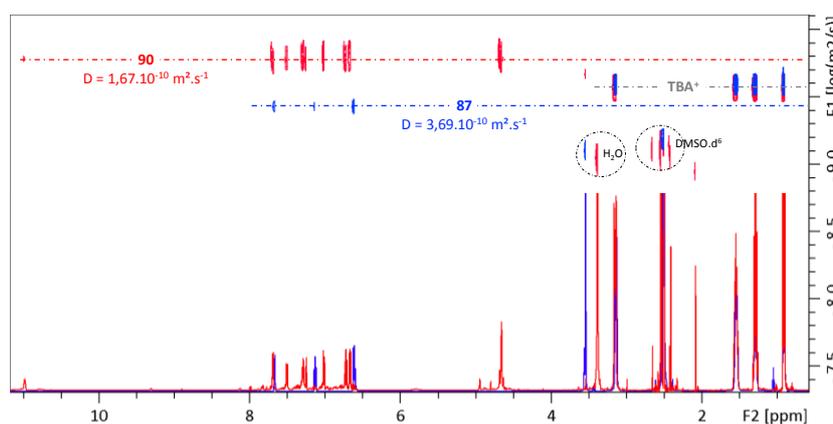


Figure IV.26 : Spectres RMN ^1H DOSY de **87** en présence d'un équivalent de TBAOH (en bleu) et du complexe **90** (en rouge) dans le DMSO.d^6 .

La comparaison du spectre RMN ^1H DOSY de **90** avec celui du complexe **84** met en évidence la formation d'une entité moins volumineuse. Le coefficient de diffusion de **90** est un peu plus élevé que celui de **84** (respectivement à $1,67.10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ et $1,58.10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$). Cette observation est cohérente

avec la comparaison des coefficients de diffusion des deux précurseurs **79** et **87** (respectivement à $3,69 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et $3,52 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

Des tests supplémentaires ont été réalisés pour évaluer l'influence du contre-cation sur la complexation. Comme observé sur les spectres RMN ^1H et ^{11}B (Figure IV.27), celui-ci a un effet notable. En effet, bien que l'allure des spectres RMN ^1H est globalement assez similaire, les déplacements chimiques des protons numérotés 7 et 10 (Figure IV.27) sont ceux qui sont le plus influencés avec un décalage pouvant aller de 0,1 à 0,3 ppm suivant le contre-cation introduit. De plus, l'épaule observé au niveau des signaux des protons des groupements méthylène (^1H n°1) du bisbenzoxaborole en présence du contre-cation Li^+ (spectre RMN ^1H vert de la figure IV.27) atteste d'une composition plus complexe de la solution. En effet, ces protons sortent normalement sous la forme d'un multiplet défini (voir spectre RMN ^1H rouge de la figure IV.27). Il est à noter que les tubes RMN des complexes **90** en présence des contre-cations Na^+ et Li^+ étant plus concentrés, la viscosité du milieu d'analyse est plus importante ce qui induit un élargissement des signaux en RMN ^1H . En ce qui concerne la RMN ^{11}B , un spectre assez similaire est observé pour les trois synthèses. Seule la proportion en borate (signal à environ 2 ppm, ▲) varie. La présence de borate dans le milieu réactionnel pourrait être due à la dégradation partielle du benzoxaborole dans le milieu réactionnel, mais aussi à la dégradation du verre du ballon dans lequel la synthèse a été réalisée, comme expliqué précédemment.

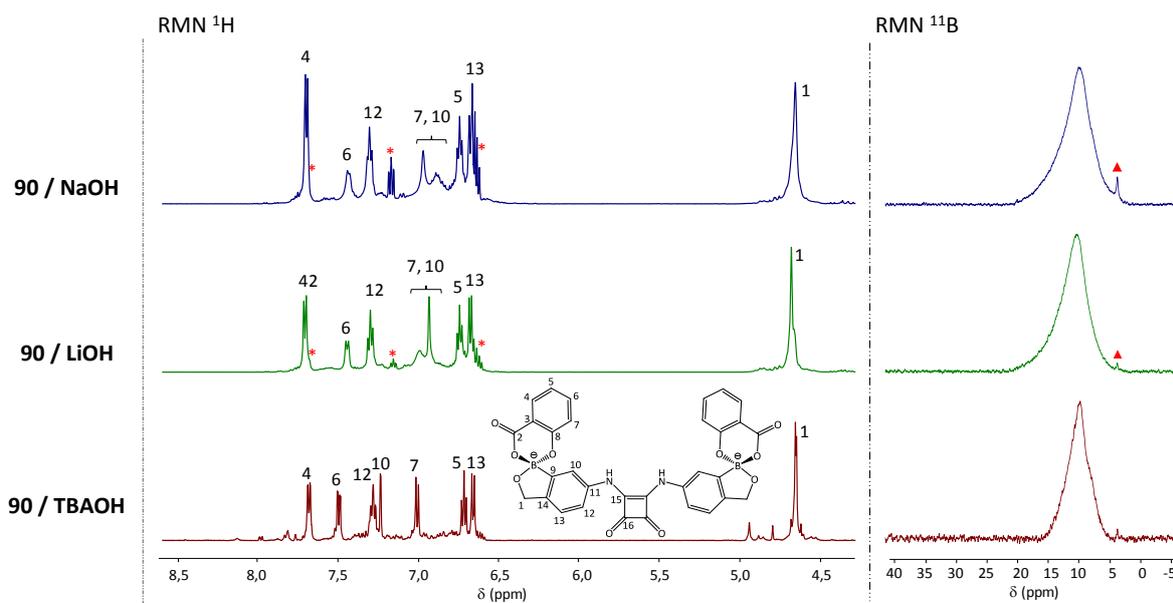


Figure IV.27 : Comparaison des spectres RMN (^1H et ^{11}B , 500 MHz, DMSO-d_6) du complexe **90** en fonction du contre-cation introduit (Na^+ , Li^+ , TBA^+). Les pics observés en RMN ^1H signalés par * correspondent à un excès d'acide salicylique (**87**) introduit dans le milieu réactionnel. Le signal RMN ^{11}B signalé par ▲ correspond à la dégradation de **75** en borate.

Au vu des spectres RMN ^1H ci-dessus, le contre-cation TBA semble donc le plus approprié pour ce type de complexation (dans les conditions de synthèse utilisées ici).

c. Conclusion

Le brut réactionnel n'est pas pur. Cependant, la complexation du bisbenzoxaborole par deux motifs acide salicylique est observée. Ce composé, peu soluble, tout comme le complexe **84**, se décomplexé partiellement dès l'ajout d'autres solvants. Sa purification par cristallisation paraît la plus appropriée mais aucun monocristal n'a pu être obtenu à ce jour. Un travail reste donc à faire sur le protocole de synthèse et de purification afin de l'isoler pur.

4. Bilan

Les complexes **88** et **89** ont été synthétisés et isolés. L'association entre l'acide salicylique **87** et le benzoxaborole **7** ou l'AN2690 **15** est assez forte pour permettre d'isoler le produit.

De même que pour **83**, les tests de complexation entre le squarate-bisbenzoxaborole (**75**) et l'acide salicylique (**87**) sont plutôt encourageants. La purification reste à optimiser afin de réussir à isoler ce complexe sous forme pure. La reproductibilité de cette synthèse reste aussi à confirmer.

E. Discussion

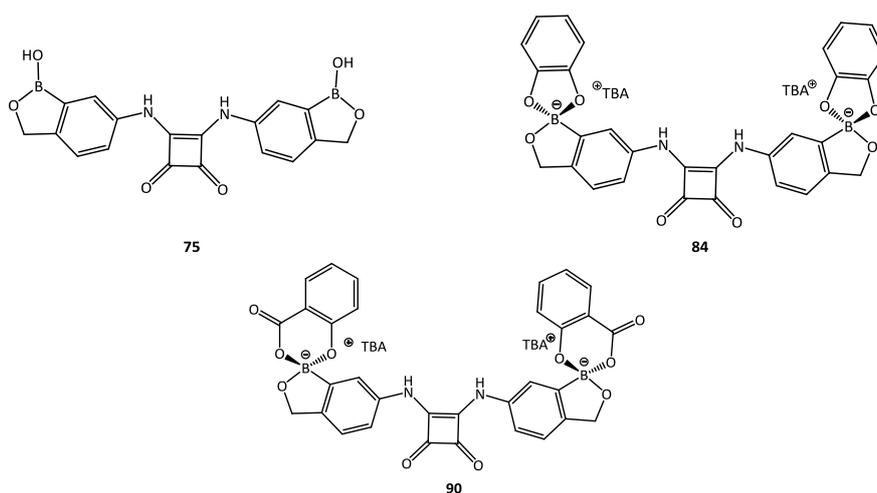
La synthèse de plusieurs complexes a été réalisée en diversifiant tant le benzoxaborole que le substrat. Les complexes à partir du benzoxaborole simple (**7**) ont pu être isolés et caractérisés. Cependant, les complexes à partir du bisbenzoxaborole (**75**) restent à isoler.

En comparant les données RMN, certaines tendances peuvent être dégagées (Tableau IV.2). Pour plus de clarté, seul le déplacement chimique caractéristique du groupement méthylène des benzoxaboroles est indiqué en RMN ^1H . De manière générale, par RMN ^1H , un décalage de 0,2 à 0,4 ppm vers les plus faibles déplacements chimiques du groupement méthylène est observé pour les benzoxaboroles mono- ou bi-valents complexés. De plus, un décalage de 0,1 à 0,2 ppm est observé vers les plus hauts déplacements chimiques pour le bisbenzoxaborole complexé par rapport au bisbenzoxaborole libre en présence de quatre équivalents de TBAOH, alors supposé sous sa forme bisbenzoxaborolate, confirmant la formation d'un nouveau produit. Quant à la RMN ^{11}B , malgré des signaux larges, elle permet d'identifier le substrat complexant les benzoxaboroles. Une tendance très nette se dessine entre le catéchol (**79**), l'alcool salicylique (**85**) ou l'acide salicylique (**87**) avec des déplacements chimiques du ^{11}B , respectivement à environ 15 ppm, 9 ppm et 10 ppm dans les milieux étudiés ici.

Tableau IV.2 : Comparaison des données RMN des benzoxaboroles et de leurs différents complexes.

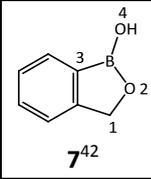
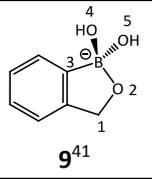
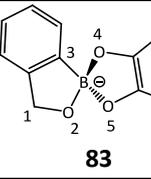
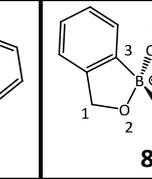
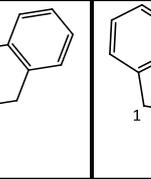
Précurseurs		Complexe	RMN ¹ H (CH ₂ du benzoxaborole)	RMN ¹¹ B	Solvant deutééré	
Substrat	Benzoxaborole					
-	7	-	5,11	32,7	CD ₂ Cl ₂	Molécules libres
-	15	-	5,07	32,2	CD ₂ Cl ₂	
-	75	-	4,97	-	DMSO.d ⁶	
-	75 + 4 éq. TBAOH*	-	4,53	9,0	DMSO.d ⁶	
79	7	83	4,81	15,0	CD ₂ Cl ₂	Complexes
	75	84	4,61	15,1	DMSO.d ⁶	
85	7	86	4,82	8,7	CD ₂ Cl ₂	
87	7	88	4,88	10,4	CD ₂ Cl ₂	
	15	89	4,84	10,1	CD ₂ Cl ₂	
	75	90	4,68	9,7	DMSO.d ⁶	

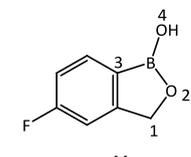
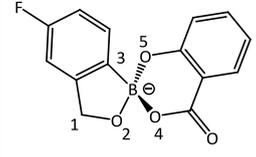
* Attention spectre complexe (voir figure IV.27).



La comparaison des données cristallographiques, et plus particulièrement des distances atomiques intramoléculaires du motif benzoxaborole dans les différents complexes met en évidence leur ressemblance avec le benzoxaborolate. En effet, les distances intramoléculaires varient peu malgré les différents substrats complexés au benzoxaborole.

Tableau 3 : Comparaison de quelques distances intramoléculaires dans les différents complexes, issues des analyses cristallographiques.

					
	7⁴²	9⁴¹	83	86	88
d(B...O ₂) (Å)	1,35	1,51	1,47	1,45	1,47
d(B...O ₄) (Å)	1,40	1,47	1,50	1,47	1,52
d(B...O ₅) (Å)	-	1,49	1,53	1,52	1,48
d(B...C ₃) (Å)	1,55	1,61	1,63	1,63	1,59
d(C ₁ ...O ₂) (Å)	1,45	1,43	1,42	1,40	1,42
T (K)	100	175	173	173	173
R (%)	4,23	4,81	5,74	5,15	7,51

		
	15⁴⁴	89
d(B...O ₂) (Å)	1,39	1,44
d(B...O ₄) (Å)	1,34	1,49
d(B...O ₅) (Å)	-	1,51
d(B...C ₃) (Å)	1,55	1,61
d(C ₁ ...O ₂) (Å)	1,45	1,41
T (K)	298	173
R (%)	4,76	3,52

F. Conclusion

Les premiers travaux réalisés dans ce chapitre sur ce type de système sont encourageants. Leur faisabilité étant prouvée, les expériences doivent être continuées dans ce sens pour augmenter leur complexité et ainsi aller vers des structures plus étendues à trois dimensions telles que des cages. Ces architectures, par leur interaction avec les diols ou des dérivés de l'acide salicylique, promettent des propriétés intéressantes pour de nombreux domaines, que ce soit pour des applications médicales (en tant que principe actif ou en tant que vecteur de principe actif), d'analyse (par fonctionnalisation de plateformes de détection de diols, comme présenté au Chapitre I.B.3.b) ou de séparation (cf Chapitre B.3.b.a).

RÉFÉRENCES

- 1 R. Nishiyabu, Y. Kubo, T. D. James, J. S. Fossey, "Boronic acid building blocks: tools for self assembly", *Chem. Commun.*, 2011, 47, 1124-1150.
- 2 F. Norifumi, S. Seiji, J. T. D., "Boronic Acids in Molecular Self-Assembly", *Chem. Asian J.*, **2008**, 3, 1076-1091.
- 3 J. M. Carr, P. J. Duggan, D. G. Humphrey, J. A. Platts, E. M. Tyndall, "Wood Protection Properties of Quaternary Ammonium Spiroborate Esters Derived from Alkyl Tartrates", *Aust. J. Chem.*, **2011**, 64, 495-502.
- 4 N. Christinat, E. Croisier, R. Scopelliti, M. Cascella, U. Röthlisberger, K. Severin, "Formation of Boronate Ester Polymers with Efficient Intrastrand Charge-Transfer Transitions by Three-Component Reactions", *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2007**, 5177-5181.
- 5 M. Hutin, G. Bernardinelli, J. R. Nitschke, "An Iminoboronate Construction Set for Subcomponent Self-Assembly", *Chem. Eur. J.*, **2008**, 14, 4585-4593.
- 6 B. F. Abrahams, D. J. Price, R. Robson, "Tetraanionic Organoborate Squares Glued Together by Cations To Generate Nanotubular Stacks", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 806-810.
- 7 H. Danjo, K. Hirata, S. Yoshigai, I. Azumaya, K. Yamaguchi, "Back to Back Twin Bowls of D₃-Symmetric Tris(spiroborate)s for Supramolecular Chain Structures", *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 1638-1639.
- 8 J. M. Carr, P. J. Duggan, D. G. Humphrey, J. A. Platts, E. M. Tyndall, "Quaternary ammonium arylspiroborate esters as organo-soluble, environmentally benign wood protectants", *Aust. J. Chem.*, **2005**, 58, 901-911.
- 9 J. M. Carr, P. J. Duggan, D. G. Humphrey, J. A. Platts, E. M. Tyndall, "Wood Protection Properties of Quaternary Ammonium Arylspiroborate Esters Derived from Naphthalene 2,3-Diol, 2,2-Biphenol and 3-Hydroxy-2-naphthoic Acid", *Aust. J. Chem.*, **2010**, 63, 1423-1429.
- 10 J. M. Carr, P. J. Duggan, D. G. Humphrey, E. M. Tyndall, "Enhanced Anti-Fungal Activity of the Organo-Soluble Borate Ester, Tetra-n-butylammonium Bis(ortho-hydroxymethylphenolato)borate", *Aust. J. Chem.*, **2005**, 58, 21-25.
- 11 J. M. Carr, P. J. Duggan, D. G. Humphrey, E. M. Tyndall, J. M. White, "Quaternary Ammonium Spiroborate Esters and Mixed Anhydrides Derived from Aliphatic α -Hydroxy Acids and Diacids and their Wood Protection Properties", *Aust. J. Chem.*, **2011**, 64, 1417-1424.
- 12 B. VanVeller, M. R. Aronoff, R. T. Raines, "A divalent protecting group for benzoxaboroles", *RSC Adv.*, **2013**, 3, 21331-21334.
- 13 J. M. Gamrat, G. Mancini, S. J. Burke, R. C. Colandrea, N. R. Sadowski, B. C. Figula, J. W. Tomsho, "Protection of the Benzoxaborole Moiety: Synthesis and Functionalization of Zwitterionic Benzoxaborole Complexes", *J. Org. Chem.*, **2018**, 83, 6193-6201.
- 14 M. Taher, F. U. Shah, A. Filippov, P. de Baets, S. Glavatskih, O. N. Antzutkin, "Halogen-free pyrrolidinium bis(mandelato)borate ionic liquids: some physicochemical properties and lubrication performance as additives to polyethylene glycol", *RSC Adv.*, **2014**, 4, 30617-30623.
- 15 Y.-L. Wang, F. U. Shah, S. Glavatskih, O. N. Antzutkin, A. Laaksonen, "Atomistic Insight into Orthoborate-Based Ionic Liquids: Force Field Development and Evaluation", *J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 8711-8723.

- 16 F. Andrei, A. Nail, T. Mamoun, S. F. Ullah, R. Pauline, G. Sergei, A. O. N., "Self-diffusion and interactions in mixtures of imidazolium bis(mandelato)borate ionic liquids with polyethylene glycol: 1H NMR study", *Magn. Reson. Chem.*, **2015**, 53, 493-497.
- 17 A. Filippov, N. Azancheev, F. U. Shah, S. Glavatskih, O. N. Antzutkin, "Self-diffusion of phosphonium Bis(Salicylato)Borate ionic liquid in pores of Vycor porous glass", *Micropor. Mesopor. Mat.*, **2016**, 230, 128-134.
- 18 M. Golets, M. R. Shimpi, Y. L. Wang, O. N. Antzutkin, S. Glavatskih, A. Laaksonen, "Understanding the thermal decomposition mechanism of a halogen-free chelated orthoborate-based ionic liquid: a combined computational and experimental study", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2016**, 18, 22458-22466.
- 19 Y.-L. Wang, M. R. Shimpi, S. Sarman, O. N. Antzutkin, S. Glavatskih, L. Kloo, A. Laaksonen, "Atomistic Insight into Tetraalkylphosphonium Bis(oxalato)borate Ionic Liquid/Water Mixtures. 2. Volumetric and Dynamic Properties", *J. Phys. Chem. B*, **2016**, 120, 7446-7455.
- 20 W. Niu, M. D. Smith, J. J. Lavigne, "Substituent Effects on the Structure and Supramolecular Assembly of Bis(dioxaborole)s Derived from 1,2,4,5-Tetrahydroxybenzene", *Cryst. Growth & Design*, **2006**, 6, 1274-1277.
- 21 N. Christinat, R. Scopelliti, K. Severin, "Multicomponent Assembly of Boronic Acid Based Macrocycles and Cages", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 1848-1852.
- 22 K. Yuji, Y. Wataru, M. Tsuyoshi, "Development of Chemical Stimuli-responsive Organogel Using Boronate Ester-substituted Cyclotricatechylene", *Chem. Lett.*, **2008**, 37, 1238-1239.
- 23 Q. Liu, N. D. Contrella, A. S. Filatov, R. F. Jordan, "Synthesis of Borophosphonate Cage Compounds: Influence of Substituent and Concentration Effects on Product Distribution in Condensation Reactions of Aryl Phosphonic Acids and Boronic Acids", *Organometallics*, **2015**, 34, 254-262.
- 24 W. Niu, C. O'Sullivan, B. M. Rambo, M. D. Smith, J. J. Lavigne, "Self-repairing polymers: poly(dioxaborolane)s containing trigonal planar boron", *Chem. Commun.*, **2005**, 4342-4344.
- 25 B. M. Rambo, J. J. Lavigne, "Defining Self-Assembling Linear Oligo(dioxaborole)s", *Chem. Mater.*, **2007**, 19, 3732-3739.
- 26 M. Dogru, M. Handloser, F. Auras, T. Kunz, D. Medina, A. Hartschuh, P. Knochel, T. Bein, "A Photoconductive Thienothiophene-Based Covalent Organic Framework Showing Charge Transfer Towards Included Fullerene", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 2920-2924.
- 27 A. P. Côté, A. I. Benin, N. W. Ockwig, M. O'Keeffe, A. J. Matzger, O. M. Yaghi, "Porous, Crystalline, Covalent Organic Frameworks", *Science*, **2005**, 310, 1166-1170.
- 28 A. P. Côté, H. M. El-Kaderi, H. Furukawa, J. R. Hunt, O. M. Yaghi, "Reticular Synthesis of Microporous and Mesoporous 2D Covalent Organic Frameworks", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 12914-12915.
- 29 S. Wan, J. Guo, J. Kim, H. Ihee, D. Jiang, "A Belt-Shaped, Blue Luminescent, and Semiconducting Covalent Organic Framework", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 8826-8830.
- 30 N. Iwasawa, H. Takahagi, "Boronic Esters as a System for Crystallization-Induced Dynamic Self-Assembly Equipped with an "On-Off" Switch for Equilibration", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 7754-7755.
- 31 S. Klotzbach, T. Scherpf, F. Beuerle, "Dynamic covalent assembly of tribenzotriquinacenes into molecular cubes", *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 12454-12457.
- 32 E. L. Spitler, W. R. Dichtel, "Lewis acid-catalysed formation of two-dimensional phthalocyanine covalent organic frameworks", *Nat. Chem.*, **2010**, 2, 672.

- 33 R. W. Tilford, W. R. Gemmill, H.-C. zur Loye, J. J. Lavigne, "Facile Synthesis of a Highly Crystalline, Covalently Linked Porous Boronate Network", *Chem. Mater.*, **2006**, *18*, 5296-5301.
- 34 H. Takahagi, S. Fujibe, N. Iwasawa, "Guest-Induced Dynamic Self-Assembly of Two Diastereomeric Cage-Like Boronic Esters", *Chem. Eur. J.*, **2009**, *15*, 13327-13330.
- 35 G. Zhang, O. Presly, F. White, I. M. Oppel, M. Mastalerz, "A Permanent Mesoporous Organic Cage with an Exceptionally High Surface Area", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 1516-1520.
- 36 K. Kataoka, T. D. James, Y. Kubo, "Ion Pair-Driven Heterodimeric Capsule Based on Boronate Esterification: Construction and the Dynamic Behavior", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15126-15127.
- 37 K. Kataoka, S. Okuyama, T. Minami, T. D. James, Y. Kubo, "Amine-triggered molecular capsules using dynamic boronate esterification", *Chem. Commun.*, **2009**, 1682-1684.
- 38 F. U. Shah, S. Glavatskih, D. R. MacFarlane, A. Somers, M. Forsyth, O. N. Antzutkin, "Novel halogen-free chelated orthoborate-phosphonium ionic liquids: synthesis and tribophysical properties", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, *13*, 12865-12873.
- 39 A. Larcher, A. Lebrun, M. Smietana, D. Laurencin, "A multinuclear NMR perspective on the complexation between bisboronic acids and bisbenzoxaboroles with cis-diols", *New J. Chem.*, **2018**, *42*, 2815-2823.
- 40 T. D. W. Claridge, In Book "Chapter 2 - Introducing high-resolution NMR"; Claridge, T. D. W. Ed.; Elsevier, **2009**, 11-34.
- 41 S. Sene, S. Bégu, C. Gervais, G. Renaudin, A. Mesbah, M. E. Smith, P. H. Mutin, A. van der Lee, J.-M. Nedelec, C. Bonhomme, D. Laurencin, "Intercalation of Benzoxaborolate Anions in Layered Double Hydroxides: Toward Hybrid Formulations for Benzoxaborole Drugs", *Chem. Mater.*, **2015**, *27*, 1242-1254.
- 42 A. Adamczyk-Woźniak, M. K. Cyrański, M. Jakubczyk, P. Klimentowska, A. Koll, J. Kołodziejczak, G. Pojmaj, A. Żubrowska, G. Z. Żukowska, A. Sporzyński, "Influence of the Substituents on the Structure and Properties of Benzoxaboroles", *J. Phys. Chem. A*, **2010**, *114*, 2324-2330.
- 43 L. Popova, T. Pancheva, A. Uzunova, "Salicylic acid: Properties, Biosynthesis and Physiological role", *Bulg. J. Plant Physiol.*, **1997**, *23*(1-2), 85-93.
- 44 S. Sene, D. Berthomieu, B. Donnadiou, S. Richeter, J. Vezzani, D. Granier, S. Bégu, H. Mutin, C. Gervais, D. Laurencin, "A combined experimental-computational study of benzoxaborole crystal structures", *Cryst. Eng. Comm.*, **2014**, *16*, 4999-5011.
- 45 G. B. Lapa, E. P. Mirchink, E. B. Isakova, M. N. Preobrazhenskaya, "Two approaches to the use of benzo[c][1,2]oxaboroles as active fragments for synthetic transformation of clarithromycin", *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2017**, *32*, 452-456.
- 46 A. Nocentini, C. T. Supuran, J.-Y. Winum, "Benzoxaborole compounds for therapeutic uses: a patent review (2010- 2018)", *Expert Opin. Ther. Pat.*, **2018**, *28*, 493-504.
- 47 W. Liu, X. Jiang, W. Zhang, F. Jiang, L. Fu, "Synthesis and Antibacterial Activity Study of C-3 α , β -Unsaturated Ketone Linked Benzofuran Derivatives", *Organic Chem. Curr. Res.*, **2016**, *5*, 164.

ANNEXES– **Conditions expérimentales générales :**

L'acide 2-(hydroxyméthyl)phénylboronique cyclique monoester (BBzx, C₇H₇BO₂, 97%, Aldrich) a été acheté chez Aldrich et utilisé sans aucune purification, après avoir vérifié l'absence d'acide borique par RMN ¹¹B).

Le catéchol (C₆H₆O₂, 99%, Aldrich), le salicylaldéhyde (C₇H₆O₂, 99%, Lancaster Synthesis) et l'acide salicylique (C₇H₆O₃, 99%, Aldrich) ont été achetés auprès de sources commerciales et utilisés sans aucune purification.

La solution d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH, (CH₃CH₂CH₂CH₂)₄N(OH), 40 % massique dans l'eau) a été achetée chez Aldrich.

Tous les solvants utilisés pour la synthèse et les cristallisations ont été achetés auprès de sources commerciales.

Tous les solvants deutérés (DMSO-d⁶, 99,8% et CD₂Cl₂, 99,9%) ont été achetés chez Eurisotop.

- **Caractérisations :**

Les spectres RMN ¹H, ¹³C et ¹¹B ont été enregistrés à 298 K sur des spectromètres Bruker Avance III 500 ou 600 MHz, à l'aide de cryo-sondes CP-BBO. Les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été calibrés grâce à la résonance des solvants deutérés utilisés (CD₂Cl₂, respectivement à 5,32 ppm pour le ¹H et 53,8 ppm pour le ¹³C, ou DMSO-d⁶, respectivement à 2,50 ppm pour le ¹H et 39,52 ppm pour le ¹³C). Les spectres RMN ¹¹B ont été calibrés de manière externe à l'aide d'une solution de BF₃-Et₂O (à 0 ppm). Des composés de référence (solution aqueuse d'acide borique ou de borate) ont été régulièrement testés afin de vérifier les gammes de déplacements chimiques. Tous les spectres ont été traités et analysés grâce aux programmes TopSpin 3.2 et Mestrenova 7.0.3.

Les analyses de spectrométrie de masse ont été effectuées par introduction directe dans un spectromètre de masse Synapt G2-S (Waters, SN : UEB205) équipé d'une source électrospray (ESI). Le spectre de masse est enregistré en mode négatif, entre 100 et 1500 Da. Les molécules d'intérêt ont été dissoutes dans l'acétonitrile ou le dichlorométhane, selon le cas. Le spectromètre a été calibré via un étalon interne de Leucine enképhaline et via un étalon externe à partir d'une solution de 1 % d'acide phosphorique dans l'eau. Les données ont été traitées par le logiciel Masslynx 4.1.

Les analyses des diffractions des rayons X sur monocristal ont été réalisées sur un diffractomètre D8 (Bruker). Ce diffractomètre est équipé d'un détecteur bidimensionnel PHOTON II CPAD, d'une double micro-source (Mo, Cu) et d'un cryostat azote Cryostream 800⁺ (80 - 500 K). Les données ont été collectées en utilisant les radiations K_α du cuivre (1,5418 Å) avec une distance source détecteur de 40 mm, un temps de comptage par spectre de 10, 20 ou 25 s selon l'échantillon. Les structures cristallographiques ont été résolues par le Dr. Arie Van der Lee (IEM, Montpellier).

- **Protocole de synthèse de l'alcool salicylique (85)⁴⁷ :**

Sous atmosphère inerte (Ar), 320,3 mg de LiAlH₄ (8,44 mmol) ont été mis en suspension dans 10 mL de THF refroidi à 0 °C à l'aide d'un bain de glace. 1,015 g de salicylaldéhyde (8,31 mmol) ont été dilués dans 5 mL de THF et ajoutés au goutte-à-goutte, sur 5 minutes, au milieu réactionnel. Après

30 minutes, la suspension a été filtrée sur célite, puis rincée trois fois à l'aide de 30 mL d'Et₂O. La phase organique récupérée a été évaporée à sec.

Le produit a été purifié par colonne chromatographique de SiO₂ (éluant : EtOAc/Cyclohexane à 50/50 %, v/v), puis cristallisé dans un minimum de CHCl₃.

647,2 mg (η = 63 %) de produit pur ont été isolés.

RMN ¹H (500 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 7,24 - 7,16 (dt, 1H), 7,08 - 7,01 (m, 1H), 6,89 - 6,81 (m, 2H), 4,84 (s, 2H); RMN ¹³C (126 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 156,7, 129,9, 128,4, 125,4, 120,5, 116,8, 64,9.

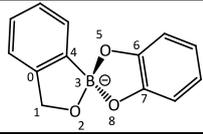
- **Protocole général de synthèse du complexe benzoxaborole/catéchol (83) :**

1,0 équivalent d'acide 2-(hydroxyméthyl)phénylboronique cyclique monoester (50,0 mg, 0,373 mmol) et 1,0 équivalent de catéchol (41,1 mg, 0,373 mmol) ont été dissous dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole (244 μ L, 0,373 mmol). Une fois le milieu réactionnel homogénéisé, il a été laissé sous agitation à TA pendant 5 minutes. Un brut réactionnel solidifié a été obtenu.

Le produit pur a été obtenu par cristallisation dans le THF.

140,6 mg (0,300 mmol, η = 80 %) de produit pur ont été isolés sous forme de plaquettes incolores.

RMN ¹H (500 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 7,30 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,21- 7,04 (m, 3H), 6,46 (s, 4H), 4,81 (s, 2H), 3,02 - 2,84 (m, 8H), 1,52 - 1,35 (m, 8H), 1,38 - 1,23 (m, 8H), 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 12H) ; RMN ¹³C (126 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 154,6, 150,2, 129,7, 126,4, 126,0, 120,6, 117,0, 108,0, 69,4, 58,5, 24,3, 20,1, 14,0 ; RMN ¹¹B (160 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 15,0 ; HRMS-ESI : m/z [M]⁻ calculée pour C₁₃H₁₀BO₃⁻ : 224,0759, trouvée : 224,0757.

Données cristallographiques Benzoxaborole /Catéchol Complexe 83			
Formule	C ₁₃ H ₁₀ BO ₃ , C ₁₆ H ₁₆ N	d(B ₃ ...O ₂) (Å)	1,4655(32)
M (g.mol ⁻¹)	467,48	d(B ₃ ...O ₅) (Å)	1,4969(35)
T (K)	173	d(B ₃ ...O ₈) (Å)	1,5267(31)
λ(Kα(Cu)) (Å)	1,5418	d(B ₃ ...C ₄) (Å)	1,6324(38)
θ min (°)	4,45	d(C ₁ ...O ₂) (Å)	1,4213(34)
θ max (°)	74,43	d(O ₅ ...C ₆) (Å)	1,3601(33)
Réflexions enregistrées	5799	d(C ₇ ...O ₈) (Å)	1,3471(30)
Réflexions utilisées	5592	d(C ₀ ...C ₁) (Å)	1,5081(35)
F000	1024	d(B...N) (Å)	4,6395(31)
Goodness of fit	1,133		5,5783(30)
R (%)	5,74		5,7404(32)
Système cristallin	Orthorhombique	d(B...B) (Å)	8,5110(36)
Groupe d'espace	<i>Pca</i> 2 ₁	d(N...N) (Å)	8,5110(24)
Description	Plaquette incolore	α(O ₂ B ₃ O ₅) (°)	110,37(19)
Taille (μm)	20*50*110	α(O ₂ B ₃ O ₈) (°)	109,58(19)
Densité	1,094	α(O ₅ B ₃ O ₈) (°)	102,55(19)
Coefficient d'absorption	0,531	α(O ₂ B ₃ C ₄) (°)	101,3(2)
a (Å)	16,77887(3)	α(B ₃ O ₂ C ₁) (°)	113,37(19)
b (Å)	8,5110(2)	α(B ₃ O ₅ C ₆) (°)	107,51(18)
c (Å)	19,8701(4)	α(B ₃ O ₈ C ₇) (°)	107,33(18)
α (°)	90	α(B ₃ C ₄ C ₀) (°)	107,4(2)
β (°)	90	α(O ₂ C ₁ C ₀) (°)	106,0(2)
γ (°)	90	α(O ₈ C ₆ C ₇) (°)	110,9(2)
V (Å ³)	2837,52(6)	α(C ₆ C ₇ O ₈) (°)	110,6(2)
Z	4	α(C ₁ C ₀ C ₄) (°)	111,0(2)
		α(C ₄ B ₃ O ₈) (°)	117,8(2)
		α(C ₄ B ₃ O ₈) (°)	115,33(19)

- **Protocole général de synthèse du complexe benzoxaborole/alcool salicylique (86) :**

1,0 équivalent d'acide 2-(hydroxyméthyl)phénylboronique cyclique monoester (50,0 mg, 0,373 mmol) et 1,0 équivalent d'alcool salicylique (46,3 mg, 0,373 mmol) ont été dissous dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole (244 μL, 0,373 mmol). Une fois le milieu réactionnel homogénéisé, il a été chauffé à reflux pendant 30 minutes. Le milieu réactionnel a été laissé revenir à température ambiante. Le brut réactionnel très visqueux a été obtenu.

Le produit pur a été obtenu par cristallisation par diffusion lente liquide/liquide d'Et₂O dans CHCl₃.

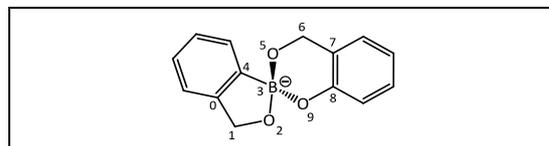
145,5 mg (0,302 mmol, η = 81 %) de produit pur ont été isolés sous forme de plaquettes incolores.

RMN ¹H (500 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 7,32 - 7,25 (m, 1H), 7,10 - 7,02 (m, 2H), 7,02 - 6,98 (m, 1H), 6,98 - 6,91 (m, 1H), 6,89 - 6,84 (m, 1H), 6,59 - 6,50 (m, 2H), 4,96 (d, J = 14,2 Hz, 1H), 4,88 - 4,75 (m, 2H), 4,70 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 3,12 - 2,96 (m, 8H), 1,56 - 1,40 (m, 8H), 1,32 (h, J = 7,4 Hz, 8H), 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 12H) ; RMN ¹³C (126 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 159,2, 151,4, 150,0, 129,3, 127,9, 127,3, 125,6, 125,0,

120,6, 117,7, 115,9, 69,8, 63,0, 59,0, 24,5, 20,2, 14,0 ; RMN ^{11}B (160 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) 8,7 ; HRMS-ESI: m/z $[\text{M}]^-$ calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BO}_3^-$: 238,0916, trouvée : 238,0911.

Dans la structure cristalline, l'atome de bore possède deux environnements différents. Les deux environnements de l'atome de bore (B#1 et B#2) ainsi que la moyenne, des distances et des angles dans leur voisinage, sont décrits dans le tableau ci-dessous.

Données cristallographiques Benzoxaborole /Alcool salicylique Complexe 86	
---	--



Formule	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BO}_3 \cdot \text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}$
M ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)	481,50

Description	Plaquette incolore
Taille (μm)	50*120*160
Densité	1,113
Coefficient d'absorption	0,537

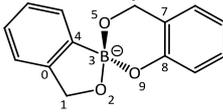
T (K)	173
$\lambda(\text{K}\alpha(\text{Cu}))$ (Å)	1,5418
θ min (°)	3,154
θ max (°)	74,775
Réflexions enregistrées	11771
Réflexions utilisées	10980
F000	2112
Goodness of fit	1,080
R (%)	5,15

a (Å)	9,655(4)
b (Å)	14,969(11)
c (Å)	40,049(16)

α (°)	90
β (°)	96,83(3)
γ (°)	90

Système cristallin	Monoclinique
Groupe de symétrie	$P2_1/c$

V (Å ³)	5747,03
Z	8

	Moyenne	B#1	B#2
d(B ₃ ...O ₂) (Å)	1,4526	1,4543(18)	1,4509(21)
d(B ₃ ...O ₅) (Å)	1,4688	1,4689(18)	1,4686(19)
d(B ₃ ...O ₉) (Å)	1,5197	1,5188(19)	1,5205(18)
d(B ₃ ...C ₄) (Å)	1,6280	1,6271(21)	1,6289(21)
d(C ₁ ...O ₂) (Å)	1,4004	1,4015(17)	1,3992(20)
d(O ₅ ...C ₆) (Å)	1,3973	1,3973(17)	1,3972(19)
d(C ₈ ...O ₉) (Å)	1,3418	1,3411(15)	1,3425(16)
d(C ₀ ...C ₁) (Å)	1,5044	1,5035(20)	1,5052(22)
d(C ₆ ...C ₇) (Å)	1,5051	1,5064(21)	1,5037(20)
d(B...N) (Å)	4,4764	4,4706	4,4822
	4,8716	4,8713	4,8718
d(B...B) (Å)	8,7406(52)	-	-
	8,7802(52)	-	-
d(N...N) (Å)	7,5285(56)	-	-
	7,5784(57)	-	-
α(O ₂ B ₃ O ₅) (°)	110,0	110,18(11)	109,89(12)
α(O ₂ B ₃ O ₉) (°)	106,6	106,45(11)	106,66(12)
α(O ₅ B ₃ O ₉) (°)	108,3	108,27(11)	108,27(11)
α(O ₂ B ₃ C ₄) (°)	102,4	102,46(11)	102,38(12)
α(B ₃ O ₂ C ₁) (°)	112,4	112,13(11)	112,63(11)
α(B ₃ O ₅ C ₆) (°)	112,9	112,78(10)	113,06(10)
α(B ₃ O ₉ C ₈) (°)	119,1	118,79(10)	119,37(11)
α(B ₃ C ₄ C ₀) (°)	106,4	106,20(11)	106,67(12)
α(C ₀ C ₁ O ₂) (°)	107,4	107,16(12)	107,58(12)
α(O ₅ C ₆ C ₇) (°)	111,5	111,48(11)	111,45(12)
α(C ₇ C ₈ O ₉) (°)	122,1	122,26(12)	122,03(12)
α(C ₁ C ₀ C ₄) (°)	109,9	110,00(12)	109,72(13)
α(C ₆ C ₇ C ₈) (°)	118,1	118,15(12)	118,08(12)
α(C ₄ B ₃ O ₅) (°)	115,8	115,69(12)	115,87(12)
α(C ₄ B ₃ O ₉) (°)	113,3	113,29(10)	113,26(11)

- **Protocole général de synthèse du complexe benzoxaborole/acide salicylique (88) :**

1,0 équivalent d'acide 2-(hydroxyméthyl)phénylboronique cyclique monoester (50,0 mg, 0,373 mmol) et 1,0 équivalent d'acide salicylique (51,5 mg, 0,373 mmol) ont été dissous dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole (244 µL, 0,373 mmol). Une fois le milieu réactionnel homogénéisé, il a été chauffé à reflux pendant 30 minutes. Le milieu réactionnel a été laissé revenir à température ambiante. Le brut réactionnel très visqueux a été obtenu.

Le produit pur a été obtenu par cristallisation dans un mélange MeOH/mésitylène (6 mL, à 1/5 v/v.).

100,3 mg (0,202 mmol, η = 54 %) de produit pur ont été isolés sous forme de plaquettes incolores.

RMN ¹H (500 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) 7,82 (dd, J = 7,9, 2,0 Hz, 1H), 7,37 - 7,25 (m, 1H), 7,18 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 7,15 - 7,08 (m, 2H), 7,05 - 7,00 (m, 1H), 6,84 - 6,72 (m, 2H), 4,94 - 4,81 (m, 2H), 3,14 - 2,94 (m, 8H),

1,61 - 1,42 (m, 8H), 1,32 (h, $J = 7,4$ Hz, 8H), 0,94 (t, $J = 7,3$ Hz, 12H) ; RMN ^{13}C (126 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) 166,8, 161,8, 149,1, 133,7, 129,5, 128,0, 126,1, 125,4, 120,3, 118,5, 117,3, 117,1, 69,9, 58,5, 23,8, 19,6, 13,4 ; RMN ^{11}B (160 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) 10,4 ; HRMS-ESI : m/z $[\text{M}]^-$ calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BO}_4^-$: 252,0708, trouvée : 252,0706.

Données cristallographiques Benzoxaborole/Acide salicylique Complexe 88	
---	--

Formule	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BO}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$
M ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)	494,49

T (K)	173
$\lambda(\text{K}\alpha(\text{Cu}))$ (Å)	1,5418
θ min (°)	2,329
θ max (°)	66,739
Réflexions enregistrées	5071
Réflexions utilisées	3759
F000	1076
Goodness of fit	1,108
R (%)	7,51

Système cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	$P2_1/a$

Description	Plaquette incolore
Taille (μm)	10*120*140
Densité	1,149
Coefficient d'absorption	0,581

a (Å)	19,1998(5)
b (Å)	8,9970(2)
c (Å)	16,7802(4)

α (°)	90
β (°)	98,8560(14)
γ (°)	90

V (Å^3)	2864,07(7)
Z	4

$d(\text{B}_3 \dots \text{O}_2)$ (Å)	1,4651(30)
$d(\text{B}_3 \dots \text{O}_5)$ (Å)	1,5187(32)
$d(\text{B}_3 \dots \text{O}_{10})$ (Å)	1,4829(28)
$d(\text{B}_3 \dots \text{C}_4)$ (Å)	1,5926(36)
$d(\text{C}_1 \dots \text{O}_2)$ (Å)	1,4175(29)
$d(\text{O}_5 \dots \text{C}_6)$ (Å)	1,3175(30)
$d(\text{C}_9 \dots \text{O}_{10})$ (Å)	1,3470(28)
$d(\text{C}_0 \dots \text{C}_1)$ (Å)	1,5058(37)
$d(\text{C}_6 \dots \text{O}_7)$ (Å)	1,2316(28)
$d(\text{C}_6 \dots \text{C}_8)$ (Å)	1,4711(29)

$d(\text{B} \dots \text{N})$ (Å)	4,9067(33)
	5,5786(32)

$d(\text{B} \dots \text{B})$ (Å)	8,9676(36)
$d(\text{N} \dots \text{N})$ (Å)	8,9970(24)

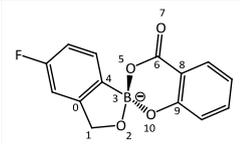
$\alpha(\text{O}_2\text{B}_3\text{O}_5)$ (°)	108,7(2)
$\alpha(\text{O}_2\text{B}_3\text{O}_{10})$ (°)	110,7(2)
$\alpha(\text{O}_5\text{B}_3\text{O}_{10})$ (°)	109,3(2)
$\alpha(\text{O}_2\text{B}_3\text{C}_4)$ (°)	103,3(2)
$\alpha(\text{B}_3\text{O}_2\text{C}_1)$ (°)	111,7(2)
$\alpha(\text{B}_3\text{O}_5\text{C}_6)$ (°)	123,3(2)
$\alpha(\text{B}_3\text{O}_{10}\text{C}_9)$ (°)	118,8(2)
$\alpha(\text{B}_3\text{C}_4\text{C}_0)$ (°)	107,6(2)
$\alpha(\text{O}_2\text{C}_1\text{C}_0)$ (°)	107,1(2)
$\alpha(\text{O}_5\text{C}_6\text{C}_8)$ (°)	116,7(2)
$\alpha(\text{C}_8\text{C}_9\text{O}_{10})$ (°)	121,6(2)
$\alpha(\text{C}_1\text{C}_0\text{C}_4)$ (°)	110,0(2)
$\alpha(\text{C}_6\text{C}_8\text{C}_9)$ (°)	119,8(2)
$\alpha(\text{C}_4\text{B}_3\text{O}_5)$ (°)	110,9(2)
$\alpha(\text{C}_4\text{B}_3\text{O}_{10})$ (°)	113,8(2)
$\alpha(\text{O}_5\text{C}_6\text{O}_7)$ (°)	121,2(2)

- **Protocole de synthèse du complexe AN2690/acide salicylique (89) :**

1,0 équivalent d'AN2690 (50,0 mg, 0,329 mmol) et 1,0 équivalent d'acide salicylique (51,5 mg, 0,373 mmol) ont été dissous dans une solution aqueuse d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH à 40 % massique) ajoutée à hauteur d'un équivalent de TBAOH par rapport au benzoxaborole (244 μL , 0,373 mmol). Le milieu réactionnel homogénéisé a été chauffé à reflux pendant 30 minutes. Le milieu réactionnel a été laissé revenir à température ambiante. Le brut réactionnel très visqueux a été obtenu.

Le produit pur a été obtenu par cristallisation dans un mélange acétone/mésitylène (3 mL, à 1/2 v/v.). 178,2 mg (0,347 mmol, $\eta = 93\%$) de produit pur ont été isolés sous forme de bâtonnets incolores.

RMN ^1H (500 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) 7,85 - 7,78 (m, 1H), 7,34 - 7,26 (m, 1H), 7,13 (dd, $J = 7,9, 6,0$ Hz, 1H), 6,82 - 6,68 (m, 4H), 4,89 - 4,78 (m, 2H), 3,08 - 3,00 (m, 8H), 1,55 - 1,45 (m, 8H), 1,31 (h, $J = 7,3$ Hz, 8H), 0,94 (t, $J = 7,3$ Hz, 12H) ; RMN ^{13}C (126 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) 167,1, 164,0, 162,1, 152,0, 134,3, 130,0, 129,7, 119,0, 117,8, 112,9, 112,7, 107,5, 107,3, 70,0, 59,0, 54,2, 54,0, 53,8, 53,6, 24,2, 20,1, 13,9 ; RMN ^{11}B (160 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) 10,1 ; RMN ^{19}F (376 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) - 118,93 ; HRMS-ESI : m/z $[\text{M}]^-$ calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BFO}_4^-$: 270,0614, trouvée : 270,0616.

Données cristallographiques AN2690/Acide salicylique Complexe 89	
--	---

Formule	$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BFO}_4 \cdot \text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}$
M ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)	513,48

T (K)	173
$\lambda(K_{\alpha}(\text{Cu}))$ (Å)	1,5418
θ min (°)	3,550
θ max (°)	74,049
Réflexions enregistrées	6518
Réflexions utilisées	6455
F000	4448
Goodness of fit	1,099
R (%)	3,52

Système cristallin	Orthorhombique
Groupe d'espace	<i>Fdd2</i>

Description	Plaquette incolore
Taille (μm)	50*80*150
Densité	1,073
Coefficient d'absorption	0,586

a (Å)	32,2989(7)
b (Å)	39,0837(9)
c (Å)	10,0761(2)

α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90

V (Å ³)	12719,7(3)
Z	16

d(B ₃ ...O ₂) (Å)	1,4425(18)
d(B ₃ ...O ₅) (Å)	1,5070(18)
d(B ₃ ...O ₁₀) (Å)	1,4937(15)
d(B ₃ ...C ₄) (Å)	1,6147(17)
d(C ₁ ...O ₂) (Å)	1,4120(19)
d(O ₅ ...C ₆) (Å)	1,3226(19)
d(C ₉ ...O ₁₀) (Å)	1,3392(16)
d(C ₀ ...C ₁) (Å)	1,5044(20)
d(C ₆ ...O ₇) (Å)	1,2099(16)
d(C ₆ ...C ₈) (Å)	1,4860(17)

d(B...N) (Å)	4,8150(17)
	4,9038(17)

d(B...B) (Å)	8,4695(21)
d(N...N) (Å)	8,5934(14)

$\alpha(\text{O}_2\text{B}_3\text{O}_5)$ (°)	108,64(10)
$\alpha(\text{O}_2\text{B}_3\text{O}_{10})$ (°)	109,7(1)
$\alpha(\text{O}_5\text{B}_3\text{O}_{10})$ (°)	108,31(11)
$\alpha(\text{O}_2\text{B}_3\text{C}_4)$ (°)	103,63(11)
$\alpha(\text{B}_3\text{O}_2\text{C}_1)$ (°)	117,506(87)
$\alpha(\text{B}_3\text{O}_5\text{C}_6)$ (°)	119,28(10)
$\alpha(\text{B}_3\text{O}_{10}\text{C}_9)$ (°)	113,80(9)
$\alpha(\text{B}_3\text{C}_4\text{C}_0)$ (°)	106,52(10)
$\alpha(\text{O}_2\text{C}_1\text{C}_0)$ (°)	107,5(1)
$\alpha(\text{O}_5\text{C}_6\text{C}_9)$ (°)	115,88(10)
$\alpha(\text{C}_9\text{C}_9\text{O}_{10})$ (°)	120,97(11)
$\alpha(\text{C}_1\text{C}_0\text{C}_4)$ (°)	109,84(12)
$\alpha(\text{C}_6\text{C}_8\text{C}_9)$ (°)	123,650(65)
$\alpha(\text{C}_4\text{B}_3\text{O}_5)$ (°)	113,29(9)
$\alpha(\text{C}_4\text{B}_3\text{O}_{10})$ (°)	113,1(1)
$\alpha(\text{O}_5\text{C}_6\text{O}_7)$ (°)	121,01(13)

- **Protocole général de synthèse du complexe squarate-bisbenzoxaborole/catéchol (84) :**

1,0 équivalent de **75** (75,0 mg, 0,200 mmol) et 2,0 équivalents de catéchol (44,0 mg, 0,400 mmol) ont été dissous dans du DMSO. Au milieu réactionnel bien homogénéisé, une solution aqueuse de TBAOH a été ajoutée à hauteur de 2,0 équivalents par rapport au benzoxaborole (261 μL , 0,400 mmol). Le

milieu réactionnel a d'abord été mis sous-vide à température ambiante pendant 5 minutes, puis chauffé à 55 °C, toujours sous-vide, pendant 3 heures. Le milieu réactionnel a été laissé revenir à température ambiante. Un brut réactionnel très visqueux a été obtenu.

Aucune purification ou cristallisation n'a été concluante. Le brut réactionnel a été analysé tel quel.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 10,91 (s, 2H), 7,50 (dd, $J = 8,1, 2,1$ Hz, 2H), 7,22 (d, $J = 2,1$ Hz, 2H), 7,00 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 6,32 (m, 8H), 4,61 (m, 4H), 3,24 - 3,05 (m, 16H), 1,55 (m, 16H), 1,30 (h, $J = 7,4$ Hz, 16H), 0,92 (t, $J = 7,4$ Hz, 24H) ; RMN ^{13}C (151 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 181,1, 165,5, 153,8, 144,5, 136,5, 120,2, 119,1, 117,0, 115,9, 106,9, 106,7, 67,8, 57,5, 23,0, 19,2, 13,5 ; RMN ^{11}B (160 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 15,1 ; RMN 2D DOSY (600 MHz, DMSO- d_6) : $D = 1,58 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

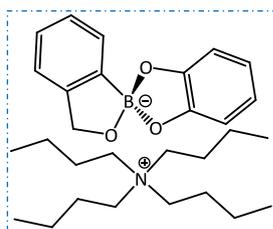
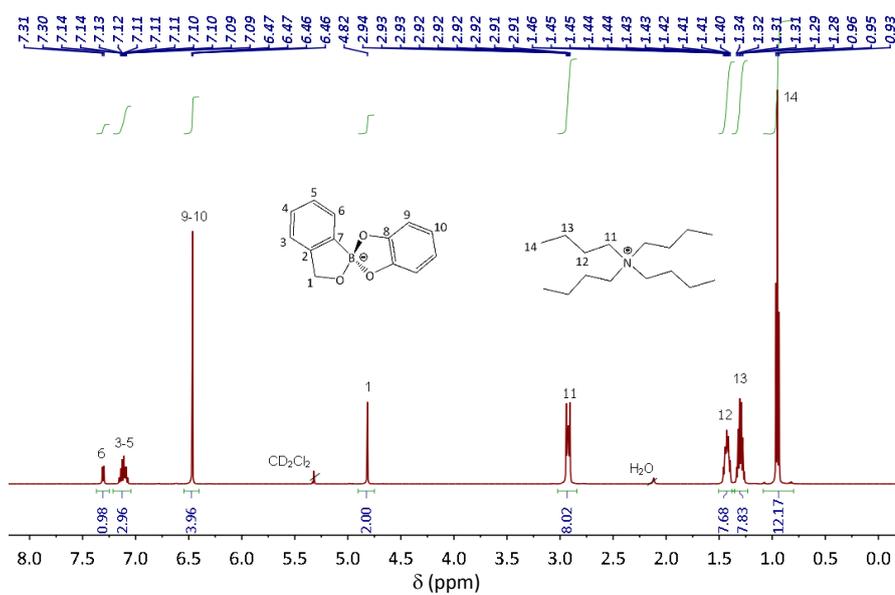
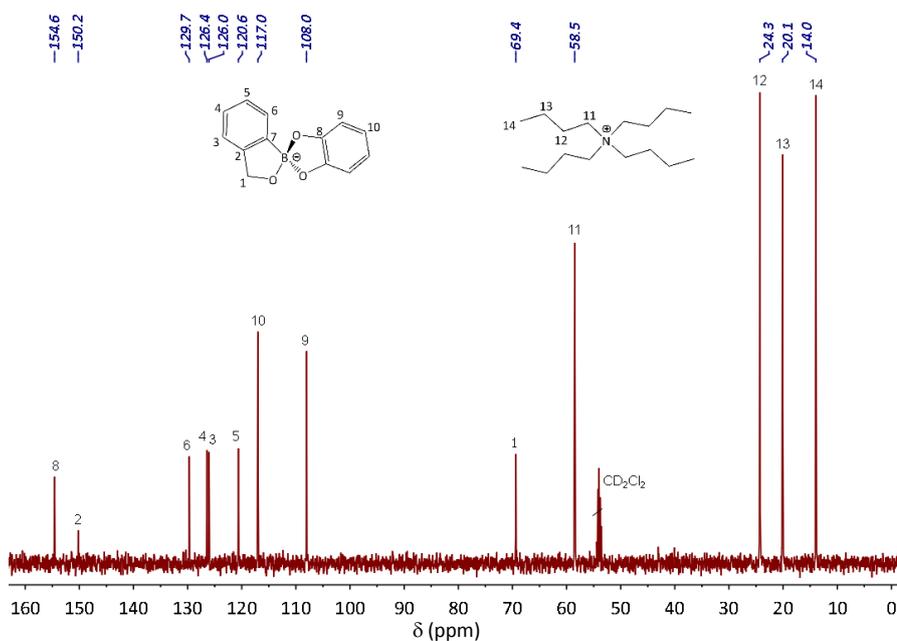
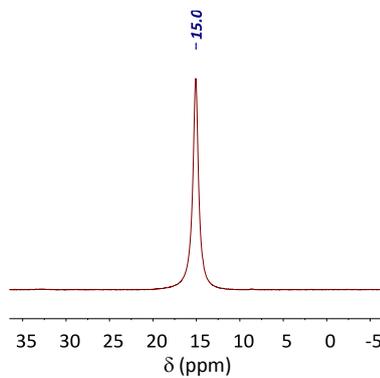
- **Protocole général de synthèse du complexe squarate-bisbenzoxaborole/acide salicylique (90) :**

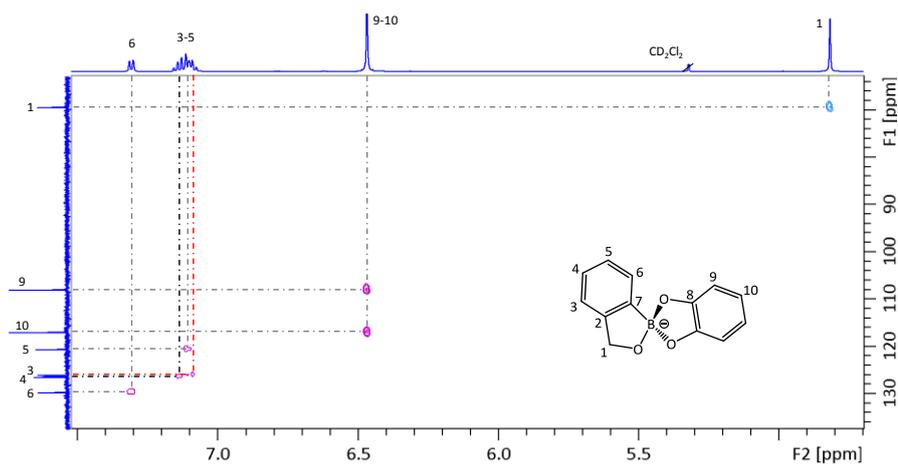
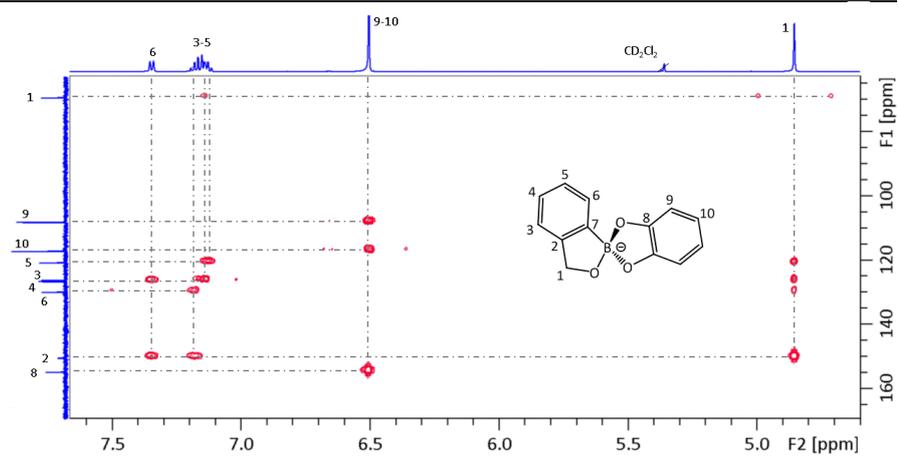
1,0 équivalent de **75** (75,0 mg, 0,200 mmol) et 2,0 équivalents d'acide salicylique (55,3 mg, 0,400 mmol) ont été dissous dans du DMSO. Au milieu réactionnel bien homogénéisé, une solution aqueuse de TBAOH a été ajoutée à hauteur de 2,0 équivalents par rapport au benzoxaborole (261 μL , 0,400 mmol). Le milieu réactionnel a d'abord été mis sous-vide à température ambiante pendant 5 minutes, puis chauffé à 55 °C, toujours sous-vide, pendant 3 heures. Le milieu réactionnel a été laissé revenir à température ambiante. Un brut réactionnel très visqueux a été obtenu.

Aucune purification ou cristallisation n'a été concluante. Le brut réactionnel a été analysé tel quel.

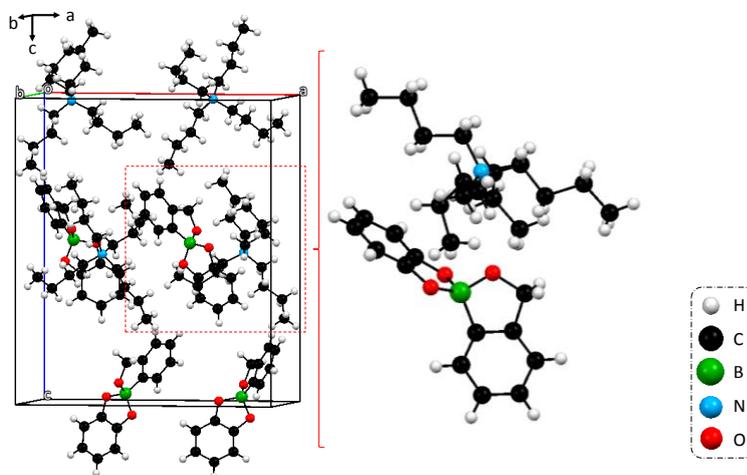
RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 11,11 (s, 2H), 7,69 (dd, $J = 8,1, 2,2$ Hz, 2H), 7,51 (dd, $J = 8,1, 2,2$ Hz, 2H), 7,38 - 7,20 (m, 4H), 7,01 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 6,72 (dt, $J = 7,5, 1,1$ Hz, 2H), 6,67 (dd, $J = 8,2, 1,1$ Hz, 2H), 4,76 - 4,60 (m, 4H), 3,22 - 3,08 (m, 16H), 1,55 (m, 16H), 1,28 (h, $J = 7,4$ Hz, 16H), 0,91 (t, $J = 7,4$ Hz, 24) ; RMN ^{13}C (151 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 180,6, 165,4, 165,4, 161,3, 144,1, 136,7, 133,5, 129,1, 120,3, 118,2, 118,0, 116,9, 116,9, 116,8, 68,6, 57,5, 23,1, 19,2, 13,5 ; RMN ^{11}B (160 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) 9,7 ; RMN 2D DOSY (600 MHz, DMSO- d_6) : $D = 1,67 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

83


 RMN ^1H
 (500 MHz, CD_2Cl_2)

 RMN ^{13}C
 (126 MHz, CD_2Cl_2)

 RMN ^{11}B
 (160 MHz, CD_2Cl_2)


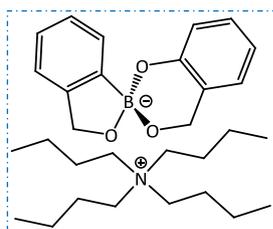
2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC
 (500 MHz, CD_2Cl_2)

 2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC
 (500 MHz, CD_2Cl_2)


DRX

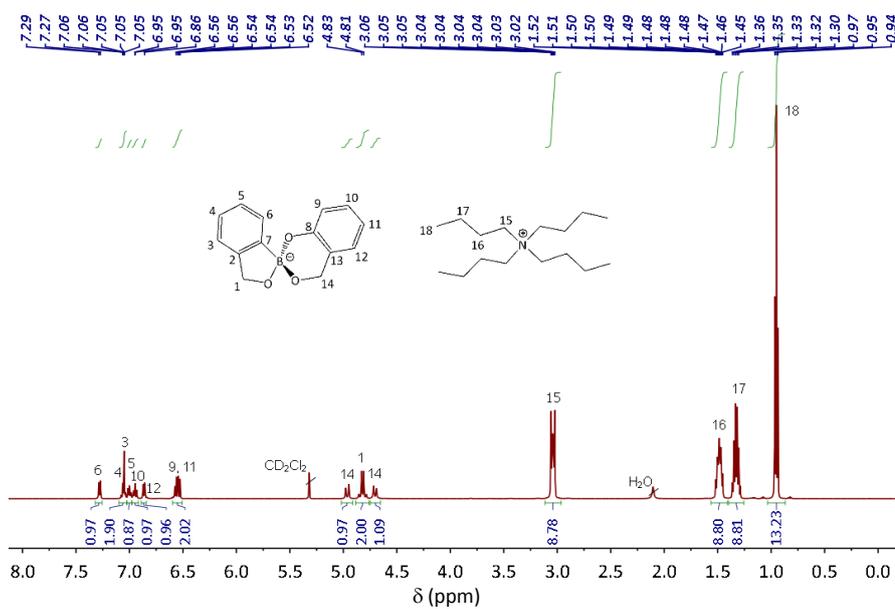


$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{BO}_3 \cdot \text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}$, $a = 16,7787(3) \text{ \AA}$, $b = 8,5110(2) \text{ \AA}$, $c = 19,8701(4) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90,00^\circ$,
 $V^3 = 2837,52 \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $Pca2_1$.

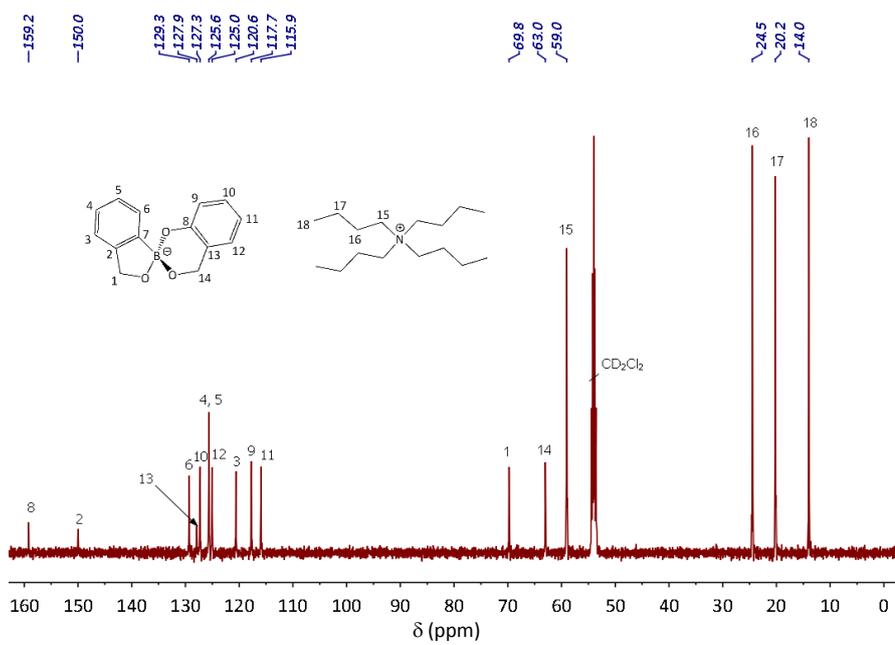
86



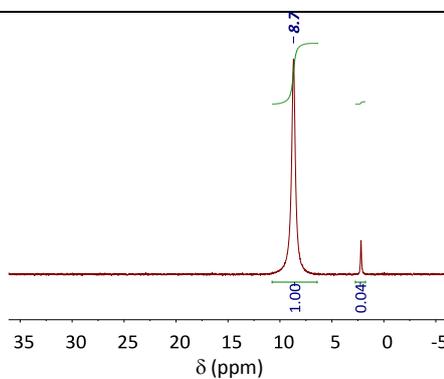
RMN ^1H
(500 MHz, CD_2Cl_2)



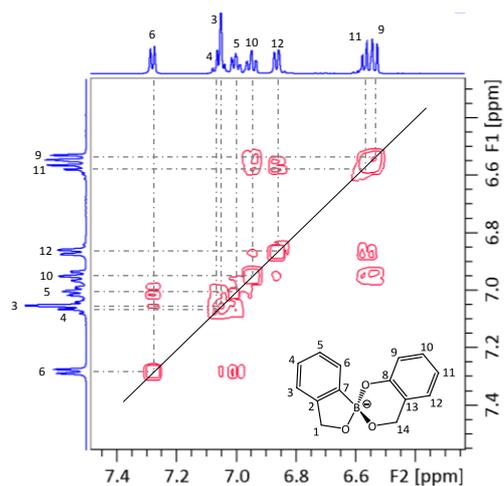
RMN ^{13}C
(126 MHz, CD_2Cl_2)



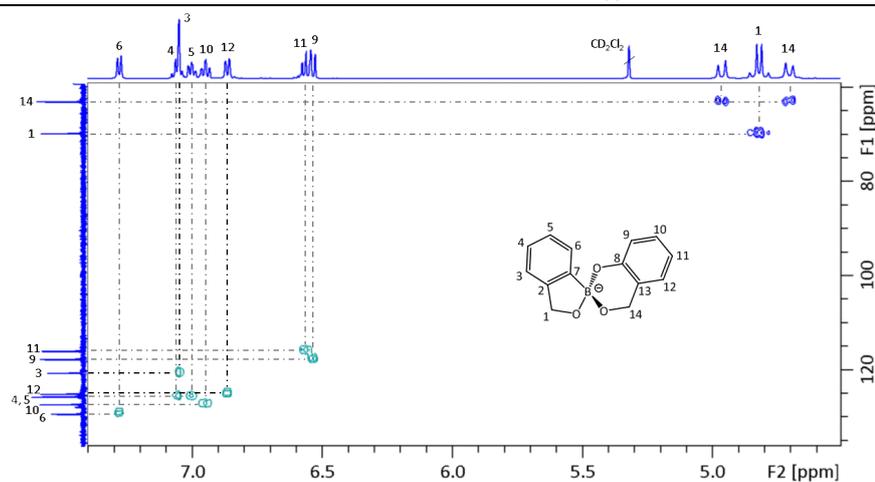
RMN ^{11}B
(160 MHz, CD_2Cl_2)



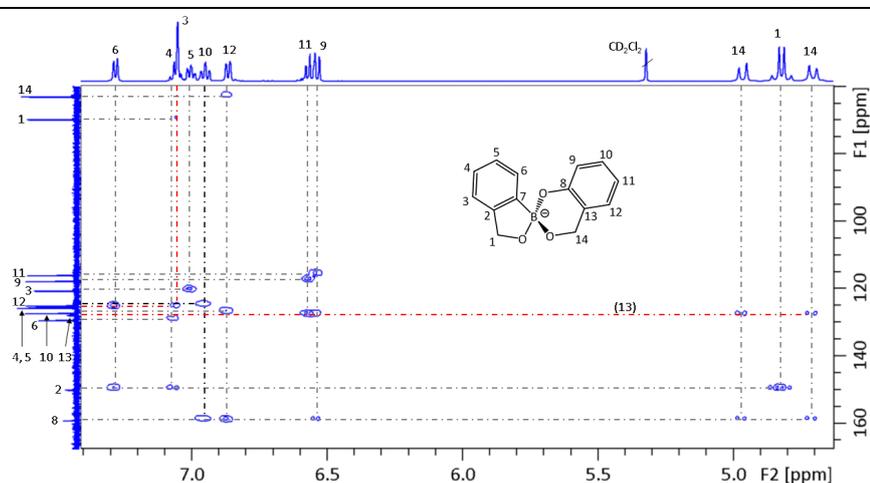
2D RMN $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY
(500 MHz, CD_2Cl_2)



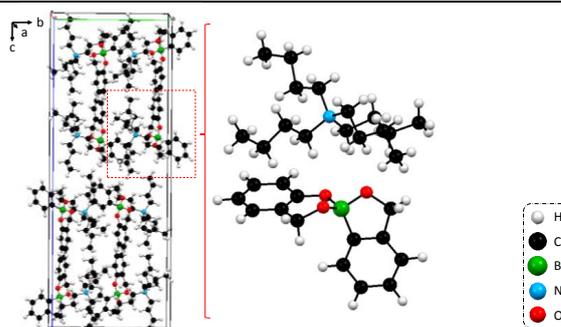
2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC
(500 MHz, CD_2Cl_2)



2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HMBC
(500 MHz, CD_2Cl_2)

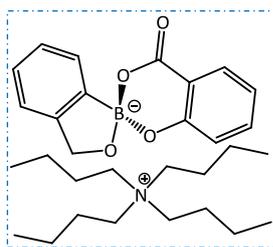


DRX

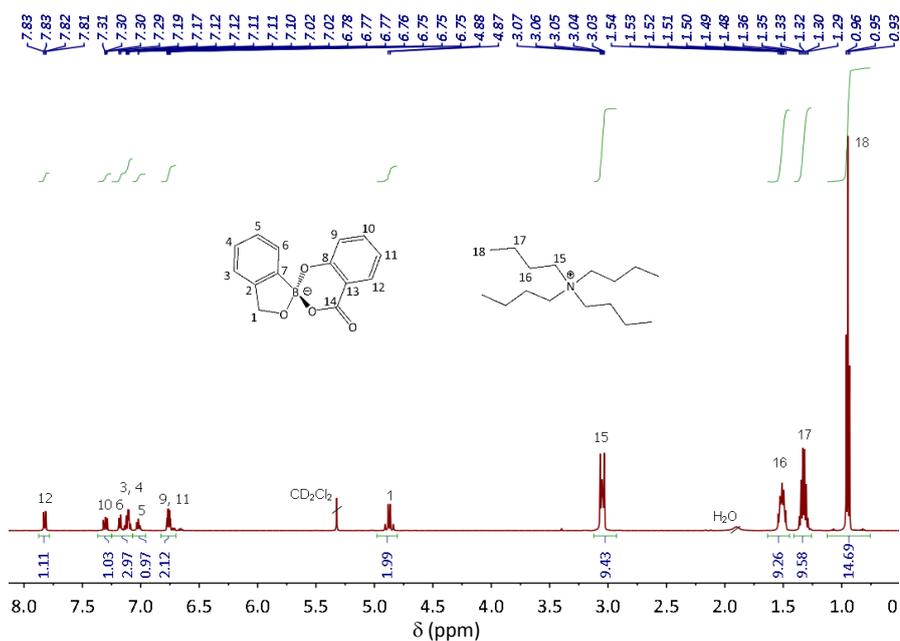


$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BO}_3 \cdot \text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}$, $a = 9,655(4) \text{ \AA}$, $b = 14,969(11) \text{ \AA}$, $c = 40,049(16) \text{ \AA}$, $\alpha = \gamma = 90,00^\circ$, $\beta = 96,83(3)^\circ$,
 $V^3 = 5747,03 \text{ \AA}^3$, $Z = 8$, $P2_1/c$.

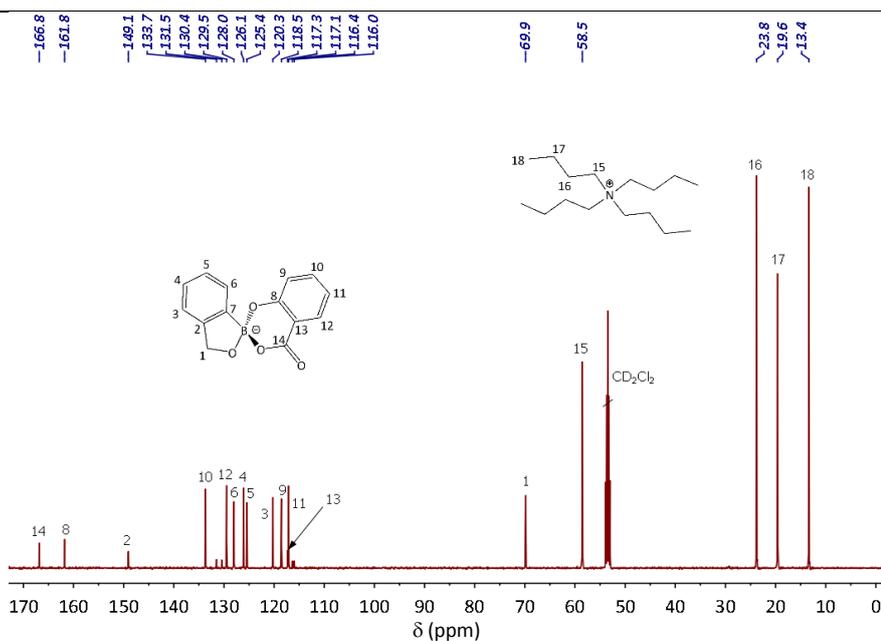
88



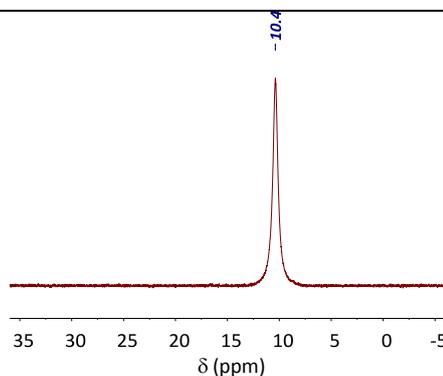
RMN ¹H
(500 MHz, CD₂Cl₂)



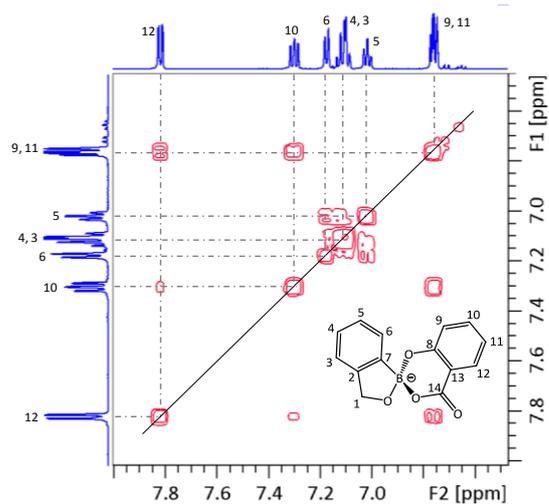
RMN ¹³C
(126 MHz, CD₂Cl₂)



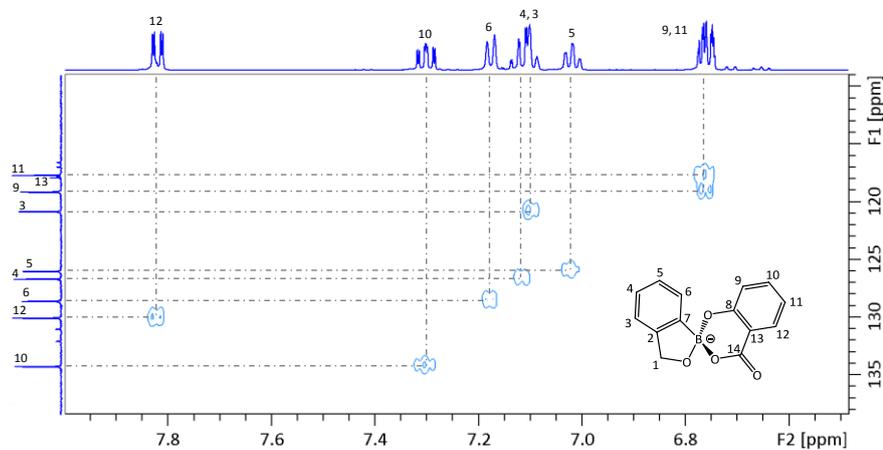
RMN ¹¹B
(160 MHz, CD₂Cl₂)



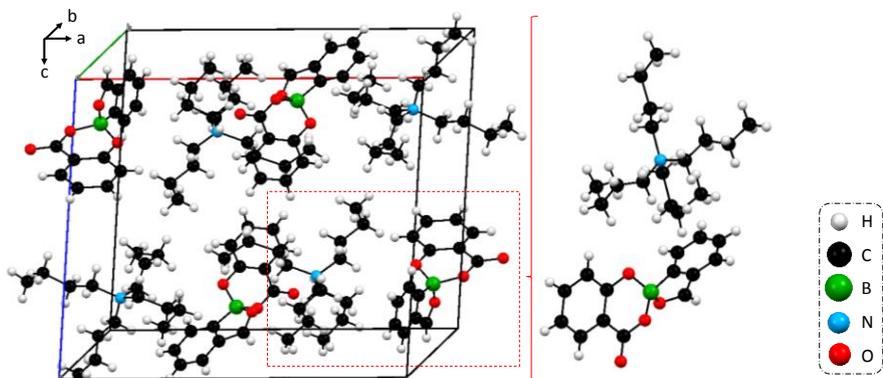
2D RMN $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY
(500 MHz, CD_2Cl_2)



2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC
(500 MHz, CD_2Cl_2)

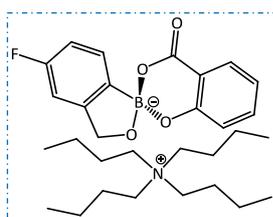


DRX

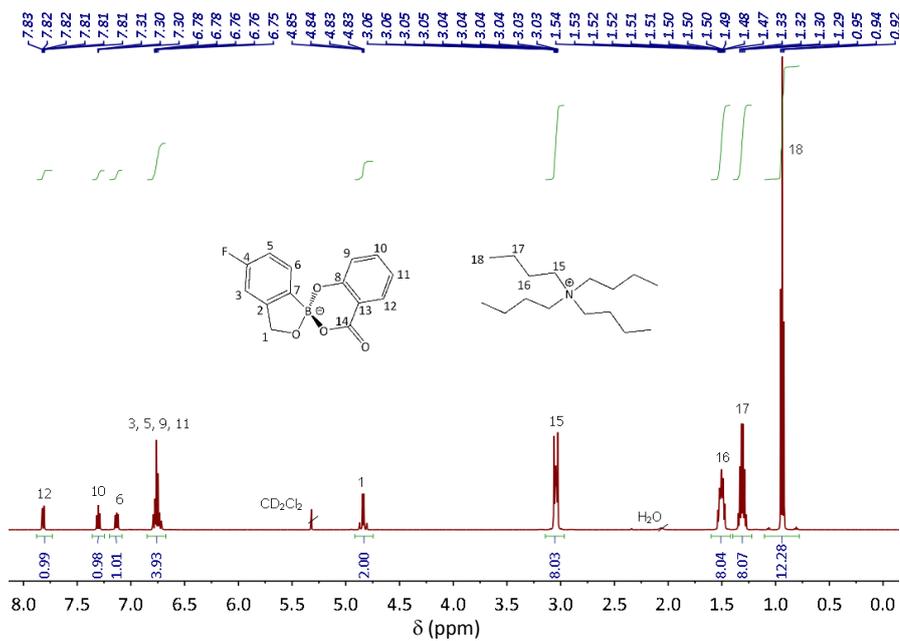


$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BO}_4 \cdot \text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}$, $a = 19,1998(5)$ Å, $b = 8,9970(2)$ Å, $c = 16,7802(4)$ Å, $\alpha = \gamma = 90,00^\circ$,
 $\beta = 98,86(14)^\circ$, $V^3 = 2864,07$ Å 3 , $Z = 4$, $P2_1/a$.

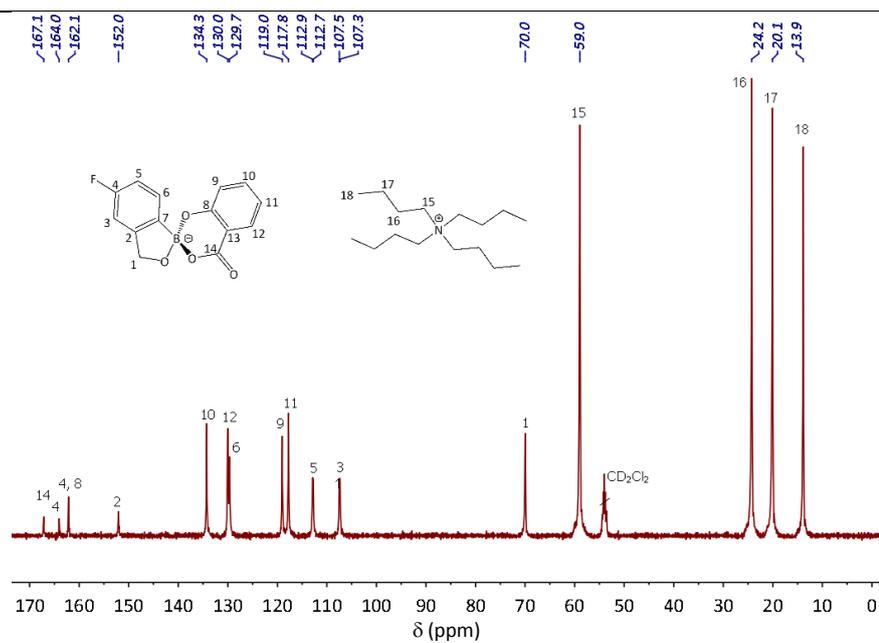
89



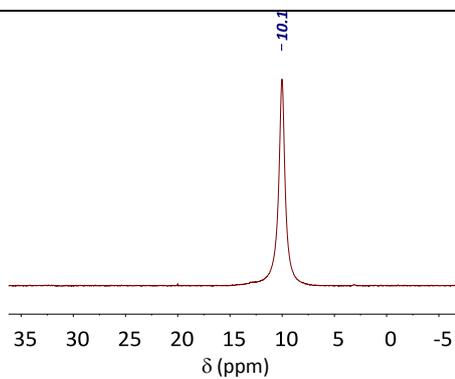
RMN ^1H
(500 MHz, CD_2Cl_2)



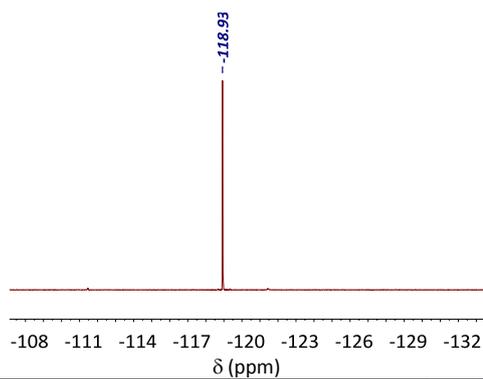
RMN ^{13}C
(126 MHz, CD_2Cl_2)



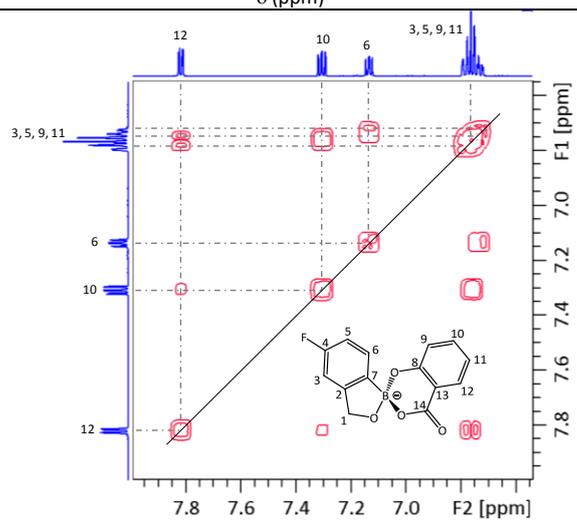
RMN ^{11}B
(160 MHz, CD_2Cl_2)



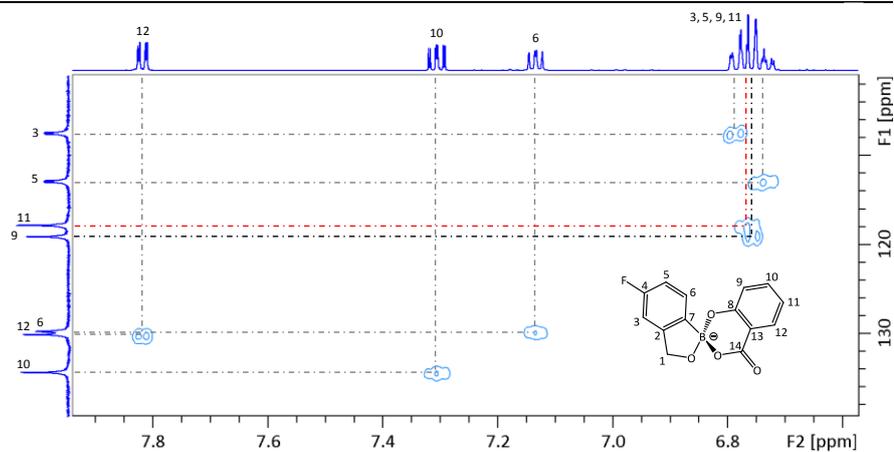
RMN ^{19}F
(376 MHz, CD_2Cl_2)



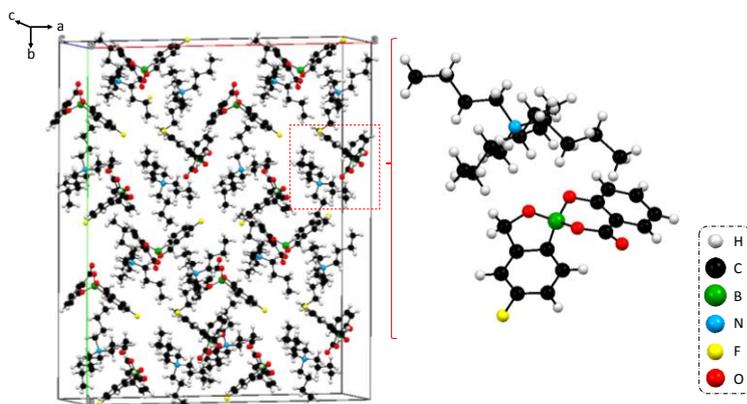
2D RMN $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY
(500 MHz, CD_2Cl_2)



2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC
(500 MHz, CD_2Cl_2)

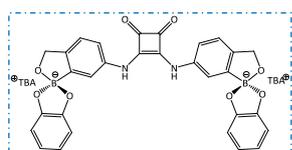


DRX

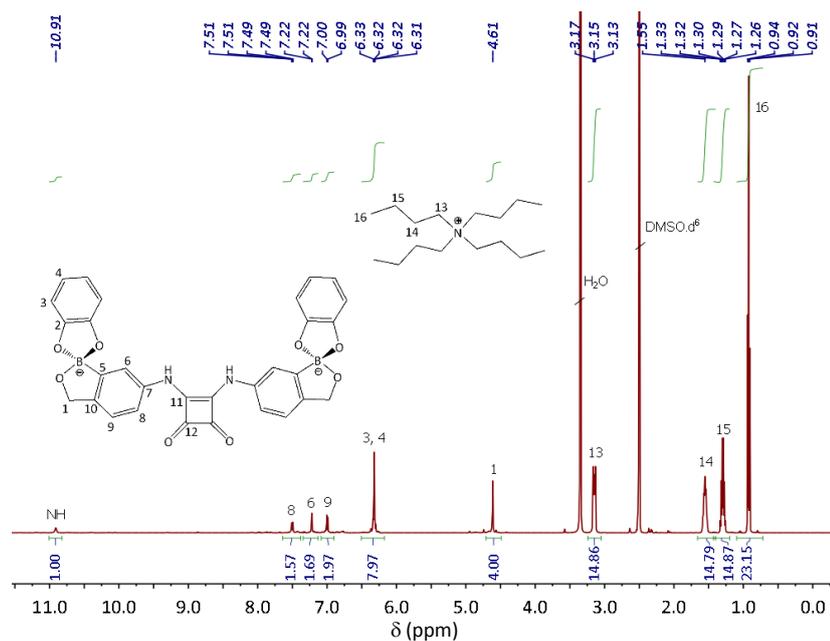


$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BF}_4 \cdot \text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}$, $a = 32,2989(7) \text{ \AA}$, $b = 39,0837(9) \text{ \AA}$, $c = 10,0761(2) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90,00^\circ$,
 $V^3 = 12719,7 \text{ \AA}^3$, $Z = 16$, $Fdd2$.

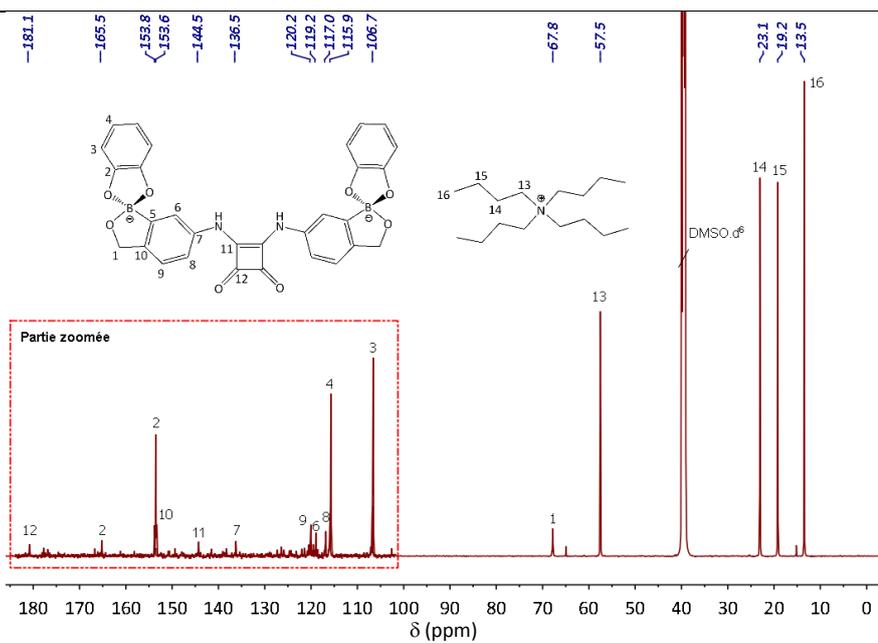
84



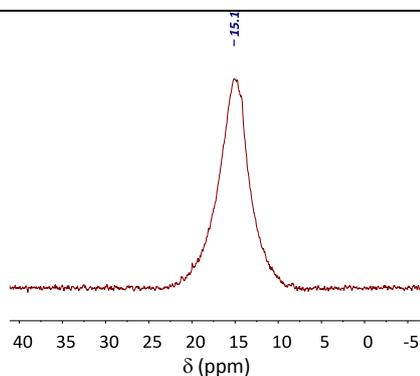
RMN ^1H
(500 MHz, DMSO- d_6)



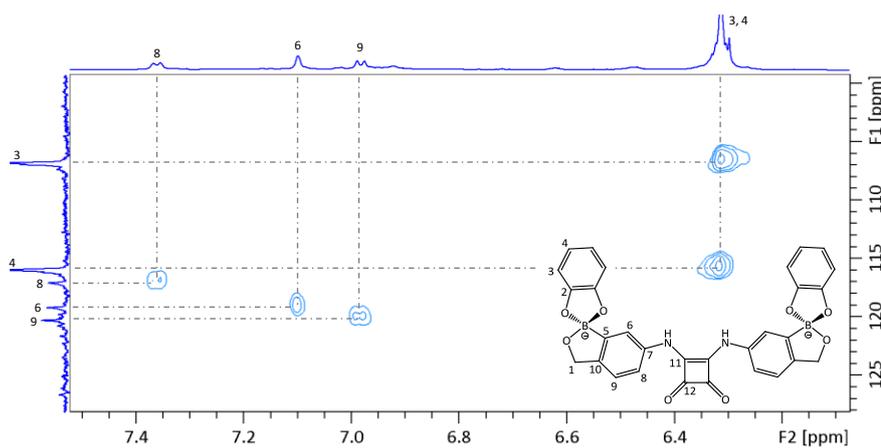
RMN ^{13}C
(151 MHz, DMSO- d_6)



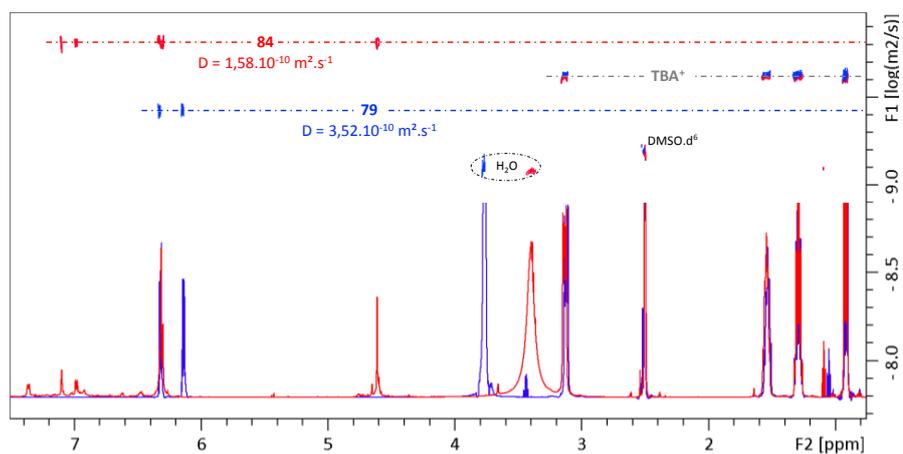
RMN ^{11}B
(160 MHz, DMSO- d_6)



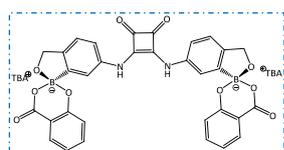
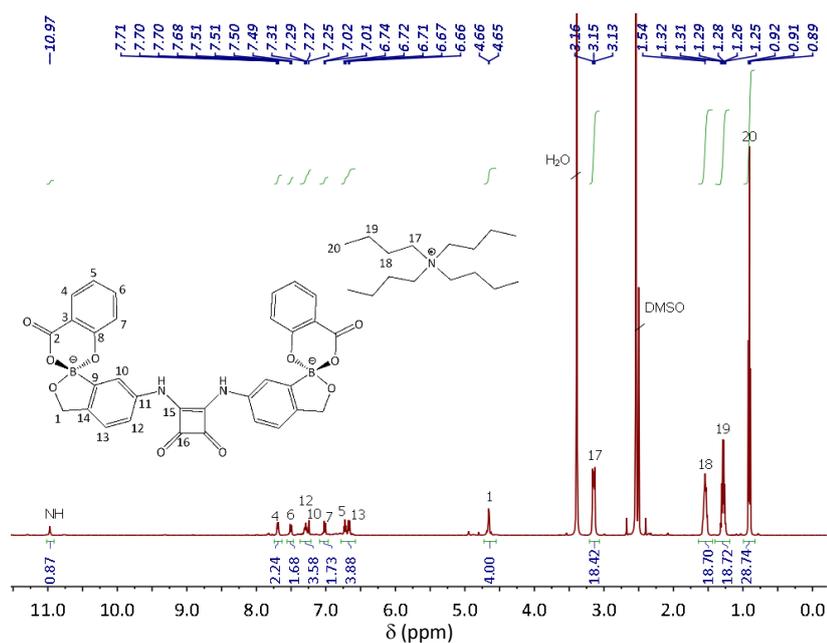
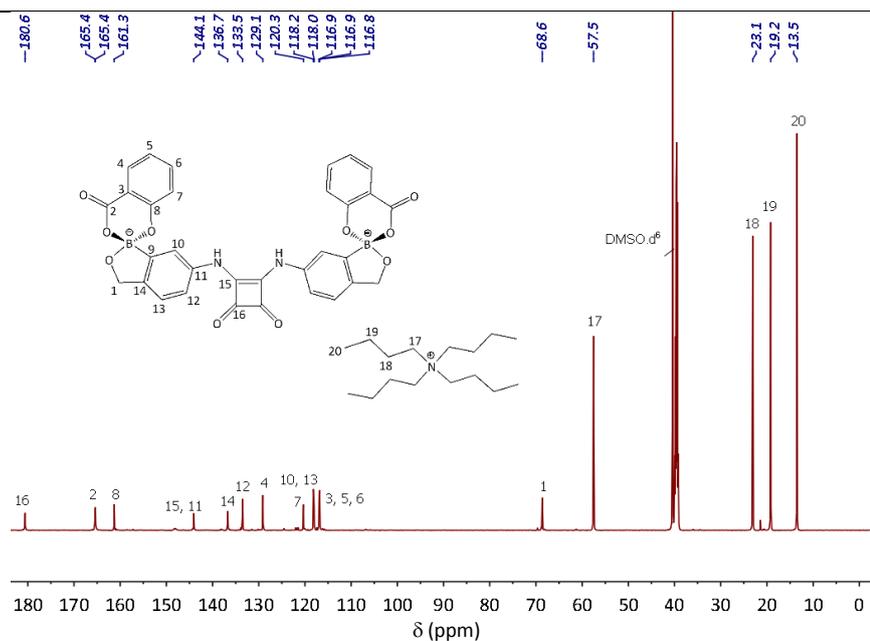
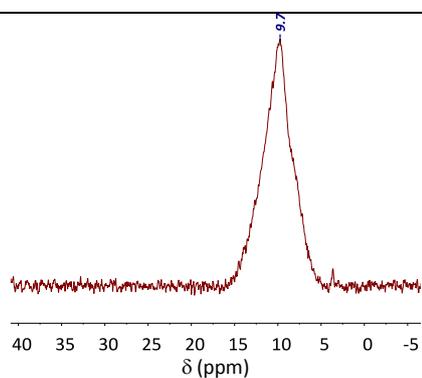
2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC
(500 MHz, DMSO-d^6)



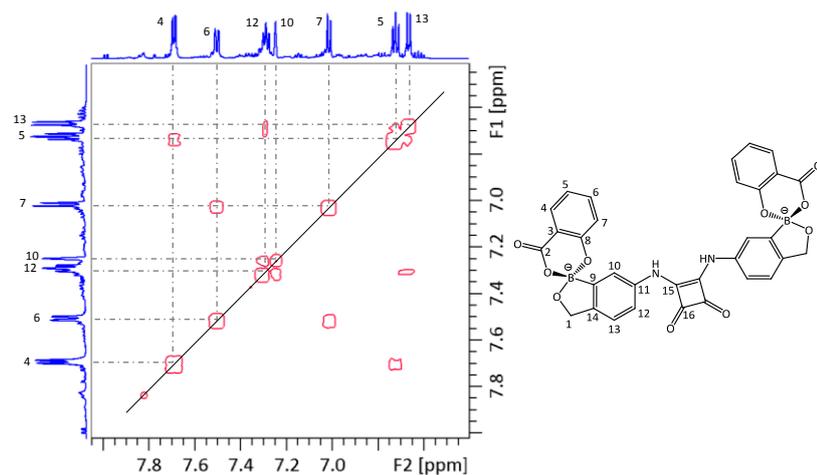
RMN ^1H DOSY
(600 MHz, DMSO-d^6)



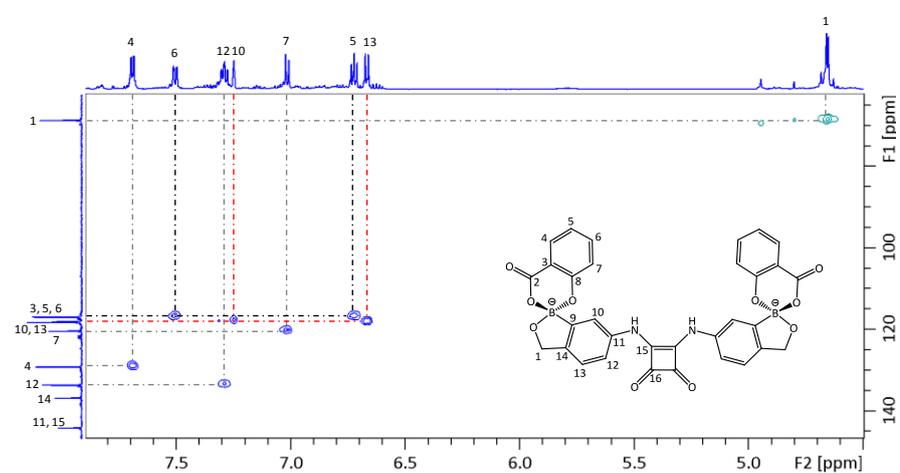
90


 RMN ^1H
 (500 MHz, DMSO- d_6)

 RMN ^{13}C
 (151 MHz, DMSO- d_6)

 RMN ^{11}B
 (160 MHz, DMSO- d_6)


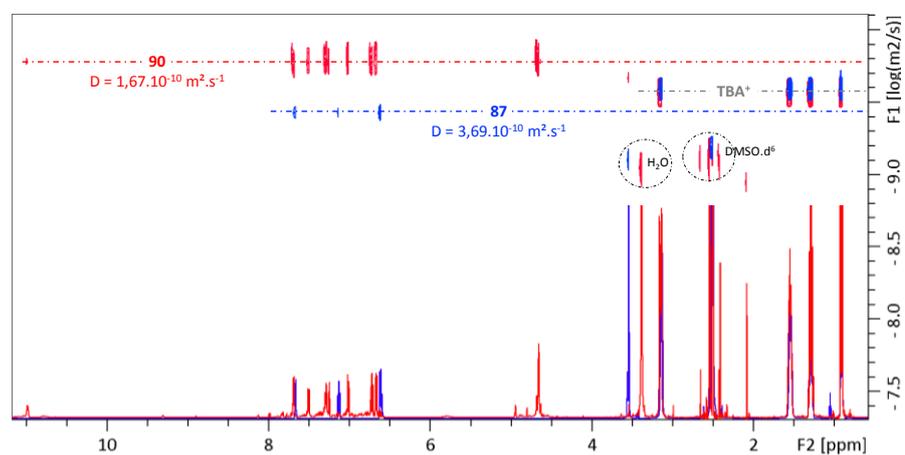
2D RMN $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY
(500 MHz, DMSO- d_6)



2D RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HSQC
(500 MHz, DMSO- d_6)



2D RMN ^1H DOSY
(600 MHz, DMSO- d_6)



Au cours des travaux de cette thèse, nous avons pu synthétiser, caractériser et mettre en application de nouveaux benzoxaboroles multivalents.

La mise en place d'une stratégie de synthèse, par réaction de briques moléculaires benzoxaborole sur des espaceurs, a permis la formation d'une dizaine de nouveaux composés organoborés multivalents. La modulation de l'espaceur et des types de jonctions permettent de modifier les propriétés de ces molécules (Figure 1).

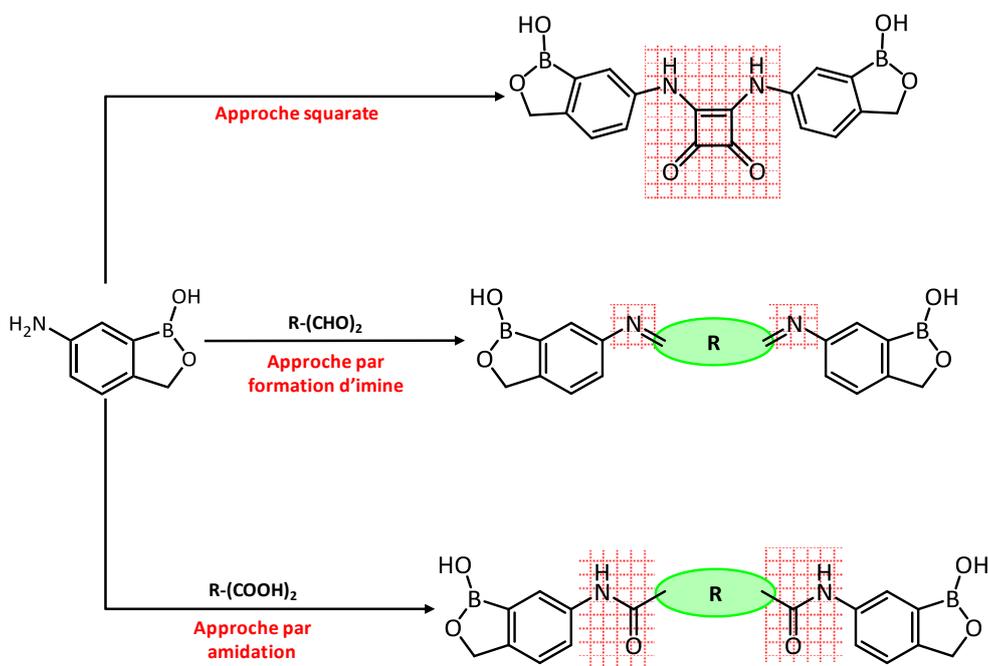


Figure 1 : Synthèse de benzoxaboroles multivalents suivant les trois approches. Leurs propriétés peuvent être modulées suivant l'espaceur choisi (R) et le type de jonction covalente formée (amide, imine...).

Ayant créé une petite librairie de ces molécules, elles ont pu être évaluées contre des isoformes de l'anhydrase carbonique humaine. Les sélectivités d'inhibition des benzoxaboroles multivalents restent faibles quand elles sont comparées à la sélectivité d'inhibition d'autres composés déjà testés. En comparant nos données avec celles obtenues dans la littérature sur d'autres benzoxaboroles, nous remarquons que nos constantes d'inhibition ne sont pas plus importantes pour les composés multivalents. Les benzoxaboroles multivalents testés ici pour l'inhibition de l'hCA ne sont donc pas les meilleurs inhibiteurs. Une optimisation de la structure de ces inhibiteurs est nécessaire afin d'améliorer leur sélectivité.

Enfin, leur application dans la synthèse de nouveaux complexes a été envisagée et réalisée durant cette thèse. Pour ce faire, il a d'abord fallu mettre en évidence la formation de complexes 1/2, où deux substrats (diol ou acide salicylique) viennent se complexer sur un benzoxaborole divalent. Cette étude a été réalisée pour les diols par une méthode RMN multinucléaire en solution. Les RMN ^1H et ^{19}F se sont montrées très informatives et complémentaires pour ce type d'étude fondamentale. La formation de ces complexes en solution a alors pu être mise en évidence. Les différentes conditions testées ont confirmé la forte influence du milieu sur l'équilibre de ces complexations.

Ces connaissances ont été utilisées pour la synthèse et l'isolation de nouveaux complexes benzoxaborole/diol ou benzoxaborole/acide salicylique. La synthèse de plusieurs complexes, en diversifiant tant le benzoxaborole et le substrat que les jonctions impliquées, a donc été réalisée. Les

complexes à partir du benzoxaborole simple ont pu être isolés et caractérisés par RMN multinucléaire et diffraction des rayons X. Cependant, les complexes à partir du benzoxaborole bivalent restent à isoler.

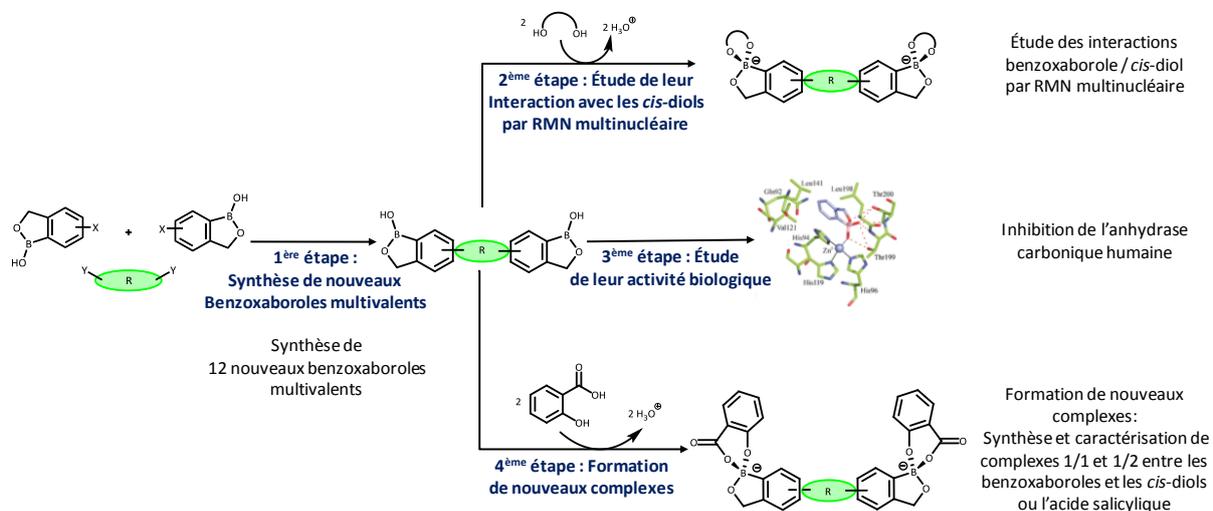


Figure 2 : Schéma récapitulatif des travaux réalisés lors de cette thèse.

Les travaux réalisés dans cette thèse sont donc très encourageants et permettent d'envisager plusieurs suites dans les recherches.

En ce qui concerne les tests biologiques, même si les composés ne se sont pas montrés intéressants dans le cas de l'hCA, ils pourraient être prometteurs dans d'autres domaines thérapeutiques. Il serait donc intéressant de les tester, par exemple, pour l'inhibition d'autres enzymes ou directement en tant que principe actif. Enfin, maintenant qu'un protocole de synthèse a été mis en place, la formation de nouvelles molécules permettrait de jouer sur la structure de celles-ci et donc sur leur propriété d'inhibition. Beaucoup de possibilités et de recherches restent donc à mener dans ce domaine.

Dans le cas de la formation de nouveaux complexes, les expériences doivent aussi être poursuivies afin d'augmenter leur complexité et ainsi aller vers des structures plus étendues à trois dimensions telles que des cages. Ces architectures, de par les caractéristiques intrinsèques des benzoxaboroles, promettent des propriétés intéressantes. Par exemple, si des cages ou des structures 3D poreuses à base de benzoxaboroles multivalents sont synthétisés avec succès, elles pourraient être testées pour encapsuler des principes actifs et ainsi être utilisées pour de la délivrance de principe actif, mais aussi en tant que plateforme pour faire de l'encapsulation sélective de substrats pour de l'analyse ou de la séparation de produits. Dans tous ces cas, il faudra jouer sur la structure des précurseurs introduits (substrats et molécules organoborées) mais aussi sur les conditions de synthèse. Des précurseurs tels que ceux représentés ci-dessous (Figure 3), qui ont déjà été décrits dans la littérature, pourront être utilisés dans ces optiques.

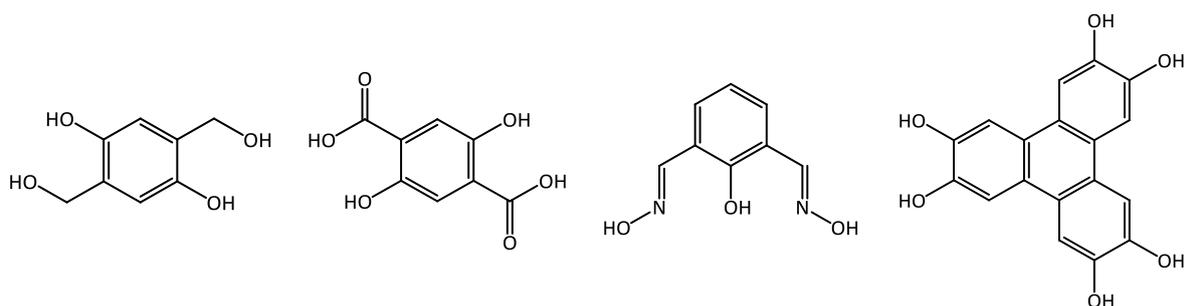


Figure 3 : Représentation de substrats envisageables pour la formation de nouveaux complexes, par association avec les benzoxaboroles multivalents, pour aller vers des architectures plus étendues.



Cite this: *New J. Chem.*, 2018, 42, 2815

A multinuclear NMR perspective on the complexation between bisboronic acids and bisbenzoxaboroles with *cis*-diols†

Adèle Larcher,^{ab} Aurélien Lebrun,^b Michael Smietana^{id}*^b and Danielle Laurencin^{id}*^a

The interaction between boronic acids and *cis*-diols is an intense area of research, with numerous applications in sensing, separation, drug delivery, and materials science. Several analytical tools have been proposed over the past 20 years to probe these interactions, but most of them are limited by shortcomings such as high concentration requirements and/or the lack of clear evidence of the nature of the species present in solution. These drawbacks are all the more problematic in the case of compounds bearing multiple binding sites. In this work, a multinuclear (¹H, ¹¹B, ¹⁹F) NMR spectroscopy approach has been used to investigate for the first time the equilibria between bisboronic acids and bisbenzoxaboroles (as well as their monofunctional counterparts) with representative *cis*-diols, including catechol derivatives. The developed method is shown to provide valuable and straightforward insight into the nature of the species in solution, and the way in which the equilibria can be affected by the complexation media. In particular, the interest of using a ¹⁹F-tag on the *cis*-diol is emphasized.

Received 25th October 2017,
Accepted 17th January 2018

DOI: 10.1039/c7nj04143h

rsc.li/njc

Introduction

The reversible interaction of boronic acids with *cis*-1,2- and 1,3-diols, allowing the formation of five- or six-membered cyclic boronate esters, is an intense area of research. Indeed, as shown in the numerous reviews published recently, it allows boronic acid moieties to be used for biomedical,¹ (nano)materials,² sensing³ and supramolecular recognition⁴ applications. This remarkable success undeniably comes from two main parameters: (i) the ability of boronic acids to operate in water, and (ii) the reactivity of their boron atom, which can switch from sp² to sp³ configurations upon addition of a Lewis base.

Because of the high pK_a of boronic acids (>9 in many cases),⁵ rational designs of boronic acid molecules have been proposed to increase the Lewis acidity at the boron center, thus allowing effective boronate ester formation at neutral pH. In particular, the substitution of a phenylboronic acid by an ortho hydroxymethyl group leads to the benzoxaborole scaffold, which possesses a unique reactivity toward diols under physiological

conditions.⁶ For this reason, benzoxaboroles are being exploited in an increasing number of biological applications,^{6,7} including the design of new drugs. Multivalent binding is another attractive approach which has been explored to further enhance the binding strength to receptors.⁸ However, while many bisboronic acid scaffolds have been synthesized to enhance the selectivity and/or sensitivity towards saccharidic targets,^{7c,9} the development of bisbenzoxaborole architectures is still in its infancy. Indeed, although benzoxaborole chemistry is developing rapidly,^{6,10} only a handful of non-polymeric multibenzoxaborole architectures have been described so far.^{6,11} Most surprisingly, no specific study concerning the reactivity of these multivalent derivatives towards diols has been reported, even for the most-simple candidates, bisbenzoxaboroles.

In this context, we decided to investigate the spontaneous reaction of bisbenzoxaboroles with *cis*-diols in solution, in view of developing rapid and simple methodologies for comparing the reactivity of these molecules to those of simple benzoxaboroles, as well as mono- and bisboronic acid analogues. Indeed, developing such tools could offer unique opportunities for tailoring the organoboron molecule/*cis*-diol equilibria in view of the construction of novel supramolecular assemblies. Among the various analytical techniques developed to measure the binding constants between boronic acids or benzoxaboroles and diols,^{6,7b,12–16} the fluorescence assay introduced by Springsteen and Wang (*vide infra*) has long been the most frequently used.¹³ However, this assay intrinsically presents

^a Institut Charles Gerhardt de Montpellier (ICGM), UMR 5253, CNRS, Université de Montpellier, ENSCM, Campus Triolet, Place E. Bataillon, CC 1701, 34095 Montpellier cedex 05, France. E-mail: danielle.laurencin@umontpellier.fr

^b Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), UMR 5247, CNRS, Université de Montpellier, ENSCM, Campus Triolet, Place E. Bataillon, CC 1704, 34095 Montpellier cedex 05, France. E-mail: michael.smietana@umontpellier.fr

† Electronic supplementary information (ESI) available: Complementary UV-vis, fluorescence and solution NMR experiments. See DOI: 10.1039/c7nj04143h

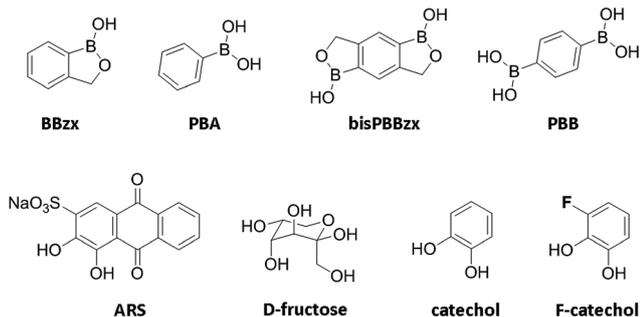


Fig. 1 Structures of the organoboron compounds and *cis*-diols studied herein: benzoxaborole (BBzx), phenylboronic acid (PBA), bisbenzoxaborole (bisPBBzx), 1,4-phenylenediboronic acid (PBB), Alizarin-Red S (ARS), D-fructose, catechol and 3-fluorocatechol (F-catechol).

limitations, especially when several equilibria occur in solution, and it has been a matter of debate in the community.^{12a} In contrast, solution NMR spectroscopy methods have been shown to present attractive features,^{12c,14–16} especially for identifying the nature of the species present in the medium, but their use has so far been much scarcer. With the current increase in sensitivity of NMR experiments, thanks to the development of cryoprobes and higher magnetic field magnets, the routine study of solutions of very low concentration (<1 mM) has become possible, and hence it appeared to us as timely to explore in more depth the potential of such analyses for studying the binding of multifunctional organoboron molecules.

In this manuscript, we present the first comprehensive study of the interaction between a small bisbenzoxaborole and the related bisboronic acid (noted respectively bisPBBzx and PBB, Fig. 1) with a selection of *cis*-diols of interest, using not only the fluorescence assay, but mainly multinuclear (¹H, ¹¹B and ¹⁹F) solution NMR spectroscopy measurements. The focus was purposely set on these bifunctional organoboron molecules, because they appear as strategic building blocks for the construction of supramolecular architectures and porous materials like COFs (Covalent Organic Frameworks). As part of the investigation, the monofunctional counterparts (noted respectively BBzx and PBA, Fig. 1) were also studied. The objective is to emphasize the complementarity of these different NMR characterization techniques for analyzing the various complexes that exist when bisbenzoxaboroles and bisboronic acids interact with *cis*-diols in solution, and to propose new ways of using ¹⁹F NMR for this purpose.

Results and discussion

Limitations of the fluorescence titration method

A simplified representation of the equilibria involved in the “standard” fluorescence assay^{13a,b} is shown in Fig. 2. The overall idea is (i) to form a fluorescent complex between the organoboron molecule and Alizarin-Red S (ARS) (see ESI† Fig. S1), and then (ii) to displace the equilibrium by adding a second diol in the medium. Both steps are followed by fluorescence spectroscopy, in

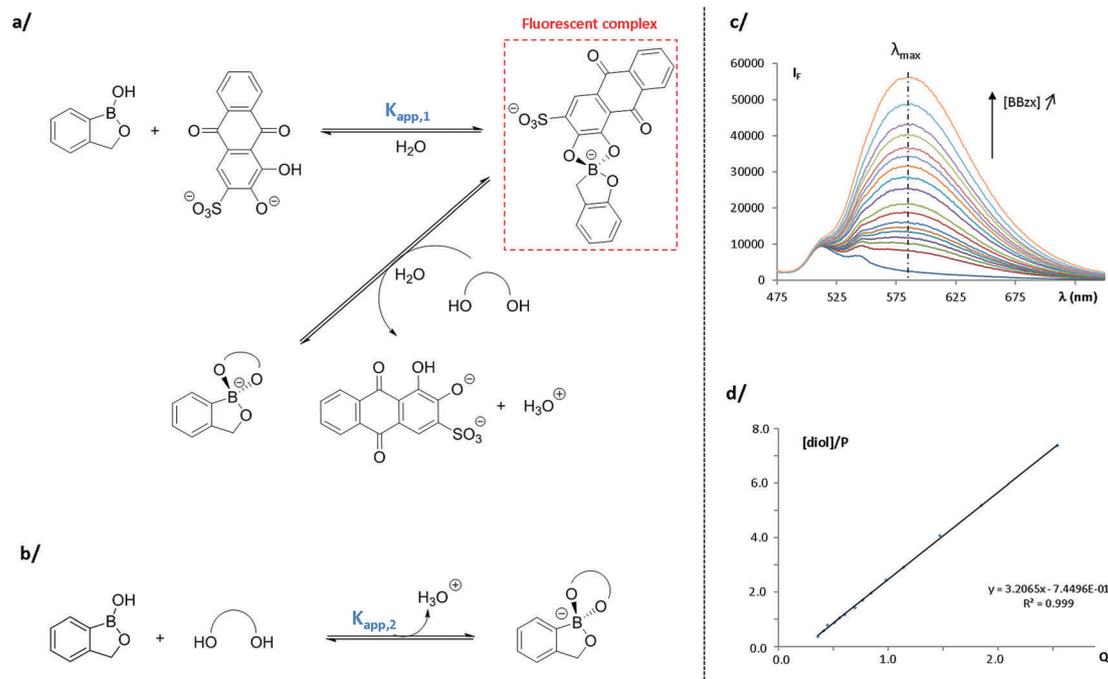


Fig. 2 (a) Main equilibria involved in the fluorimetric titration assay used to measure complexation constants between organoboron molecules (here BBzx) and diols;¹⁸ (b) benzoxaborole/diol equilibrium corresponding to the $K_{app,2}$ binding constant; (c) increase in fluorescence observed upon formation of the ARS/benzoxaborole complex in an aqueous phosphate buffer (pH 7.4) (see Fig. S1 (ESI†) for an example of determination of $K_{app,1}$); (d) illustration of the linear extrapolation of experimental data used to determine the benzoxaborole/D-fructose complexation constant $K_{app,2}$ from fluorescence measurements (see ESI†, page S3, for details regarding the equations used to process the data).^{13b}

order to extract the binding constants related to each equilibrium, and hence derive the apparent complexation constant between the benzoxaborole and the diol of interest (referred to here as $K_{app,2}$, Fig. 2b).

In the course of the present work, this fluorescence assay was first carried out in a phosphate buffer (pH = 7.4) in order to determine the apparent complexation constants between small organoboron molecules (PBA and BBzx) and representative sugars (D-fructose and catechol). The complexation values measured are reported in Table 1. The $K_{app,2}$ constants obtained here with D-fructose were consistent with those reported in the literature in similar media (see Table S3, ESI†).^{6,7b,12b,13b,d} Moreover, for both PBA and BBzx, the binding strength of catechol was much higher than that of D-fructose, in line with previous studies comparing different saccharides and catechol-like *cis*-diols (including ARS).^{6,13b}

Applying the same method to molecules bearing two organoboron functions (PBB and bisPBBzx) was found to be more problematic. First, due to solubility issues (especially for the bisPBBzx molecule), measurements had to be performed in presence of DMSO (dimethylsulfoxide), using a 60/40 volume ratio between DMSO and the aqueous phosphate buffer. $K_{app,2}$ constants were hence also remeasured for PBA and BBzx in this medium. In all cases, the presence of DMSO led to higher values than in phosphate buffer alone. However, the main difficulty arose from the fact that the reactions of diols with the two organoboron moieties of bifunctional molecules like PBB and bisPBBzx are not independent. Indeed, a simple treatment of the fluorescence data assuming that both boron functions were independent led to unsatisfactory fits, as illustrated for PBB in Fig. S2 and S3 (ESI†). Moreover, attempts to determine the stoichiometry of binding of PBB and bisPBBzx with ARS and *cis*-diols using Job-plots were inconclusive. Although the limitation of Job-plots as indicators of stoichiometry has been

raised,¹⁷ this could imply that several different complexes are simultaneously present in the medium, such as 1:1 and 1:2 complexes between the organoboron molecule and the diols. Another issue concerns the relative values obtained for mono and bi-functional derivatives. Indeed, the observed stability constants for PBA and PBB are increased by a factor of 1.9 and 2.9 with fructose and catechol respectively, and by a factor of 2.2 for BBzx and bisPBBzx with catechol. However, the stability constants decrease by a factor of 1.6 for BBzx and bisPBBzx with fructose. This counterintuitive observation is difficult to rationalize and cannot be explained by a hypothetical loss of cooperative action, and hence it points to the fact that the equilibria are more complex.

Overall, these experiments clearly show that although fluorescence spectroscopy measurements are very sensitive, there are several other limitations to the ARS binding assay described in Fig. 2. Indeed, it cannot provide unambiguous information regarding the complexation of small multi-boronic or multi-benzoxaborole anions with diols. The stoichiometry of the complexes formed with ARS and the other *cis*-diols thus needs to be determined by other means, as well as the way in which the complexation of a diol on one side of the organoboron molecule may affect the binding on the other site. Moreover, even for a molecule bearing a single organoboron function, there are several constraints underlying each measurement of an apparent complexation constant using the ARS assay: (i) for a given diol of interest, two sets of fluorescence measurements actually need to be performed in order to derive $K_{app,2}$, (ii) prior to the fluorescence measurements, preliminary experiments are also needed to determine the excitation wavelength and to estimate the kinetics of complexation, using for example UV-visible spectroscopy (see Fig. S1, ESI† for an illustration of these experiments in the case of PBA). Hence, with the increasing number of organoboron molecules currently being synthesized in view of exploiting their reactivity with respect to *cis*-diols, it would be preferable to have alternative tools which may inform in a simple and rapid way on their relative affinity for a given diol. This prompted us to look into the possibility of using multinuclear NMR spectroscopy as a more systematic means to study these complexation reactions. Here, we set our focus on catechol and its derivatives, these diols being of great interest due to their high affinity with boronic acids and benzoxaboroles.^{13c,19}

Table 1 Apparent complexation constants $K_{app,2}$ determined by fluorimetry between organoboron molecules (PBA, BBzx, PBB and bisPBBzx) and *cis*-diols (D-fructose and catechol). The values are the average of at least three independent measurements. The data reported for the bifunctional molecules (PBB and bisPBBzx) are in italic, because they were derived as a first approximation from fits based on the equations reported in ESI (page S3), which is unsatisfactory (as shown in Fig. S2 and S3 (ESI) for PBB – and discussion in the text)

	Organoboron molecule	Phosphate buffer ^a	DMSO/phosphate buffer ^b
D-Fructose	PBA	180 ^c	1020
	BBzx	560 ^c	4000
	PBB	ND ^d	<i>1940</i>
	bisPBBzx	ND ^d	<i>2410</i>
Catechol	PBA	900 ^c	2200
	BBzx	1470	10 660
	PBB	ND ^d	<i>6450</i>
	bisPBBzx	ND ^d	<i>24 100</i>

^a Aqueous potassium phosphate buffer (pH = 7.4; 40 mM). ^b DMSO/phosphate buffer mixture (60/40 v/v), prepared using an aqueous potassium phosphate buffer (pH = 7.4; 40 mM). ^c See ESI (Table S3) for comparisons with published data. ^d Not determined due to solubility issues.

Multinuclear NMR studies of boronic acid/benzoxaborole–catechol complexations

¹H NMR spectroscopy. ¹H NMR analyses were first performed on the monofunctional molecules PBA and BBzx, using solvents and buffers analogous to the ones employed in the fluorescence assays, namely a phosphate buffer at pH ~ 7.4 and a 60/40 DMSO/phosphate buffer mixture, both prepared here in a deuterated version. Very distinct ¹H resonances were observed for the complexed species, as illustrated in Fig. S4 (ESI†) in the case of the BBzx-catechol system. Moreover, these measurements confirmed that the DMSO/phosphate buffer mixture is more favorable to the complexation reactions than the phosphate buffer alone, in line with the fluorescence study.

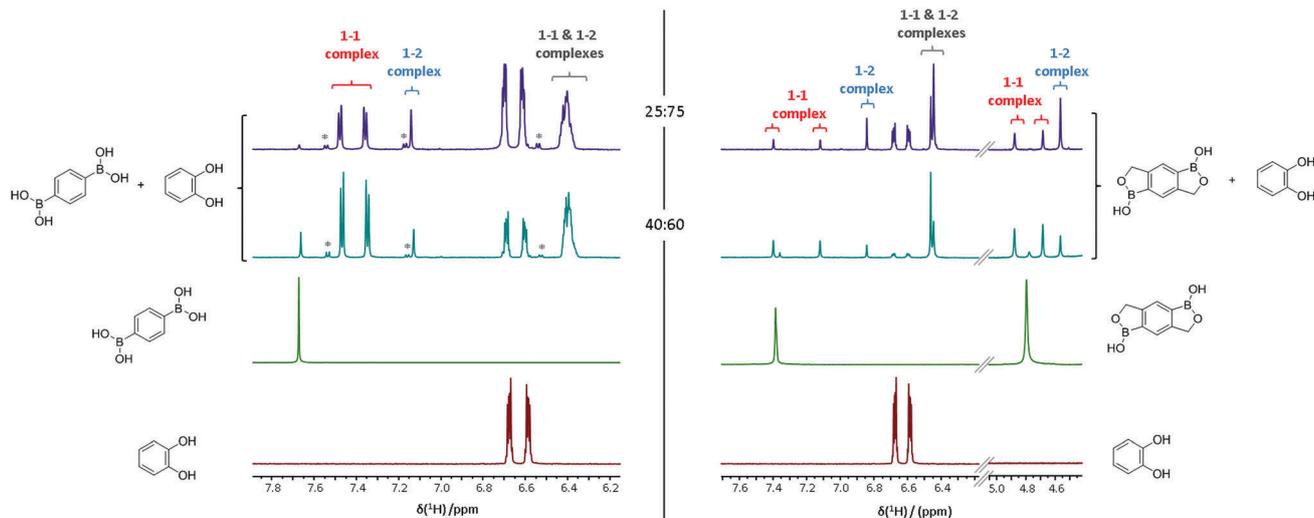


Fig. 3 ^1H NMR analyses of the complexation reactions of PBB (left) and bisPBBzx (right) with catechol in the DMSO/phosphate buffer mixture. For the solutions containing both molecules, the spectra shown here correspond to $\sim 40:60$ and $\sim 25:75$ molar ratios between the boron-molecule and catechol. "*" symbols correspond to unidentified species.

Concerning the complexation of catechol with the bifunctional molecules PBB and bisPBBzx (Fig. 3), several new ^1H resonances were observed on the spectra, which can be assigned to 1:1 and 1:2 complexes. In the case of PBB, the formation of a 1:1 complex leads to the disymmetrization of the aromatic protons, and hence to the appearance of 2 doublets on the ^1H NMR spectrum, which are shifted to lower frequencies with respect to the signal of the free molecule. Upon binding of a second catechol, the equivalence of these protons is restored, leading to a singlet, which is shifted towards even lower frequencies. This assignment was further confirmed by looking at the changes in relative intensities of the aromatic signals of PBB as a function of the amount of catechol introduced. Similar observations can be made from the comparison of the ^1H NMR spectra of the bisbenzoxaborole/catechol system. Indeed, the methylene and aromatic resonances of bisPBBzx both become inequivalent upon formation of a 1:1 complex, while for the 1:2 complex their equivalence is restored, and all resonances are shifted to even lower frequencies (Fig. 3, right). It is worth noting that a higher proportion of 1:2 complex is observed for the bisbenzoxaborole in comparison to PBB, as would be expected on the basis of the higher affinity of these molecules with respect to catechols.

This ^1H NMR study has several implications. First, it confirms that both 1:1 and 1:2 complexes can be simultaneously present in solution, thereby explaining the difficulties in analyzing the fluorescence data on the basis of simple analogies with the monofunctional compounds (Fig. 2). Second, it demonstrates that bisbenzoxaboroles like bisPBBzx have a better ability to bind together two catechol-like molecules than bisboronic acids, meaning that they can be seen as very interesting building units for the construction of supramolecular architectures. Finally, it also shows that the equilibria taking place in solution can actually be even more complex than the simple formation of 1:1 and 1:2 complexes, because additional minority species (yet unidentified) are present on the

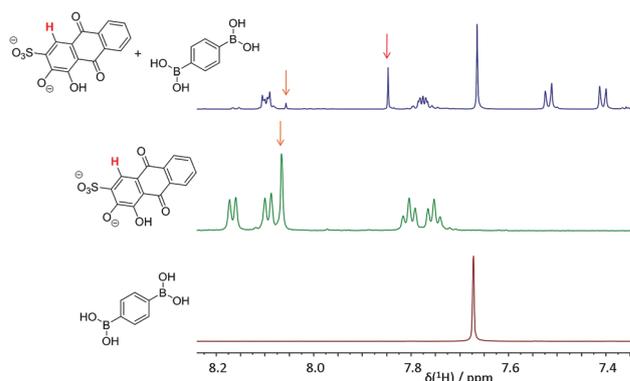


Fig. 4 ^1H NMR analysis of the complexation reactions of PBB with ARS in the DMSO/phosphate buffer mixture. The solution containing both molecules corresponds to a PBB:ARS molar ratio ~ 1.5 . On the spectra of the ARS molecule alone (middle) and of the mixture (top), the ^1H resonance of the "red" aromatic proton of ARS is highlighted by an arrow, showing its shift to low frequencies upon formation of the complex.

spectra of PBB-catechol mixtures (species marked with "*" symbols in Fig. 3).

^1H NMR spectroscopy was also found to be useful in the case of another catechol derivative, ARS. Indeed, it was observed that its ^1H resonances are sufficiently resolved from those of the four organoboron molecules (PBA, PBB, BBzx, bisPBBzx) to be able to identify the complexed species. In particular, a distinct singlet around 8 ppm corresponding to the isolated aromatic proton of ARS is present on the spectra, which shifts towards lower frequencies upon complexation, as shown in Fig. 4 for PBB and in Fig. S5 (ESI †) for bisPBBzx.

As shown above, the key advantage of the ^1H NMR analyses lies in the possibility of providing a more complete picture of the composition of the complexation medium. However, while the spectra shown above were relatively simple to interpret, given the high symmetry of the organoboron molecules involved, such

^1H NMR studies are expected to be far less straightforward for more complex molecules, requiring the use multidimensional analyses to resolve the different resonances. Moreover, the need to work with deuterated media is constraining when trying to determine how complexation reactions of organoboron molecules are affected by different solvents or pH conditions. In this context, the use of heteronuclear NMR spectroscopy analyses appears as a more promising alternative.

Overview of heteronuclear NMR spectroscopy approaches.

^{11}B NMR spectroscopy has already been put forward as an interesting tool for analyzing complexation reactions between boronic acids/benzoxaboroles and *cis*-diols in solution,^{12d,20} due to the high natural abundance of boron-11. However, it suffers from a lack of resolution. Indeed, although the

^{11}B chemical shift is known to move towards lower frequencies upon switching from a planar to a tetrahedral-like environment,²¹ the quadrupolar nature of ^{11}B implies that the peaks are much broader than in ^1H NMR, meaning that several planar (or tetrahedral) resonances may overlap when working with bi- (or multi-) functional organoboron molecules. Thus, although ^{11}B NMR analyses were performed as part of this work (*vide infra*), they did not appear to us as the most suitable approach to elucidate the complexity of the equilibria.

^{13}C and ^{17}O NMR spectroscopy analyses have also been shown in the past to be useful for studying boronic acid/*cis*-diol equilibria in solution.^{15,16} However, due to the much poorer sensitivity of these nuclei, they were not attempted. Indeed, the concentrations used here for the solution NMR studies (and the

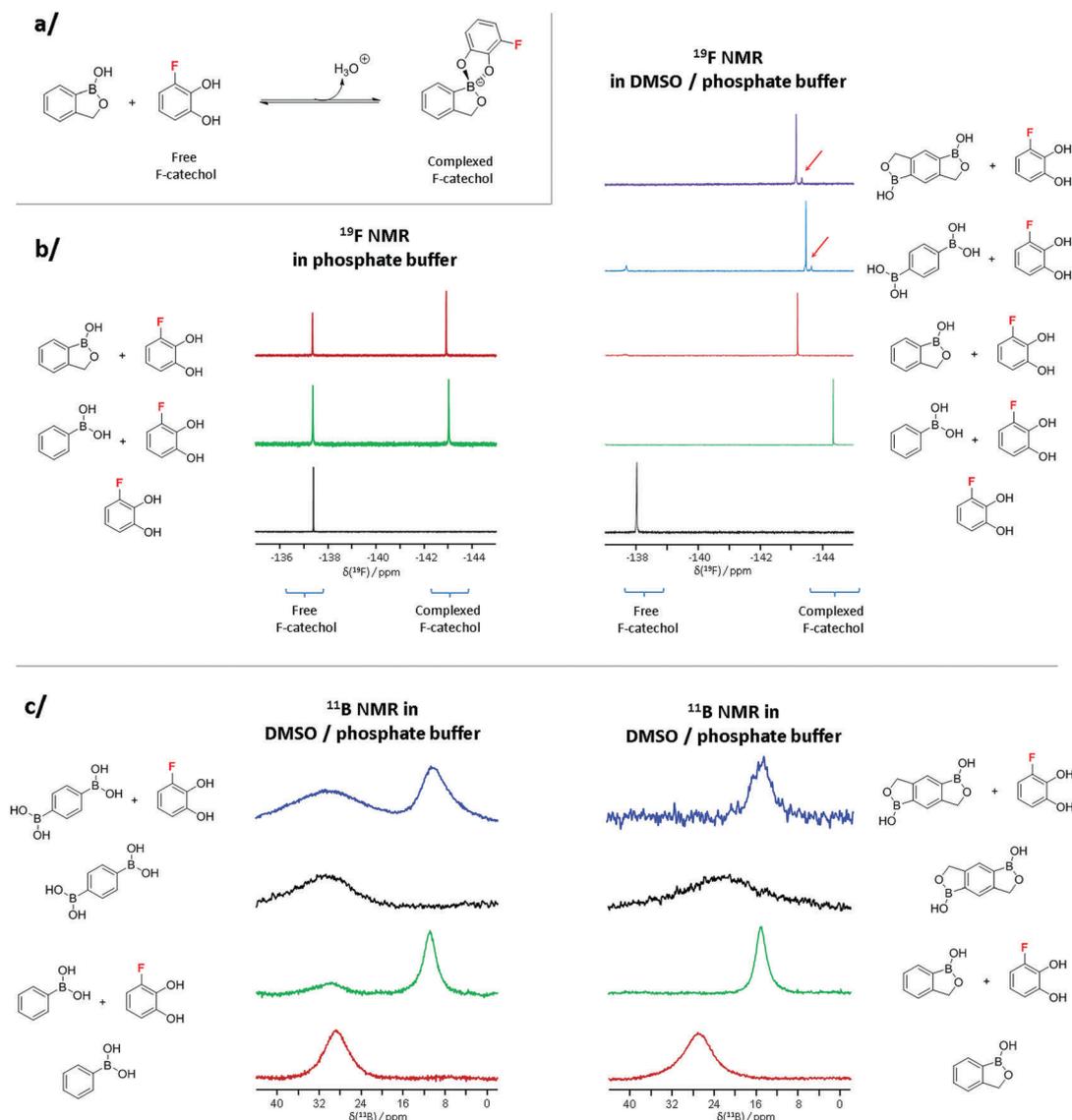


Fig. 5 (a) Equilibrium of complexation between the simplest benzoxaborole (BBzx) and F-catechol; (b) ^{19}F NMR analyses of the complexation reactions of PBA, PBB, BBzx and bisPBBzx with F-catechol in phosphate buffer and DMSO/phosphate buffer mixtures (50 : 50 molar ratio between the 2 molecules); (c) ^{11}B NMR analyses of the complexation reactions of PBA, PBB, BBzx and bisPBBzx with F-catechol in the DMSO/phosphate buffer mixture (50 : 50 molar ratio between the 2 molecules). Additional ^{19}F NMR spectra for these systems are shown in Fig. S7 (ESI†).

fact that we were working in aqueous solutions for ^{17}O) would have been an obstacle to observing the weaker ^{13}C or ^{17}O resonances at natural abundance in reasonable time.

An alternative approach for high resolution heteronuclear NMR analyses of organoboron/*cis*-diol equilibria consists in using ^{19}F NMR spectroscopy. Indeed, through the introduction of a ^{19}F -tag on the organoboron molecule, ^{19}F NMR spectroscopy analyses have provided valuable information,^{12c,14} because the ^{19}F chemical shift of fluorine substituents on the aromatic cycle of aryl-boronic acids and benzoxaboroles (simple F-atom or $-\text{CF}_3$ group) vary upon complexation of the organoboron function. Based on these observations, our idea was to use a ^{19}F -tag on the *cis*-diol (rather than on the organoboron molecule), as a new means to compare the complexation properties of a given set of boronic acids and benzoxaboroles in different media. Although the absolute complexation constants of the fluorinated *cis*-diol are expected to be different from those of the non-fluorinated analogue, their relative order is supposed to stay the same when switching from one organoboron molecule to another, making this approach potentially attractive for scaling the relative affinity of different organoboron molecules for diols.

^{19}F NMR spectroscopy: F-catechol as a new means for studying the complexation equilibria in solution. Considering the stronger binding of catechols (*vide supra*), we decided to use a fluorinated derivative of this molecule, 3-fluorocatechol (F-catechol), as a probe molecule for ^{19}F NMR spectroscopy.

^{19}F NMR analyses were first performed to look at the complexation between F-catechol and PBA or BBzx (Fig. 5a). The same media as previously used for the fluorescence spectroscopy analyses were tested (phosphate buffer at pH ~ 7.4 and 60/40 DMSO/phosphate buffer mixture). As shown in

Fig. 5b, the complexation of F-catechol leads to a new ^{19}F NMR resonance, which is shifted towards lower frequencies with respect to the free molecule, and whose relative intensity increases when switching from the simple phosphate buffer to the DMSO/phosphate buffer mixture. This resonance was unambiguously assigned to complexed F-catechol (i) by performing additional ^{11}B NMR analyses of the reaction media (Fig. 5c), which demonstrate that the boron is in a more tetrahedral-like environment after addition of F-catechol (signal centered at ~ 11 ppm for PBA and ~ 15 ppm for BBzx), and (ii) by recording the ^{19}F NMR spectra of mixtures of *p*-fluorobenzenboronic acid with F-catechol and looking at the relative intensities of the different resonances (see ESI † , Fig. S6). It is worth noting that a similar shift had been observed by ^{19}F NMR spectroscopy upon complexation of fluorinated aryl-boronic acids and benzoxaboroles with *cis*-diols.^{14a}

Most interestingly, in the case of the bifunctional organoboron molecules (PBB and bisPBBzx), several resonances are observed by ^{19}F NMR spectroscopy in the “complexed F-catechol” region (Fig. 5b), whose relative intensity varies depending on the [F-catechol/organoboron molecule] molar ratio: the lower frequency signal (pointed by a red arrow in Fig. 5b) increases at higher F-catechol concentrations (see Fig. S7, ESI †). Such observations would be consistent with the presence of both (1 : 1) and (1 : 2) complexes in solution. This is confirmed by complementary ^1H NMR analyses of these solutions (Fig. 6), which lead to similar observations as for the non-fluorinated catechol (Fig. 3), and also by additional ^1H DOSY NMR experiments (Diffusion Ordered Spectroscopy – see Fig. S8, ESI †). Indeed, new resonances at lower frequencies are present on the ^1H NMR spectra, which are consistent with the formation of (1 : 1) and (1 : 2) adducts.

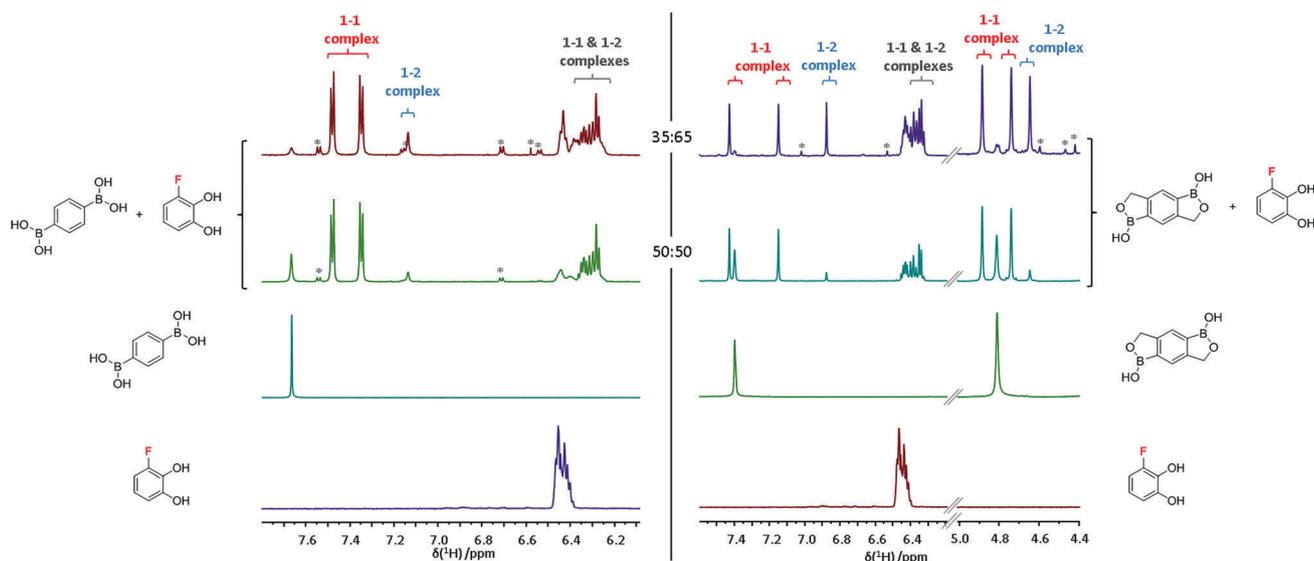


Fig. 6 ^1H NMR analyses of the complexation reactions of PBB (left) and bisPBBzx (right) with F-catechol in the DMSO/phosphate buffer mixture (for the solutions containing both molecules, the spectra shown here correspond to $\sim 50 : 50$ and $\sim 35 : 65$ molar ratios between the organoboron molecule and F-catechol). Additional ^1H DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) analyses were carried on the bisPBBzx-F-catechol system, which are consistent with the spectral assignments (see Fig. S8, ESI †).

These results highlight that heteronuclear NMR spectroscopy analyses involving ^{19}F NMR are far more sensitive and informative than ^{11}B NMR for studying complexation reactions between organoboron molecules and fluorinated *cis*-diols. Indeed, while different complexed F-catechol environments are resolved by ^{19}F NMR, only one is observed by ^{11}B NMR (Fig. 5c), most probably due to the strong similarity in ^{11}B NMR parameters of the 1:1 and 1:2 complexed forms. Hence, this makes ^{19}F NMR a highly valuable method for shedding light on these complexation equilibria, which could turn out to be particularly useful in situations where ^1H NMR may not be as straightforward to apply.

Conclusion

In this manuscript, the complexation of simple bifunctional organoboron molecules with *cis*-diols was studied from a multi-nuclear NMR spectroscopy perspective. This approach was shown to present many advantages to compare the binding affinity of mono- or multivalent boronic acids or benzoboroxazoles for a defined class of *cis*-diol compounds. The obtained results notably indicate that cooperativity is very limited with PBB and bisPBBzx. The repulsive effect resulting from proximal negative charges on the two organoboron groups might explain this observation, because for both molecules, these charges will merely be separated by a benzene ring.

^1H NMR spectroscopy analyses were demonstrated to be highly informative, allowing a complete picture of the composition of the medium to be reached. This is a major advantage in comparison to the “traditional” fluorescence assay (and more generally optical spectroscopies), but also to other methods which are currently being put forward for studying these complexation equilibria, such as Isothermal Titration Calorimetry (ITC)^{12b} and capillary electrophoresis.^{12a} Indeed, none of the latter two techniques, on their own, would allow gaining such insight for multifunctional organoboron molecules such as those studied here, nor quantifying unambiguously the relative proportions of 1:1 and 1:2 species.

Beyond the ^1H NMR analyses, a new method based on ^{19}F NMR spectroscopy was also developed as a new means to help investigate and compare the complexation properties of different organoboron molecules. By proposing the use of a ^{19}F tag on the *cis*-diol (with F-catechol as a binding agent), ^{19}F NMR was found to be sufficiently sensitive and resolved to bring evidence of the presence of several species in solution, and hence could act as a complementary analytical tool for future studies of the complexation equilibria. More specifically, we foresee that the ^{19}F NMR analysis of the binding to F-catechol should allow determining in a straightforward way

(i) which media are the most appropriate for favouring the complexation (as exemplified herein when comparing the phosphate buffer to the DMSO/buffer mixture), and hence which reaction parameters (solvent, pH, temperature, ionic strength *etc.*) may best favour the formation of 1:1 *vs.* 1:2 entities.

(ii) which molecules will more strongly interact with catechol-like diols.

In both cases, this will be highly valuable for tuning the formation of supramolecular architectures based on benzoxaborole (or boronic acids)/diol interactions, and even for determining the optimal conditions for dynamic combinatorial chemistry approaches. Moreover, while the concept was exemplified with F-catechol, it could obviously be extended to other fluoro-diols as a way to probe precisely simple and multiple boronic acids/benzoxaboroles and *cis*-diol interactions. In this sense, we foresee that this work will lead the way to the development and use of other fluoro-diols (*e.g.* catechol derivatives bearing a $-\text{CF}_3$ substituent on the aromatic cycle or fluorinated sugars) for studying these complexation reactions.

Experimental

Reagents

Phenylboronic acid (PBA, $\text{C}_6\text{H}_7\text{BO}_2$, 98%, Alfa Aesar), benzene-1,4-diboronic acid (PBB, $\text{C}_6\text{H}_8\text{B}_2\text{O}_4$, 95%, Aldrich), 2-(hydroxymethyl)phenylboronic acid cyclic monoester (BBzx, $\text{C}_7\text{H}_7\text{BO}_2$, 97%, Aldrich) and *p*-fluorophenylboronic acid ($\text{C}_6\text{H}_6\text{BFO}_2$, 97%, Alfa Aesar) were purchased from commercial sources and used as received (after verifying the lack of boric acid by ^{11}B solution NMR). Alizarin Red S (ARS, $\text{C}_{14}\text{H}_7\text{NaO}_7\text{S}$, Acros Organics), D -fructose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, 99%, Fluka BioChemika), catechol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$, 99%, Aldrich) and 3-fluorocatechol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{FO}_2$, Alfa Aesar, 99%) were purchased from commercial sources and used as received. Phenyl-bisbenzoxaborole (noted here bisPBBzx) was synthesized by adapting a previously published protocol.^{11e}

The solvents for the fluorimetric experiments (DMSO, 99.9%, and HPLC grade ultra-pure water) were purchased from Aldrich. The phosphate buffer (pH = 7.4, 40 mM) was prepared by dissolving 1.361 g (10 mmol) of KH_2PO_4 in 250 mL of ultra-pure water, and then adjusting the pH with a 3 M NaOH solution. This buffer was then stored at 4 °C and used over a period of two weeks (maximum).

Deuterated solvents (DMSO- d_6 , 99.8% and D_2O , 99.9%) were purchased from Eurisotop. A deuterated sodium hydroxide solution (NaOD – 40 wt% in D_2O , 99.98%) was purchased from Eurisotop and a deuterated phosphate monobasic salt (KD_2PO_4 , 98% atom% D) was purchased from Aldrich. The deuterated phosphate buffer (pH = 7.4, 40 mM) was prepared by dissolving 55.2 mg of KD_2PO_4 (0.4 mmol) in 9.979 mL of D_2O , and the pH was adjusted at with 21.0 μL of the NaOD solution. This buffer was then stored at 4 °C and used over a maximum period of two weeks.

Fluorescence measurements

The methodology used for the fluorescence studies was based on the work by Wang *et al.* (see ESI† for further details).^{13b} All fluorescence measurements were performed on an Edinburgh Instruments, Xe 900, NIR 300/2, apparatus, using cuvettes made of Quartz Suprazil (light path of 10 × 10 mm). Emission scans were recorded at room temperature from $[\lambda_{\text{excit}} + 15 \text{ nm}]$ to 750 nm (λ_{excit} depending on the organoboron molecule/ARS complex and the medium, as shown in Table 2), using a step

Table 2 Excitation wavelengths (λ_{excit} , in nm) used in the fluorescence measurements, as determined by UV-vis spectroscopy (see ESI for further details regarding UV-vis measurements)

	Phosphate buffer	DMSO/phosphate buffer (60/40 v/v)
BBzx	459	465
PBA	468	483
bisPBBzx		466
PBB		479

size of 1 nm and a dwell time of 1 s; each spectrum was acquired three times. The organoboron molecule/diol complexation constants were all measured in triplicate starting from independent solution preparations.

NMR analyses

^1H NMR spectra were recorded at 298 K on a Bruker Avance III 600 MHz NMR spectrometer, using QXI and BBFO probes. All ^1H NMR spectra were calibrated to the DMSO resonance (set at 2.50 ppm). One-dimensional ^1H NMR spectra were recorded using the “zgpr” sequence of the Bruker library, as it allows saturating intense solvent resonances (in our case water). For each sample, the following optimizations were performed in order to be able to derive quantitative data from the spectra: (i) the saturation scheme for the water signals was optimized, to ensure that it did not affect the intensities of the peaks of interest (especially the methylene resonances of benzoxaboroles); (ii) the recycle delay was set to a value ensuring a full relaxation of all ^1H resonances of interest, and (iii) it was verified that an equilibrium between the different species had been reached inside the NMR tube. The recycle delays ranged from 18 to 28 s, and the number of transients acquired from 64 to 80.

For the two-dimensional ^1H DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) experiments, the “ledbpgp2spr” pulse sequence of the Bruker library was used, which corrects for Eddy current imperfections, and also allows saturating intense solvent resonances (in our case water). In addition to the previously mentioned optimizations, the diffusion time and length of the gradient were optimized (“ Δ ” ~ 0.1 s and “ δ ” ~ 3.6 ms), and the NMR tube was spun to 20 Hz. In the 2D DOSY experiments, 32 spectra were acquired (with 16 to 64 transients per spectrum, depending on the sample), and then processed under standard conditions in Topspin.

^{19}F NMR spectra were recorded at 298 K on a Bruker Avance III 400 MHz NMR spectrometer, using a SmartProbe optimized for ^{19}F . The “zgig” sequence from the Bruker library was used. ^1H decoupling powers were optimized, and for each sample, different recycle delays were tested to ensure full relaxation of the different ^{19}F signals. For the spectra shown here, a recycle delay of 6 s was used, and the number of transients acquired ranged from 160 to 320. Chemical shifts were internally referenced to CF_3COOH : after ^{19}F NMR acquisition of each organoboron molecule/F-catechol mixture, a solution of this molecule was added directly in the NMR tube, and a ^{19}F NMR spectrum was then re-recorded; the ^{19}F resonance of CF_3COOH was set to

–76.5 ppm in the phosphate buffer and –75 ppm in the DMSO/buffer mixture. These ^{19}F chemical shifts were referenced externally to a solution of trifluorotoluene in CDCl_3 (at –63.7 ppm).

^{11}B NMR spectra were recorded at 298 K on a Bruker Avance III 500 MHz NMR spectrometer equipped with a CP-BBO cryoprobe. A single-pulse experiment was used (with an additional background subtraction in some cases – “zgbs” sequence in the Bruker library). Quartz NMR tubes were used for the measurements. The recycle delay was set to 0.2 to 0.5 s, and the number of transients acquired ranged from 2k to 10k, depending on the solution. Spectra were referenced externally to a solution of $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (at 0 ppm).

Spectra were processed and analyzed using TopSpin 3.2 and Mestrenova 7.0.3 programs.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgements

Dr Cédric Totée (ICGM) is thanked for his assistance in the setting-up of the ^{19}F NMR experiments. This work has benefited from funding by the French National Research Agency (ANR) under the program “Investissement d’avenir”, LabEx CheMISyst (grant number ANR-10-LabX 05-01).

References

- (a) H. Fu, H. Fang, J. Sun, H. Wang, A. Liu, J. Sun and Z. Wu, *Curr. Med. Chem.*, 2014, **21**, 3271; (b) P. C. Trippier and C. McGuigan, *MedChemComm*, 2010, **1**, 183.
- W. L. A. Brooks and B. S. Sumerlin, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 1375.
- (a) W. Zhai, X. Sun, T. D. James and J. S. Fossey, *Chem. – Asian J.*, 2015, **10**, 1836; (b) J. S. Hansen, J. B. Christensen, J. F. Petersen, T. Hoeg-Jensen and J. C. Norrild, *Sens. Actuators, B*, 2012, **161**, 45; (c) B. Akgun, C. Li, Y. Hao, G. Lambkin, R. Derda and D. G. Hall, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 14285; (d) K. Lacina, P. Skladal and T. D. James, *Chem. Cent. J.*, 2014, **8**, 60.
- R. Nishiyabu, Y. Kubo, T. D. James and J. S. Fossey, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 1124.
- D. G. Hall, *Boronic acids*, Wiley-VCH, 2011.
- A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys and A. Sporzynski, *Chem. Rev.*, 2015, **115**, 5224.
- (a) M. Berube, M. Dowlut and D. G. Hall, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 6471; (b) M. Dowlut and D. G. Hall, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 4226; (c) Y. Liu, X. Zhang, H. Guo, Y. Wu, Q. Li, L. Liu and J. Zhao, *J. Fluoresc.*, 2011, **21**, 2077; (d) S. Sene, J. McLane, N. Schaub, S. Begu, P. H. Mutin, L. Ligon, R. J. Gilbert and D. Laurencin, *J. Mater. Chem. B*, 2016, **4**, 257; (e) V. Alterio, R. Cadoni, D. Esposito, D. Vullo, A. Di Fiore, S. M. Monti, A. Caporale, M. Ruvo, M. Sechi, P. Dumy, C. T. Supuran, G. De Simone and J. Y. Winum, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 11983.

- 8 J. D. Badjic, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull and J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.*, 2005, **38**, 723.
- 9 (a) X. Wu, Z. Li, X. X. Chen, J. S. Fossey, T. D. James and Y. B. Jiang, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 8032; (b) S. Craig, *Bioorg. Chem.*, 2012, **40**, 137; (c) R. Zhang, J.-P. Miao, C.-H. Ge, M.-Y. Zhang, L.-X. Wang and X.-D. Zhang, *Sens. Actuators, B*, 2014, **198**, 260; (d) S. Jin, Y. Cheng, S. Reid, M. Li and B. Wang, *Med. Res. Rev.*, 2010, **30**, 171; (e) W. Zhai, L. Male and J. S. Fossey, *Chem. Commun.*, 2017, **53**, 2218; (f) P. J. Duggan and P. A. Offermann, *Tetrahedron*, 2009, **65**, 109.
- 10 C. T. Liu, J. W. Tomsho and S. J. Benkovic, *Bioorg. Med. Chem.*, 2014, **22**, 4462.
- 11 (a) A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, I. D. Madura, S. Michalek and A. Pawelko, *Tetrahedron*, 2013, **69**, 8936; (b) A. Pal, M. Bérubé and D. G. Hall, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 1492; (c) D. Claes, M. Holzapfel, N. Clausen and W. Maison, *Eur. J. Org. Chem.*, 2013, 6361; (d) J. F. Cairns and H. R. Snyder, *J. Org. Chem.*, 1964, **29**, 2810; (e) R. Berger, A. Giannakopoulos, P. Ravat, M. Wagner, D. Beljonne, X. Feng and K. Müllen, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2014, **53**, 10520; (f) A. Adamczyk-Wozniak, K. Ejsmont, B. Gierczyk, E. Kaczorowska, A. Matuszewska, G. Schroeder, A. Sporzynski and B. Zarychta, *J. Organomet. Chem.*, 2015, **788**, 36.
- 12 (a) C. C. Lu, H. Y. Li, H. Y. Wang and Z. Liu, *Anal. Chem.*, 2013, **85**, 2361; (b) S. Schumacher, M. Katterle, C. Hettrich, B. R. Paulke, D. G. Hall, F. W. Scheller and N. Gajovic-Eichelmann, *J. Mol. Recognit.*, 2011, **24**, 953; (c) J. Axthelm, H. Görls, U. S. Schubert and A. Schiller, *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, **137**, 15402; (d) J. W. Tomsho and S. J. Benkovic, *J. Org. Chem.*, 2012, **77**, 11200.
- 13 (a) G. Springsteen and B. Wang, *Chem. Commun.*, 2001, 1608; (b) G. Springsteen and B. Wang, *Tetrahedron*, 2002, **58**, 5291; (c) A. Adamczyk-Wozniak, K. M. Borys, I. D. Madura, A. Pawelko, E. Tomecka and K. Zukowski, *New J. Chem.*, 2013, **37**, 188; (d) A. Mahalingam, A. R. Geonnotti, J. Balzarini and P. F. Kiser, *Mol. Pharmaceutics*, 2011, **8**, 2465.
- 14 (a) L. Iannazzo, E. Benedetti, M. Catala, M. Etheve-Quelquejeu, C. Tisne and L. Micouin, *Org. Biomol. Chem.*, 2015, **13**, 8817; (b) S. Vshyvenko, M. L. Clapson, I. Suzuki and D. G. Hall, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2016, **7**, 1097; (c) J. Axthelm, S. H. C. Askes, M. Elstner, U. Reddy, G. H. Görls, P. Bellstedt and A. Schiller, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 11413; (d) R. E. London and S. A. Gabel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 2562; (e) S. L. Yeste, M. E. Powell, S. D. Bull and T. D. James, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 427.
- 15 (a) J. C. Norrild and H. Eggert, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 1479; (b) J. C. Norrild and H. Eggert, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1996, 2583; (c) M. Bielecki, H. Eggert and J. C. Norrild, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1999, 449; (d) J. C. Norrild and I. Sotofte, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2002, 303; (e) S. P. Draffin, P. J. Duggan, S. A. M. Duggan and J. C. Norrild, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 9075.
- 16 B. Gierczyk, M. Kazmierczak, G. Schroeder and A. Sporzynski, *New J. Chem.*, 2013, **37**, 1056.
- 17 D. B. Hibbert and P. Thordarson, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 12792.
- 18 Kinetic studies of such complexation reactions by Benkovic *et al.* and Ishihara *et al.* have shown that intermediate species also form (see ref. 20 below), which are not represented here.
- 19 (a) E. Faure, C. Falentin-Daudre, C. Jerome, J. Lyskawa, D. Fournier, P. Woisel and C. Detrembleur, *Prog. Polym. Sci.*, 2013, **38**, 236; (b) F. Coumes, P. Woisel and D. Fournier, *Macromolecules*, 2016, **49**, 8925.
- 20 (a) T. Okamoto, A. Tanaka, E. Watanabe, T. Miyazaki, T. Sugaya, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, A. Odani and K. Ishihara, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2014, 2389; (b) Y. Suzuki, M. Shimizu, T. Okamoto, T. Sugaya, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, A. Odani and K. Ishihara, *ChemistrySelect*, 2016, **1**, 5141; (c) J. W. Tomsho and S. J. Benkovic, *J. Org. Chem.*, 2012, **77**, 2098.
- 21 (a) M. Sanjoh, D. Iizuka, A. Matsumoto and Y. Miyahara, *Org. Lett.*, 2015, **17**, 588; (b) S. Sene, S. Begu, C. Gervais, G. Renaudin, A. Mesbah, M. E. Smith, P. H. Mutin, A. van der Lee, J. M. Nedelec, C. Bonhomme and D. Laurencin, *Chem. Mater.*, 2015, **27**, 1242.

Synthèse et étude de la complexation de nouveaux benzoxaboroles multivalents

Les benzoxaboroles (qui sont les dérivés cycliques des acides boroniques) s'imposent comme une nouvelle classe de molécules intéressantes, pour la formulation de nouveaux agents thérapeutiques (notamment avec la commercialisation de l'AN2690, dérivé fluoré du benzoxaborole, en tant qu'antifongique), tout comme la formation de matériaux fonctionnels. A ce jour, il n'y a pas eu de mise au point de synthèse systématique de petites molécules benzoxaboroles multivalentes, limitant ainsi leur utilisation. Dans le cadre de cette thèse, différentes approches de synthèse ont été développées et ont permis l'obtention de 12 nouveaux composés bi- ou tri-valents. La principale réactivité de ces composés est leur capacité à complexer les *cis*-diols. Étant donné que la force de l'interaction est dépendante de la nature du substrat, il est important de pouvoir l'analyser en détail. La complexation entre les benzoxaboroles avec les diols est généralement réalisée par la méthode spectrofluorimétrique qui est controversée, particulièrement dans le cas des molécules organoborées multivalentes. Pour analyser en détail la stœchiométrie de ces complexations, une méthode RMN multinucléaire en solution a ici été développée. Les composés bi- ou tri-valents ont ensuite été testés en tant qu'agent thérapeutique. En effet, récemment, l'activité d'inhibition contre l'anhydrase carbonique de motifs benzoxaboroles monovalents a été discutée dans la littérature. La multivalence nos molécules pouvant être un avantage, leur constante d'inhibition contre l'anhydrase carbonique ont été mesurées. Enfin, dans un tout autre domaine, la réactivité avec les diols et la multivalence de nos composés ont été mises en avant par la formation de nouveaux complexes moléculaires.

Mots clefs : Benzoxaborole multivalent, RMN multinucléaire, Spectrofluorimétrie, Anhydrase carbonique, Complexation

Synthesis and study of the complexation of new multivalent benzoxaboroles

Benzoxaboroles (which are cyclic derivatives of boronic acids) are emerging as an interesting class of molecules for the design of new therapeutic agents (in particular with the commercialization of AN2690, which is a fluorinated derivative of benzoxaborole, as an antifungal agent), as well as for the formation of functional materials. However, to date, only few syntheses of small molecules of multivalent benzoxaborole have been described in the literature. In this thesis, different approaches were explored to isolate 12 new bi- or tri-valent benzoxaboroles. The main reactivity of these compounds is their ability to bind to *cis*-diols. Given that the strength of interaction between an organoboron molecule and a diol depends on the nature of the interacting counterparts, it is important to be able to measure it in detail. The complexation between benzoxaboroles and *cis*-diols is usually studied by a spectrofluorimetric method, which is controversial, especially in the case of multivalent benzoxaboroles. To analyse in detail the stoichiometry of these complexation, a multinuclear NMR method in solution was developed in this thesis. The di- or tri-valent benzoxaboroles were then tested as therapeutic agents. Indeed, recently, the activity of monovalent benzoxaborole against carbonic anhydrases was discussed in the literature. Since the multivalence of our molecules could be a benefit, the measurement of their inhibition constants against carbonic anhydrases was performed. Finally, in a completely different type of application, their reactivity toward *cis*-diols and their multivalence was put forward to create new complexes.

Keywords: Multivalent benzoxaborole, Multinuclear NMR, Spectrofluorimetry, Carbonic anhydrase, Complexation