



HAL
open science

Synthèse et caractérisation de nouveaux dérivés du [2.2]paracyclophane pour la conception de ligands spécifiques et sélectifs de structures tridimensionnelles de l'ARN

Simon Felder

► **To cite this version:**

Simon Felder. Synthèse et caractérisation de nouveaux dérivés du [2.2]paracyclophane pour la conception de ligands spécifiques et sélectifs de structures tridimensionnelles de l'ARN. Chimie analytique. Université Paris Cité, 2022. Français. NNT : 2022UNIP5011 . tel-04004286

HAL Id: tel-04004286

<https://theses.hal.science/tel-04004286v1>

Submitted on 24 Feb 2023

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.



Université de Paris

École Doctorale 563 : Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries

Laboratoire de chimie et biochimie pharmacologiques et toxicologiques

**Synthèse et caractérisation de nouveaux dérivés du
[2.2]paracyclophane pour la conception de ligands spécifiques et
sélectifs de structures tridimensionnelles de l'ARN**

Thèse de doctorat de Chimie

Présentée par

Simon FELDER

Présentée et soutenue publiquement le 21 février 2022

Devant le jury composé de :

Dr Kevin CARIOU	ChimieParisTech	Rapporteur
Dr Anton GRANZHAN	Institut Curie	Rapporteur
Dr Maria DUCA	Université Côte d'Azur	Examinatrice
Pr Arnaud GAUTIER	Sorbonne Université	Examinateur
Dr Erica BENEDETTI	Université de Paris	Directrice
Dr Laurent MICOUIN	Université de Paris	Co-directeur
Dr Marcel HOLLENSTEIN	Institut Pasteur	Membre invité

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier chaleureusement tous les membres du jury d'avoir accepté notre invitation à évaluer mon travail. Évidemment, je remercie tout particulièrement Erica et Laurent, mes directrice et directeur de thèse. J'ai eu le plaisir et la chance de travailler avec vous pendant quatre ans, ça a été long parfois, difficile ou mouvementé, mais vous avez toujours su me canaliser et me permettre de rester sur de bons rails chacun à votre façon. Merci à tous les deux pour votre confiance, votre investissement et vos qualités tant professionnelles qu'humaines. Je n'ai que des bons souvenirs et je n'aurais pas pu imaginer de meilleures personnes pour m'encadrer au cours de cette thèse (et encore plus pendant l'écriture de ce manuscrit). Je remercie aussi Marcel pour m'avoir accueilli dans son labo pendant de longs mois, pour m'avoir fait découvrir le SELEX bien sûr mais aussi pour plein de discussions toujours intéressantes. Je suis très heureux d'avoir pu travailler dans ton équipe, d'y avoir rencontré Marie, Luke et Fabienne, d'avoir pu y découvrir la biologie moléculaire dans un environnement chaleureux et agréable.

À mes directeurs, et aux autres permanents de notre équipe que j'ai été amené à fréquenter quotidiennement : Riccardo, pour ses conseils pratiques au labo et en dehors, pour être resté le soir avec moi et d'autres, Serge, pour son humour, sa verve de syndicaliste et pour avoir partagé son labo avec moi, pour leurs rires communicatifs à tous les deux. À tous les quatre, pour tous les moments passés ensemble, concernant la chimie ou le reste, pour tous les conseils et astuces, pour toutes les capsules Nespresso volées, pour avoir toujours fait en sorte que l'on puisse travailler dans les meilleures conditions possibles, un grand merci. J'espère que mon travail a été à la hauteur du respect et de l'amitié que j'ai pour vous.

Aux anciens étudiants et postdocs de l'équipe avec qui j'ai pu travailler : Marie-Léonie, Tuan, Haitham et Martin. Je ne sais pas si vous aurez l'occasion de lire ce manuscrit, mais j'ai passé de bons moments au labo avec vous. Vous avez tous contribué à une part de ce manuscrit d'une manière ou d'une autre. À ceux qui sont encore là : Shiqi, I met you more than 3 years ago in front of the university (Descartes then), we spent a lot of time next to each other in the lab and you made me discover a lot of things (and restaurants), Jules, arrivé il ya un an, j'ai pris plaisir à te faire découvrir le labo et l'unité, à te voir découvrir les pCp comme moi deux ans avant. Merci à tous les deux d'avoir partagé les hauts et les bas de la chimie des pCp avec moi.

À toute l'UMR 8601, à tous les permanents et étudiants avec qui j'ai passé des moments, fait des expériences ou bu des cafés/bières : pour tous les conseils, pour les nombreuses discussions et collaborations, pour beaucoup de blagues plus ou moins drôles, merci à Farouk et Benoît tout spécialement. Merci à Sonia, à Guillaume, à Erwan, à Patrice, à Aleksandra, à Diana, à Cédric, à Fabienne, à Nicolas, à tous ceux que j'ai fréquentés après ma migration au 1^{er} étage, j'ai toujours pris beaucoup de plaisir à venir au labo. Merci aux étudiants, Amit, Georgina, Alessandra, Alexandre, Huan, Hongwei, et les autres pour les chasses aux œufs, les apéros, les sapins, etc. Merci à tous ceux que j'oublie aussi. Merci à Karine, Delphine et Diana pour les cours et TP.

À mes amis, de partout ou d'ailleurs : Alexandre, Quentin, Nasser, Yohan, Rogelio, Stefani, Ehider, Arnaud, Daniela, Léonie, Clément, Alejandra, et plein d'autres, merci pour toutes ces années et pour celles à venir.

Enfin un merci du fond du cœur à toute ma famille pour tous les aspects de ma vie en dehors du labo. À mes parents, et à ma sœur, pour avoir toujours cru en moi, pour m'avoir encouragé à faire ce que je voulais et pour m'avoir donné un regard différent sur la vie, je ne peux pas imaginer un monde sans vous. À Clément, merci pour la cohabitation, pour le confinement, pour tout le reste, à Martin, merci d'exister. À mes grands-parents, à ma tante, à tous ceux qui m'ont accompagné depuis l'enfance, je vous suis reconnaissant d'avoir fait de moi qui je suis. À Claire, merci de me supporter au quotidien, pour ton courage, d'avoir choisi de découvrir de nouvelles choses avec moi, et parce que je t'aime, un grand merci, le monde nous attend.

« Not all those who wander are lost »

J. R. R. Tolkien

Table des matières

REMERCIEMENTS	3
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION GENERALE	15
CHAPITRE I : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE	21
I – L'ARN, UNE BIOMOLECULE PROTEIFORME	21
I.1 Une relation structure-fonction cruciale	21
I.1.1 Structure primaire	21
I.1.2 Structures secondaires et tertiaires	24
I.1.3 Importance du repliement, l'exemple des riborégulateurs bactériens	27
I.2 Intérêt fondamental et thérapeutique de l'ARN	29
I.2.1 Rôles et importance biologique : un effecteur cellulaire polyvalent	29
I.2.2 Pourquoi cibler l'ARN	33
I.2.3 Différentes stratégies possibles	33
II – LE [2.2]PARACYCLOPHANE, UNE NOUVELLE PLATEFORME POUR DES LIGANDS SELECTIFS ET SPECIFIQUES DE L'ARN	35
II.1 Ligands d'ARN et travaux du laboratoire	35
II.1.1 Espace chimique des ligands d'ARN	35
II.1.2 Travaux du laboratoire : synthèse de mimes de la 2-DOS	37
II.1.3 Travaux du laboratoire : synthèse par fragments de ligands spécifiques de l'ARN	40
II.1.4 Les motifs aromatiques non plans comme structure privilégiée	42
II.2 Le [2.2]paracyclophane, un motif tridimensionnel particulier	44
II.2.1 Structure et réactivité	44
II.2.2 Chiralité et propriétés de fluorescence	45
II.2.3 Applications en chimie des matériaux et de synthèse	48

II.3	Projet de thèse	49
CHAPITRE II : METHODOLOGIE DE SYNTHÈSE ET CONTRÔLE DE LA SUBSTITUTION DU MOTIF [2.2]PARACYCLOPHANE		51
I – CONTRÔLE DE LA CHIRALITÉ PAR TRANSFERT ASYMMÉTRIQUE D’HYDROGÈNE		52
I.1	État de l’art	52
I.1.1	Principe des méthodes de séparation chirale	52
I.1.2	Exemples choisis de séparation chirale de dérivés carbonyles du [2.2]paracyclophane	54
I.1.3	Dédoublage cinétique par ATH : principes et applications aux pCp	57
I.2	Étude mécanistique	60
I.2.1	Résultats expérimentaux	60
I.2.2	Résultats théoriques	64
I.3	Extension de l’ATH à d’autres substrats	67
I.3.1	Différentes sources de chiralité	67
I.3.2	Aldéhydes dérivés du férrocène	67
I.3.3	Aldéhydes dérivés d’hélicènes	71
II – PARA-FORMYLATION DU 4-AMINO[2.2]PARACYCLOPHANE		73
II.1	État de l’art	73
II.1.1	Importance de la diversité chimique et spatiale des pCp	73
II.1.2	Substitutions para-sélectives des pCps	73
II.2	Développement d’une méthode de <i>para</i> -formylation régiosélective	75
II.2.1	Résultats préliminaires	75
II.2.2	Le protocole de Vilsmeier-Haack	76
II.3	Réactions de post-fonctionnalisation et accès à des composés optiquement actifs	78
II.3.1	Modifications du groupement amine	78
II.3.2	Modifications du groupement formyle	79
II.3.3	Voie de synthèse pour des dérivés énantiopurs	80
BILAN & PERSPECTIVES DU CHAPITRE II		82

CHAPITRE III : SYNTHÈSE DE FLUOROPHORES A BASE DE [2.2]PARACYCLOPHANES	85
I – ÉTAT DE L'ART	86
I.1 Fluorochromes dérivés du [2.2]paracyclophane	86
I.1.1 Rappels généraux sur la fluorescence	86
I.1.2 Exemples choisis de fluorophores achiraux comprenant un motif pCp	88
I.2 Fluorochromes chiraux énantioenrichis dérivés du pCp	93
I.2.1 Rappels sur les propriétés chiroptiques et l'émission de lumière polarisée	93
I.2.2 Exemples choisis de fluorophores chiraux incluant un motif pCp	94
II – ANALOGUES DU PRODAN A CHIRALITE PLANAIRE	99
II.1 Synthèse des analogues tridimensionnels	99
II.1.1 Contexte et objectifs	99
II.1.2 Analogue pseudo-para	100
II.1.3 Analogue para	102
II.2 Propriétés physico-chimiques	106
II.2.1 Propriétés spectroscopiques	106
II.2.2 Calculs thoriques	108
II.2.3 Propriétés chiroptiques et impact du modèle de substitution	110
II.2.4 Conclusion	113
III – LIGANDS DICETONES : SYNTHÈSE DE FLUOROPHORES CHIRAUX	114
III.1 Synthèse des ligands acétylacétonates énantio purs	114
III.1.1 Contexte et objectifs du projet	114
III.1.2 Synthèse des ligands et diversification	115
III.2 Fluorochromes synthétisés et propriétés spectroscopiques	117
III.2.1 Fluorophores organiques : bodipy	117
III.2.3 Propriétés spectroscopique et chiroptiques des bodipy pCp	118
III.2.3 Fluorophores inorganiques : complexes de lanthanides	121
IV – DERIVES CYANINE : SYNTHÈSE ET ALLUMAGE DE FLUORESCENCE	124

IV.1 Synthèse des cyanines plate et tridimensionnelle	124
IV.1.1 Contexte et objectifs du projet	124
IV.1.2 Synthèse des cyanines	125
IV.2 Propriétés spectroscopiques et agrégatives	127
IV.2.1 Caractérisations spectroscopiques des cyanines	127
IV.2.2 Agrégation des cyanines en solution et à l'état solide	129
BILAN ET PERSPECTIVES DU CHAPITRE III	133
<i>CHAPITRE IV : INTERACTIONS ENTRE LE [2.2]PARACYCLOPHANE ET DES ACIDES NUCLEIQUES</i>	137
I – CARACTERISATION D'UNE SONDE CYANINE PCP SELECTIVE DE L'ARN	138
I.1 État de l'art	138
I.1.1 Rappels sur le fonctionnement des sondes fluorescentes	138
I.1.2 Exemples de sondes fluorescentes d'acides nucléiques commerciales	141
I.1.3 Rappel sur le ciblage des ARN et exemples de sondes sélectives	145
I.2 Sélectivité des sondes et apport du pCp dans le ciblage des acides nucléiques	146
I.2.1 Allumage de fluorescence et sélectivité de la sonde en présence de différents acides nucléiques	146
I.2.2 Comparaison du comportement des cyanines plate et tridimensionnelle in cellulo	150
I.3 Vers des ligands spécifiques et sélectifs de structures secondaires de l'ARN	152
I.3.1 Sélectivité envers des motifs « tige-boucle »	152
I.3.2 Conclusion	155
II – SELECTIONS D'APTAMERES POUR UN LIGAND DERIVE DU PCP	156
II.1 Le SELEX, un outil pour l'obtention de ligands spécifiques	156
II.2 Expériences de SELEX	158
II.2.1 Synthèse des ligands	159
II.2.2 Sélections avec une librairie ADN	165
II.2.3 Sélections avec une librairie ARN	168
BILAN ET PERSPECTIVES DU CHAPITRE IV	175

CONCLUSION GENERALE	179
LISTE DE PUBLICATIONS	183
EXPERIMENTAL PART	185
I. General Remarks	185
II. Experimental procedures of chapter II	187
II.1 ATH reactions on pCp aldehydes 2.4 et 2.15	187
II.2 Experimental study of ATH reaction on 2.4	200
II.3 ATH reactions on aldehyde-bearing ferrocene 2.26 and [6]helicene 2.27	205
II.4 Regioselective paraformylation	224
III – Experimental procedures for chapter III	262
III.1 PRODAN analogues	262
III.2 Diketone ligands and bodipys	297
III.3 Synthesis and characterization of cyanines 3.54 and 3.55	322
IV. Experimental procedures for chapter IV	331
IV.1 Fluorimetric and in cellulo assays on 3.54 and 3.55	331
IV.2 Synthesis and SELEX experiments of ligands 4.28 and 4.29	360
REFERENCES	387

Liste des Abréviations

2-DOS : 2-déoxystreptamine

5'-UTR : séquences non traduites en 5' (*UnTranslated Regions*)

acac : acétylacétonate

ADN : acide désoxyribonucléique

- ADNdb : ADN double brin
- ADNmt : ADN mitochondrial
- ADNsb : ADN simple brin

AMP : adénosine monophosphate

ARN : acide ribonucléique

- ARNdb : ARN double brin
- ARNi : ARN interférent
- ARNm : ARN messenger
- ARNmt : ARN mitochondrial
- ARNnc : ARN non codant
- ARNpré-m : ARN pré-messenger
- ARNr : ARN ribosomique
- ARNsb : ARN simple brin
- ARNt : ARN de transfert
- miARN : micro ARN
- siARN : petit ARN interférent (*Small Interfering RNA*)
- snARN : petit ARN nucléaire (*Small Nuclear RNA*)
- snoARN: petit ARN nucléolaire (*Small NuclOlear RNA*)

ASO : oligonucléotide anti-sens (*AntiSense Oligonucleotide*)

ATH : transfert asymétrique d'hydrogène (*Asymmetric Transfer Hydrogenation*)

ATP : adénosine triphosphate

BH : couplage de Buchwald-Hartwig

bp : paire de bases (*Base Pair*)

CBS : Corey-Bakshi-Shibata

- CD : dichroïsme circulaire (*Circular Dichroism*)
- cLogP : coefficient de partage calculé (prédiction théorique)
- Complexe RISC : complexe silencieux induit par l'ARN (*RNA-Induced Silencing Complex*)
- CPL : lumière circulairement polarisée (*Circularly Polarized Light*)
- CRL : lipase *Candida Rugosa*
- CT : transfert de charge (*Charge Transfer*)
- CVD : dépôt chimique en phase vapeur (*Chemical Vapor Deposition*)
- DACP : diaminocyclopentanol
- DBU : 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
- DCM : dichlorométhane
- DFT : théorie de la fonctionnelle de densité (*Density Functional Theory*)
- DIPEA : diisopropyléthylamine
- DME : diméthoxyéthane
- DMF : diméthylformamide
- DMP : periodinane de Dess-Martin (*Dess-Martin Periodinane*)
- DOSY : mesure de diffusion par RMN (*Diffusion Order Spectroscopy*)
- EDD : différence de densité électronique (*Electronic Density Difference*)
- EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique
- ee* : excès énantiomérique
- FC : corrélation de fluorescence (*Fluorescence Correlation*)
- FISH : hybridation fluorescente in situ (*Fluorescent In Situ Hybridization*)
- Fmoc : fluorénylméthoxycarbone
- FRET : transfert d'énergie par résonance de Förster (*Förster Resonance Energy Transfer*)
- FsDPEN : N-(*p*-tétrafluorotolyle)-1,2-diphényléthylène-1,2-diamine
- GFP : protéine fluorescente verte (*Green Fluorescent Protein*)

GTP : guanosine triphosphate

GMP : guanosine monophosphate

HMQC : cohérence multi-quantique hétéronucléaire (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*)

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute pression (*High-Pressure Liquid Chromatographie*)

hsp : protéine de choc thermique (*Heat Shock Protein*)

HRMS : Spectrométrie de masse à haute résolution (*High-Resolution Mass Spectroscopy*)

HTS : criblage haut débit (*High-Throughput Screening*)

HWE : Horner-Wadsworth-Emmons

IR : infrarouge

KR : dédoublement cinétique (*Kinetic Resolution*)

MsDPEN : N-mesyl-1,2-diphényléthylène-1,2-diamine

N : nucléotide aléatoire (A/T-U/G/C)

NGS : séquençage nouvelle génération (*Next-Generation Sequencing*)

NMO : N-oxyde de N-méthylmorpholine

OD₂₆₀ : absorbance à 260 nm (*Optical Density*)

PAGE : électrophorèse sur un gel de polyacrylamide (*PolyAcrylamide Gel Electrophoresis*)

pCp : [2.2]paracyclophane

PCR : amplification en chaîne par polymérase (*Polymerase Chain Reaction*)

PET : transfert d'électron photoinduit (*Photoinduced Electron Transfer*)

pmoles : picomoles

PPi : pyrophosphate inorganique

QY : rendement quantique (*Quantum Yield*)

RE : réticulum endoplasmique

RMN : résonance magnétique nucléaire

RNase : ribonucléase

RNP : ribonucléoprotéine

RT-qPCR : PCR en temps réel (*Real-Time Quantitative PCR*)

(S)-SAMP : (S)-1-amino-2-méthoxyméthylpyrrolidine

SELEX : évolution systématique de ligands par enrichissement exponentiel (*Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment*)

SFC : chromatographie en phase supercritique (*Supercritical Fluid Chromatography*)

SHAPE : acylation sélective de la position 2' analysée par extension d'amorce (*Selective 2' Hydroxyl Acylation Analyzed by Primer Extension*)

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

TA : température ambiante

Tampon A : TE additionné de 150 mM de NaCl

Tampon B : TE additionné de 150 mM de NaCl et de 5 mM de MgCl₂

TE : tampon Tris·HCl, EDTA (10 mM, 1 mM) dans l'eau pure

THF : tétrahydrofurane

TICT : transfert de charge intramoléculaire avec torsion (*Twisted Intramolecular Charge Transfer*)

TsDPEN : N-(*p*-tosyl)-1,2-diphényléthylène-1,2-diamine

TROSY: spectroscopie optimisée pour la relaxation transversale (*Transverse Relaxation-Optimized Spectroscopy*)

U : unités

VCD : dichroïsme circulaire vibratoire (*Vibrational Circular Dichroism*)

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

XRD : diffraction des rayons X (*X-Ray Diffraction*)

Introduction générale

Des balbutiements de l'embryologie à la transmission de l'information génétique et aux techniques actuelles d'édition moléculaire, l'intense développement des connaissances sur l'hérédité a, en à peine deux cents ans, mené à la naissance de la génétique et de la biologie moléculaire. Au XX^e siècle, ces domaines émergents de la science ont contribué à la découverte des chromosomes, des gènes, des composants des acides nucléiques et de leurs rôles, culminant dans l'élucidation de la structure de l'ADN par Franklin, Watson et Crick (prix Nobel de médecine et physiologie en 1962).¹ L'ADN fut remarqué pour la première fois en 1869 par Miescher comme un composé translucide à l'intérieur des noyaux cellulaires sans qu'il n'en connaisse ni la nature ni le rôle. Les travaux successifs de Morgan, Griffith et Avery, dans la lignée de Mendel, démontreront le rôle de l'ADN comme support de l'information génétique responsable de la transmission héréditaire de caractères d'une génération à l'autre. Longtemps dans l'ombre de son alter ego désoxygéné, l'ARN n'est lui remarqué qu'à partir des années 1900, soit près de trente ans après les premières isolations d'ADN, il est alors considéré comme un type d'acides nucléiques aux propriétés physico-chimiques particulières. L'ARN reste longtemps un composant cellulaire mal connu et mal caractérisé dont la structure et les rôles ne sont pas étudiés. Il faut attendre les années 1930 pour que Brachet puis Hämmerling attestent des différences de répartition cellulaire des acides nucléiques et de leurs impacts respectifs sur l'embryogenèse – même s'ils n'en comprennent encore ni la nature, ni l'importance, pas plus que les différences entre ceux-ci. L'époque suivant la Seconde Guerre mondiale verra une explosion des moyens techniques et scientifiques permettant l'isolation et la caractérisation de plus en plus fine des composants cellulaires (ARNm, ARNt, ARNr), ainsi que l'élucidation de nombreux mécanismes de biosynthèse et de transmission de l'information cellulaire ; notamment la machinerie de synthèse des protéines, un processus impliquant ces deux aspects.²

L'ADN permet le stockage et la pérennisation de l'information génétique d'un organisme, tandis que les ARN permettent la production de protéines, effectrices terminales d'une réponse à un stimulus cellulaire.³ L'ADN est transcrit en ARN qui est ensuite traduit en protéines. Cette suite logique est le fondement du fonctionnement cellulaire tel qu'énoncé par Crick au cours des années 1960 dans son dogme central de la biologie moléculaire (**Figure 1**).⁴ Chacune de ces étapes implique de nombreuses protéines – dont l'activité catalytique est nécessaire à la production de nouvelles structures cellulaires –, pourtant elles-mêmes préalablement produites selon la cascade précitée. Ce paradoxe a

été mis en évidence dès le début des années 1960 à une période où la question sous-jacente de l'apparition de la vie faisait déjà débat avec des expériences fondatrices telles que celle de Miller et Urey en 1953. Qui de l'ADN, de l'ARN ou des protéines a émergé le premier de la « grande soupe moléculaire primordiale » ? Quelles réactions chimiques ont permis l'apparition des phénomènes réplcatifs caractéristiques de la vie cellulaire ?

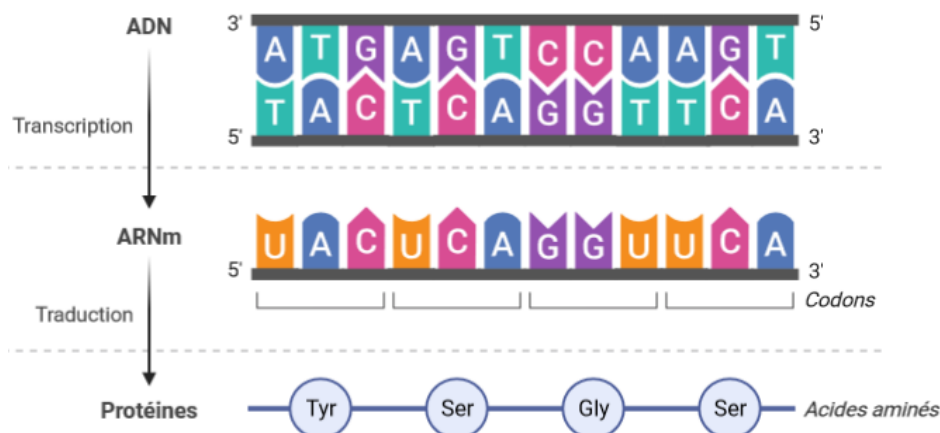


Figure 1. Cascade cellulaire du dogme central de la biologie moléculaire

Les nombreuses avancées scientifiques autour de l'ARN et de la régulation de l'information génétique – treize prix Nobel depuis 1960 : cinq de chimie et huit de médecine et physiologie, vingt-huit récipiendaires – ont progressivement ouvert la voie à un changement de paradigme. La découverte de l'activité catalytique des ribosomes par Altman au début des années 1980 (prix Nobel de chimie de 1989 avec Cech) a conduit la communauté scientifique à définitivement enterrer l'inertie supposée des ARN.⁵ Le développement des techniques d'évolution *in vitro* d'ARN par sélections et amplifications successives de bibliothèques aléatoires d'oligonucléotides (SELEX), imaginées indépendamment par Szostak et Gold en 1990,^{6,7} a encore renforcé l'émergence d'un modèle dynamique de l'ARN.⁸ Aujourd'hui, ces acides nucléiques ne sont plus uniquement vus comme de simples messagers de l'information génétique, et la meilleure compréhension de leurs propriétés a mené à l'élaboration de nouvelles théories sur les premières étapes menant à la vie cellulaire.^{9,10} De par leur implication dans les phénomènes de régulation, les ARN jouent un rôle dans de nombreuses pathologies, génétiques ou non. Il apparaît donc essentiel de pouvoir cibler les ARN avec de petites molécules afin de pouvoir mieux connaître, identifier et éventuellement moduler leurs actions.^{11,12}

Plusieurs classes de molécules sont connues pour leur capacité à se lier aux acides nucléiques, par exemple, les composés chargés *via* des interactions électrostatiques avec les ponts phosphodiester, ou les molécules aromatiques par des liaisons π avec les bases hétéroaromatiques des nucléotides.¹³

Les aminoglycosides sont des composés cationiques antibactériens interagissant avec les ribosomes. L'étude de leurs interactions a permis d'identifier le rôle important du motif 2-déoxystreptamine (2-DOS ; **Figure 2**) dans la reconnaissance ARN-ligand.¹⁴ Plusieurs mimes de ce motif ont été synthétisés en conservant la structure *cis*-1,3-diamine et présentent de bonnes affinités pour différents ARN.

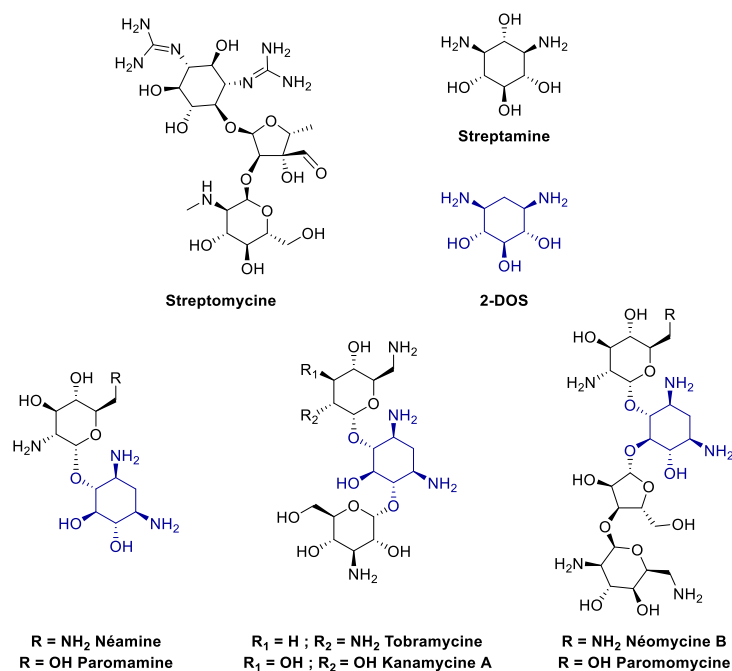


Figure 2. Structure de différentes classes d'aminoglycosides

Les composés aromatiques se lient aux acides nucléiques selon deux modes principaux : en s'intercalant entre deux bases successivement liées d'un brin (**Figure 3a**), apparié ou non, comme le bromure d'éthidium par exemple, ou en épousant les sillons d'une structure en hélice comme les colorants Hoechst de l'entreprise éponyme. Bien que leur association repose sur des interactions de faible énergie, les composés aromatiques permettent une bonne reconnaissance des acides nucléiques, grâce notamment à l'effet hydrophobe en milieu aqueux.¹⁵ Mais les modes d'interaction qu'ils adoptent ne sont généralement pas sources de sélectivité et ne permettent pas de fortement discriminer l'ARN par rapport à l'ADN. Pour pallier ce déficit de sélectivité, plusieurs équipes ont utilisé des motifs aromatiques non plans¹⁶ afin moduler les modes d'interaction de petites molécules avec l'ARN (**Figure**

3b). La capacité des molécules aromatiques non planes à s'associer sélectivement à des structures secondaires des ARN telles que les renflements avec des composés spiraniques, ou les jonctions triples avec des unités triptycènes, souligne l'importance de l'arrangement tridimensionnel de ces interactions.

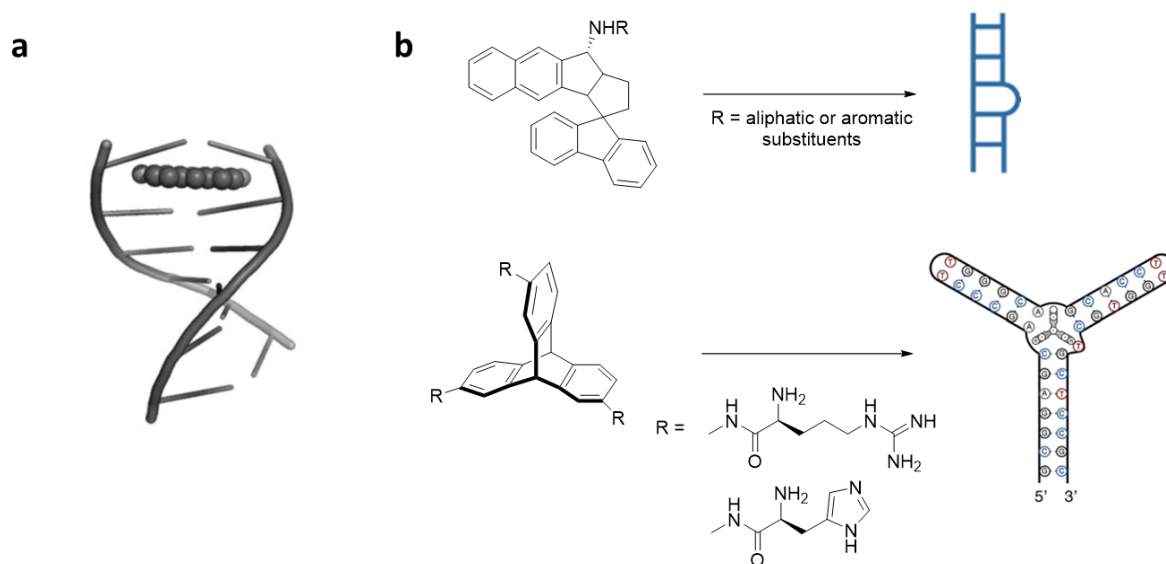


Figure 3. a. Mode d'interaction par intercalation ; b. Ligands aromatiques non plans de structures tridimensionnelles de l'ARN

Notre équipe s'intéresse à l'exploration de nouveaux espaces chimiques pour la conception et la synthèse de ligands d'ARN présentant des motifs d'interaction à la répartition spatiale contrôlée. Sur la base des résultats décrits ci-dessus, nous avons envisagé d'utiliser un motif aromatique non plan original, le [2.2]paracyclophane (pCp),¹⁷ comme plateforme pour développer de nouveaux ligands de structures tridimensionnelles de l'ARN. Par analogie avec les composés précédemment cités, le pCp devrait pouvoir former des liaisons π avec les bases non appariées des acides nucléiques via ses cycles benzéniques, sans pour autant être un agent intercalant grâce à son architecture stériquement encombrée (**Figure 4**). Cette molécule possède également des propriétés de fluorescence potentiellement intéressantes à exploiter pour suivre ses interactions avec l'ARN.¹⁸ Par ailleurs, le nombre, la nature et les orientations possibles des sites de modifications du pCp, huit sur deux cycles parallèles, en font une molécule de choix pour l'introduction de diversité chimique et spatiale. Toutefois, l'accès à des pCp polysubstitués est compliqué et l'éventail de modifications décrites a encore de nombreuses lacunes en termes de régio-, diastéréo- et énantiosélectivité. Enfin, les spécificités autour des propriétés émissives du [2.2]paracyclophane sont encore partiellement non

élucidées et peu exploitées. À ce jour, des questions comme la conjugaison à travers l'espace de son système π ou la production de composés capables d'émission efficace de lumière polarisée sont encore activement à l'étude.¹⁹

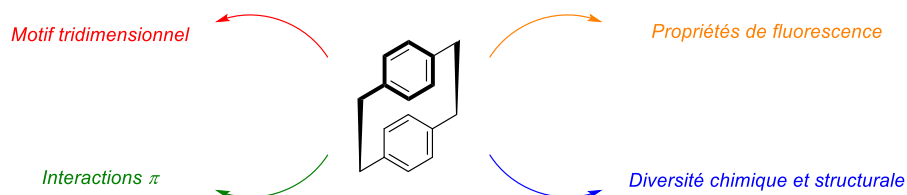


Figure 4. Le [2.2]paracyclophane présente des propriétés et qualités intéressantes pour la conception de ligands d'ARN

Cette thèse étudie ainsi l'utilisation du motif pCp pour la conception de molécules permettant des interactions sélectives avec des ARN. Après un premier chapitre bibliographique, le deuxième chapitre présente l'élaboration de stratégies de synthèse régio- et énantiosélective permettant d'accéder à des intermédiaires [2.2]paracyclophanes polysubstitués pertinents. Le troisième chapitre est ensuite centré sur la synthèse de fluorophores dérivés du pCp et l'analyse de leurs propriétés optiques. Enfin, dans le quatrième chapitre de ce manuscrit, les interactions de composés [2.2]paracyclophanes avec des ARN sont étudiées par spectroscopie de fluorescence et *via* la méthode SELEX.

Chapitre I : Recherche bibliographique

Du rôle de simple messenger de l'ADN à celui d'effecteur cellulaire versatile et polyvalent, l'ARN est au cœur des activités cellulaires orchestrant la régulation subtile de l'expression des gènes en réponse à leur environnement.^{20,21} Contrairement à l'ADN, qui, par son rôle de gardien de l'information, doit être structuralement stable et chimiquement peu réactif afin d'assurer la survie de l'espèce et la pérennité de son matériel génétique, l'ARN est une biomolécule capable d'adopter de nombreuses conformations grâce à la flexibilité de son architecture.²² Cette propriété est à l'origine de la polyvalence des ARN capables d'agir en tant que senseurs, transporteurs ou catalyseurs.²³ L'élucidation et le ciblage spécifique de ces structures complexes sont un défi scientifique actuel qui a longtemps été contourné par l'utilisation d'oligonucléotides anti-sens (ASO) s'appariant à l'ARN. Les ASO offrent une alternative intéressante au problème du ciblage des ARN, malgré tout les perspectives qu'offre la possibilité d'interagir de manière contrôlée avec des structures actives et pertinentes *in vivo* ne peuvent qu'encourager au développement de ligands de structures tridimensionnelles de l'ARN.

L'implication de l'ADN dans de nombreuses pathologies, aussi bien héréditaires qu'acquises, telles que les cancers ou le diabète de type II, est bien connue et exploitée en thérapeutique. Au contraire, l'intérêt de l'industrie pharmaceutique pour l'ARN en tant que cible au-delà du ribosome n'est apparu que plus récemment.²⁴⁻²⁶ Bien que certains progrès aient été faits ces dix dernières années dans le développement de petites molécules pouvant interagir avec l'ARN et moduler ses fonctions *in vivo*, il n'est pas encore possible d'élaborer des ligands affins et sélectifs d'une structure complexe d'ARN sur la simple base de sa séquence primaire autrement qu'avec des ASO.²⁷⁻²⁹

I – L'ARN, une biomolécule protéiforme

I.1 Une relation structure-fonction cruciale

I.1.1 Structure primaire

Les acides nucléiques sont des biopolymères de nucléotides liés entre eux par des liaisons phosphodiesters. Les nucléotides sont composés de trois éléments : un sucre, une base hétérocyclique et un groupement phosphate.³⁰

Le sucre sur lequel sont basés tous les nucléotides est le ribose, sous sa forme cyclique furanose. Il est à l'origine de la distinction entre ADN et ARN, les constituants du premier étant déhydroxylés en position 2'. Cette modification, en apparence mineure, est la source de plusieurs différences importantes entre l'ADN et l'ARN. En effet, l'absence de ce groupement hydroxyle permet la stabilisation de la conformation 2'-endo préférentiellement adoptée par le cycle déoxyribofuranose ; le ribose quant à lui privilégie une conformation 3'-endo. Notons que l'absence d'hydroxyle en position 2' des déoxynucléotides évite également la formation d'une liaison phosphodiester 2'-3' intramoléculaire. Le (déoxy)ribose d'un nucléotide est la plateforme permettant la présentation de 3 éléments distincts dans l'espace : les groupements phosphate en 5' et hydroxyle en 3' pour la liaison aux autres nucléotides, et la base hétérocyclique en position anomérique pour encoder l'information. Comme pour tous les sucres d'un organisme, ces liaisons présentent une configuration absolue spécifique et contrôlée. La liaison osidique liant le ribose à la base nucléotidique est de type β .

Une fois l'ose associé à une base hétérocyclique, ils forment un nucléoside. On dénombre cinq bases canoniques entrant dans la composition des acides nucléiques : deux dérivées de la purine, l'adénine (A) et la guanine (G), et trois dérivées de la pyrimidine, la cytosine (C), la thymine (T) et l'uracile (U) (**Figure 5**). La thymine est exclusive à l'ADN et est remplacée par l'uracile dans l'ARN.

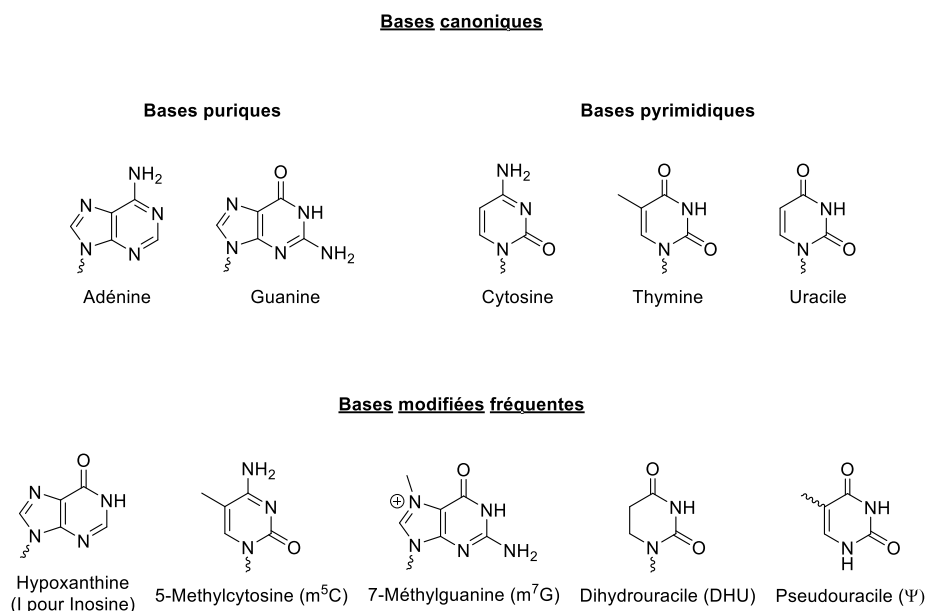


Figure 5. Structure des différentes bases nucléotidiques et certaines modifications fréquemment retrouvées dans l'ARN

La modification des bases hétérocycliques est un événement important pour le devenir et le rôle d'un ARN. De nombreuses transformations chimiques peuvent être apportées aux bases afin d'enrichir les possibilités d'encodage de l'information et sa régulation.³¹ Les bases peuvent être méthylées (m⁵C, m⁷G, **Figure 5**) ou réduites (DHU), peuvent se lier au ribose autrement (ψ) ou incorporer une base déaminée (I). Ces modifications sont cruciales au bon fonctionnement des ARN, celles-ci interviennent dans de nombreux phénomènes épigénétiques, afin de moduler l'expression de gènes, ou pour apporter plus de spécificités de reconnaissance à une association comme dans les ARNt par exemple dans lesquels les bras T et D sont fortement modifiés. Les bases nucléotidiques sont à l'origine des interactions permettant la formation de structures secondaires et tertiaires, et leurs modifications impactent nécessairement la façon dont elles interagissent entre elles ou avec d'autres structures, protéiques notamment.

Enfin, en position 5' du ribose, un groupement mono-, di- ou triphosphate est le constituant final d'un nucléotide. Ces groupements vont permettre la formation d'un pont phosphodiester entre les carbones 5' d'un (déoxy)nucléotide triphosphate et 3' d'un brin en cours de synthèse par les ADN et ARN polymérase (prix Nobel de médecine et physiologie de 1959, Ochoa et Kornberg). La rupture des liaisons anhydrides phosphoriques des nucléotides est thermodynamiquement favorable, fortement exothermique et exergonique par le relargage d'un groupement pyrophosphate inorganique, elle fournit l'énergie nécessaire à la synthèse des acides nucléiques. Certains nucléotides sont, par ce même mécanisme, une source d'énergie à l'échelle de toute la cellule.

Les acides nucléiques sont donc composés d'un enchaînement constant et répété de riboses liés entre eux par des groupements phosphoesters et présentant une succession de bases nucléotidiques porteuse d'informations. La structure primaire d'un acide nucléique est l'énoncé ordonné, de l'extrémité 5' à l'extrémité 3', des bases constitutives de celui-ci. Par exemple, « 5'-TATA-3' » correspond à la structure primaire de la boîte TATA participant à la reconnaissance d'un brin d'ADN par l'ARN polymérase. Elle ne comprend aucune information sur le repliement et la structure tridimensionnelle de la molécule, ni sur son rôle ou l'information exacte qu'elle encode. Par analogie avec les protéines, on parlera de structures secondaires et tertiaires (parfois quaternaires) pour décrire et représenter l'espace chimique occupé par les acides nucléiques en fonction du type d'interactions sur lesquelles elles reposent et des partenaires qu'elles mettent en jeu.

I.1.2 Structures secondaires et tertiaires

L'équilibre dans la répartition des bases puriques et pyrimidiques au sein des acides nucléiques étant déjà connu, grâce aux travaux de Chargaff notamment, l'association des bases entre elles fut décrite en même temps que la structure de l'ADN au début des années 1950. Les bases constitutives des acides nucléiques sont capables d'interagir entre elles *via* des liaisons hydrogènes et des empilements π . Les acides nucléiques sous forme de simple brin vont donc s'apparier entre eux par complémentarité selon un schéma « canonique » désormais classique, mais non exclusif : C-G et A-T pour l'ADN, ou A-U pour l'ARN (Figure 6).³² L'appariement coplanaire des nucléotides deux à deux se fait par des liaisons hydrogènes entre les azotes et les carbonyles des bases hétérocycliques. La paire G-C forme trois liaisons hydrogènes tandis que les couples A-T et A-U n'en forment que deux et sont donc proportionnellement moins fortement liés. On décrit des acides nucléiques comme riches ou pauvres en GC pour traduire la force de leur appariement. Le modèle d'association peut varier selon le mode de conformation du nucléotide (liaison syn ou anti en position 4'-5' et anomérique). Les bases de deux nucléotides successivement liés par un pont phosphodiester vont interagir de manière cofaciale par des empilements π stabilisant ainsi le grand axe du brin formé. La somme de ces interactions, menant à l'arrangement tridimensionnel le plus favorable des différents résidus, sera responsable de l'apparition à moyenne échelle de structures secondaires caractéristiques des différents acides nucléiques. L'association à grande échelle de ces motifs secondaires constitue des structures tertiaires de complexités comparables à celles des protéines ;³³ les structures composées d'acides nucléiques et de protéines associées sont parfois appelées quaternaires.

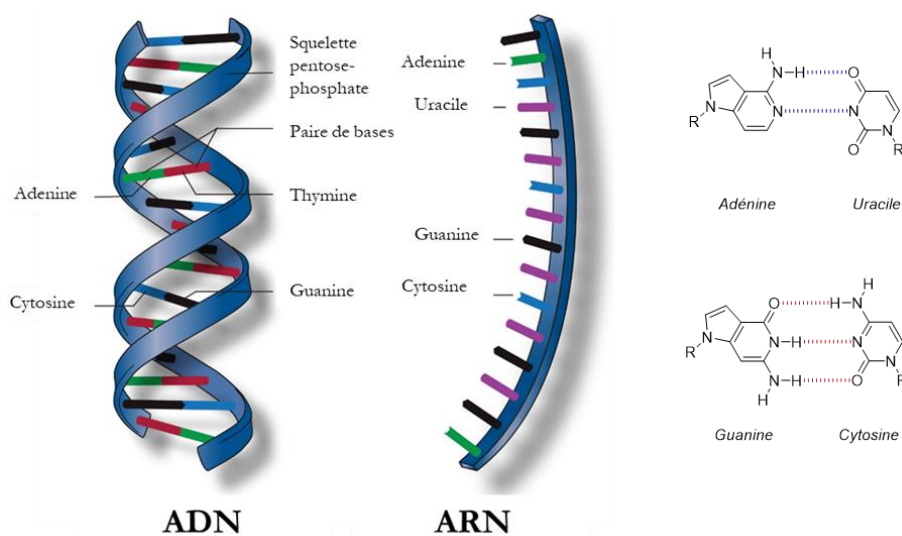


Figure 6. Représentation schématique de l'appariement des acides nucléiques et de leurs bases

L'ADN va préférentiellement se structurer sous forme bicaténaire comprenant deux brins anti-parallèles complémentaires, l'un orienté 5'-3' et l'autre 3'-5' (ADNdb, **Figure 6**). La structure secondaire de l'ADN telle que décrite en 1953 par des expériences de diffraction des rayons X (XRD) est une double hélice droite en solénoïde. Dans cette structure principale de l'ADN, appelée « hélice B », le ribose est en conformation 2'-endo et la liaison *N*-glycosidique en anti ; deux autres types de conformations existent, plus rares, appelées « hélice A » et « hélice Z » (**Figure 7**). L'espacement des deux brins d'ADN est asymétrique, et l'on distingue deux sillons de taille différente, un petit contenant les bases de chaque brin face à face et un grand marquant un tour ou un pas de l'hélice. Bien que le pas et les autres caractéristiques respectives des hélices diffèrent, leur structure tridimensionnelle reste similaire. Ces sillons permettent aussi une meilleure solubilisation de la molécule grâce à l'accumulation des charges négatives provenant de la présentation des phosphates hydrophiles au solvant. Les doubles hélices d'ADN sont enroulées plus ou moins fortement autour des histones, de petites protéines capables de s'associer pour en moduler l'empaquetage et l'accessibilité au sein des chromosomes. Cet enroulement en pelote caractéristique de l'hétérochromatine, complexe dense associant ADN et histones, représente une structure tertiaire (ou quaternaire) de l'ADN dans laquelle les hélices de sa structure secondaire interagissent à la fois entre elles et avec des hélices α provenant des histones. Certains ADN sont connus pour former d'autres structures plus originales telles que des quadruplexes G ou des triples hélices, mais ces structures demeurent quantitativement largement minoritaires bien que fonctionnellement importantes.³⁴

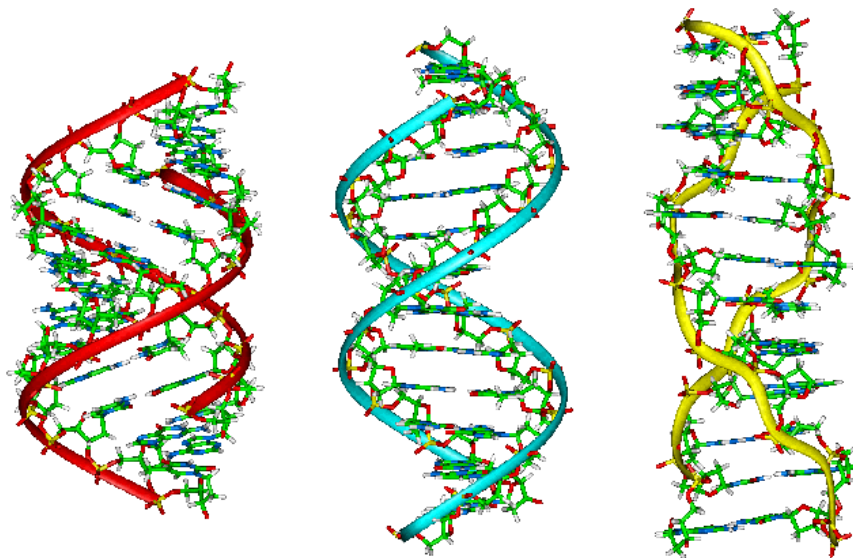


Figure 7. Structure des hélices d'ADN A, B et Z (de gauche à droite)

L'ARN reste pour sa part généralement sous forme monocaténaire, c'est-à-dire simple brin (ARNsb, **Figure 6**) ; bien que ce ne soit en aucun cas systématique puisque de nombreux ARNdb ont aussi été décrits. Les bases nucléotidiques interagissent à moyenne échelle, selon le schéma d'appariement précédemment décrit, pour former des structures secondaires variées et dynamiques.³⁵ La conformation 2'-endo adoptée par les déoxynucléotides de l'ADN tend à stabiliser la formation d'hélices par appariement Watson-Crick. Les hélices sont, comme pour l'ADN, des motifs privilégiés pour la structuration de l'ARN presque par défaut et elles sont souvent présentes entre ou au sein d'autres motifs. Toutefois, la prévalence des hélices n'empêche pas l'apparition de structures plus complexes et spécifiques telles que des boucles en épingle à cheveux, des renflements, des jonctions multibrins ou des pseudo-nœuds (**Figure 8**). En effet, les oxynucléotides de l'ARN ont un plus grand nombre de degrés de liberté accessibles autour des liaisons 5'-phosphate et 1'-base leur permettant de se stabiliser dans d'autres conformations adaptées à d'autres modèles de structuration. L'occurrence de ces différentes structures secondaires et surtout leur organisation entre elles à grande échelle contribuent à la grande complexité des structures tertiaires de l'ARN.

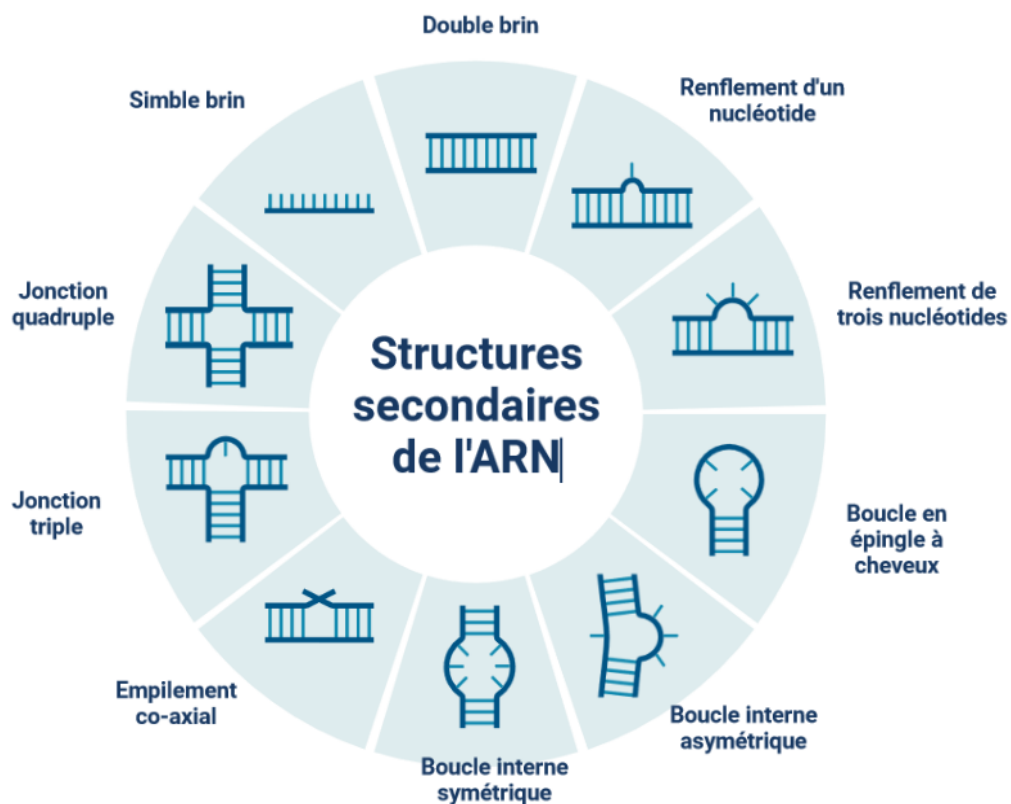


Figure 8. Différentes structures secondaires de l'ARN

Ainsi, quand l'ADN se présente presque uniquement sous la forme d'une double hélice dans le cadre biologique, l'ARN est lui capable d'adopter des structures secondaires, par repliement tridimensionnel local, ou tertiaires, par arrangement de plusieurs structures secondaires, nombreuses et variées. Cette particularité est doublée d'une différence majeure entre les deux biomolécules : leur dynamisme structural.³⁶ Les ARN sont non seulement capables d'adopter des structures plus complexes que l'ADN, mais aussi de changer de conformation pour répondre à un stimulus. En effet, leurs structures secondaires et tertiaires étant liées à la superposition subtile d'un nombre limité d'interactions, promues par proximité spatiale autant que par équilibre thermodynamique, la modification d'une partie de celles-ci peut induire un changement conformationnel local qui déstabilisera la structure de l'ARN à l'échelle globale. L'énorme différence de longueur entre les ADN, comprenant plusieurs millions ou milliards de paires de base (bp), et les ARN de seulement quelques milliers de bp au maximum, est aussi en partie responsable du déficit de stabilité des ARN ; ainsi que le remplacement de la thymine par l'uracile. Ces propriétés de structuration spécifique et de flexibilité conformationnelle permettent à l'ARN de s'adapter à différents rôles dans la cellule et ainsi d'en être un effecteur aussi polyvalent que sensible.³⁷

1.1.3 Importance du repliement, l'exemple des riborégulateurs bactériens

Un phénomène illustrant l'importance du repliement tridimensionnel des ARN est le fonctionnement des riborégulateurs. Longtemps suspectée, l'existence de mécanismes régulateurs de l'expression génétique par des séquences d'ARN chez les bactéries a été démontrée au milieu des années 2000.³⁸ Les riborégulateurs sont des séquences présentes dans certains gènes de nombreux micro-organismes et participant à la régulation de l'expression génétique par leur liaison à une petite molécule cible ; plantes, champignons, phages ou archées possèdent eux aussi des boucles de contrôle impliquant des ARN comme effecteurs en réponse à un stimulus physico-chimique. Leur rôle chez les mammifères est toutefois dans l'ensemble très faible voire inexistant.³⁹ L'affinité de ces oligonucléotides pour leurs ligands est généralement très élevée présentant des constantes de dissociations (Kd) de l'ordre du nanomolaire. Tout comme les sites actifs de protéines, les riborégulateurs doivent discriminer très finement différents métabolites possibles de leur ligand cible et présentent d'excellentes spécificités pour ceux-ci.^{40,41}

Les ARN riborégulateurs possèdent une zone affine pour un ligand dite « aptamère », et une seconde zone, la « plateforme d'expression », dont le repliement dépend de la liaison ou non du ligand

à la zone aptamère et permettra ou non l'effet (**Figure 9**).⁴² Un changement de conformation dû à la liaison du ligand – notons que certains riborégulateurs sont sensibles à des changements physico-chimiques de leur environnement, tels que le pH ou la température,⁴³ et non pas à un composé – permet donc à l'ARN de révéler ou de masquer un second site d'interaction. La portion centrale reliant par recouvrement de séquence la zone aptamère à la plateforme d'expression est appelée zone « changeante », elle est généralement constituée de séquences pouvant former des hélices avec les deux autres zones afin de servir de barrière pour passer d'une conformation à l'autre. Les riborégulateurs sont principalement impliqués dans les boucles de rétrocontrôle de voies de production non essentielles de divers acides aminés, co-enzymes et vitamines, ou des bases hétérocycliques. La présence du composé en question dans l'environnement cellulaire induit le changement de conformation de la plateforme d'expression de son riborégulateur par liaison avec la zone aptamère de ce dernier. De par sa conformation, la plateforme d'expression sera alors inactive et induira généralement la répression de l'expression d'un gène impliqué dans les voies métaboliques de son ligand.

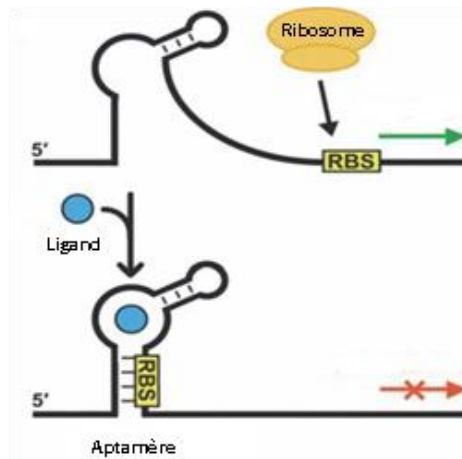


Figure 9. Exemple de fonctionnement d'une séquence riborégulatrice

Les riborégulateurs bactériens situés dans des séquences non traduites en 5' (5'-UTR) d'ARNm par exemple peuvent se replier de manière à terminer prématurément leur transcription ou à empêcher leur reconnaissance par le ribosome en situation d'excès intracellulaire de leur ligand cible. D'autres riborégulateurs ont des fonctionnements plus délicats impliquant des mécanismes de dimérisation d'aptamères ou d'auto-coupeure,^{44,45} et permettent de réprimer ou activer diverses voies du métabolisme de leurs ligands respectifs. Les riborégulateurs bactériens, par leur mécanisme de reconnaissance et leur rôle d'effecteur de l'expression génétique, exemplifient bien l'importance de la relation structure-

fonction et la possibilité de moduler une activité biologique par l'interaction d'une petite molécule avec un ARN. Les ARN sont en effet capables de former des poches tridimensionnelles complexes largement structurées, et d'interagir *via* celles-ci de manière spécifique avec diverses autres molécules et par là d'avoir une action régulatrice de l'expression génique. À ces propriétés s'ajoute la capacité, déjà connue depuis longtemps, d'encoder et transmettre l'information génétique de l'ADN, mais aussi de catalyser des réactions (ribosomes) ou de transporter les acides aminés nécessaires à la synthèse des protéines (ARNt). Bien d'autres rôles des ARN sont encore à découvrir, et différentes études de séquençage d'ARN totaux ou RNA-Seq⁴⁶ montrent que les fonctions et les dynamiques de certaines familles d'ARN sont encore mal connues et peu explorées à ce jour.

I.2 Intérêt fondamental et thérapeutique de l'ARN

I.2.1 Rôles et importance biologique : un effecteur cellulaire polyvalent

Les différents ARN encodés par un génome sont généralement classifiés selon leurs rôles. Environ 1,5 % du génome humains forment des ARN codant pour une protéine, des ARNm, en contrepartie près de 98,5 % du transcriptome humain sont des ARNnc (**Figure 10**).^{47,48} Parmi ces ARN se trouvent principalement des ARNr et des ARNt. Ces deux familles dominent largement la population d'ARN des organismes cellulaires de par leurs rôles respectifs et l'importance de la synthèse des protéines.⁴⁹

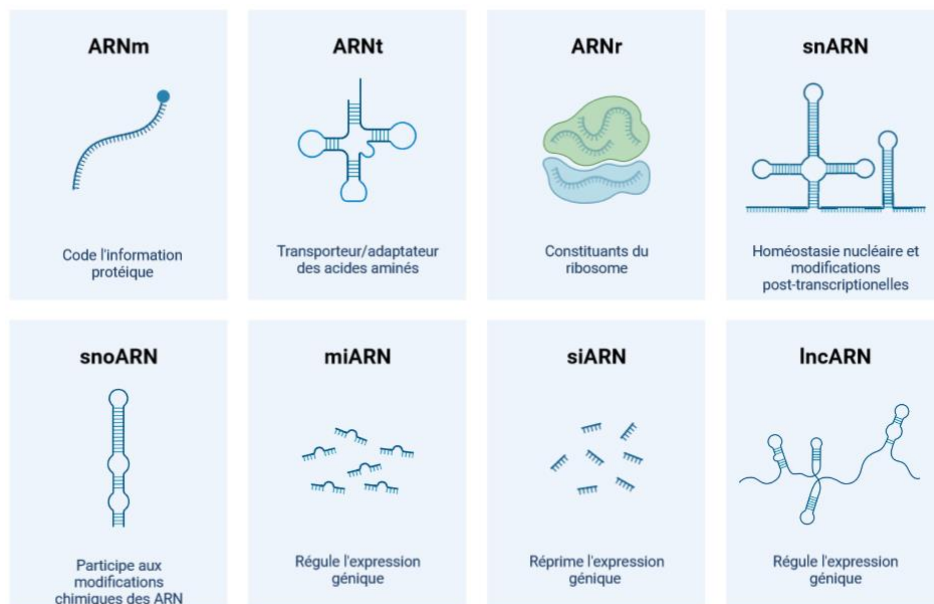


Figure 10. Présentation des principales familles d'ARN présentes dans les cellules

L'ADN est transcrit en ARN grâce aux ARN polymérase. Il existe trois complexes protéiques analogues chez les eucaryotes, appelés ARN polymérase I, II ou III, qui participent à la production des ARN nécessaires à l'homéostasie cellulaire. Ceux-ci comportent une sous-unité capable de reconnaître une séquence spécifique « promotrice » en amont de la séquence à transcrire, un promoteur bien connu est la fameuse boîte TATA de l'ARN polymérase II (**Figure 11**). Ce promoteur est reconnu par des facteurs de transcription permettant la fixation de l'ARN polymérase II et l'initiation de la synthèse de la plupart des ARNm dans les cellules. Certaines successions de nucléotides dans les gènes, ou certaines structures secondaires formées par l'ARN en cours de synthèse, seront lues et interprétées par l'ARN polymérase comme un signal de terminaison de la transcription et permettront le relargage du transcrit.

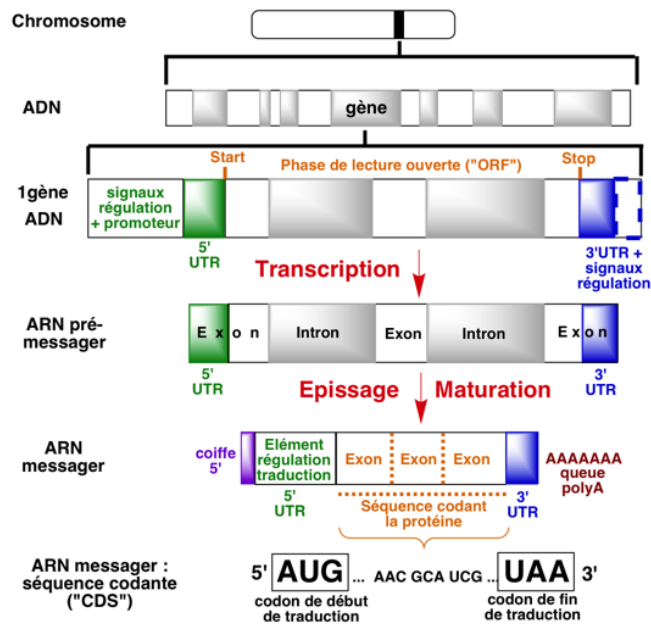


Figure 11. Les étapes de l'expression et de la maturation d'un ARNm

L'ARN synthétisé est un ARNpré-m, il nécessite des modifications post-transcriptionnelles afin d'être actif et de résister aux nucléases du cytoplasme.⁵⁰ Certaines portions du gène transcrit, les introns, sont non-codantes et seront excisées lors du processus d'épissage pour ne conserver que les exons de l'ARNm. Celui-ci peut ensuite, ou en parallèle, être pris en charge par d'autres enzymes afin de lui apporter une queue polyA, la coiffe 5' ou diverses modifications chimiques des bases nucléotidiques.⁵¹ L'épissage alternatif en est l'élément central, il permet à l'organisme d'obtenir plusieurs ARNm différents à partir d'un seul ARNpré-m par excision de modèles d'introns et d'exons

différents. Ces processus expliquent en partie la grande diversité de protéines différentes produites par les cellules à partir d'un nombre limité de transcrits.

Les ARNr comprennent quatre transcrits dont la structure et la fonction sont hautement conservées à travers l'évolution des espèces, traduisant ainsi leur importance pour le bon fonctionnement cellulaire. Trois des ARNr sont synthétisés par l'ARN polymérase I au sein de zones dédiées dans le noyau, les nucléoles ; le quatrième est synthétisé dans le nucléoplasme. Les transcrits primaires d'ARNr sont ensuite chimiquement modifiés et maturés au sein des nucléoles ; d'autres complexes ribonucléoprotéiques (RNP) interviennent dans la maturation des ARNr impliquant notamment des snoARN, une classe d'ARN nucléolaires. Les ribosomes sont des RNP, composées des ARNr et de protéines associées, divisés en deux sous-unités. Ils sont chargés de la lecture des ARNm et de la synthèse des protéines ou peptides correspondant. La grande sous-unité 28S (pour l'espèce humaine) des ribosomes comprend trois des quatre ARNr et le centre catalytique à activité peptidyltransférase – exclusivement composé d'ARN, il s'agit d'un ribozyme^{44,52} – permet la formation de liaison amide entre les acides aminés. La petite sous-unité 18S ne comprend qu'un seul ARNr et est en charge du contrôle de la fidélité et du repliement de la protéine. Les ribosomes agissent dans tout le cytoplasme et surtout en périnucléaire, notamment à proximité du réticulum endoplasmique (RE) au sein duquel seront directement synthétisées les protéines membranaires. Cette proche interaction permet aussi d'assurer le repliement correct des protéines grâce à l'assistance de certaines protéines de choc thermique (hsp) présentes dans ou proche du RE. Les ribosomes sont très nombreux dans les cellules (environ 85 % de la population d'ARN) et peuvent travailler de concert afin d'augmenter la vitesse de production d'une protéine formant alors des amas de ribosomes sur un même ARNm appelés des polysomes.

En proche interaction avec les ribosomes, une autre famille d'ARN joue un rôle crucial dans la machinerie de synthèse protéique des cellules. Les ARNt sont de petits oligonucléotides (~ 75 bp), transcrits par l'ARN polymérase III et chargés du transport et de la présentation des acides aminés utilisés par les ribosomes pour la synthèse des protéines. Ils sont fréquemment produits à partir d'un même précurseur par épissage alternatif et possèdent des enzymes propres destinées à catalyser l'ajout de l'acide aminé correspondant en 3' de la séquence, les aminoacyl-ARNt synthétases. Ils possèdent une structure tertiaire complexe bien conservée entre les différentes espèces. Leur repliement tridimensionnel leur donne un aspect caractéristique en forme de L bien connu et décrit en XRD (**Figure 12**). Ils sont constitués de trois bras à motifs tige-boucle (les « bras anticodon », « bras T » et

« bras D »), une hélice asymétrique ou « tige acceptrice » et une « partie variable ». La tige acceptrice est liée à l'acide aminé par une liaison ester en 3' de l'adénosine du motif terminal commun CCA.

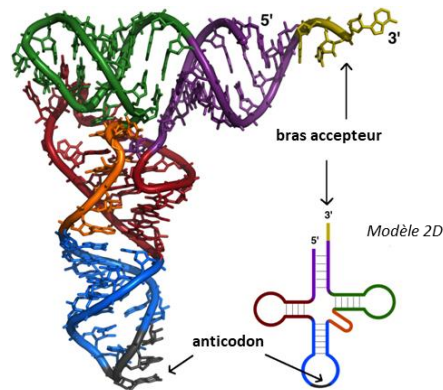


Figure 12. Schéma des structures secondaires (modèle 2D) et tertiaires d'un ARNt

Le bras anticodon sert à la reconnaissance spécifique de la séquence d'un ARNm, c'est le mécanisme clé du code génétique décrit par Nirenberg (prix Nobel de médecine et physiologie de 1968, avec Holley et Khorana).⁵³⁻⁵⁵ Chaque acide aminé de la séquence primaire d'une protéine correspond à un triplet de nucléotides (codon) codés par son ARNm. Les codons complémentaires à ceux-ci, les anticodons, sont retrouvés sur l'ARNt correspondant à l'acide aminé en question. L'appariement spécifique de ces trois nucléotides permet d'assurer l'ajout successif et ordonné des acides aminés appropriés dans une protéine. Les bras T et D permettent de stabiliser le repliement en forme de L par des interactions entre nucléotides modifiés ; le bras anticodon est lui aussi souvent fortement modifié.

Le rôle de régulateurs de l'expression génique des ARN a été mis en évidence, par sérendipité, pour la première fois au début des années 1990. Depuis les projets de recherche sur le sujet se sont multipliés et le nombre de publications a explosé au début des années 2000 (plus de 10 000 articles par an).⁵⁶ La communauté scientifique estime que l'expression d'environ 50 % du génome humain est régulée par des ARN.⁵⁷ Ces ARN sont appelés ARN interférents (ARNi) et regroupent plusieurs classes distinctes d'ARN (miARN, siARN notamment). Ils agissent en réprimant l'expression de certains gènes, ils vont se lier à leur ARNm cible par appariement et en prévenir la traduction (prix Nobel de médecine et physiologie de 2006, Fire et Mello).⁵⁸ Tout d'abord synthétisés sous forme d'ARNdb, les ARNi vont être clivés par la protéine Dicer – protéine majeure de la régulation des ARNi – puis s'associer avec et guider le complexe multiprotéique RISC vers leur ARNm cible pour dégradation.⁵⁹ La présence d'une large variété d'autres ARN dans les cellules a été mise en évidence à de nombreuses reprises. Des études récentes de transcriptomique ont permis de découvrir plusieurs nouvelles familles

d'ARN (lncARN, miARN, siARN, snARN...) ⁶⁰ et une myriade d'autres sont probablement encore à découvrir. ⁶¹

1.2.2 Pourquoi cibler l'ARN

L'ARN est donc une biomolécule d'importance cruciale pour le bon fonctionnement cellulaire. Contrairement à l'ADN, exclusivement présent dans le noyau et les mitochondries (ADNmt), des ARN de différents types et aux fonctions diverses peuvent être isolés dans différents compartiments cellulaires – nous n'avons pas encore mentionné l'ARNmt par exemple. Si les modifications de séquences de l'ADN dans les chromosomes sont bien connues comme étant à l'origine de maladies génétiques et de certains cancers, l'implication des ARN dans de nombreuses pathologies – cancers, maladies neurodégénératives, ⁶²⁻⁶⁴... – a été moins évidente de prime abord mais est maintenant bien établie ; de plus, l'information des rétroviridae tels que le VIH, la grippe ou les coronaviridae est exclusivement stockée sous forme d'ARN. ^{65,66} Pour ces raisons, les ARN sont désormais considérés comme des cibles thérapeutiques d'importance par les entreprises pharmaceutiques et le développement de nouvelles techniques de ciblage moléculaire spécifiques et rationnelles est un objectif majeur du domaine. En effet, jusqu'à présent peu de composés organiques de synthèse se sont montrés capables d'interagir sélectivement avec l'ARN avec des affinités satisfaisantes.

1.2.3 Différentes stratégies possibles

Deux stratégies sont envisageables pour cibler les ARN dans un contexte biologique : la reconnaissance par appariement de leur structure primaire ou le ciblage de leurs structures secondaires et tertiaires. Ces deux méthodes divergent profondément dans leur manière de considérer les ARN et les classes de molécules utilisées pour leur reconnaissance.

Les oligonucléotides anti-sens (ASO) sont une méthode de ciblage spécifique des ARN basée sur la reconnaissance de leur séquence primaire par appariement d'un brin d'acide nucléique complémentaire. ⁶⁷ Leur mécanisme d'action est généralement similaire à celui des ARNi. Cette approche ASO a été utilisée à de multiples reprises pour développer des médicaments, commercialisés ou encore en cours d'essais cliniques. ⁶⁸ Toutefois, ceux-ci doivent être personnalisés et optimisés pour chaque patient individuellement ; ce sont, historiquement du moins, des traitements invasifs nécessitant des injections lourdes (parfois directement dans la moelle osseuse ou épinière) et donc

généralement faites en milieu hospitalier. De plus, la stratégie ASO présente des inconvénients en terme : a) de synthèse, longues et coûteuses pour des oligonucléotides, b) de diversité, à la fois structurale et chimique, c) de mode d'activité *in vivo* souvent limité à la séquestration-dégradation d'ARN, et d) de pénétration cellulaire pour des composés polaires chargés et hautement hydrophiles.⁶⁹ De plus, ceux-ci peuvent être mis à défaut par des ARN fortement structurés dans lesquels la séquence primaire ciblée n'est que peu accessible.

Or comme nous l'avons souligné précédemment, les ARN sont capables d'avoir une action dans un contexte biologique grâce à leur repliement et à leur structure tridimensionnelle. Il apparaît donc important de pouvoir non seulement cibler les ARN *in vitro* mais aussi d'être capable d'interagir spécifiquement avec des structures bien caractérisées et pertinentes *in vivo*. Les ARNr, bactériens notamment, sont sans aucun doute la famille d'ARN la plus ciblée, probablement à cause de leur abondance. Malheureusement les interactions entre ribosomes et petites molécules ne présentent pas de bonnes sélectivités, et leurs ligands sont fréquemment des dérivés chargés. Le développement de petites molécules utilisables comme médicaments ciblant des structures spécifiques de l'ARN non ribosomales n'en est encore qu'à ses débuts.⁷⁰ Des thérapeutiques permettant de modifier l'expression ou la régulation génique basées sur la reconnaissance de l'ARN par des petites molécules sont en cours de développement. Un composé altérant directement l'épissage d'un ARN, le ridisplam, unique traitement contre l'amyotrophie spinale, a obtenu une première autorisation de mise sur le marché en août 2020 ; développé par Roche (**Figure 13**).^{71,72} Le linézolide, commercialisé par Pfizer, est une oxazolidinone utilisé dans le traitement des infections aux bactéries multirésistantes.⁷³ Le ribocil est un ligand spécifique du riborégulateur riboflavine bactérien utilisé en recherche notamment pour inhiber la croissance de certaines souches bactériennes. Ces trois composés se démarquent à la fois par leurs propriétés physico-chimiques, proches de médicaments, et par leur sélectivité d'association

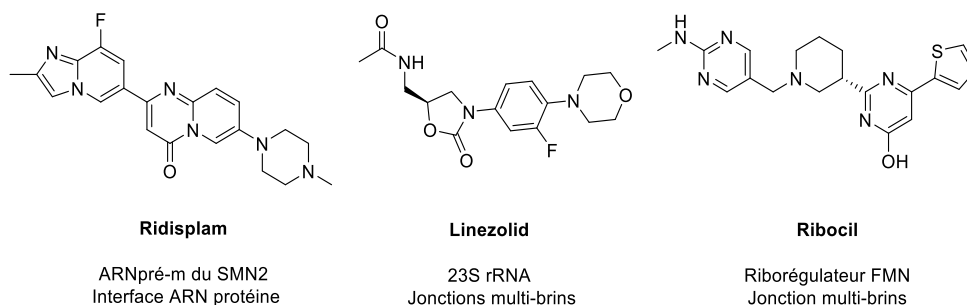


Figure 13. Exemple de composés commerciaux ciblant des structures tertiaires des ARN ; **Nom**, cible, structure ciblée

Il est toutefois intéressant de noter que la majorité des composés isolés jusqu'à présent, pour leurs interactions avec des ARN, l'ont été après des criblages phénotypiques, et non par conception rationnelle pour une cible bien définie. L'élucidation du repliement spécifique des ARN, afin de trouver et connaître les structures d'une cible, est un domaine en plein essor depuis les années 2010 et nécessaire au développement de stratégies de ciblage rationnel de l'ARN.⁷⁴ Il semble donc d'importance d'imaginer et de produire de nouvelles molécules présentant des propriétés physico-chimiques et des architectures moléculaires adaptées à des interactions plus spécifiques avec les structures tridimensionnelles des acides ribonucléiques.⁷⁵ Les conditions d'élaboration de tels ligands n'ont cependant pas encore été établies à ce jour.^{76,77}

II – Le [2.2]paracyclophane, une nouvelle plateforme pour des ligands sélectifs et spécifiques de l'ARN

II.1 Ligands d'ARN et travaux du laboratoire

II.1.1 Espace chimique des ligands d'ARN

Comme expliqué précédemment, il est difficile d'envisager et de parvenir à développer des « têtes de série » sélectives et spécifiques de structures complexes de l'ARN sur la simple base de leur séquence primaire.⁷⁸ Certaines hypothèses récentes théorisent l'idée que des ligands en structure « tige » pourraient favoriser de telles interactions spécifiques avec les acides ribonucléiques et que ce type d'architecture serait un motif privilégié pour la conception de ligands d'ARN.⁷⁹ Bien que la majorité des composés actuellement isolés pour leur spécificité de ciblage soient effectivement assimilables à des tiges (**Figure 14**), le manque d'exemples et d'études similaires sur d'autres types d'architectures moléculaires ne permet pas, à ce jour, de conclure de manière satisfaisante quant à la réelle prééminence de ce type de motif structural dans les interactions entre des petites molécules et les ARN. L'absence de résultats positifs pour d'autres structures n'indique pas nécessairement l'absence d'autres possibilités d'association, mais peut-être plutôt l'absence d'exploration de motifs chimiques différents. Il est donc de première importance d'explorer de nouveaux espaces chimiques afin de développer les connaissances dans le domaine du ciblage sélectif de structures tridimensionnelles de l'ARN.

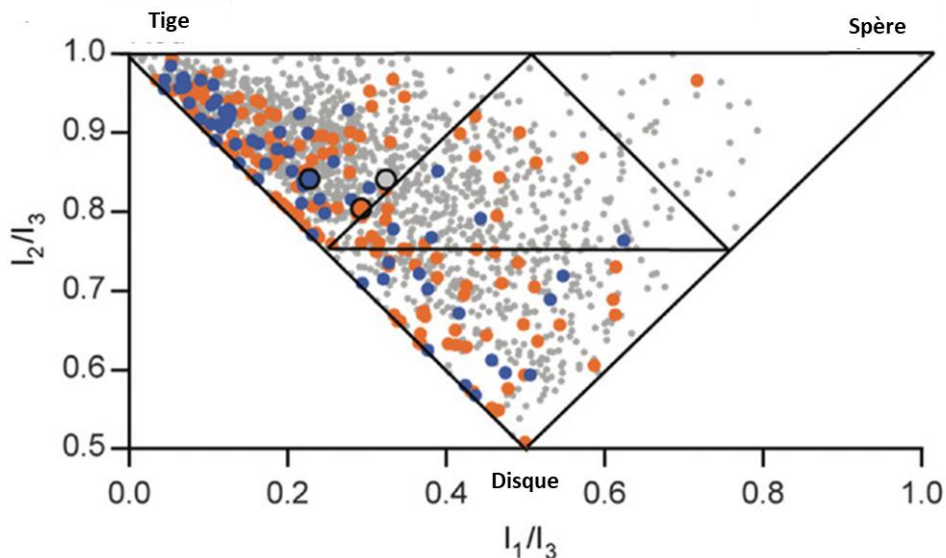


Figure 14. Graphe des moments d'inertie calculés pour de nombreux ligands actifs vis-à-vis de structures de l'ARN ; entouré en noir, les moments moyens selon différents modèles prédictifs.

Les stratégies employées jusqu'à aujourd'hui afin d'améliorer la sélectivité d'un ligand vis-à-vis de structures secondaires ou tertiaires de l'ARN reposent principalement sur : a) la multivalence, la multiplication des sites d'interaction avec la cible permettant d'augmenter l'affinité et, quelque peu artificiellement, la spécificité de l'association,^{80,81} b) la formation de longues molécules aromatiques planes et courbées, favorisant sans doute l'interaction avec des sillons plutôt que des modes d'intercalation,^{82,83} c) la fonctionnalisation de ces composés avec des dérivés aminés cationiques (**Figure 15**). Ces familles de composés ciblent fréquemment les mêmes motifs et agissent donc sur les mêmes ARN. L'oligonucléotide HIV TAR est ainsi ciblé à quatre reprises parmi les composés présentés sur la **Figure 15**, et seuls deux motifs secondaires différents sont reconnus ; sept molécules ciblent des renflements internes et quatre des hélices de type A. De plus, la synthèse et l'utilisation pratique de ce type de composés ne sont pas idéales. En effet, leur formulation est une problématique constante, leur découverte reste encore empirique et purement basée sur l'ajout de motifs successifs pour atteindre une sélectivité intéressante.⁸⁴ Le recyclage de nombreux motifs connus pour leurs interactions avec les ARN n'est certainement pas source de diversité, et bien que la combinaison fine et précise de plusieurs motifs permette effectivement une reconnaissance adéquate de motifs complexes (cf. synthèse par fragments), l'exploration de l'espace offert aux chimistes par l'intense développement des méthodes de synthèse organique reste cruciale afin de mieux cerner les contours moléculaires définissant un ligand sélectif et spécifique de structures tridimensionnelles de l'ARN.^{78,85}

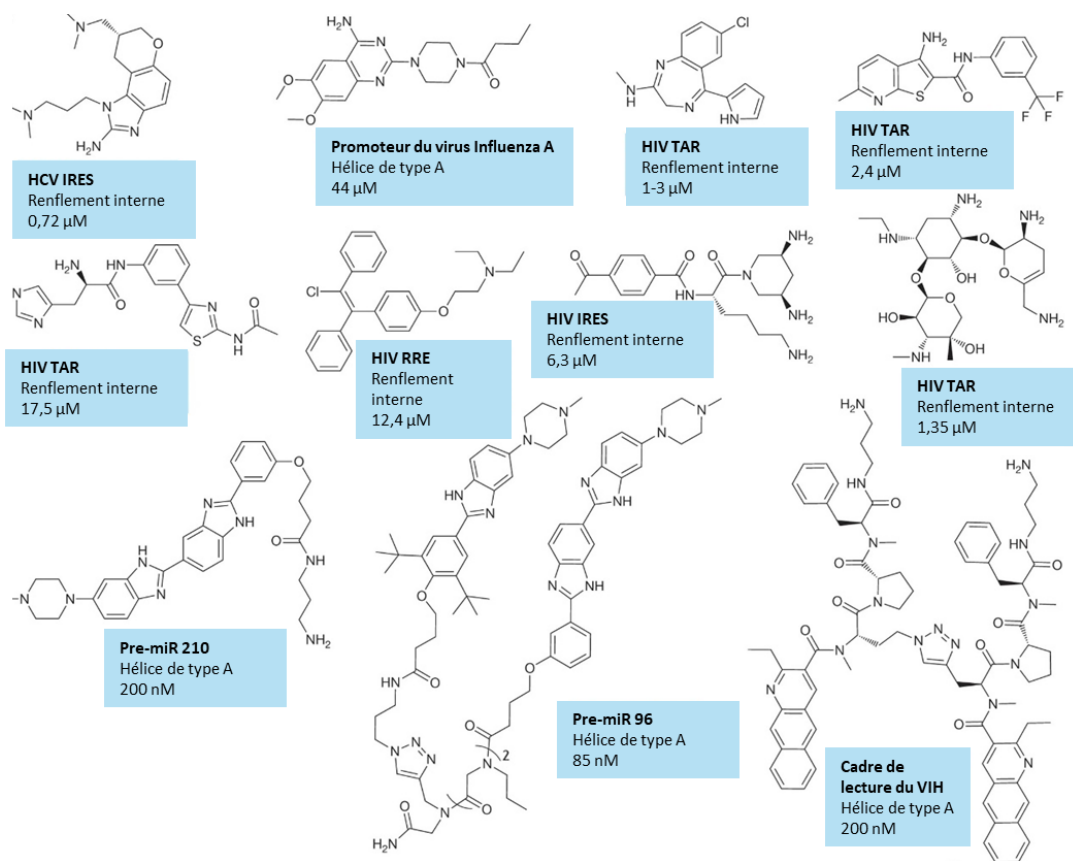


Figure 15. Exemples choisis de ligand se liant à des structures secondaires de l'ARN ; encadré bleu : cible, structure ciblée, Kd.

La synthèse et l'utilisation de composés insolites présentant des architectures alternatives à celles utilisées classiquement en chimie organique et médicinale sont un aspect sous-exploité dans le ciblage de l'ARN, et des motifs récurrents sont fréquemment réutilisés, combinés ou dérivés pour constituer de nouveaux ligands. La synthèse de composés insolites, à défaut d'être nécessairement pourvoyeuses de « têtes de série » prometteuses, pourrait permettre de discerner et rationaliser les différentes interactions sources de sélectivité pour la discrimination de l'ADN par rapport à l'ARN ou de différents ARN entre eux. En favorisant ou en défavorisant par conception certains modes d'association, il est envisageable de pouvoir mieux appréhender et décrire les déterminants structuraux et physico-chimiques de l'association entre les acides nucléiques et des petites molécules.

II.1.2 Travaux du laboratoire : synthèse de mimes de la 2-DOS

La propension des acides nucléiques à se structurer différemment permet d'envisager une discrimination forte entre ceux-ci par des ligands occupant différents espaces chimiques.

Empiriquement, cette discrimination fine a mené à l'utilisation de composés ciblant sélectivement les ribosomes bactériens, tels que les aminoglycosides ou les tétracyclines, comme médicaments antibiotiques.⁸⁶

Comme évoqué précédemment, les aminoglycosides sont des dérivés osidiques azotés (**Figure 2**) d'origine bactérienne et capables de se lier aux ribosomes afin de perturber la traduction des ARNm. Agissant tous par un mécanisme semblable, ils se lient à un brin d'ARN de la grande sous-unité 30S du ribosome et en modifient la conformation. L'ARN 16S auquel ils se lient par leur fragment 2-DOS comporte une boucle interne asymétrique agissant comme un interrupteur du ribosome suite à la liaison d'un ARNm et chargée de la reconnaissance spécifique des ARNt appropriés (**Figure 16**). À la manière d'un riborégulateur, la liaison des aminoglycosides avec cette boucle bloque la conformation active du ribosome et induit des erreurs dans la synthèse des protéines par déficit de sélection des ARNt ; l'accumulation de protéines non fonctionnelles mène à la mort de l'organisme.⁸⁷

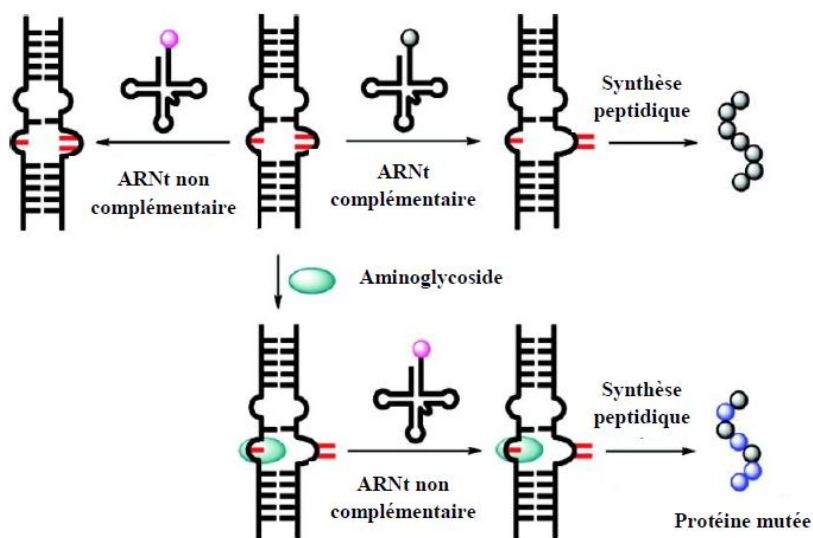


Figure 16. Mécanisme d'action des aminoglycosides

Notre laboratoire a mis au point des méthodes de synthèse permettant d'accéder efficacement à plusieurs dérivés simplifiés de la 2-DOS (**Figure 2**) avec une stéréochimie contrôlée. Ces composés ont été préparés à partir d'un même intermédiaire clé bicyclique (composé **1.3**, **Schéma 1**) obtenu par réaction de Diels-Alder entre des motifs cyclopentadiènes et des diazodicarboxylates protégés.

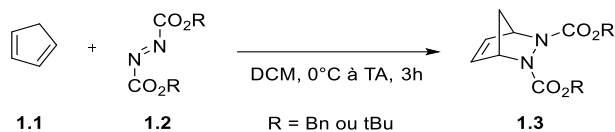


Schéma 1. Synthèse par réaction de Diels-Alder de l'intermédiaire bicyclique **1.3**

Le composé **1.3** a ensuite pu être engagé dans diverses réactions de fonctionnalisation permettant l'introduction de variété chimique et l'accès sélectif à différentes architectures moléculaires (**Schéma 2**). À ce stade, il est possible de fonctionnaliser la double liaison de ce composé. Une première approche a permis l'introduction d'un groupement hydroxyle par hydroboration, possiblement énantiosélective, suivie d'une étape d'oxydation puis d'une hydrogénolyse afin d'obtenir un composé cyclopentanique monohydroxylé, le diaminocyclopentanol (DACP, composé **1.4**, **Schéma 2**).^{88,89}

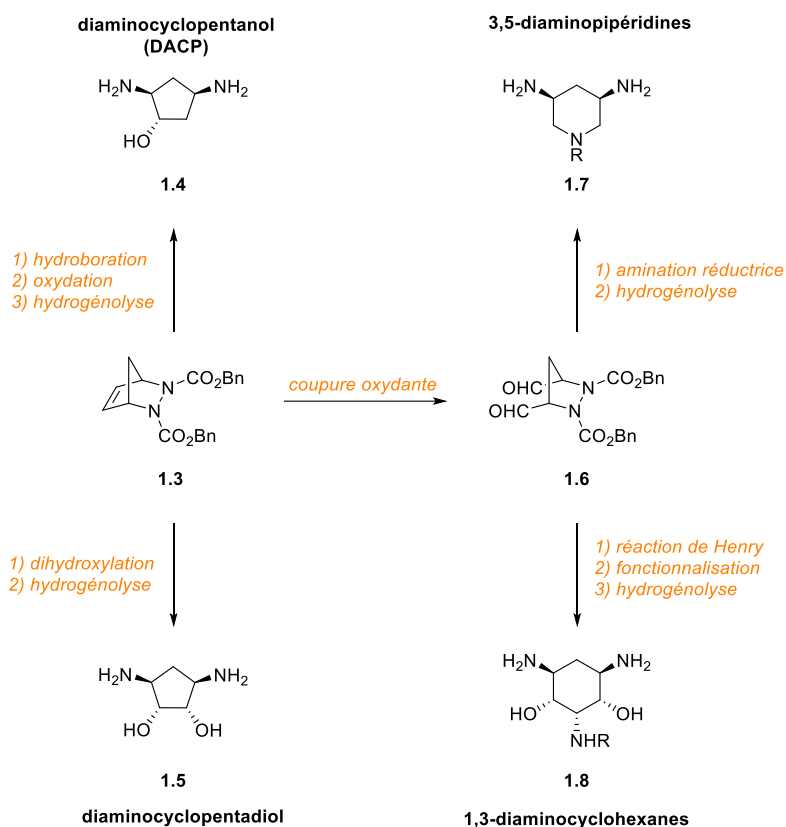


Schéma 2. Synthèse de différents composés mimant le motif 2-DOS des aminoglycosides

Le produit dihydroxylé **1.5** (**Schéma 2**) a lui été obtenu par dihydroxylation de la double liaison puis hydrogénolyse à partir du composé **1.3**. Par la suite, l'obtention de dérivés piperidiniques a été réalisée *via* une coupure oxydante permettant d'accéder à un intermédiaire bisaldéhyde **1.6** engagé soit dans des

étapes d'amination réductrice et d'hydrogénolyse pour conduire au produit **1.7**,⁹⁰ soit dans une réaction de Henry suivie d'étapes de fonctionnalisation et d'hydrogénolyse conduisant au composé **1.8**.

Les mimes de la 2-DOS ainsi synthétisés se sont montrés capables d'interagir avec différents ARN (K_d de l'ordre du mM). Ces molécules ont ensuite pu être utilisées comme briques de base pour le développement de nouveaux ligands d'ARN en utilisant une stratégie de synthèse par fragments.⁹¹

II.1.3 Travaux du laboratoire : synthèse par fragments de ligands spécifiques de l'ARN

Le développement intense et l'efficacité des techniques de criblage haut débit (HTS) en font aujourd'hui une méthode de choix pour l'obtention de molécules présentant une bonne affinité pour une cible donnée.⁹² Cette stratégie est fréquemment employée en chimie médicinale et thérapeutique pour isoler des composés « tête de série » qui pourront ensuite être modifiés pour atteindre une meilleure affinité et/ou sélectivité. Ce schéma classique est à l'origine d'un grand nombre de composés actifs utilisés en clinique et en recherche fondamentale.⁹³ Toutefois, le développement de ligands par HTS ne permet pas toujours d'obtenir de composés « tête de série » très prometteurs et nécessite un long et coûteux travail de dérivation dont les résultats peuvent être aléatoires. Les modifications nécessaires à l'obtention d'une association forte et d'une activité spécifique vont aussi modifier les propriétés physico-chimiques des composés et peuvent compliquer la biodisponibilité et l'adressage intracellulaire de la molécule.

Au début des années 1990, une approche différente a été développée reposant sur l'idée de considérer une large molécule comme une somme de petites molécules reliées entre elles.⁹⁴ Ces petites molécules appelées « fragments » répondent idéalement aux critères de la « règle des trois », dérivés des règles de Lipinski, leur permettant d'être bio-disponibles et actifs par voie orale : une masse moléculaire inférieure à 300 Da, un nombre de donneurs et d'accepteurs de liaison H inférieur à 3 respectivement, et un coefficient de partage calculé (cLogP) de 3.⁹⁵ Cette approche permet de ne tester qu'un nombre limité de molécules au départ – quelques dizaines ou centaines au lieu de plusieurs milliers pour l'HTS – afin de choisir, et éventuellement modifier, les deux ou trois meilleurs ligands. L'étude de leurs interactions avec la cible,⁹⁶ et notamment de leurs sites de liaison, permet ensuite de modifier et/ou combiner les fragments isolés jusqu'à obtenir l'effet biologique désiré.⁹⁷ Les fragments à combiner doivent présenter des sites d'interaction distincts avec la cible mais relativement proches dans l'espace. L'association de ces molécules entre elles grâce des espaceurs appropriés permettra de former des

composés dont l'affinité est normalement supérieure à celle de chacun de leurs fragments respectifs (**Figure 17**).^{98,99}

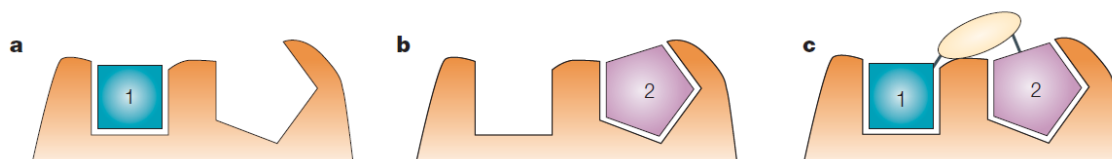
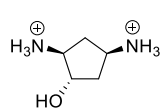


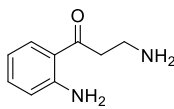
Figure 17. Représentation schématique de (a, b) deux fragments distincts, et de (c) leur association par un espaceur

En collaboration avec le Dr Carine Tisé (Institut de Biologie Physico-Chimique IBPC), notre équipe a envisagé d'utiliser une approche par fragments pour synthétiser des ligands de l'ARNt^{Lys}₃ en raison de l'implication de cet ARN dans l'infection cellulaire par le VIH.¹⁰⁰ Les interactions des fragments initialement choisis avec l'ARN (environ une cinquantaine incluant des motifs aromatiques ou aliphatiques, et notamment les mimes de la 2-DOS) ont pu être suivies par RMN ¹H. L'analyse de ces résultats a montré que le DACP **1.4** et la kynuramine **1.9** sont tous deux faiblement associés à l'ARN *in vitro* (Kd de l'ordre du millimolaire, **Figure 18**). D'autres analyses par RMN 2D (HMQC et TROSY) avec des ARNt^{Lys}₃ marqués au ¹⁵N ont ensuite permis de déterminer les sites de liaison de ces deux composés au niveau des bras T et D de l'oligonucléotide replié.^{101,102} Enfin, après avoir testé l'affinité de plusieurs dérivés de la kynuramine afin de sélectionner le meilleur fragment aromatique (composé **1.10**), différents espaceurs (aminoester, triazole, triazine ou hydrazine) ont été employés pour assembler ces composés en une famille de ligands finaux (Composé **1.11** à **1.15**, **Figure 18**).¹⁰³ Les composés synthétisés par cette approche se sont révélés avoir des affinités très importantes pour leur cible (Kd de l'ordre du micromolaire), mais aussi pour d'autres ARNt. Bien que manquant encore de sélectivité, ceux-ci ont permis de mettre en évidence la prévalence des fragments aromatiques et des *cis*-1,3-diamine comme motifs de liaison avec l'ARN. Si cette combinaison semble être efficace pour obtenir des ligands d'ARN possédant une bonne affinité, il est clair qu'elle n'est pas suffisante à l'obtention de petites molécules sélectives de structures spécifiques.

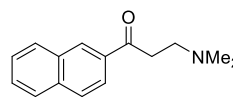
Fragments initiaux sélectionnés



1.4 (DACP)
K_D = 2 mM

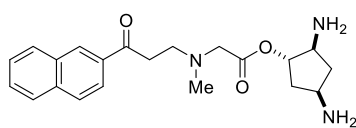


1.9 (Kynuramine)
K_D = 5 mM

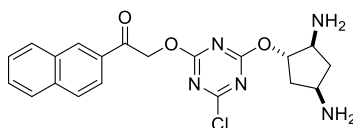


1.10
K_D = 191 μM

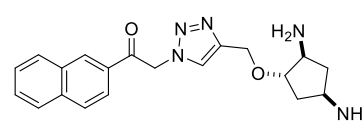
Ligands finaux testés



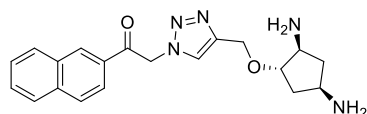
(±)-1.11
K_D = 8 μM



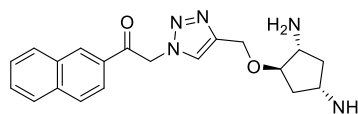
(±)-1.12
K_D = 1.4 μM



(±)-1.13
K_D = 1.8 μM



(2S)-1.14
K_D = 1.2 μM



(2R)-1.15
K_D = 1.1 μM

Figure 18. Composés testés lors de la synthèse par fragments de ligands de l'ARNt^{Lys}₃

II.1.4 Les motifs aromatiques non plans comme structure privilégiée

Plusieurs exemples dans la littérature proposent d'utiliser des molécules aromatiques non planes afin de se lier spécifiquement à certaines structures secondaires de l'ARN. Ces composés permettent de s'associer avec l'ARN *via* des interactions π tout en évitant les interactions non spécifiques, de type intercalations par exemple, grâce à leur structure tridimensionnelle encombrée.

Ainsi, des dérivés spirocycliques capables d'interagir sélectivement avec des ARN structurés ont été développés par les équipes de Hergenrother et Goldberg. Bien que l'équipe de ce dernier ait utilisé des molécules complexes et greffées de dérivés osidiques aminés (**1.16**, **Figure 19**) leurs expériences de fluorescence sur plusieurs fragments de séquences issues de HIV TAR présentant ou non un renflement montrent une claire préférence de ces composés pour les éléments structurés.^{104,105}

HIV TAR est la séquence de liaison du VIH à la protéine virale Tat, celle-ci permet d'améliorer la transcription des ARN viraux et est considérée comme un élément crucial de l'infection cellulaire.¹⁰⁶ Une expérience de RMN ¹H a ensuite permis de suggérer une association de ces composés avec les ARN au niveau des renflements. Le groupe de Hergenrother a lui aussi travaillé sur des dérivés spirocycliques, plus simples, comme éléments de sélectivité pour le ciblage d'ARN spécifiques (**Figure 3b**).¹⁰⁷ Ces composés spirocycliques comportent un unique site de modification pour l'introduction de substituants aliphatiques ou aromatiques (**1.17**, **Figure 19**). Plusieurs d'entre eux se sont avérés avoir une bonne spécificité pour des oligonucléotides incluant un motif de renflement par rapport à leur analogue apparié.

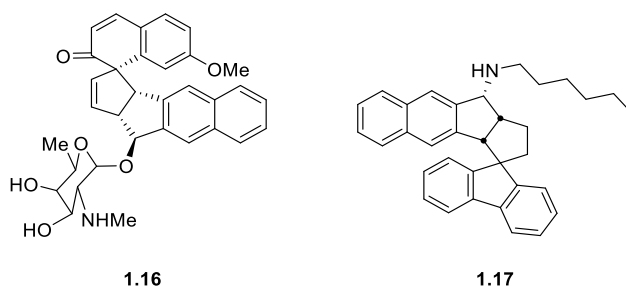


Figure 19. Exemple de dérivés spirocycliques utilisés comme ligands d'ARN

D'autres travaux par Chenoweth en 2015 ont permis d'élargir la sphère des fragments aromatiques non plans pouvant se lier sélectivement à des structures tridimensionnelles de l'ARN. Dans ce cas, l'utilisation de triptycènes substitués par des groupements aminés chargés (**1.18** et **1.19**, **Figure 20**) a permis de montrer que ces composés interagissent de manière privilégiée avec des motifs de type jonction triple (**Figure 3b**).¹⁰⁸ L'équipe a ensuite poursuivi ses travaux et montré que les ligands triptycènes synthétisés avaient un effet *in vivo* de par leur liaison à l'ARNm d'une hsp présentant ce type de motif.¹⁰⁹ Ces expériences ont été réalisées sur une lignée *E. Coli* génétiquement modifiée par transfection pour coexprimer une protéine fluorescente verte (GFP) avec la hsp étudiée. La réponse de fluorescence mesurée au cours des expériences est ainsi directement corrélée à l'expression cellulaire de la protéine suivie. La stabilisation de la jonction triple par les ligands **1.18** et **1.19** empêchant sa reconnaissance par le ribosome, ils ont ainsi pu retarder, voire annihiler selon la concentration de ligand triptycène utilisée, la synthèse d'une hsp codée par un ARNm présentant une jonction triple en réponse à un stress thermique par la cellule.

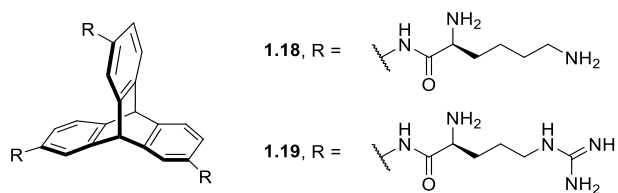


Figure 20. Triptycènes capables de stabiliser la jonction triple de l'ARNm codant des hsp

Ces études montrent qu'il est possible de cibler et d'interagir spécifiquement avec certaines portions d'ARN grâce à des fragments aromatiques non plans. En particulier, les travaux de Chenoweth permettent de montrer que ce type de composés synthétiques exogènes permet d'interagir *in vivo* avec des ARN pour en moduler l'action.

II.2 Le [2.2]paracyclophane, un motif tridimensionnel particulier

II.2.1 Structure et réactivité

Depuis sa découverte en 1949 par Brown et Farthing, le [2.2]paracyclophane a généré un grand intérêt au sein de la communauté scientifique de par sa structure et ses propriétés physico-chimiques particulières.¹⁷ Composé de deux cycles benzéniques empilés l'un sur l'autre, prévenant ainsi toute rotation autour de leurs axes, et reliés en position *para* par des ponts éthylènes (**Figure 21**), le pCp est le plus petit représentant de la famille des cyclophanes.¹¹⁰⁻¹¹² Des analyses XRD réalisées par Trueblood en 1972 ont révélé que les deux cycles aromatiques co-faciaux du pCp adoptent une conformation inhabituelle de type « bateau ».¹¹³ Des analyses plus poussées couplées à des études théoriques ont permis de mieux comprendre et décrire le comportement original et la dynamique moléculaire du [2.2]paracyclophane non substitué.¹¹⁴⁻¹¹⁶ À basse température, deux géométries distordues de symétrie D_2 (les grands axes des deux plans ne sont pas alignés) sont possibles. Toutefois, à température ambiante, l'interconversion rapide entre ces deux conformères fait du pCp une molécule globalement achirale de symétrie D_{2h} .

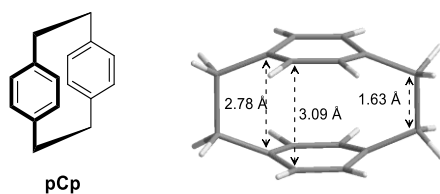


Figure 21. Structure du [2.2]paracyclophane non substitué

La tension conformationnelle du [2.2]paracyclophane impacte la conjugaison de son système π , et en conséquence la réactivité de ses unités aromatiques. Ainsi, bien que la chimie traditionnelle du benzène (réactions de Friedel-Crafts, halogénations, ou couplages métallo-catalysés par exemple) soit fréquemment utilisée pour fonctionnaliser le pCp, des transformations plus originales, et rares pour des dérivés aromatiques plus communs, peuvent aussi avoir lieu : cycloadditions de Diels-Alder, hydrogénations ou additions ioniques.¹¹⁷⁻¹²⁰ Une des particularités les plus fascinantes du pCp est la capacité des substituants d'un cycle à modifier la réactivité du système en activant ou désactivant d'autres positions sur les noyaux aromatiques. L'exemple le plus fameux de ce phénomène est la bromation pseudo-*gem* régiosélective de dérivés ester, nitro et amide (**Schéma 3**).¹²¹ Les différentes fonctionnalisations régiosélectives possibles du [2.2]paracyclophane ont été compilées et décrites par le groupe de Bräse dans une revue récente sur le sujet.¹²²



Schéma 3. Bromation pseudo-*gem* par substitution électrophile aromatique

II.2.2 Chiralité et propriétés de fluorescence

La première preuve expérimentale de la chiralité inhérente aux dérivés fonctionnalisés du [2.2]paracyclophane fut apportée par Cram et Allinger en 1955 à travers une élégante recristallisation du sel de brucine du 4-carboxy[2.2]paracyclophane.¹²³

Les deux unités aromatiques du [2.2]paracyclophane possèdent un total de huit sites de modification possibles, ainsi l'introduction d'un seul substituant sur le pCp suffit à différencier ses deux plans et des molécules chirales sont obtenues (**Figure 22**).¹²⁴ En présence d'un ou plusieurs substituants, des composés chiraux complexes et polyfonctionnels peuvent être synthétisés relativement aisément. Les molécules ainsi formées sont décrites et nommées selon leur modèle de substitution. Comme présenté sur la **Figure 22**, en plus des termes *ortho*-, *meta*- et *para*- qualifiant les composés bisubstitués sur un seul cycle, le préfixe pseudo- est ajouté pour décrire les substitutions concernant les deux cycles. Les composés pCp sont reconnus pour leur stabilité conformationnelle, la

rotation des cycles étant empêchée, aucune racémisation des composés n'est observée à moins de 200 °C, température à partir de laquelle la rupture homolytique des ponts éthylènes entraîne une réorganisation radicalaire de l'arrangement des cycles.^{125,126} L'irradiation lumineuse prolongée de certains composés énantiopurs a aussi été décrite comme pouvant entraîner leur racémisation.¹²⁷

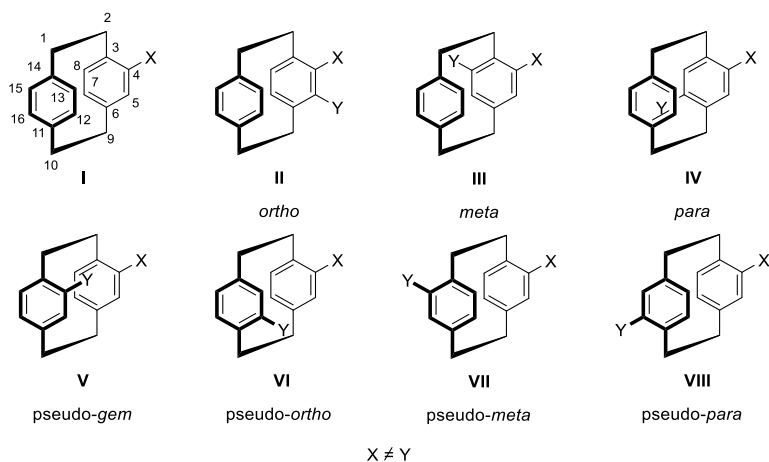


Figure 22. Molécules à chiralité planaire dérivées du pCp

Cahn, Ingold et Prelog ont fixé, en 1966, les règles d'attribution de la configuration absolue des pCp.¹²⁸ Leur proposition consiste à placer le cycle le plus substitué dans la position la plus éloignée (plan arrière) et numéroter les atomes depuis le premier carbone, hors du plan, du pont le plus proche (atome pilote P), vers le groupement prioritaire. Les descripteurs R_p et S_p (p pour chiralité planaire) sont aujourd'hui communément employés dans la chimie des cyclophanes (**Figure 23**).

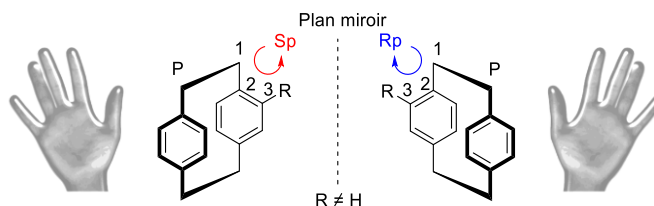


Figure 23. Description et attribution de la configuration absolue des pCps

En sus de son architecture moléculaire originale, le [2.2]paracyclophane non substitué possède des propriétés spectroscopiques inhabituelles. En effet, les spectres d'absorption UV et d'émission de fluorescence de ce composé présentent des différences notables avec ceux de molécules benzéniques simples (**Figure 24**). Par exemple, on trouve une bande d'absorption UV dite « bande cyclophane », à des longueurs d'onde plus élevées qu'attendues pour des composés analogues non cyclophane (entre 300 et 305 nm, spectre **I** **Figure 24**). Le [2.2]paracyclophane possède également un spectre d'émission de fluorescence avec une bande caractéristique large à 356 nm (spectre **II**, **Figure 24**).¹²⁹

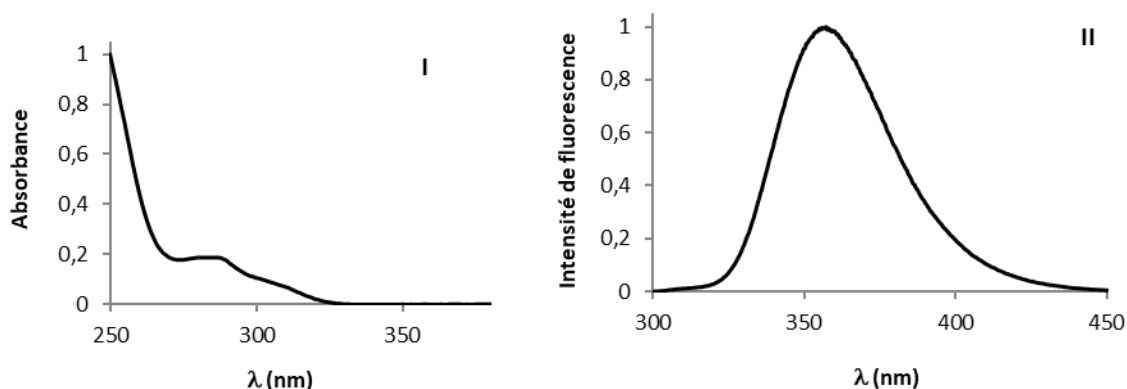


Figure 24. Spectre d'absorption UV (I) et spectre d'émission de fluorescence (II) du pCp

Les propriétés émissives particulières des pCp sont souvent attribuées aux interactions non conventionnelles que l'on retrouve au sein de cette architecture. En effet, la proximité spatiale des deux cycles aromatiques constitutifs du [2.2]paracyclophane entraîne leur conjugaison bien qu'ils ne soient pas coplanaires. Cette conjugaison est décrite « à travers l'espace », l'interstice entre les cycles est occupé par la densité électronique de ceux-ci (bien que leurs cônes principaux pointent vers l'extérieur) et les orbitales moléculaires des deux cycles sont considérées comme fusionnées.^{130,131} La délocalisation π - π des électrons à travers l'espace entraîne un important transfert d'énergie qui se répercute sur toute la molécule. Plusieurs équipes de recherche explorent actuellement cette conjugaison à travers l'espace, et souhaitent exploiter ces spécificités du [2.2]paracyclophane pour produire et étudier de nouveaux fluorophores possédant une géométrie originale. De plus, ces propriétés associées à la chiralité possible des substrats pCp en font une plateforme de choix pour la synthèse de nouvelles molécules capables d'émission de fluorescence chirale et leur étude par analyse de dichroïsme circulaire (CD) et/ou de lumière circulairement polarisée (CPL).^{19,132}

II.2.3 Applications en chimie des matériaux et de synthèse

Historiquement isolé et utilisé dans le cadre de la synthèse de polymères aromatiques par pyrolyse à basse pression et dépôt chimique en phase vapeur (CVD),¹³³⁻¹³⁵ le [2.2]paracyclophane est disponible commercialement à faible coût comme précurseur industriel de la synthèse de parylène par polymérisation radicalaire (**Schéma 4**). Paradoxalement, l'utilisation du pCp dans le procédé de Gorham exploite le clivage radicalaire des ponts éthylènes à haute température, alors que ceux-ci sont généralement loués pour leur stabilité configurationnelle et thermique jusqu'à 200-220 °C.¹³⁶ L'intérêt autour de la structure pCp s'est rapidement centré autour de leurs propriétés optiques et de conductivité électronique particulières (cf. communication électronique à travers l'espace). Le [2.2]paracyclophane a régulièrement été employé pour créer ou moduler les propriétés de nombreux matériaux chiraux ou non.

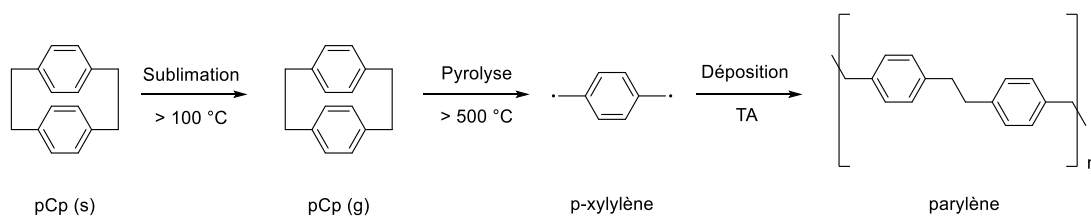


Schéma 4. Formation du parylène à partir du pCp via le procédé de Gorham

Ce n'est qu'à partir du début des années 1990 que les chimistes organiciens ont commencé à exploiter les propriétés structurale et de réactivité particulières du [2.2]paracyclophane pour développer des composés aromatiques à chiralité planaire originaux comme ligands et catalyseurs en synthèse asymétrique. Le plus utilisé en synthèse organique des dérivés du pCp est sans doute le PhanePhos **1.23** (**Schéma 5**), un ligand diphosphine chiral. Son dédoublement ainsi que sa synthèse ont été plusieurs fois décrits et améliorés au fil des années.¹³⁷ La stabilité élevée de ce motif ainsi que le haut degré de discrimination chirale dont sont capables ses deux faces ont rendu le [2.2]paracyclophane de plus en plus populaire au sein de la communauté.¹³⁸

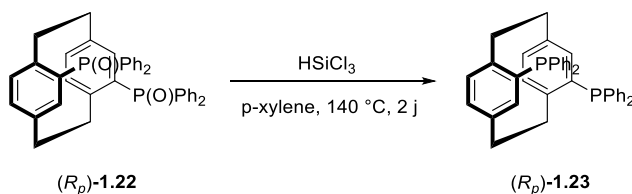


Schéma 5. Synthèse du PhanePhos

Les nombreux travaux sur les pCp ont été regroupés et listés de manière compréhensive à plusieurs reprises dans des revues couvrant différents domaines de la chimie. Comme mentionné précédemment le groupe de Bräse a regroupé les travaux de fonctionnalisation régiosélective du motif pCp, mais aussi les travaux sur sa structure et son application à la chimie des matériaux et à la catalyse asymétrique,^{122,139} Gibson et Knight avaient déjà effectué un travail similaire près de quinze ans auparavant,¹⁴⁰ de même que Paradies.¹⁴¹ David a publié une revue rationalisant les travaux sur les pCp disubstitués, leur obtention et leurs applications ;¹⁴² et Aly a réalisé une compilation des méthodes d'accès à des pCp hétérocycliques.¹⁴³ Morisaki et Chujo puis Mayor ont successivement rapporté les travaux sur l'utilisation du [2.2]paracyclophane pour la création de structures tridimensionnelles optiquement actives et de matériaux fonctionnels respectivement.^{144,145} Enfin, notre équipe a elle aussi récemment effectué un travail bibliographique décrivant les différentes méthodes de dédoublement de synthons pCp et leur utilisation en organocatalyse asymétrique.¹⁴⁶

II.3 Projet de thèse

Ce travail doctoral repose donc sur deux axes conjoints : 1) le développement de la chimie de synthèse autour du motif tridimensionnel [2.2]paracyclophane (pCp) pour 2) la conception de ligands de l'ARN basés sur ce motif.

Ainsi le deuxième chapitre de cette thèse sera consacré à des études sur le dédoublement chiral de dérivés formylés du pCp par transfert asymétrique d'hydrogène (ATH), et la fonctionnalisation régiosélective de 4-amino[2.2]paracyclophanes par introduction d'un groupement aldéhyde. Dans le troisième chapitre, nous présenterons différents fluorophores organiques et inorganiques aux propriétés chiroptiques intéressantes, notamment deux analogues du PRODAN, ainsi que des dérivés bodipys et cyanine. Les interactions du motif [2.2]paracyclophane avec des ARN sont étudiées dans un quatrième chapitre. Une cyanine pCp présentant des propriétés de fluorescence en présence d'ARN s'est révélée sélective de motifs en tête d'épingle à 8 nucléotides, et des sélections d'aptamères en utilisant la méthode SELEX ont été réalisées pour un dérivé pCp.

Chapitre II : Méthodologie de synthèse et contrôle de la substitution du motif [2.2]paracyclophane

Comme expliqué dans le chapitre précédent, l'introduction de substituants sur les noyaux aromatiques du pCp peut provoquer l'apparition de chiralité planaire. L'obtention de composés optiquement actifs est nécessaire pour de nombreuses applications et est cruciale pour la conception de fluorophores à émission de lumière polarisée. De plus, il est notoirement connu que deux énantiomères peuvent avoir une activité biologique différente voire opposée. La configuration absolue des dérivés du [2.2]paracyclophane doit donc autant que possible être connue et contrôlée (**Figure 23** et **Schéma 6**).

Bien que plusieurs équipes de recherche aient focalisé leurs efforts sur la préparation et la fonctionnalisation de différents dérivés du pCp ces dernières décennies (Hopf, Rozenberg, Rowlands, Morisaki et Bräse notamment), l'accès à certains modèles de substitution (*para*- et pseudo-*meta*- par exemple) ou l'introduction régiosélective de certaines fonctions chimiques demeurent des contraintes nécessitant une attention toute particulière lors de la conception des stratégies de synthèse multi-étapes. En effet, les modifications successives du [2.2]paracyclophane peuvent influencer la sélectivité des étapes de synthèse suivantes (**Schéma 6**). Ainsi, le développement de méthodes d'accès à des synthons à la configuration absolue contrôlée et présentant un large spectre de modifications régiosélectives possibles est une priorité dans l'optique d'utiliser le [2.2]paracyclophane comme plateforme pour la conception de molécules fonctionnelles.

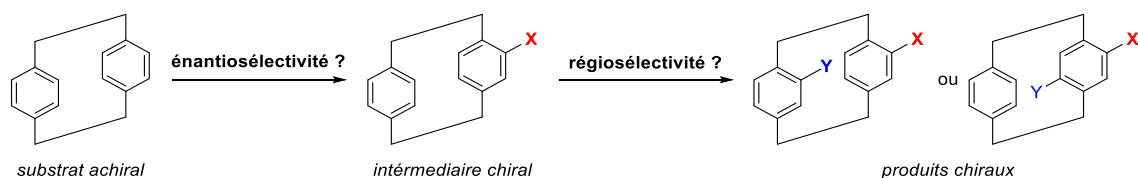


Schéma 6. La présence du substituant X influence la régiosélectivité de l'introduction du groupement Y

Des méthodes de dédoublement cinétique et de désymétrisation récemment développées dans notre laboratoire nous permettent d'envisager l'utilisation de dérivés formylés en tant qu'intermédiaires clés énantiopurs (X = CHO, **Schéma 6**).¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ La chimie des carbonyles est fournie et bien décrite dans la littérature. Les aldéhydes sont notamment des composés électrophiles qui devraient pouvoir être

facilement engagés dans des réactions de dérivatisation permettant d'introduire les fonctions nécessaires aux interactions avec l'ARN (mimes de la 2-DOS par exemple) ou à la modulation de propriétés de fluorescence (groupements donneur et accepteur d'électrons).

I – Contrôle de la chiralité par transfert asymétrique d'hydrogène

I.1 État de l'art

I.1.1 Principe des méthodes de séparation chirale

Plus de 70 ans se sont écoulés depuis la première preuve expérimentale de la chiralité des dérivés du [2.2]paracyclophane.¹²³ Depuis, différents pCps énantiopurs comprenant un ou plusieurs substituants ont été isolés, caractérisés et utilisés dans différents domaines de la science. Dans la plupart des cas, la synthèse de [2.2]paracyclophanes complexes à chiralité planaire repose sur la préparation et la fonctionnalisation d'intermédiaires clés énantiopurs. L'obtention de ce type de composés a été décrite à de nombreuses reprises en utilisant différentes stratégies telles que : a) la purification par chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC) sur phase stationnaire chirale, b) les dédoublements par séparation de diastéréomères, c) les dédoublements cinétiques par catalyse chimique ou enzymatique, et d) la désymétrisation de composés méso.

De nos jours, les techniques d'analyse par HPLC sur phase stationnaire chirale sont de loin les plus utilisées pour déterminer la pureté et l'excès énantiomérique (*ee*) de composés énantiorenrichis. Adaptées à des échelles préparatives ou semi-préparatives, les techniques HPLC peuvent aussi être utilisées pour la séparation et la purification des énantiomères d'un mélange racémique – notamment pour la séparation des molécules finales complexes difficilement dédoublables autrement^{150–153} – malgré le coût non négligeable que représente ce type d'équipements. D'autres techniques de chromatographie en phase gazeuse (GC)¹⁵⁴ ou en phase supercritique (SFC) se sont également avérées efficaces pour séparer des dérivés pCp chiraux à l'échelle analytique uniquement pour la GC, mais aussi préparative dans le cas de la SFC.¹⁵⁵

La plus ancienne des méthodes employées en chimie pour la séparation des énantiomères est le dédoublement classique, déjà décrit par Pasteur il y a près de 150 ans.¹⁵⁶ Ce procédé est basé sur l'isolation de sels de diastéréomères produits au cours d'une réaction acide-base entre un racémate et

un partenaire optiquement pur (**Schéma 7**). Après une ou plusieurs étapes de recristallisation, les produits obtenus présentent normalement d'excellents excès diastéréomériques (*de*) de par les propriétés physico-chimiques différentes des deux sels formés. Utilisant une approche similaire, le dédoublement chimique consiste à introduire une modification covalente non réversible d'un mélange racémique avec un réactif chiral (**Schéma 7**). Les diastéréomères résultant peuvent ensuite être séparés par chromatographie. Ces deux méthodes de dédoublement chiral nécessitent une étape de synthèse ultérieure afin d'isoler les produits énantiopurs : la dissociation du sel formé dans le premier cas, et le clivage de l'auxiliaire chiral utilisé dans le second. Bien que ces méthodes soient relativement coûteuses en réactifs et en temps de synthèse, les dédoublements ont largement été utilisés en synthèse organique au cours des années pour obtenir des produits énantiopurs, et sont encore à ce jour, les méthodes les plus employées pour accéder à des [2.2]paracyclophanes optiquement actifs.

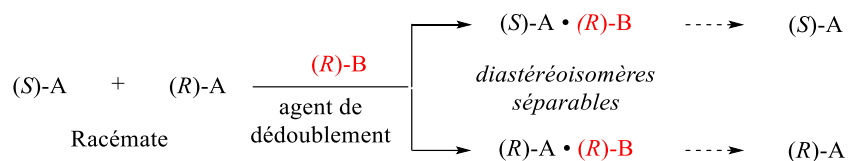


Schéma 7. Principe du dédoublement classique ou chimique

Parmi les diverses réactions asymétriques décrites et existantes, les dédoublements cinétiques (KR) sont particulièrement intéressants dans le cadre de la synthèse de produits énantiopurs à partir de mélanges racémiques (**Schéma 8**). En effet, dans ce type de transformations, deux énantiomères sont mis en présence d'un catalyseur chiral (enzymes incluses) et réagissent plus ou moins rapidement avec celui-ci en fonction de leur configuration.

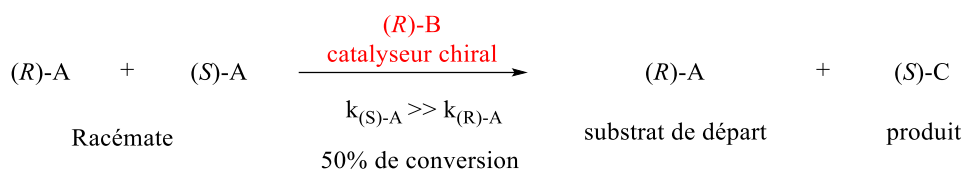


Schéma 8. Principe du dédoublement cinétique

En théorie, quand la moitié du mélange racémique a réagi, un des énantiomères peut être isolé comme produit de la réaction, et l'autre, inchangé, comme substrat de départ. Les dédoublements

cinétiques sont une alternative importante aux séparations classiques et chromatographiques permettant l'obtention de composés énantiopurs en grande quantité de manière efficace. Après une première preuve de concept en 1968,¹⁵⁷ plusieurs équipes ont utilisé et décrit des procédures de dédoublement cinétique de dérivés du [2.2]paracyclophane par voie chimique ou enzymatique.

Le principal défaut de toutes les méthodes de séparation décrites ci-dessus, sans lien avec leur efficacité respective, est leur rendement maximal théorique de 50 %, conséquence logique de la séparation de mélanges racémiques. En revanche, la désymétrisation de composés *méso* peut atteindre 100 % de rendement théorique (**Schéma 9**).

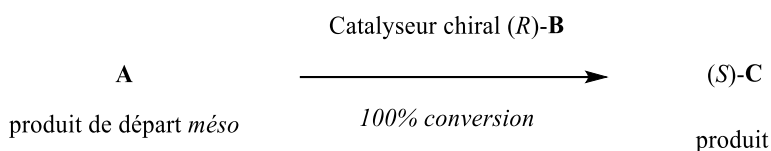


Schéma 9. Principe de la désymétrisation

Cette technique, reposant sur la discrimination des sites prochiraux d'une molécule achirale, a été largement exploitée en synthèse énantiosélective au fil des années. Un seul exemple dans la littérature, provenant de notre laboratoire, emploie ce type de procédure pour l'isolation de pCp énantiopurs.¹⁴⁸

1.1.2 Exemples choisis de séparation chirale de dérivés carbonylés du [2.2]paracyclophane

L'intérêt autour du motif [2.2]paracyclophane dans la communauté des chimistes de synthèse étant largement lié à ses propriétés de chiralité planaire, le développement de méthodes de séparation de produits racémiques s'est rapidement imposé comme une priorité et plusieurs procédures ont été employées depuis les années 1990. Nous avons choisi de décrire ici uniquement des exemples de séparation de pCp pertinents à la réalisation de notre projet : les dérivés incorporant des groupements carbonyles et les aldéhydes en particulier. Plusieurs voies d'accès à des cétones énantiopures dérivées du pCp ont été décrites dans la littérature. Les travaux de Rozenberg et Hopf notamment ont grandement élargi les méthodes de synthèse et de séparation de pCp carbonylés et hydroxylés.¹⁵⁸⁻¹⁶²

Le 4-acétyl[2.2]paracyclophane **2.1** (**Schéma 10**) est couramment synthétisé par acylation de Friedel-Crafts en traitant le pCp non substitué, disponible commercialement, avec du chlorure d'acétyle

et du trichlorure d'aluminium dans le dichlorométhane à froid.¹⁶³⁻¹⁶⁵ Ce produit racémique a été dédoublé au tout début des années 2000 en utilisant deux méthodes différentes méritant d'être mentionnées. Minuti a décrit un dédoublement chimique par formation et séparation de diastéréomères d'hydrazones (composés **2.2**, **Schéma 10**) en utilisant comme réactif un auxiliaire chiral d'Enders, le (S)-SAMP (**Schéma 10**).¹⁶⁶

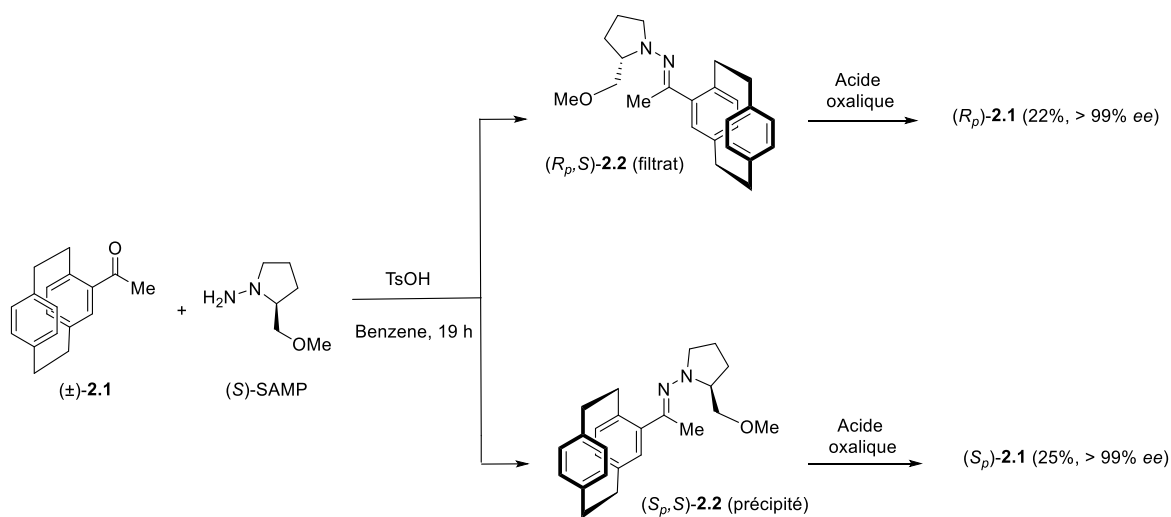


Schéma 10. Dédoublage chimique du 4-acétyl[2.2]paracyclophane par Minuti

L'équipe de Kagan a par la suite décrit un dédoublement cinétique du même dérivé **2.1** en 2001 *via* une réduction Corey-Bakshi-Shibata (CBS) reposant sur l'utilisation d'un catalyseur oxazaborolidine (**Schéma 11**).¹⁶⁷ Leur méthode rapide a permis d'accéder aux dérivés cétone **2.1** et hydroxyle **2.3** avec d'excellents *ee* et de bons rendements même après une montée en échelle (jusqu'à 3 g). Très récemment, en 2021, Bräse a développé une procédure efficace de dédoublement cinétique par hydrogénation à haute pression (50 bars) avec un catalyseur au ruthénium encombré pour obtenir les composés acétylés avec d'excellents rendements et *ee* jusqu'à l'échelle de 15 g.¹⁶⁸

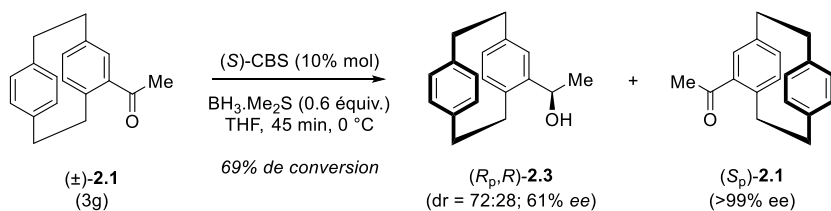


Schéma 11. Dédoublage cinétique du 4-acétyl[2.2]paracyclophane par Kagan

Le 4-formyl[2.2]paracyclophane **2.4** (**Figure 12**) est un composé facilement synthétisable avec de bons rendements en grande quantité par formylation de Rieche du pCp commercial. La méthode plus fréquemment employée pour accéder à des dérivés formylés énantiopurs du pCp repose sur un dédoublement chimique par condensation de réactifs aminés chiraux tels que la α -phényléthylamine (PEA). Les équipes de Rozenberg et Quici ont décrit l'obtention des deux énantiomères du 4-formyl[2.2]paracyclophane après séparation et hydrolyse des imines (R, S_p)-**2.5** et (S, R_p)-**2.6** formées par condensation avec la (R)- ou la (S)-PEA ou ses dérivés (**Schéma 12**).^{169,170} Cette stratégie, bien que parfois laborieuse, reste à ce jour un standard pour l'obtention de dérivés carbonylés du pCp avec d'excellents *ee*.

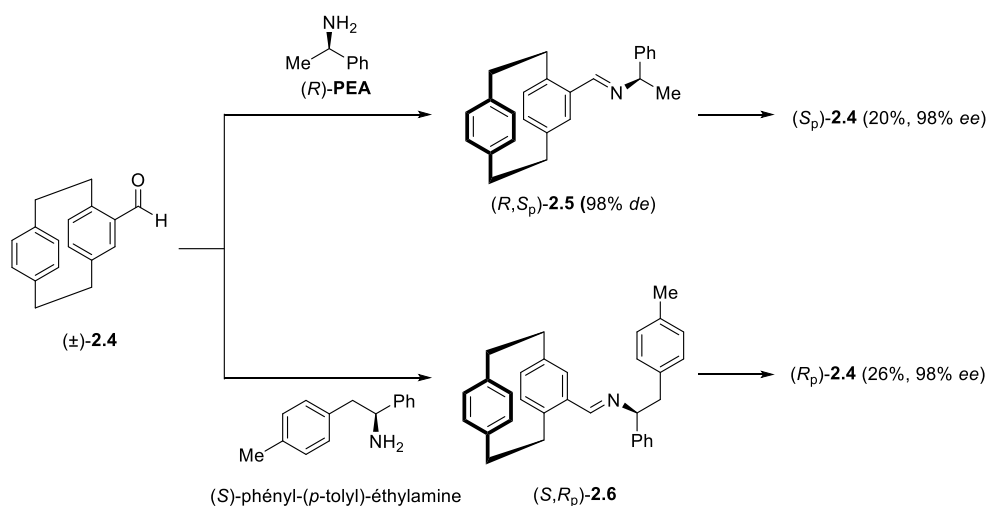


Schéma 12. Dédoublement chimique du 4-formyl[2.2]paracyclophane par Quici

Le dédoublement cinétique par catalyse enzymatique a dans un premier temps été rapporté en 1992 par Izumi et Hinata,¹⁷¹ puis optimisée en 1997 par Pietzsch et Hopf (**Schéma 13**) pour permettre l'obtention des composés (S_p)-**2.4** et (R_p)-**2.7** avec des *ee* de 99 % et 78 % respectivement.^{172,173}

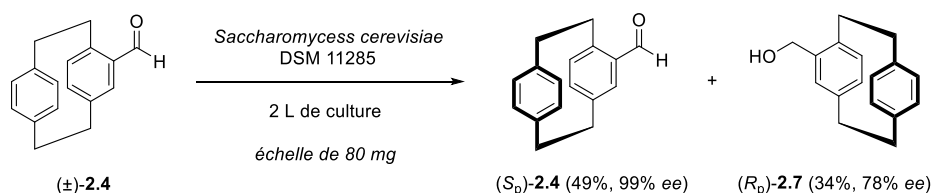


Schéma 13. Dédoublement cinétique enzymatique du 4-formyl[2.2]paracyclophane par Pietzsch

Bien que conceptuellement intéressante, l'utilisation de cultures cellulaires pour la préparation de ces composés présente des limitations pratiques. En effet, plusieurs jours de réaction et environ deux litres de milieu de culture sont nécessaires pour la synthèse d'environ 80 mg de produit. L'extraordinaire efficacité des enzymes pour catalyser des réactions de manière énantiosélective à petite échelle souffre des conditions nécessaires à sa mise en œuvre pour une production à l'échelle du gramme.

I.1.3 Dédoublément cinétique par ATH : principes et applications aux pCp

La réduction de carbonyles par transfert d'hydrogène catalysée par des métaux – explorée historiquement par Merwein, Pondorf et Verley¹⁷⁴ – est une alternative intéressante à l'utilisation d'hydrogène moléculaire (H₂).¹⁷⁵ Développée par Noyori au cours de la première moitié des années 1990, la réduction de cétones aromatiques par transfert asymétrique d'hydrogène (ATH) a connu un fort engouement dans la communauté scientifique de par sa simplicité de mise en œuvre et son haut degré de sélectivité.^{176–178} Deux types de conditions peuvent être employées pour réaliser les réactions d'ATH. Initialement, le groupe de Noyori a décrit cette réaction pour la réduction de l'acétophénone **2.8** en utilisant un catalyseur au ruthénium chiral **2.9**, de l'isopropanol comme donneur d'hydrogène, et du KOH comme base (**Schéma 14**). Ces conditions présentent l'inconvénient de rendre la réaction réversible puisque le produit formé **2.10** est lui-même un alcool secondaire pouvant servir de donneur d'hydrogène dans le cycle catalytique.

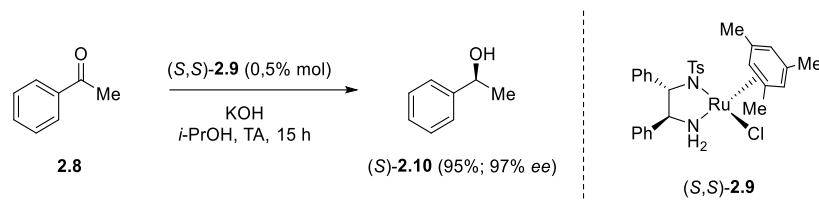


Schéma 14. Réduction de l'acétophénone par ATH par Noyori

Le mécanisme de cette réaction a été étudié par Andersson en 1999 (**Schéma 15**).¹⁷⁹ D'après celui-ci, la base, ici le KOH, permet tout d'abord l'activation du précatalyseur **I** et la formation de l'espèce active à 16 électrons **II**. Celle-ci réagit ensuite avec le donneur d'hydrogène, ici l'isopropanol, *via* l'état de transition **III** pour former l'hydrure de ruthénium **IV**. Le dérivé carbonylé est réduit par transfert d'hydrogène à travers un état de transition à six chaînons **V** avec le complexe **IV**.

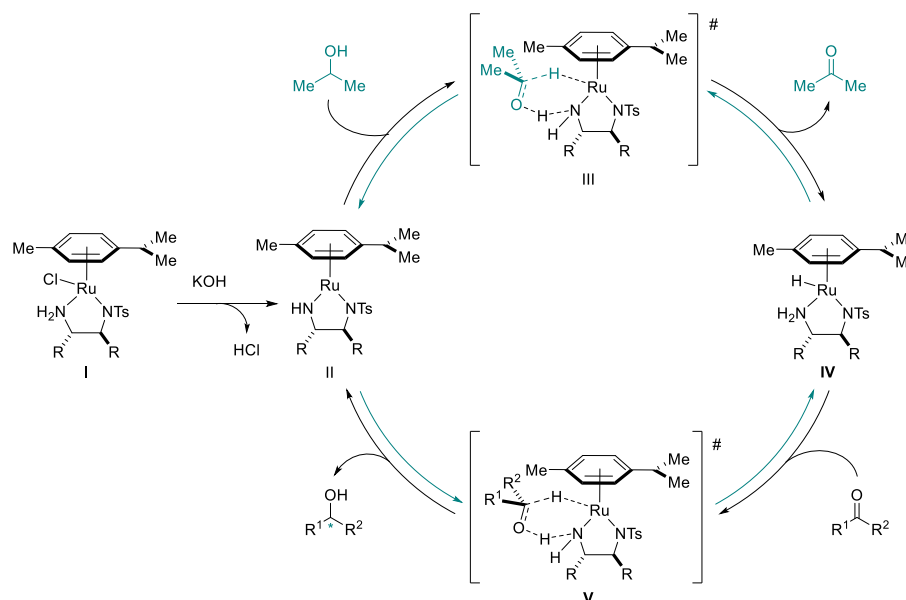


Schéma 15. Mécanisme de l'ATH avec l'isopropanol comme donneur d'hydrogène

Les produits de la réaction sont donc la cétone résultant du donneur d'hydrogène, ici l'acétone, l'alcool souhaité, produit réduit du dérivé carbonyle engagé, et l'espèce active **II**, signant l'aspect catalytique de la réaction. L'augmentation de la quantité d'acétone formée au cours de la réaction entraîne une compétition avec le substrat de départ. Ce mécanisme est donc réversible ce qui induit une perte d'excès énantiomérique malgré la bonne sélectivité des catalyseurs utilisés. Le développement de conditions dites « irréversibles » par l'utilisation d'un mélange d'acide formique et de triéthylamine a permis de résoudre ce problème pour atteindre d'excellents *ee* et 100 % de conversion.¹⁸⁰ Sous ces conditions, le dioxyde de carbone dégagé au cours de la réaction permet de déplacer l'équilibre vers la formation des produits selon le principe de Le Chatelier.

La réaction d'ATH a été utilisée pour promouvoir la réduction de divers substrats asymétrique à chiralité planaire, notamment pour le dédoublement cinétique de ferrocènes carbonyles (**Schéma 16**).¹⁸¹⁻¹⁸³ En effet, la cétone racémique **2.11** a pu être réduite en présence du catalyseur **2.12** dans les conditions irréversibles décrites ci-dessus pour obtenir l'alcool (*S_p*, *R*)-**2.13** avec 40 % de rendement et 95 % d'*ee* ainsi que 57 % du produit de départ énantioenrichi (*R_p*)-**2.14**.¹⁸⁴

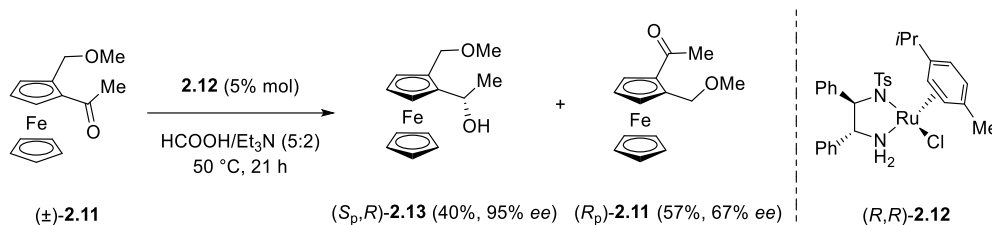


Schéma 16. Exemple de résolution cinétique de dérivés férrocènes par Patti

Inspirée par ces exemples, notre équipe a envisagé de réaliser un dédoublement cinétique d'aldéhydes dérivés du pCp par transfert asymétrique d'hydrogène. Dans un premier temps, la réduction asymétrique du 4-formyl[2.2]paracyclophane (±)-2.4 a été mise au point. La réaction s'est avérée particulièrement efficace en utilisant un catalyseur de Noyori commercial (*R,R*)-2.12 et du *tert*-butylate de potassium dans un mélange d'isopropanol et d'acétonitrile à -10 °C. Dans ces conditions, l'aldéhyde énantiopur (*R_p*)-2.4 est obtenu avec un rendement de 39 %, alors que l'alcool primaire (*S_p*)-2.7 est isolé avec un rendement de 56 % et 67 % d'*ee* (**Schéma 17**). Cette méthode de dédoublement cinétique a ensuite pu être élargie à d'autres dérivés disubstitués bromés en position pseudo-*gem* ou pseudo-*ortho* sans perte de rendement ou d'*ee* en variant simplement le co-solvant et la température de la réaction.^{147,149}

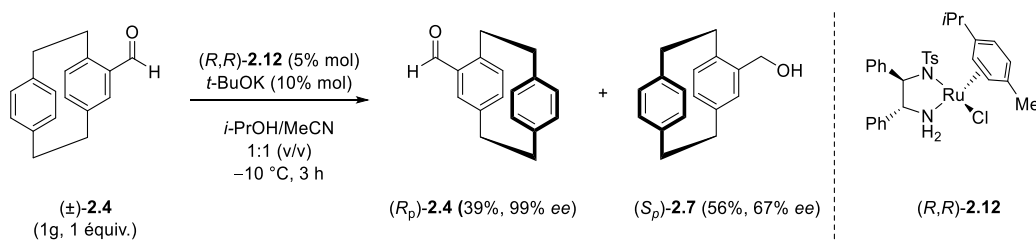


Schéma 17. Dédoublement cinétique du 4-formyl[2.2]paracyclophane

Dans un deuxième temps, le même processus a été utilisé pour promouvoir la désymétrisation de composés centrosymétriques dérivés du [2.2]paracyclophane. Après optimisation des conditions réactionnelles, à laquelle j'ai participé lors de mon stage de M2 au sein du groupe, le dialdéhyde pseudo-*para* 2.14 a pu être réduit de façon asymétrique en utilisant le catalyseur 2.12 pour fournir le produit énantiopur 2.15 (**Schéma 18**).

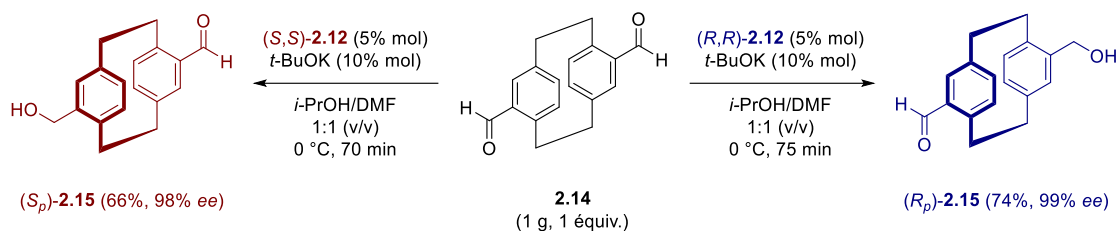


Schéma 18. Désymétrisation du *pseudo-para* diformyl[2.2]paracyclophane

Les deux énantiomères de ce composé ont pu être synthétisés avec des rendements de 74 % et 66 % sur des échelles synthétiquement utiles (1 g de substrat de départ) en changeant simplement la configuration absolue du catalyseur de Noyori employé pour promouvoir la réaction.¹⁴⁹ Un dérivé du pCp tétrasubstitué énantiopur a également pu être isolé en utilisant cette méthode.¹⁴⁹

Tous les produits isolés en utilisant le dédoublement cinétique et la désymétrisation par ATH possèdent, sur chaque cycle aromatique du [2.2]paracyclophane, des groupements fonctionnels pouvant être engagés dans des réactions de dérivation orthogonale (**Figure 25**). Par conséquent, ces composés peuvent facilement jouer le rôle d'intermédiaires de synthèse polyvalents pour un accès aisé à des pCps polyfonctionnels chiraux.

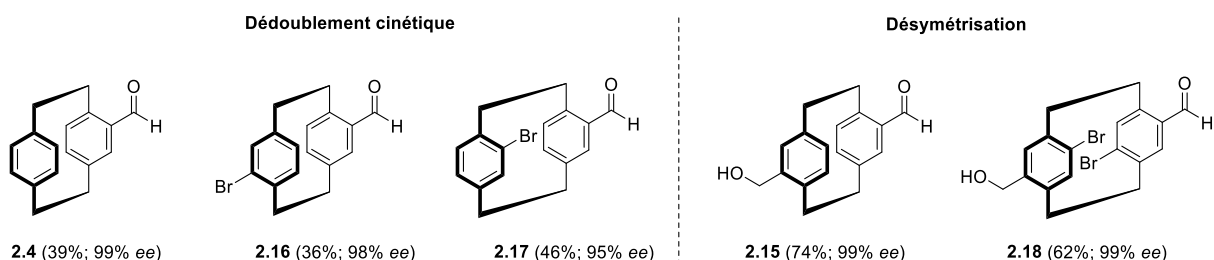


Figure 25. Aldéhydes énantiorenrichis accessibles par ATH

I.2 Étude mécanistique

I.2.1 Résultats expérimentaux

Afin de mieux comprendre l'origine de la très bonne énantiodiscrimination obtenue au cours des réactions d'ATH développées pour le dédoublement cinétique du 4-formyl[2.2]paracyclophane, nous avons souhaité évaluer l'influence du catalyseur utilisé (**Schéma 19**).

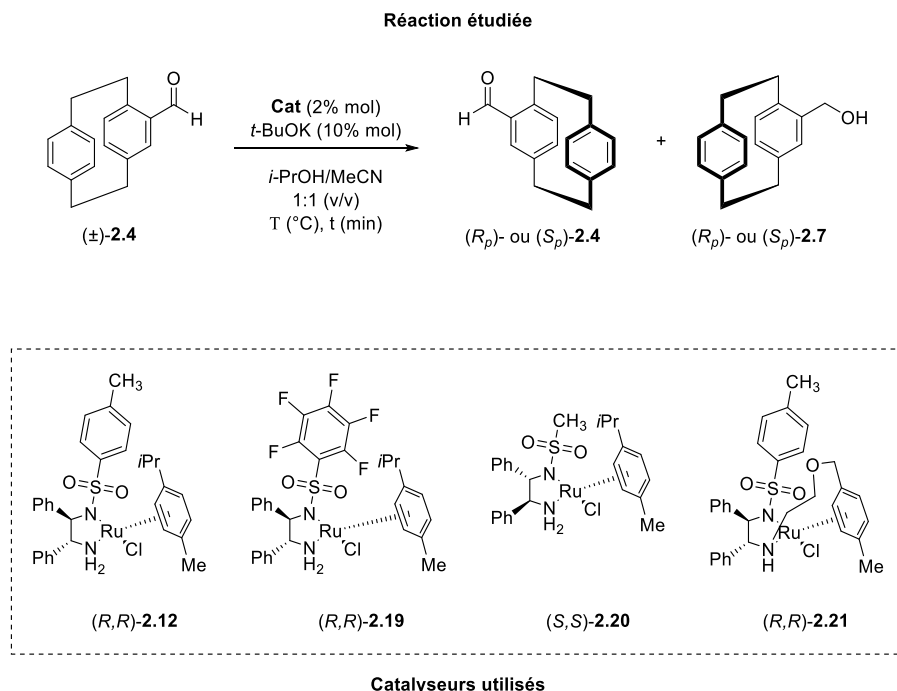


Schéma 19. Investigation de l'influence du catalyseur sur le dédoublement cinétique par ATH

Le catalyseur **2.12** a été utilisé pour réaliser les réactions d'ATH sur les dérivés formyles pCps. Il comporte un ligand chiral diphenyldiamine N-tosylé (TsDPEN) et un ligand *p*-cymène. Les catalyseurs **2.19** et **2.20** en sont proches, ils diffèrent par leur groupement sulfonyle, en remplacement du tosylé ceux-ci possèdent un analogue pentafluoré ou un groupement mésyle respectivement. Ces modifications altèrent l'encombrement apporté par le ligand et la richesse électronique des substituants, donc la nature des interactions possibles pour former l'état de transition de la réaction. En effet, il est bien connu que le mécanisme de transfert d'hydrure implique différentes liaisons CH- π dans la discrimination des énantiomères substrats.¹⁸⁵ Enfin, si le catalyseur **2.21** possède bien un groupement tosylé, un pont éther relie l'azote opposé du ligand DPEN au ligand *p*-cymène commun aux trois autres composés. Ce ligand ponté, plus encombré et contraint que les deux ligands précédents, a montré une activité catalytique accrue sur la cétone **2.8**,¹⁸⁶ et ne possède plus le substituant isopropyle du *p*-cymène.^{187,188} Un suivi cinétique de la réduction a été effectué en présence de différents catalyseurs (**Schéma 19**). Les résultats obtenus suite aux différentes réactions ont été comparés, à conversion similaire ($\sim 20\%$ et $\sim 60\%$), en termes de temps de conversion et d'*ee*.

Dans le **Tableau 1**, on observe tout d'abord que les temps de réaction permettant d'atteindre 20 % de conversion ne sont pas les mêmes pour les différents catalyseurs. Le catalyseur **2.20** est le plus

rapide et permet l'obtention de 20 % de conversion en 5 min, tandis qu'avec les catalyseurs **2.12** et **2.19** la réaction est plus lente, il faut 30 min et 15 min respectivement pour atteindre le même taux de conversion. A $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, en présence du catalyseur **2.21** la réaction n'a pas lieu et un temps de réaction de 15 min est nécessaire pour atteindre 20 % de conversion à TA (et avec une charge catalytique supérieure), faisant de ce dernier le moins rapide des catalyseurs sélectionnés. Cette tendance est retrouvée pour les *ee*, le catalyseur **2.21** est celui présentant les excès les plus faibles pour l'alcool produit (95 %). Dans l'ensemble les *ee* sont assez proches pour les trois autres réactifs. Les meilleurs excès sont obtenus avec les catalyseurs **2.19** et **2.20** avec environ 25 % d'*ee* pour l'aldéhyde et 99 % d'*ee* pour l'alcool.

	Cat.	T ($^{\circ}\text{C}$)	t (min)	Conv. (%) ^a	<i>ee</i> _{Ald} (%) ^b	<i>ee</i> _{Alc} (%) ^b
1	2.12	-10	30	21	20 (<i>R_p</i>)	97 (<i>S_p</i>)
2	2.19	-10	15	25	25 (<i>R_p</i>)	95 (<i>S_p</i>)
3	2.20	-10	5	22	22 (<i>S_p</i>)	99 (<i>R_p</i>)
4	2.21	rt	15	22	16 (<i>R_p</i>)	95 (<i>S_p</i>)

^a Déterminé par RMN ^1H . ^b Déterminé par HPLC. ^c La réaction ne marche pas à $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ et est extrêmement lente à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (5 mol% cat utilisé).

Tableau 1. Temps de réaction et *ee* à 20 % de conversion

Le **Tableau 2** présente les mêmes réactions que le **Tableau 1** mais à un stade plus avancé, à 60 % de conversion. La tendance pour les temps de réaction semble rester la même. Le catalyseur **2.21** (réaction à TA, et non pas à $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) est toujours le plus lent à catalyser cette réduction, 90 min, et certainement le moins favorable. De même qu'à 20 % de conversion, le composé **2.20** est de manière claire le plus rapide, en sa présence la réaction atteint 60 % de conversion en 25 min alors qu'il faut 60 min avec le catalyseur **2.19** et 105 min avec **2.12**. Les *ee* sont encore une fois élevés et assez proches, cette fois pour l'ensemble des catalyseurs. Bien qu'atteignant 99 % d'excès pour l'aldéhyde, le catalyseur **2.20** possède le plus faible *ee* pour le produit réduit de la réaction avec 72 %. En utilisant le catalyseur **2.19**, le 4-formyl[2.2]paracyclophane a pu être isolé avec un *ee* de 91 %, le plus faible de notre sélection pour ce composé, et le produit alcool avec un *ee* de 82 %. En revanche, le complexe **2.12** permet d'isoler les deux composés avec de bons excès, 98 % pour l'aldéhyde et 86 % pour l'alcool.

	Cat.	T (°C)	t (min)	Conv. (%)^a	ee_{Ald} (%)^b	ee_{Alc} (%)^b
1	2.12	-10	105	58	98 (<i>R_p</i>)	86 (<i>S_p</i>)
2	2.19	-10	60	57	91 (<i>R_p</i>)	82 (<i>S_p</i>)
3	2.20	-10	25	56	99 (<i>S_p</i>)	72 (<i>R_p</i>)
4	2.21	rt	90	57	97 (<i>R_p</i>)	83 (<i>S_p</i>)

^a Déterminé par RMN du proton. ^b Déterminé par HPLC. ^c La réaction ne marche pas à -10 °C et est extrêmement lente à 0 °C (5 mol% cat utilisé).

Tableau 2. Temps de réaction et *ee* à 60 % de conversion

Si l'analyse de la durée d'une réaction est, par définition, une considération cinétique, à température égale, la vitesse de réaction traduit la capacité d'un catalyseur à réaliser cette réaction et à s'associer à son substrat. Au vu des données collectées ici, il est clair que la présence d'un pont reliant les ligands DPEN et *p*-cymène est détrimentaire pour la réactivité du composé **2.21**. En effet, en sa présence la réaction n'a pu avoir lieu à -10 °C et n'a pu être comparée aux autres en termes de durée qu'à TA. La barrière énergétique à franchir pour accéder à un état de transition favorable au transfert de l'atome d'hydrogène – sans considération d'énantiosélectivité, à ce stade – est sans doute plus élevée qu'avec les autres catalyseurs de notre échantillon (ΔG^\ddagger). L'échange du groupement tosyle pour un analogue pentafluoré entre les catalyseurs **2.12** et **2.19** s'avère favorable pour la formation des produits de la réduction étudiée. Le temps de réaction nécessaire pour atteindre 60 % de conversion est presque divisé par deux entre ces deux catalyseurs. Ce temps de réaction est à nouveau divisé par deux et diminue à 25 min lorsque le groupement polyfluoré est remplacé par un groupement mésyle. Mais un dédoublement cinétique trop rapide est aussi plus difficile à contrôler, l'augmentation de la vitesse de la réaction n'y est pas favorable et le rend moins pratique à utiliser.

Au début d'un dédoublement cinétique, l'excès du produit réduit est normalement excellent puis diminue en fonction de la sélectivité de la réaction, en parallèle de l'énantioenrichissement progressif du substrat carbonyle (**Figure 26**). En effet, dans le **Tableau 1**, à 20 % de conversion, on observe que tous les catalyseurs, quel que soit leur temps de réaction, permettent l'obtention d'un produit avec *ee_{Alc}* élevé. En comparaison, les différences d'*ee_{Ald}* observées entre les catalyseurs **2.12** ou **2.19** et **2.21** sont révélatrices du déficit d'énantiosélectivité induit par le pontage des ligands. Ceci

indique probablement la perte d'une interaction clé dans la discrimination des faces réactionnelles de l'aldéhyde par le catalyseur (diminution de $\Delta\Delta G^\ddagger$). À 60 % de conversion, l' ee_{Alc} commence à diminuer puisque plus de 50 % du substrat a déjà été converti, tandis que l' ee_{Ald} doit lui être presque maximal (**Figure 26**).

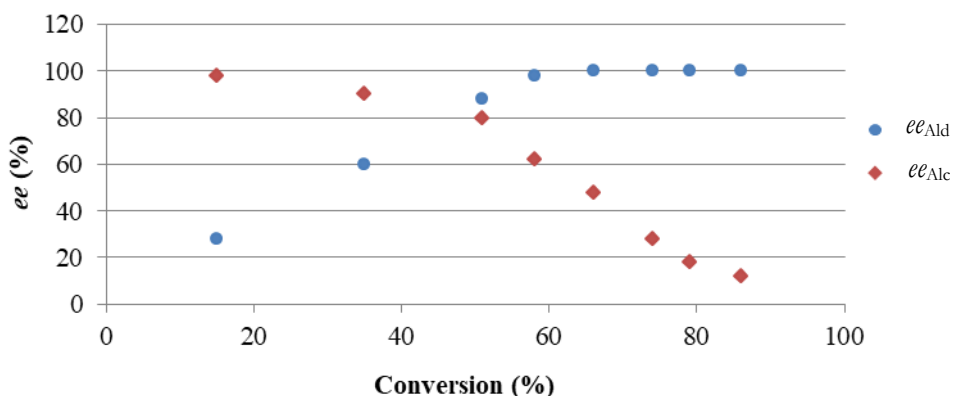


Figure 26. Évolution de l' ee_{Ald} et l' ee_{Alc} en fonction de la conversion au cours du dédoublement cinétique du 4-formyl[2.2]paracyclophane en présence du catalyseur **2.12**

Les résultats des catalyseurs **2.12** et **2.22** sont similaires et semblent analogues aux tracés présentés sur la **Figure 26** avec d'excellents ee_{Ald} et des ee_{Alc} élevés aussi ; l'introduction d'un groupement pentafluoré sur le ligand DPEN semble faiblement défavorable à la sélectivité de la réaction. Dans le cas du catalyseur **2.20**, l'excellente sélectivité observée pour l'aldéhyde avec un ee de 99 % est le résultat miroir de la faiblesse de l'excès de l'alcool correspondant. Ce résultat est probablement la conséquence de la vitesse très élevée de la réaction, qui conduit trop rapidement à plus de 50 % de conversion, ou de la réversibilité de la réaction.

1.2.2 Résultats théoriques

Afin de mieux rationaliser nos résultats expérimentaux nous avons réalisé des calculs théoriques en collaboration avec Etienne Derat (IPCM – Sorbonne Université). Nous avons tout d'abord simulé le transfert asymétrique d'hydrure promu par le catalyseur **2.12** par DFT en phase gazeuse, au niveau B3LYP-D3/def2-SV(P), en utilisant le logiciel Turbomole V6.5.¹⁸⁹ À 263 K, une plus faible barrière énergétique a été obtenue pour l'aldéhyde S_p , réduit préférentiellement lors de la réaction, comparé à l'énantiomère R_p ($\Delta\Delta G = 1.85 \text{ kCal.mol}^{-1}$). Dans ces conditions, la réaction s'est avérée être endothermique pour les deux énantiomères. De façon très intéressante, une liaison CH- π

stabilisant l'état de transition a été observée entre le proton du groupement formyle du pCp (S_p)-2.4 et le cycle aromatique du substituant tosylo porté par le ligand azoté du catalyseur **2.12**.

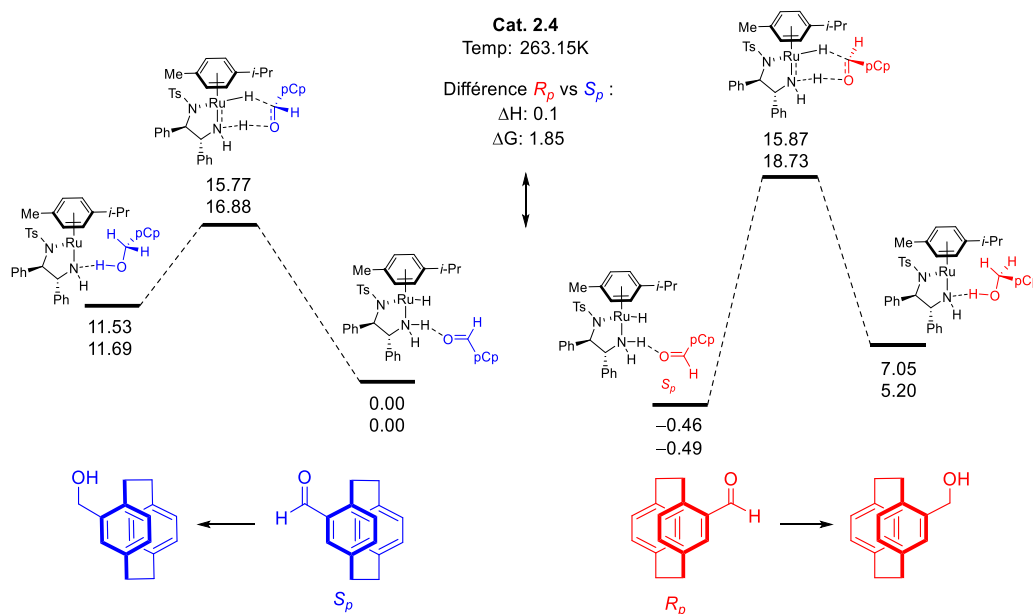


Figure 27. Transfert d'hydrure promu par le catalyseur **2.12** étudié par calculs DFT

Suite à ce résultat surprenant, nous avons voulu visualiser les interactions non-covalentes entre les deux aldéhydes énantiomères et le catalyseur à l'état de transition calculées via la méthode NCIPLOT (**Figure 28**).¹⁹⁰ La zone d'interaction de type dispersion (en vert) entre le résidu tosylo du catalyseur et le substrat est plus importante dans le cas de l'énantiomère S_p , facilement réduit lors de la réaction, par rapport à celle obtenue pour l'énantiomère R_p .

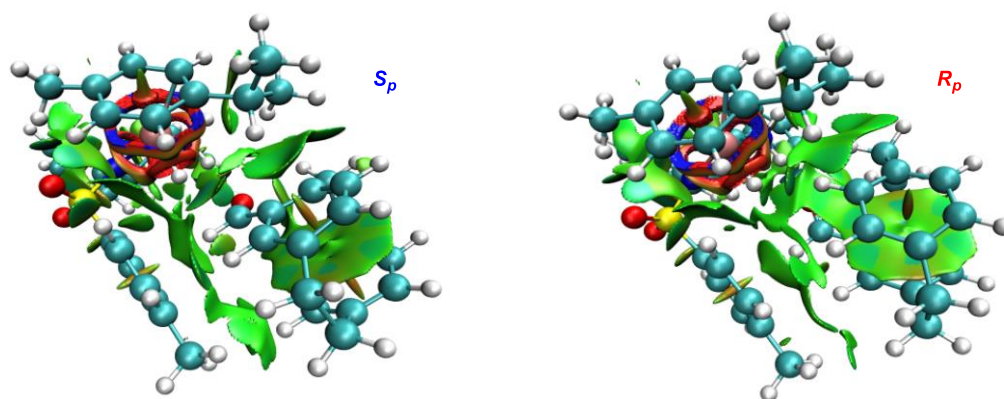


Figure 28. Zone d'interaction de type dispersion (en vert) dans les complexes énantiomère-catalyseur

Nous avons par la suite utilisé un modèle théorique différent afin de tenir compte du rôle du solvant dans cette transformation chimique. Ainsi, nous avons simulé l'échange entre une molécule d'acétone, résultante de la formation de l'hydrure de ruthénium et liée par liaison hydrogène au catalyseur **2.4**, et l'un ou l'autre énantiomère du 4-formyl[2.2]paracyclophane **2.7**, jusqu'à observer la formation du produit attendu. Dix molécules d'isopropanol ont été intégrées autour du site catalytique (**Figure 29**). Le calcul a été effectué en « *density functional tight binding* », via le logiciel xtb de Stefan Grimme, au niveau GFN2-xTB, en incluant une solvation implicite de type GBSA.^{191,192}

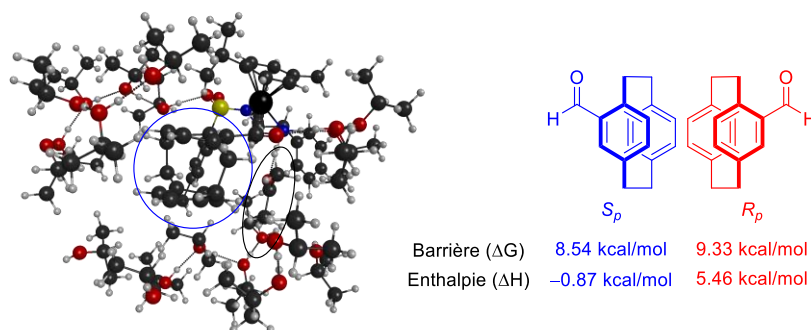


Figure 29. Simulation de l'échange entre acétone et formyl pCp autour du catalyseur de Noyori **2.12**

L'échange entre acétone et dérivés pCp s'est avéré être concerté. Pour l'aldéhyde S_p (composé bleu, **Figure 29**), réagit rapidement lors de son interaction avec le catalyseur **2.12**, une petite barrière de 8.54 kcal.mol⁻¹ a pu être calculée en utilisant ce modèle théorique et la transformation s'est avérée être exothermique ($\Delta H = -0.87$ kcal.mol⁻¹). Pour l'aldéhyde R_p (composé rouge, **Figure 29**), qui au contraire est isolé inchangé après le dédoublement cinétique avec un excellent excès énantiomérique, une barrière plus importante a été calculée pour cet échange ($\Delta G = 9.33$ kcal.mol⁻¹) et la réaction apparaît endothermique ($\Delta H = 5.46$ kcal.mol⁻¹).

Des calculs théoriques sont actuellement en cours pour mieux rationaliser le comportement des deux énantiomères en présence des catalyseurs **2.19**, **2.20** et **2.21**.

I.3 Extension de l'ATH à d'autres substrats

I.3.1 Différentes sources de chiralité

Après les études bien avancées effectuées sur le dédoublement cinétique d'aldéhydes dérivés du [2.2]paracyclophane par ATH, nous nous sommes intéressés à la possibilité de réaliser cette réaction sur d'autres substrats chiraux formylés. Bien que la plupart des biomolécules optiquement actives possèdent une chiralité centrale (**Figure 30**), et qu'un nombre de transformations entraînent l'apparition de centres stéréogènes, d'autres types de chiralités (planaire, axiale ou hélicoïdale, **Figure 30**) sont aujourd'hui de plus en plus étudiés et exploités.

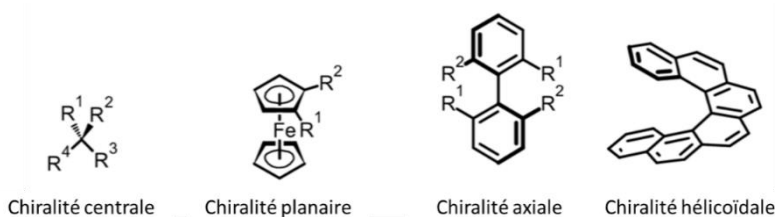


Figure 30. Exemples de molécules exhibant différents types de chiralité

Plusieurs méthodes peuvent être employées pour obtenir ces composés énantiopurs, et beaucoup ont été obtenus par dédoublement cinétique. Malgré tout, l'emploi d'aldéhydes comme substrat de départ pour accéder à des composés à chiralité planaire, hélicoïdale ou axiale n'a pas encore été étudié de manière exhaustive, et l'utilisation de cétones comme intermédiaires clés est, à ce jour, encore généralement privilégiée dans la littérature.

Nous avons donc souhaité étendre l'emploi notre méthode de dédoublement par ATH d'aldéhydes à d'autres types de chiralité afin d'étudier son efficacité et de participer à l'amélioration des techniques d'obtention de composés à chiralité originale.

I.3.2 Aldéhydes dérivés du ferrocène

Les ferrocènes sont des composés comprenant deux cyclopentadiényles et un ion de Fe^{II} . Ils font partie de la famille des composés dits « sandwich », le centre métallique étant entouré de deux cycles aromatiques. Ils ont été décrits par Woodward et Wilkinson en 1952, et depuis lors sont parmi les composés les plus iconiques de la chimie organométallique.^{193,194} Utilisés aussi bien pour explorer l'aspect fondamental des associations entre métaux et molécules organiques de par leur simplicité, que

dans la synthèse de catalyseurs asymétriques de par leurs propriétés chirales intéressantes, les férrocènes sont des composés très stables et dont la chimie de synthèse a été bien décrite et développée au fil du temps.^{195,196}

Dans le cadre de cette étude, nous avons tout d'abord synthétisé un produit formylférrocène bisubstitué racémique destiné à être utilisé comme substrat modèle dans la réaction de dédoublement cinétique par ATH. Ces synthèses sont largement inspirées des travaux de Kagan et Riant au début des années 1990.¹⁹⁷⁻¹⁹⁹ Tout d'abord, le dérivé *N,N*-diméthylaminométhyl férrocène **2.22** (Schéma 20) permet une *ortho* silylation régiosélective par traitement avec du *n*-BuLi puis substitution de l'espèce lithiée par du chlorure de triméthylsilyle pour obtenir le dérivé racémique à chiralité planaire (\pm)-**2.23** avec un rendement de 58 %. Le sel d'ammonium (\pm)-**2.24**, formé quantitativement après réaction dans l'acétone en présence d'iodure de méthyle, est engagé dans une substitution nucléophile par reflux dans de la soude aqueuse pendant 4h. Cette réaction produit l'alcool primaire (\pm)-**2.25**, avec un rendement de 72 %. Celui-ci est ensuite oxydé par une suspension de MnO₂ dans le dichlorométhane pour former l'aldéhyde correspondant (\pm)-**2.26** isolé avec 83 % de rendement.

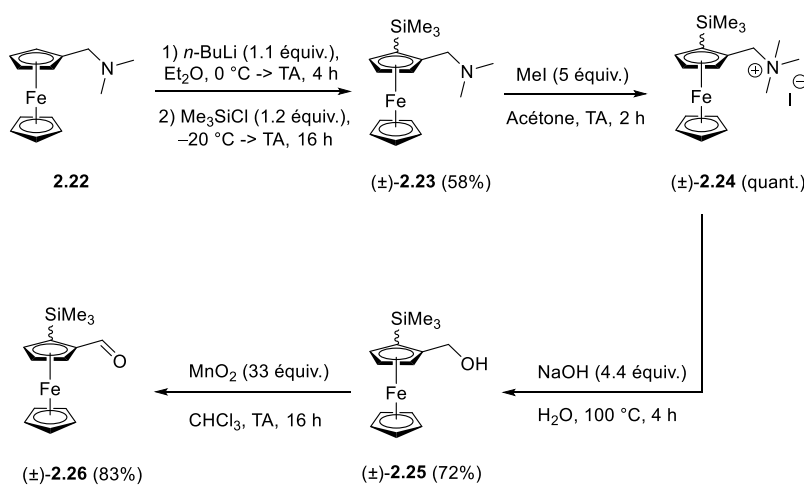


Schéma 20. Synthèse d'un composé modèle férrocène aldéhyde racémique

Le composé formylférrocène à chiralité planaire (\pm)-**2.26** (Schéma 20) a ensuite pu être utilisé comme substrat dans la réaction de dédoublement cinétique par ATH (Schéma 21).

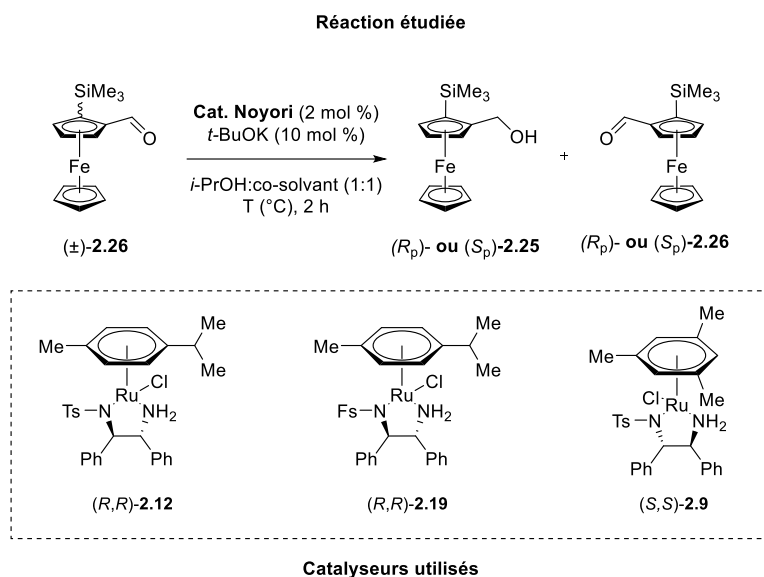


Schéma 21. Investigation de la réaction de dédoublement cinétique par ATH de l'aldéhyde ferrocène

La réaction d'ATH a été réalisée pendant 2h avec différents co-solvants et à différentes températures en présence de trois catalyseurs, les composés **2.12** et **2.19**, décrits précédemment, et le catalyseur **2.9** dans lequel le ligand *p*-cymène est remplacé par un ligand mésityle (Schéma 21). Les rendements isolés et les *ee* obtenus après 2h de réaction pour les produits de chaque réaction sont présentés ci-après.

Nous avons tout d'abord employé les trois catalyseurs sélectionnés dans les mêmes conditions réactionnelles, à 0 °C en utilisant la DMF comme co-solvant (Tableau 3). Dans ces conditions, le catalyseur **2.19** n'est pas réactif vis-à-vis du substrat **2.26**, et après 2h de réaction, seul le produit de départ racémique a pu être isolé quantitativement. En présence des catalyseurs **2.12** et **2.9** une faible conversion a été observée, et le produit réduit a pu être isolé en faible quantité (8 % de rendement isolé pour **2.9**). La réaction s'est donc avérée très lente à 0 °C. Les *ee* des produits isolés dans la réaction avec **2.12** sont faibles, 48 % pour l'alcool, voire nul pour l'aldéhyde, tandis qu'avec le catalyseur **2.9** le produit **2.25** est obtenu avec 81 % d'excès énantiomérique. Malgré tout, ces excès restent faibles surtout en considérant que la réaction en est encore à un stade initial de par sa lenteur à 0 °C. D'après ces résultats, le catalyseur **2.9** semble le plus approprié pour réaliser cette réaction et a donc été choisi pour la suite de cette étude.

	Cat.	Co-solv.	T (°C)	t (h)	Rdt 2.25 (%)	ee_{2.25} (%)	Rdt 2.26 (%)	ee_{2.26} (%)
1	2.12	DMF	0	2	<5	48	-	0
2	2.9	DMF	0	2	8	81	74	8
3	2.19	DMF	0	2	0	-	quant.	-

Tableau 3. Influence du catalyseur pour la réaction d'ATH sur des dérivés aldéhydes férrocènes après 2h de réaction

Une fois le meilleur catalyseur choisi, nous avons pu étudier l'influence du co-solvant et de la température sur la réaction (**Tableau 4**). L'utilisation de dichlorométhane ou d'acétonitrile comme co-solvant de la réaction a permis d'en augmenter la vitesse. Après 2h de réaction, jusqu'à 20 % de produit réduit a pu être isolé, dans le cas du dichlorométhane, avec un excès énantiomérique de 81 %. L'excès énantiomérique observé pour l'aldéhyde isolé avec 77 % de rendement dans les deux cas reste faible, 17 et 19 %. Nous avons par la suite réalisé la réaction d'ATH à une température différente pour pousser la conversion et l'excès énantiomérique de l'aldéhyde. L'emploi du catalyseur **2.9** à TA, avec le dichlorométhane comme co-solvant, a mené à l'obtention du substrat de départ énantiorenrichi avec environ 60 % de rendement et 50 % d'*ee*. L'alcool **2.25** a aussi été obtenu avec 44 % de rendement et 60 % d'*ee*.

Ces résultats, bien qu'encourageants, ne permettent pas l'obtention de composés aldéhydes férrocènes énantiopurs. Les meilleurs excès énantiomériques ont été observés à des faibles conversions pour l'alcool **2.26**, produit de la réaction. La présence du substituant TMS sur le substrat de départ, pouvant apporter de la gêne stérique lors de l'interaction avec les catalyseurs est soupçonnée avoir un impact délétère sur la sélectivité de la réaction et la réactivité de l'aldéhyde **2.26**. La synthèse et le dédoublement d'autres aldéhydes racémiques dérivés du férrocènes sont envisagés afin de confirmer cette hypothèse et compléter cette étude.

	Cat.	Co-solv.	T (°C)	t (h)	Rdt 2.25 (%)	ee _{2.25} (%)	Rdt 2.26 (%)	ee _{2.26} (%)
1	2.9	DCM	0	2	20	81	77	19
2	2.9	MeCN	0	2	14	79	77	17
3	2.9	DCM	25	2	44	62	58	50

Tableau 4. Influence du co-solvant et de la température pour la réaction d'ATH sur des dérivés aldéhydes ferrocènes après 2h de réaction

1.3.3 Aldéhydes dérivés d'hélicènes

Les hélicènes sont des composés aromatiques polycycliques fusionnés en position *ortho*. En fonction du nombre de noyaux aromatiques n joints on parle de $[n]$ hélicènes.^{200,201} L'encombrement stérique engendré par des groupements consécutivement *ortho*-substitués induit une déformation des unités aromatiques et cause leur hélicité. On classe les (*M*)- ou (*P*)-hélicènes en fonction de l'orientation de leur pas, gauche ou droit respectivement. De par leur chiralité et leur nature aromatique, les hélicènes possèdent des propriétés chiroptiques intéressantes.²⁰² L'obtention d'hélicènes énantiopurs a été réalisée à de nombreuses reprises par synthèse stéréosélective, par séparation HPLC ainsi que par dédoublement chimique et cinétique.^{203–206}

Dans le cadre d'une collaboration avec la Dr Jeanne Crassous (Université Rennes I), nous avons pu nous procurer de petites quantités du dérivé [6]hélicène (\pm)-**2.28** sur lequel mener des investigations préliminaires d'extension du dédoublement cinétique d'aldéhydes par ATH à des composés possédant une chiralité hélicoïdale (**Schéma 22**).

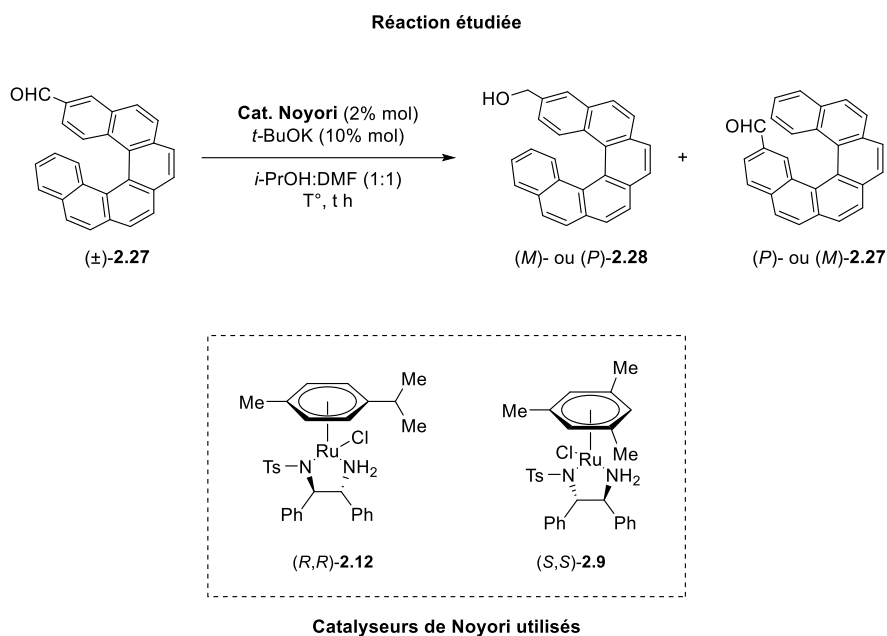


Schéma 22. Investigation de la réaction de dédoublement cinétique par ATH de l'aldéhyde hélicène

Pour cette étude préliminaire, la réduction asymétrique de l'aldéhyde (\pm) -**2.27** a été réalisée en présence des catalyseurs **2.9** et **2.12** et en utilisant la DMF comme co-solvant. Un suivi cinétique a été réalisé afin d'arrêter les réactions à environ 55 % de conversion et analyser les *ee* du substrat de départ et du produit réduit ainsi obtenus (**Tableau 5**).

	Cat.	T (°C)	t (min)	Conv. (%)	<i>ee</i>_{2.27} (%)	<i>ee</i>_{2.28} (%)
1	2.9	-20	90	0	/	/
2	2.12	0	150	54	13	11
3	2.9	0	45	55	19	23

Tableau 5. Résultats préliminaires de la réduction par ATH d'aldéhydes hélicène.

À -20 °C, en présence du catalyseur **2.9**, aucune conversion n'est observée après 90 min. Les catalyseurs **2.9** et **2.12** se sont néanmoins avérés capables de promouvoir la réduction de l'aldéhyde

(±)-**2.28** à 0 °C. Dans ce cas, les réactions atteignent environ 55 % de conversion après, respectivement, 150 et 45 min (Tableau 5, entrées 2 et 3). Le catalyseur **2.9** mésitylé s'avère encore une fois être le plus rapide. Les produits de la réaction ont malheureusement été obtenus avec des faibles *ee*. Avec 19 % d'*ee* pour l'aldéhyde **2.27** et 23 % pour l'alcool **2.28**, le composé **2.9** est aussi celui qui semble avoir la meilleure énantiodiscrimination vis-à-vis des faces de l'hélicène (±)-**2.27**. La position du groupement aldéhyde sur le substrat de départ est présumée jouer un rôle essentiel dans cette transformation : le déplacement du substituant formyle en position 1 sur la plateforme hélicène peut être envisagé afin d'essayer d'améliorer l'énantiosélectivité de cette transformation.

En conclusion de cette partie, le [2.2]paracyclophane semble être un substrat de choix par le dédoublement cinétique par ATH. Les conditions réactionnelles pour le dédoublement d'aldéhydes basés sur d'autres motifs structuraux à chiralité non centrale restent encore à optimiser.

II – Para-formylation du 4-amino[2.2]paracyclophane

II.1 État de l'art

1.1.1 Importance de la diversité chimique et spatiale des pCp

De nombreux composés basés sur le motif [2.2]paracyclophane ont été synthétisés depuis sa découverte. Une des raisons de l'attractivité du pCp est notamment la possibilité de répartir différemment ses groupements fonctionnels dans l'espace et d'étudier les effets de ces modèles de substitution. Diverses applications nécessitent une orientation spécifique des substituants afin de produire des objets ayant une géométrie précise. De plus, les propriétés électroniques de conductivité ou de fluorescence dépendent fortement de l'arrangement tridimensionnel des substituants d'un composé. Ainsi Mayor a montré très récemment que des fils électriques moléculaires dérivés du pCp ont des propriétés de conductance et de sensibilité mécanique différentes en fonction de leurs modèles de substitution.²⁰⁷

1.1.2 Substitutions para-sélectives des pCps

Bien que les effets directeurs inhérents aux propriétés électroniques du [2.2]paracyclophane soient exploités pour la synthèse de composés substitués sur les deux cycles aromatiques (**Schéma 3**),

l'accès à des dérivés disubstitués sur un seul cycle est encore à ce jour un défi en terme de synthèse. Peu d'exemples bibliographiques sont publiés de substitutions sélectives de la position *para* à partir de pCps mono-fonctionnalisés, et ceux-ci se concentrent presque exclusivement sur l'introduction d'hétéroatomes. Premièrement, en 2010, Di Magno a présenté une bromation simple et rapide du 4-methoxy[2.2]paracyclophane **2.29** sélective de la position *para* (**Schéma 23a**).²⁰⁸ Bolm a ensuite décrit l'introduction régiosélective de groupements oxygénés ou de brome, en position *para* d'amines monosubstitués **2.31**, par une addition oxydante nucléophile (**Schéma 23b**).²⁰⁹ Bräse a décrit, en 2017, une iodation *para*-sélective du 4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** (**Schéma 23c**).¹⁶⁵ Enfin, en 2020, la même équipe a développé une arylation du pCp **2.35** par activation de liaison C-H catalysée au palladium (**Schéma 23d**). Avant nos études, ceci demeurait le seul exemple de formation d'une liaison carbone-carbone en *para* d'un groupement donneur d'électrons.²¹⁰

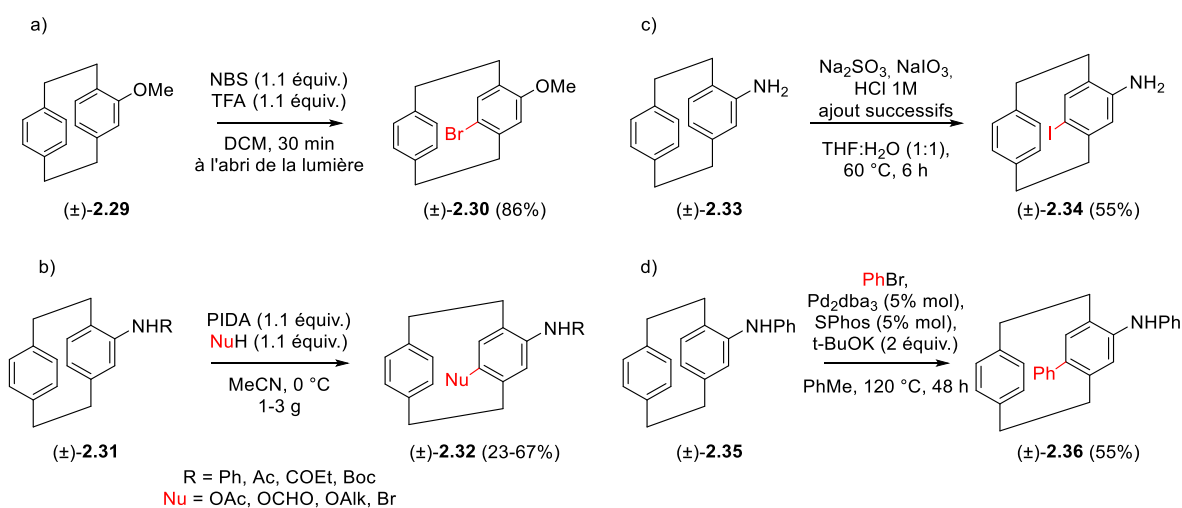


Schéma 23. Exemples de substitutions *para*-sélectives de dérivés pCp par a) Di Magno, b) Bolm, c) et d) Bräse

Sur la base de ces résultats, nous avons donc envisagé d'introduire, de façon régiosélective, un groupement aldéhyde en position *para* du 4-amino[2.2]paracyclophane afin de pouvoir tirer profit de la réactivité de celui-ci et accéder à un plus grand éventail de modifications permettant d'atteindre une plus ample diversité moléculaire (**Schéma 24**).

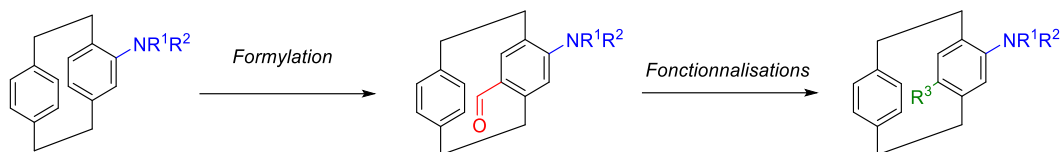


Schéma 24. Stratégie de diversification de la position *para* du 4-amino[2.2]paracyclophane

II.2 Développement d'une méthode de *para*-formylation régiosélective

II.2.1 Résultats préliminaires

Dans l'objectif d'optimiser notre méthode de *para*-formylation, un composé modèle N-diméthylé a tout d'abord été synthétisé par une séquence de nitration-réduction, classiquement utilisée pour obtenir le 4-amino[2.2]paracyclophane **2.33**,²¹¹ suivie d'une méthylation réductrice en présence de formaldéhyde et de cyanoborohydrure de sodium dans l'acide acétique (AcOH). Le composé **2.37** a ainsi été isolé avec un rendement global de 16 % (**Schéma 25**).

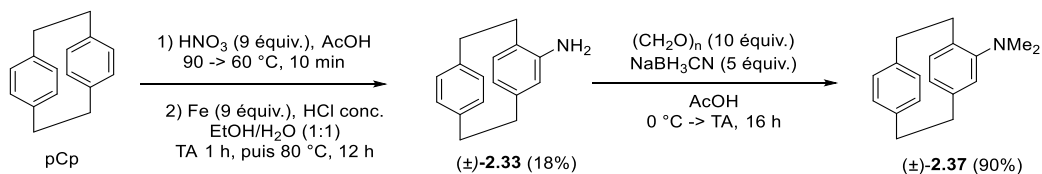


Schéma 25. Synthèse du N,N-diméthyl-4-amino[2.2]paracyclophane

Une fois ce composé modèle obtenu, différentes méthodes d'introduction du groupement aldéhyde ont pu être évaluées. La méthode de formylation la plus fréquemment utilisée pour fonctionnaliser les dérivés du pCp repose sur le protocole de Rieche (**Schéma 26a**). Ainsi, la réaction s'effectue généralement en présence de tétrachlorure de titane et de l'éther méthylique de dichlorométhane dans le dichlorométhane.^{212–214} Bien que souvent très efficaces, dans le cas du composé **2.37**, ces conditions n'ont permis d'isoler le produit formylé **2.38** qu'avec un rendement de 15 % après trois jours de réaction (**Schéma 26b**).

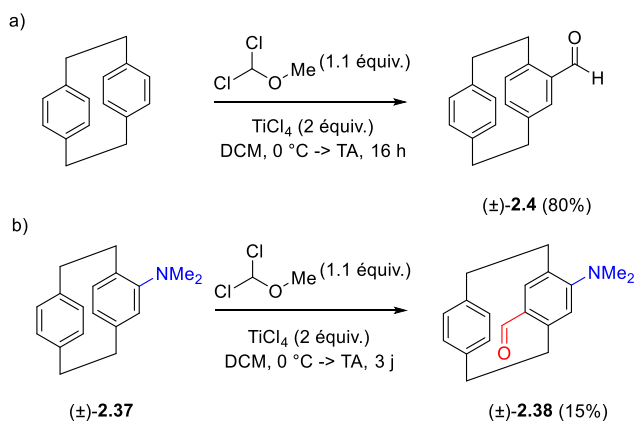


Schéma 26. Formylation de Rieche a) du [2.2]paracyclophane nu ou b) du composé **2.1**

Pour tenter d'optimiser cette procédure, différents temps de réaction (8 à 72h) et acides de Lewis (TiCl_4 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ou FeCl_3) ont été employés sans succès. Cette faible conversion est probablement expliquée par la présence d'un atome d'azote sur le composé **2.37**, capable d'interagir avec les acides de Lewis, et empêchant donc sans doute le bon déroulement de la réaction souhaitée.²¹⁵

II.2.2 Le protocole de Vilsmeier-Haack

Après ces essais infructueux, nous nous sommes tournés vers d'autres procédures permettant l'introduction d'aldéhydes, et notamment le protocole de Vilsmeier-Haack (**Schéma 27**).^{216,217} En suivant cette méthode, un équivalent de trichlorure de phosphoryle est ajouté goutte à goutte, à froid, dans de la DMF, puis une solution du composé **2.37** est additionnée et le mélange est chauffé à 100 °C pendant trois heures. Cette procédure a permis l'obtention du composé **2.38** avec un rendement de 90 % sur des échelles de synthèse relativement importantes (jusqu'à 750 mg). Cette réaction procède vraisemblablement selon le mécanisme classique de la formylation de Vilsmeier-Haack, abondamment décrit et revu dans la littérature.^{218,219}

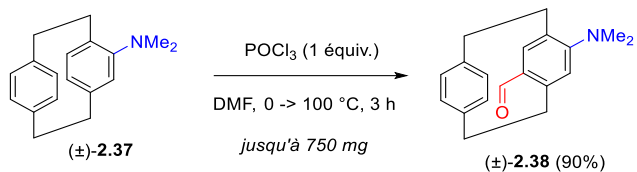


Schéma 27. Formylation de Vilsmeier-Haack du N, N-diméthyl-4-amino[2.2]paracyclophane

La position relative des substituants, et donc la régiosélectivité de l'introduction de la fonction aldéhyde en position *para* du groupement électrodonneur, a pu être confirmée par l'analyse des spectres RMN du produit **2.38**, ainsi que par corrélation chimique. Pour ce faire, le composé **2.38** a été synthétisé en trois étapes à partir du 4-amino[2.2]paracyclophane **2.33**. La réaction d'iodation *para*-sélective, utilisant les conditions douces de génération de diiode *in situ* précédemment décrites (Schéma 23),¹⁶⁵ a tout d'abord permis d'isoler le produit **2.34** avec un rendement de 55 %. Une diméthylation avec du MeI et une base a ensuite été réalisée pour accéder au composé **2.39**. Enfin, un échange iode-lithium effectué à -78°C avec du *n*-BuLi, suivi d'un ajout de DMF a conduit au composé **2.38** avec un rendement global de 35 % (Schéma 28). Les spectres RMN ^1H et ^{13}C du produit ainsi synthétisé se sont révélés identiques à ceux du produit obtenu par formylation de Vilsmeier-Haack, confirmant de fait la régiosélectivité du processus que nous avons mis au point.

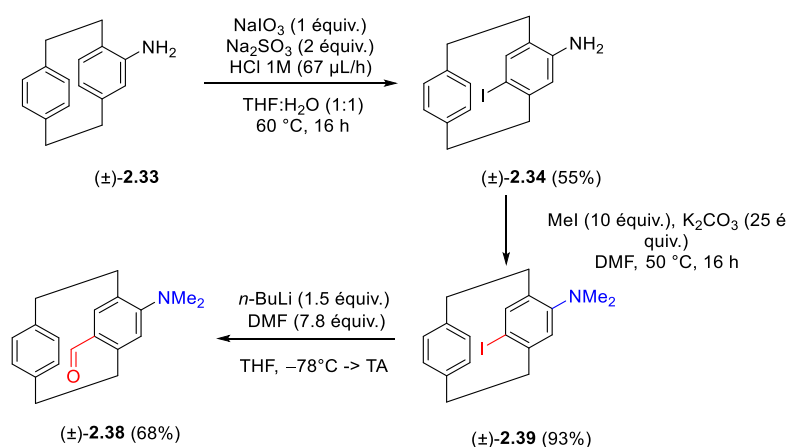


Schéma 28. Étude par corrélation chimique du modèle de substitution du composé 2.2

Suite à ces résultats, nous avons entrepris d'explorer l'étendue des substrats tolérés par cette réaction. La réaction de Vilsmeier-Haack a pu être effectuée à partir de dérivés *N*-bisubstitués avec des groupements méthyles, benzyles ou allyles (composés **2.38**, **2.40** et **2.41**, Figure 31). Les produits attendus ont dans ces cas été isolés avec des rendements allant de 50 % à 90 %. La réaction a aussi pu être réalisée en présence de substrats monosubstitué (composé **2.42**) ou fonctionnalisé par un groupement modérément électroattracteur tel que le Fmoc (composé **2.43**). La formylation de dérivés du 4-amino[2.2]paracyclophane par la procédure de Vilsmeier-Haack s'est donc révélée être efficace, régiosélective de la position *para* et tolérante de substituants possédant des effets électroniques différents.

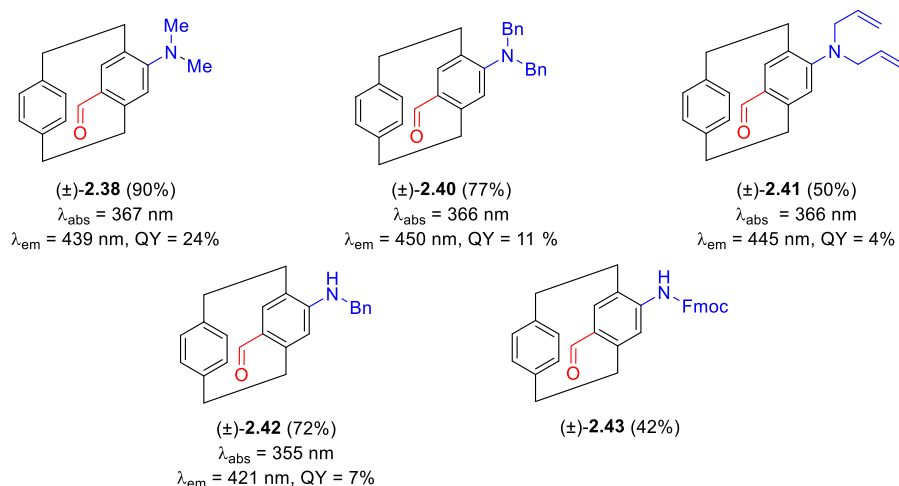


Figure 31. Étendue des substrats tolérés par le protocole de Vilsmeier-Haack

Les composés **2.38** ainsi que **2.40** à **2.42** comportent tous une fonction amine riche en électrons et un groupement aldéhyde accepteur d'électrons, conjugués à travers le cycle aromatique du pCp et donnant lieu à un transfert de charge (CT) intramoléculaire.²²⁰ Par conséquent, ces composés possèdent des spectres d'absorption UV-vis et d'émission de fluorescence intéressants, ainsi que des rendements quantiques allant jusqu'à 24 % pour le composé **2.38** (cf. chapitre III). De plus, les substituants amine et aldéhyde présents sur les produits synthétisés laissent entrevoir des possibilités de dérivatisation orthogonale, faisant de ces molécules des intermédiaires précieux pour la synthèse de pCp plus complexes.

II.3 Réactions de post-fonctionnalisation et accès à des composés optiquement actifs

II.3.1 Modifications du groupement amine

Afin de prouver leur capacité à jouer le rôle d'intermédiaire de synthèse, les produits de formylation ont été engagés dans différentes transformations chimiques. Par exemple, le composé **2.41**, présentant une amine diallylée a été soumis à une réaction de métathèse cyclisante en présence d'un catalyseur de Hoveyda-Grubbs de 2nde génération (**HGII cat.**) dans le DCM pendant 2 h. Le produit **2.44** a ainsi pu être isolé avec un rendement de 72 % sans que le groupement aldéhyde ne donne lieu à des réactions parasites (**Schéma 29a**).

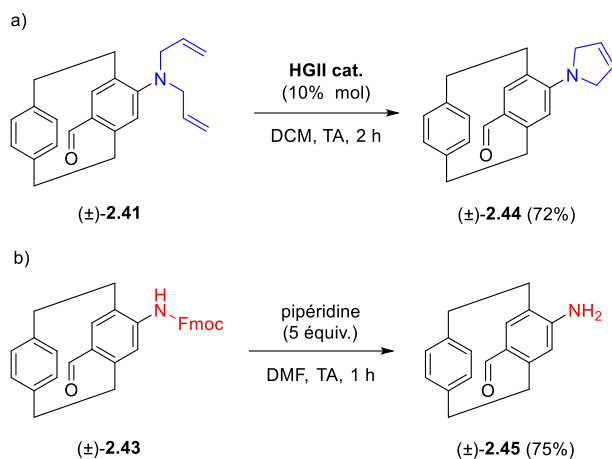


Schéma 29. Post-fonctionnalisations des produits de Vilsmeier-Haack par a) métathèse et b) déprotection

Le composé **2.43**, comportant une amine protégée par un groupe Fmoc, a été engagé dans une réaction de déprotection avec de la pipéridine afin d'isoler l'aniline *para*-formylé **2.45** avec un rendement de 75 % (**Schéma 29b**). Le composé **2.45** représente à nouveau un intermédiaire de synthèse polyvalent permettant d'exploiter la chimie des anilines pour des réactions de dérivatisation ultérieures.

II.3.2 Modifications du groupement formyle

La réactivité des aldéhydes a été exploitée avec succès pour fonctionnaliser le pCp **2.38**. À partir de ce composé, une sélection de réactions classiques et aisément mises en œuvre pour introduire diverses modifications chimiques a été réalisée avec pour but d'illustrer à nouveau la polyvalence de cet intermédiaire aldéhyde et l'utilité de notre méthodologie de *para*-formylation. Ainsi, des réactions d'amination réductrice, de réduction et d'addition de réactifs de Grignard ont été employées pour obtenir le composé méthylaminé **2.46** et les alcools **2.47** ou **2.48** avec de bons rendements (**Schéma 30**).

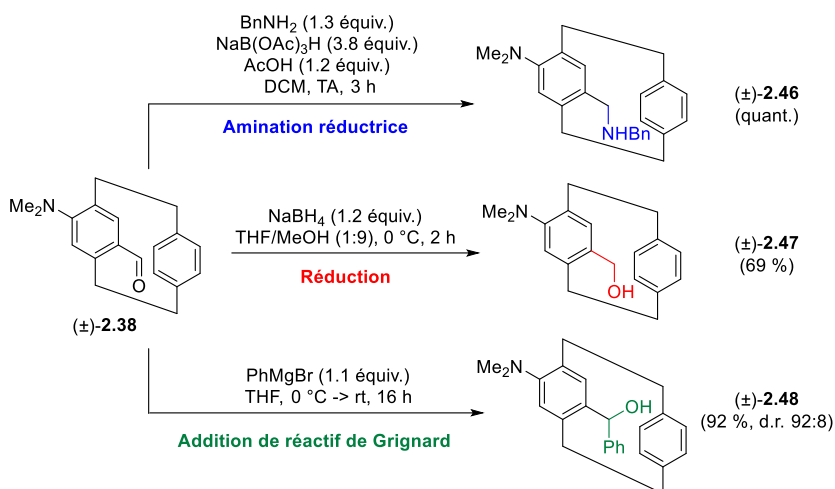


Schéma 30. Dérivatisations de la fonction aldéhyde

De plus, le composé **2.38** a aussi pu être engagé dans des réactions de Wittig avec différents phosphonates (Schéma 31) et bases (carbonate de potassium ou DBU) afin d'obtenir les produits α,β -insaturés **2.49** et **2.50**, possédant des propriétés d'absorbance UV-vis et d'émission de fluorescence intéressantes.

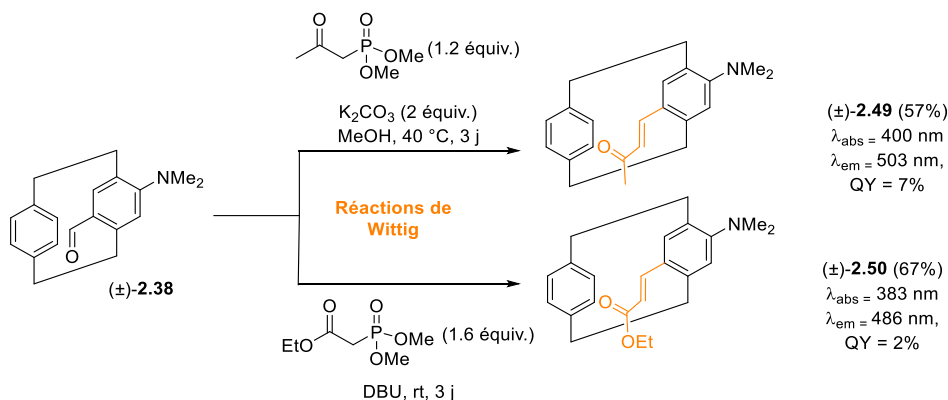


Schéma 31. Réactions de Wittig réalisées pour transformer l'aldéhyde

II.3.3 Voie de synthèse pour des dérivés énantiopurs

Toutes les réactions de formylations et de post-fonctionnalisations décrites jusqu'à présent ont été réalisées sur des produits racémiques pour démontrer la faisabilité de cette stratégie de *para*-formylation régiosélective du 4-amino[2.2]paracyclophane. Toutefois, il paraît souhaitable de pouvoir

exploiter ces procédures dans le cadre de la synthèse de composés énantiopurs afin de profiter des propriétés de chiralité planaire des pCps.

Suite à nos avancées dans le dédoublement cinétique des aldéhydes dérivés du pCp, nous avons, dans un premier temps, souhaité appliquer au composé **2.38** les conditions d'ATH préalablement développées dans notre laboratoire. En présence du catalyseur de Noyori **2.12** dans un mélange d'isopropanol et de DMF, à différentes températures, le composé **2.38** n'a malheureusement pas pu être réduit. Malgré ce résultat, une voie d'accès à des dérivés énantiopurs a pu être élaborée à partir du 4-formyl[2.2]paracyclophane (\pm)-**2.4** (**Schéma 32**). Le dédoublement cinétique de cet aldéhyde par ATH permet l'obtention de produits énantiopurs. Ici, l'énantiomère (S_p)-**2.4** a été synthétisé à titre d'exemple. Ce dernier a ensuite été transformé en l'oxime (S_p)-**2.51** par condensation avec de l'hydroxylamine dans de l'éthanol basique à reflux. Le traitement du composé **2.51** par le réactif de Koser,^{221,222} à base d'iode hypervalent, et de la soude permet, après hydrolyse, d'isoler le 4-amino[2.2]paracyclophane (S_p)-**2.33** énantiopur.²²³ Ce dernier composé peut ensuite être utilisé comme substrat de départ pour les séquences réactionnelles décrites ci-dessus (**Schéma 25** et **Schéma 27**) permettant l'obtention de pCps *para*-formylés optiquement purs.²²⁴

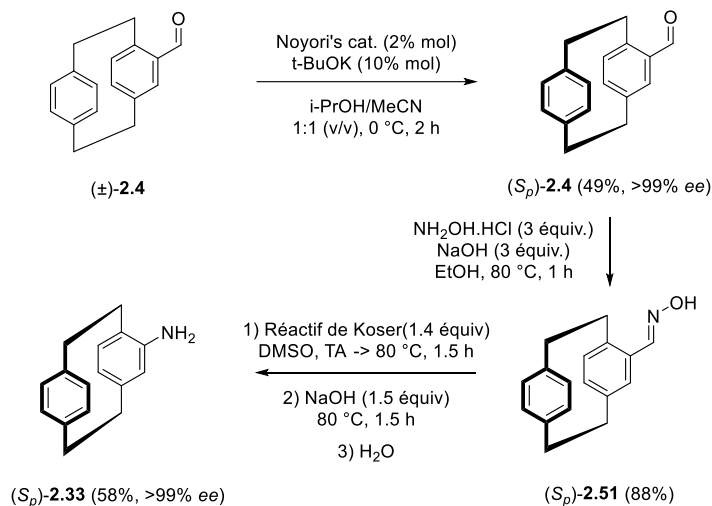


Schéma 32. Obtention du 4-amino[2.2]paracyclophane énantiopur

Bilan & Perspectives du chapitre II

Dans ce deuxième chapitre, nous avons présenté différentes méthodes permettant l'obtention de synthons [2.2]paracyclophanes formylés énantiopurs par ATH. Une stratégie de formylation régiosélective a permis l'accès à des dérivés pCp bisubstitués pertinents dans notre objectif de synthèse de fluorophores et de ligands d'ARN. Toutefois, au cours de ce travail, plusieurs résultats annexes ont été obtenus et laissent entrevoir plusieurs axes de recherche intéressants.

En effet, les développements autour de l'étendue des aldéhydes chiraux pouvant être engagés dans le dédoublement cinétique par ATH présenté ici ont mené à des observations intéressantes, en particulier sur les dérivés férrocènes. La désymétrisation de dialdéhydes centrosymétriques dérivés de férrocènes a été envisagée comme perspective de cette étude. Les études mécanistiques que nous avons réalisées sur l'application de l'ATH aux formyl pCps sont encore à un stade préliminaire. Plusieurs résultats sont attendus afin de confirmer les hypothèses que nous avons pu formuler sur les états de transition et les déterminants de l'exceptionnelle énantiosélectivité observée au cours des réactions que nous avons réalisées.

Le succès de la formylation régiosélective des amines dérivées du pCp a été accompagné d'un résultat intéressant, ouvrant la possibilité d'explorer de nouvelles pistes de recherche. Appliqué au 4-amino[2.2]paracyclophane non-substitué **2.33**, le protocole de Vilsmeier-Haack permet l'obtention rapide, simple et très propre de la formamidine **2.52** (pas de purification chromatographique nécessaire) avec un rendement de 83 % (**Schéma 33**).

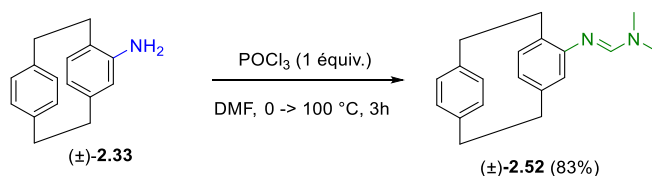


Schéma 33. Synthèse de formamidine par le protocole de Vilsmeier-Haack

Les formamidines sont utilisées comme ligands dans diverses réactions catalysées notamment par du fer ou du zinc.^{225,226} Au vu des exemples de la littérature sur l'utilisation en catalyse asymétrique de pCp comme ligands chiraux, nous avons logiquement envisagé d'utiliser ce dérivé comme ligand et choisi, comme réaction modèle, une hydrosilylation de dérivés carbonyles décrite par Mimoun et

Floriani en 1999.²²⁷ Adaptée aux ligands formamidines en version racémique par Beller, cette transformation emploie du triéthoxysilane – présent en excès comme donneur d'hydruure et agent silylant – du diéthylzinc et le ligand formamidine **2.53** pour générer *in situ* le catalyseur et réduire le substrat de départ dans un mélange de THF et de méthanol (**Schéma 35**). Le dérivé carbonyle est complètement converti en intermédiaire éther de silyle après une heure de réaction et l'alcool correspondant peut ensuite être isolé avec 98 % de rendement après traitement basique.

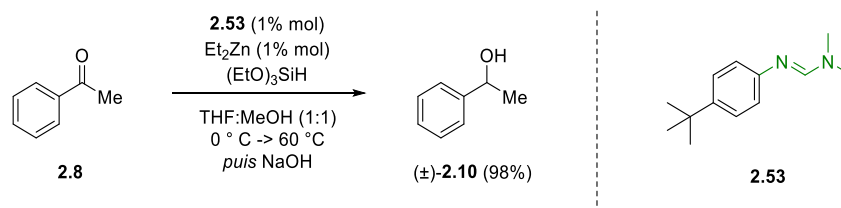


Schéma 34. Réaction d'hydrosilylation catalysée au zinc utilisant des ligands formamidines par Beller

Le ligand formamidine dérivé du [2.2]paracyclophane **2.52** s'est avéré capable de catalyser la réaction dans les conditions décrites avec un rendement modéré de 51 %, notamment réduit au cours de la purification du produit **2.10** (**Schéma 35**). Encouragés par ces premiers résultats, nous avons entrepris la synthèse d'un dérivé formamidine énantiopur afin d'évaluer la possibilité d'une version asymétrique de cette réaction. L'analogue énantiopur a été synthétisé en employant les méthodes d'obtention du (*S_p*)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33**, précédemment décrites. Ce composé a ensuite été engagé dans la réaction de Vilsmeier-Haack pour former le produit souhaité (*R_p*)-**2.52**. L'utilisation de ce ligand dans la réaction modèle a cependant mené au produit (±)-**2.10** racémique.

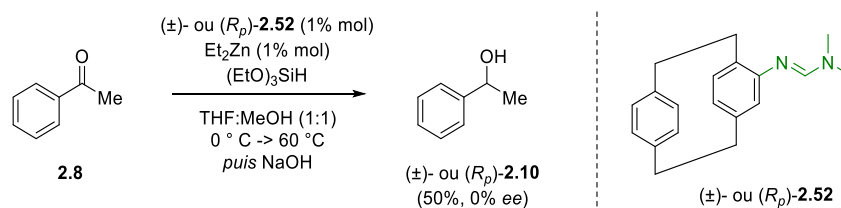


Schéma 35. Réaction d'hydrosilylation catalysée au zinc utilisant des ligands formamidine pCp

Pour expliquer ce résultat, nous faisons l'hypothèse que la disposition spatiale de l'état de transition de la réaction ne permet pas au cœur cyclophane du ligand conçu de discriminer les deux faces du substrat de par son éloignement trop important du centre catalytique. En prenant cela en compte, d'autres ligands pCp pourraient être élaborés afin d'encombrer davantage une des faces du

substrat de la réaction. Dans ce but, les deux partenaires de la formylation de Vilsmeier-Haack pourraient donc être modifiés. Nos tentatives vers d'autres ligands formamidines en sont à leur début : la synthèse d'un [2.2]paracyclophane substitué avec un N-méthylformamide **2.55** a été réalisée dans la perspective de remplacer la DMF, comme réactif stœchiométrique, dans une procédure de formylation avec des dérivés d'anilines substitués ou non (**Schéma 36**). Une fois ces deux étapes de synthèse optimisées, la préparation d'une librairie de ligands formamidines énantiopurs pourrait aisément être entreprises, notamment de dérivés bis-pCp – produits de la réaction entre un formaldéhyde pCp et une aniline pCp.

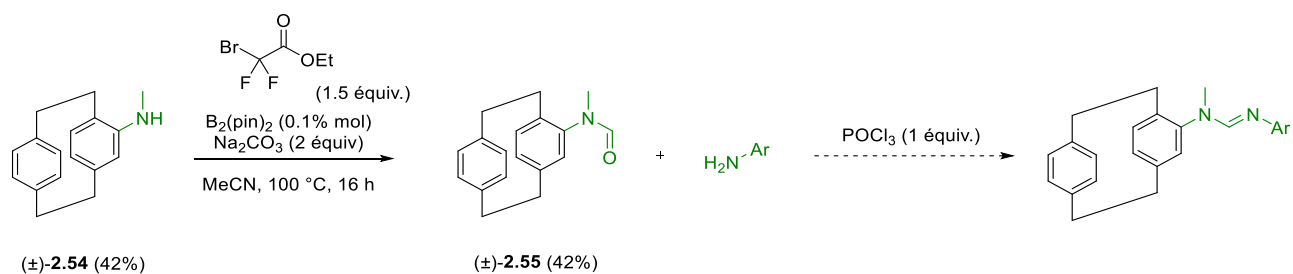


Schéma 36. Synthèse hypothétique de ligands formamidines à partir de N-méthylformamides pCp

Dans ces différents cas de figure, la décoration des autres sites du [2.2]paracyclophane est une source supplémentaire de modulation possible. Des dérivés encombrés en position *ortho*, pseudo-*ortho* ou pseudo-*gem* seraient particulièrement intéressants afin de mieux comprendre les interactions entre le ligand et le substrat dans ces réactions.

Chapitre III : Synthèse de fluorophores à base de [2.2]paracyclophanes

Le contrôle de la chiralité et de la régiosélectivité des intermédiaires [2.2]paracyclophanes aldéhydes que nous avons acquis au cours du deuxième chapitre de cette thèse nous permet maintenant d'explorer les propriétés de fluorescence de dérivés pCps différemment substitués. Comme expliqué lors de notre introduction, l'exploitation des propriétés émissives spécifiques du [2.2]paracyclophane, et de la communication à travers l'espace de ses cycles notamment, est un enjeu d'actualité dans le domaine. De plus, les fluorophores comprenant un centre pCp énantiopur présentent des émissions de lumière polarisée ; celles-ci sont particulièrement intéressantes à étudier.

Plusieurs exemples de fluorophores organiques dérivés de pCps ont été décrits comme possédant d'intéressantes propriétés chiroptiques, de solvatochromisme ou de fluorescence retardée activée thermiquement (TADF). Des complexes de métaux luminescents comprenant des ligands pCps ont aussi été décrits dans la littérature. Dans l'ensemble, bien que les propriétés optiques des dérivés du [2.2]paracyclophane soient intéressantes, ils ne présentent que très rarement de bons rendements quantiques (QY). Les pertes radiatives liées à l'interconversion entre les conformères du pCp rendent les fluorophores qui en dérivent peu efficaces en termes de QY à ce jour, et compliquent leur utilisation dans d'autres domaines de la science (OLED, conducteurs organiques par exemple). Enfin, les composés étudiés jusqu'à présent ont souvent des poids moléculaires élevés : même dans le cas des composés purement organiques, il s'agit généralement de molécules très étendues comprenant plusieurs cycles aromatiques substitués, dans certains cas, par des motifs électrodonneurs et électroattracteurs. Ainsi la synthèse de petites molécules basées sur le motif pCp ayant des propriétés de fluorescence efficaces et chiroptiques bien définies est une problématique importante du domaine.

La compréhension des phénomènes qui régulent les propriétés optiques de ces composés pourrait surtout s'avérer très intéressante pour le suivi des interactions entre le motif [2.2]paracyclophane et les ARN. Après un rappel bibliographique sur la fluorescence et des composés luminescents pertinents, incluant les travaux de notre équipe, ce chapitre comportera une étude sur l'effet de la répartition dans l'espace des substituants du pCp ainsi que la préparation de nouvelles sondes fluorescentes tridimensionnelles dérivées de ce motif.

I – État de l'art

I.1 Fluorochromes dérivés du [2.2]paracyclophane

I.1.1 Rappels généraux sur la fluorescence

Les luminophores sont des composés capables de capter les rayons lumineux et d'émettre en retour de la lumière afin de dissiper l'énergie absorbée.²²⁸ Parmi eux, on peut distinguer les fluorophores et les phosphorophores, molécules capables d'émission de fluorescence et de phosphorescence respectivement. Le diagramme de Jablonski (**Figure 32**) représente schématiquement ces différents phénomènes. En effet, certains systèmes conjugués ont la particularité d'être capables d'absorber des photons, de par le niveau énergétique approprié de leurs orbitales. Cette absorption conduit à un surplus énergétique et la molécule se trouve donc dans un « état excité » S_n selon la transition électronique effectuée. En fonction de leurs propriétés intrinsèques, ces molécules vont évacuer cette énergie additionnelle pour revenir à un « état fondamental » S_0 *via* différents mécanismes. Après une étape de reconversion énergétique interne (relaxation vibrationnelle), la relaxation de molécules excitées se fait par soit par retour non radiatif, vibrations et chaleur, ou par émission d'un photon. Cette dernière option de désexcitation est favorable dans le cas des luminophores : l'émission de fluorescence se fait de manière très rapide (favorable car respecte les règles de sélection, $\Delta S = 0$) entre un état élevé en énergie et l'état fondamental, la phosphorescence, quant à elle, se fait lentement après conversion intersystème. La conversion intersystème est un phénomène non radiatif caractérisé par la transition, normalement interdite, d'un état singulet à un état triplet (défavorable, changement de spin $S \rightarrow T$, permis par couplage spin-orbite notamment).

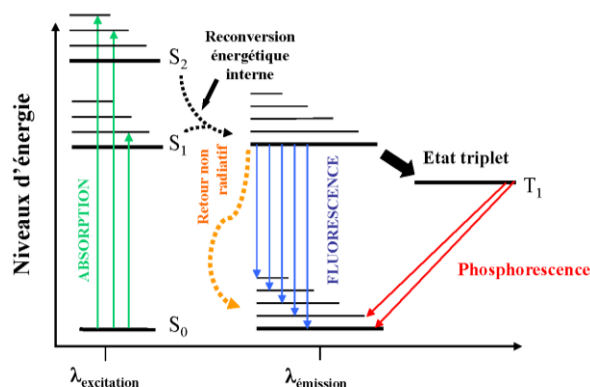


Figure 32. Diagramme de Jablonski

Les fluorochromes sont donc des composés capables d'émission spontanée de photons de leurs états S_n suite à une excitation électronique. La largeur des bandes d'absorption et d'émission des fluorophores dépend des niveaux énergétiques des transitions électroniques disponibles au sein du composé. Ceux-ci sont donc caractérisés par leurs longueurs d'onde maximales d'absorption, λ_{abs} , et d'émission λ_{em} , ainsi que par leur rendement quantique, leur photostabilité ou la durée de vie de leurs états excités. Ces trois dernières informations permettent respectivement d'évaluer: la capacité du fluorochrome à restituer l'énergie absorbée *via* un phénomène radiatif ($QY = \frac{\text{nombre de photons émis}}{\text{nombre de photons absorbés}}$),²²⁹ sa potentielle dégradation par irradiation continue et la stabilité de ses états excités.^{230,231}

L'écart entre les longueurs d'onde maximales d'absorption et d'émission d'un fluorochrome est appelé « déplacement de Stokes ».²³² Il s'agit de la différence énergétique observée entre les photons absorbés et émis en retour, ces derniers étant moins riches en énergie (longueur d'onde plus élevée) suite, notamment, à la reconversion énergétique interne. Selon les molécules étudiées, ce déplacement peut être plus ou moins important. Les composés avec de grands déplacements de Stokes sont particulièrement intéressants pour les applications biologiques et médicales car ils permettent une meilleure résolution spatio-temporelle de la fluorescence ; les rayonnements de longueurs d'onde élevés sont aussi plus pénétrants dans les tissus biologiques.²³³⁻²³⁶ Ces propriétés peuvent fortement varier en fonction des structures moléculaires utilisées²³⁷ et de l'environnement dans lequel la mesure est réalisée.²³⁸

Si l'émission d'un fluorochrome varie en fonction de la polarité du milieu dans lequel il est solubilisé, on parle de « solvatochromisme ». Une fois les composés solvatochromes excités, leurs moments dipolaires sont modifiés par des transferts de charge induits. Une rapide réorganisation des molécules de solvant les entourant stabilise ces états excités (**Figure 33**) et entraîne une diminution du niveau énergétique global de l'état excité donc un déplacement vers des longueurs d'onde plus élevées. Les solvants les plus polaires sont naturellement les plus à même d'assurer cette stabilisation, et sont ceux qui entraînent les plus forts déplacements bathochromes ainsi que la plus forte augmentation du déplacement de Stokes observé. D'autres facteurs peuvent influencer sur la capacité et la façon dont les fluorophores émettent de la lumière, notamment le pH, la température ou la viscosité du milieu.

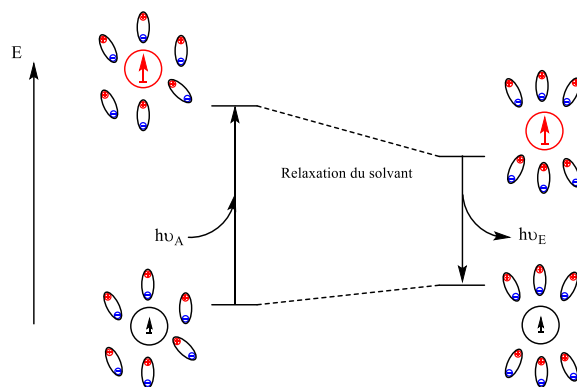


Figure 33. Principe du solvatochromisme

Divers composés naturels sont fluorescents, et aussi plusieurs protéines,²³⁹ des co-facteurs ou vitamines (NADPH, ...) et beaucoup d'autres biomolécules.²⁴⁰ Ces propriétés ont été étudiées, puis exploitées afin de développer des outils et des sondes pour différentes applications.

Avec son système π si particulier et sa fluorescence intrinsèque, le pCp a rapidement attiré l'attention des chimistes. Cherchant à moduler et optimiser ses propriétés, plusieurs équipes ont entrepris d'étendre la conjugaison du pCp par ajout de cycles (hétéro)aromatiques conjoints afin d'accéder à des nouveaux fluorophores tridimensionnels.

1.1.2 Exemples choisis de fluorophores achiraux comprenant un motif pCp

L'équipe de Bazan a été particulièrement active dans la synthèse de luminophores et a grandement participé à la diversification des fluorophores comprenant un motif pCp. Celle-ci a notamment développé des fluorophores pCp bisubstitués afin de générer des mimes d'excimères et d'étudier les propriétés d'absorption et d'émission de ce type de composés (**Figure 34**).²⁴¹ Les excimères sont des composés non isolables dont l'association se fait uniquement à l'état excité et qui ne sont donc visibles que sur les spectres de fluorescence.²⁴² La construction de molécules similaires incluant un cœur pCp afin de former des dimères stables à l'état fondamental leur a permis de mieux étudier et comprendre les particularités optiques de ces excimères. Par exemple la synthèse de mimes dimères de styrène orientés en pseudo-*para* **3.1** ou pseudo-*ortho* (\pm)-**3.2** sur le pCp a mené à des composés présentant des émissions de fluorescence proches et déplacées vers le rouge par rapport au monomère **3.3** correspondant.²⁴³ Les spectres d'absorption dans l'hexane de ces composés présentent d'importantes différences : si le composé **3.1** présente une bande intense et bien résolue à 307 nm, proche de celle du composé **3.3** (294 nm), le composé (\pm)-**3.2** absorbe, quant à lui, de manière assez

large entre 264 et 325 nm, avec plusieurs bandes se recouvrant et qui sont donc mal résolues. Cette étude a permis de mettre en évidence des interactions interchromophoriques entre les deux bras du dérivé (\pm)-**3.2**.²⁴⁴ Le composé **3.1** s'est révélé être un bon mime d'excimères aux propriétés optiques bien résolues. Au cours de cette étude, d'autres mimes d'excimères dérivés du [2.2]paracyclophane présentant des systèmes conjugués étendus ont été étudiés. Par exemple, les propriétés optiques du composé **3.4** ont été comparées à celles du « monomère » correspondant **3.5**. Le déplacement bathochrome observé dans ce cas pour les absorbance et émission de fluorescence du pCp **3.4** est plus faibles que pour les composés **3.1** et (\pm)-**3.2**.

Les résultats expérimentaux décrits ont été couplés avec une étude théorique afin de mieux comprendre ces observations. Celle-ci a mis évidence des niveaux énergétiques inversés lors de l'excitation des composés **3.1** et **3.4**. Bien que l'absorption des deux composés soit réalisée par les motifs conjugués, l'état triplet T_1 (**Figure 32**), localisé sur le motif pCp, du dérivé **3.4** est plus haut en énergie que son état excité S_1 , centré sur les motifs stilbènes. La désexcitation de ce composé se fait donc à partir de cet état S_1 , ce qui explique les faibles différences entre ses spectres et ceux du composé **3.5**. La conversion interne du composé **3.1** est, quant à elle, favorable et permet une désexcitation à partir de l'état triplet de ce dérivé. Ce phénomène s'apparente à ce qui est observable lors de la formation d'excimères pour des molécules telles que **3.3** ou **3.5**.

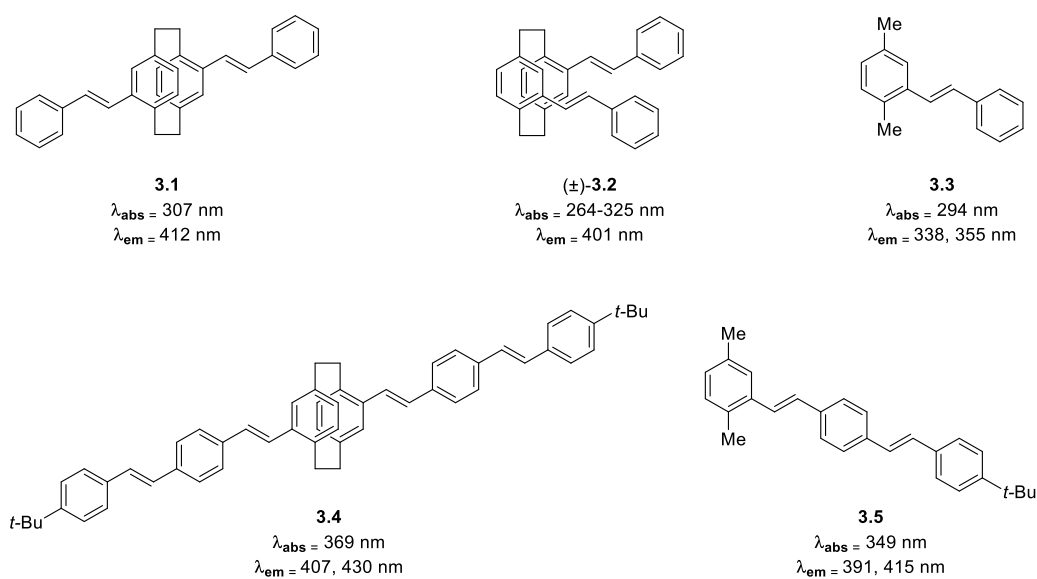


Figure 34. Mimes de dimères d'excimères basés sur un cœur pCp disubstitué synthétisés par Bazan

Dans le même objectif d'étudier les interactions interchromophoriques au sein de composés pCp, d'autres molécules tétrafonctionnalisées (\pm)-**3.6** et (\pm)-**3.7** ont été présentées par la même équipe et comparées aux monomères correspondants **3.8** et **3.9** respectivement (**Figure 35**).

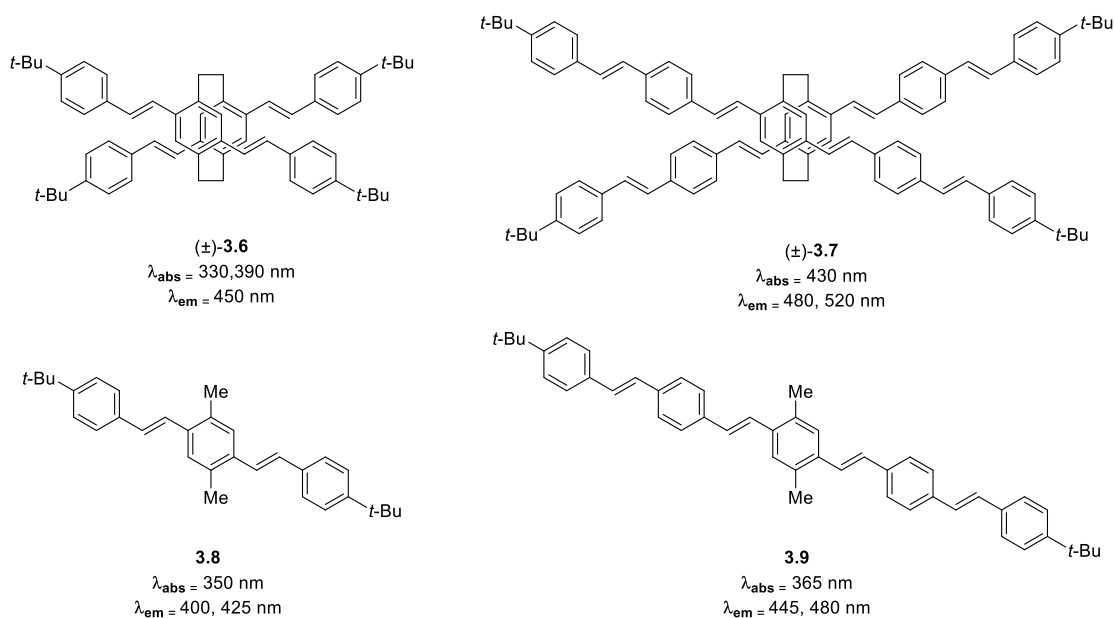
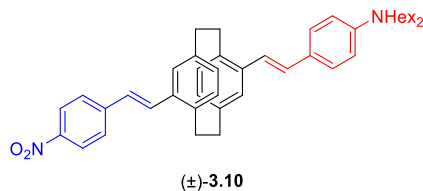


Figure 35. Fluorochromes pCp tétrasubstitués synthétisés par Bazan

Comme pour le dérivé **3.1**, les analyses spectroscopiques des composés (\pm)-**3.6** et (\pm)-**3.7** ont révélé un important déplacement vers le rouge de leurs maxima d'absorption (jusqu'à 65 nm entre (\pm)-**3.7** et **3.9**) et d'émission (jusqu'à 50 nm entre (\pm)-**3.6** et **3.8**).²⁴¹ À nouveau des calculs théoriques ont permis de rationaliser ces observations et suggèrent que les états excités des pCp (\pm)-**3.6** et (\pm)-**3.7** soient délocalisés sur l'ensemble de ces molécules.

La même équipe a ensuite élaboré des dérivés du [2.2]paracyclophane substitués par des motifs électrodonneur et électroattracteurs.^{245,246} Le composé (\pm)-**3.10** permet l'étude des transferts de charge intervenant à travers l'espace entre les cycles pCp substitués en pseudo-*para* par des groupements 4-nitrostyrène et 4-vinyl-dihexylaniline (**Tableau 6**). Les caractéristiques spectroscopiques de ce composé dans différents solvants ont été décrites à cette occasion et révèlent un comportement quasi non-solvatochromique en absorption (12 nm d'écart entre les solvants les plus et les moins polaires). Toutefois, les données collectées en émission montrent un déplacement vers le rouge augmentant avec

la polarité du solvant (85 nm entre les solvants les plus et moins polaires) ; en parallèle, le rendement quantique dans les solvants polaires chute drastiquement.



Solvant	λ_{max}^{abs} (nm)	λ_{max}^{em} (nm)	QY (%)
Hexane	372	505	27
Cyclohexane	374	509	36
Benzène	380	597	1.2
Chloroforme	383	570	0.2
DMF	384	590	< 0.1

Tableau 6. Analyses spectroscopiques du composé (±)-3.10 dans différents solvants

Ainsi, le transfert de charge (CT) s'opérant au sein du motif pCp est fortement influencé par le solvant dans lequel il se trouve. La stabilisation de son état excité en est modifiée et impacte les caractéristiques spectroscopiques du composé. Des études sur des dérivés analogues tétrasubstitués ont mis en évidence des transferts de charge multidirectionnels selon l'orientation choisie des substituants.¹⁹

Notre équipe a présenté en 2017 une synthèse divergente de naphthalènes dérivés du [2.2]paracyclophane (composés (±)-3.11 à (±)-3.15, **Schéma 37**).²⁴⁷ Ces composés, obtenus en utilisant une cycloaddition déshydrogénante de Diels-Alder comme étape clé, présentent des propriétés spectroscopiques intéressantes, notamment de grands déplacements de Stokes ((±)-3.12, (±)-3.14 et (±)-3.15 en particulier) et un solvatochromisme fortement marqué. Le rendement quantique du dérivé (±)-3.11 est élevé, particulièrement pour un composé cyclophane. Comparés à leurs analogues non cyclophanes, les naphthalènes présentés mettent en évidence l'effet électrodonneur du second cycle du pCp. De par leurs structures compactes et leurs différents sites de modification possibles, ces dérivés se sont avérés être des fluorophores efficaces et prometteurs.

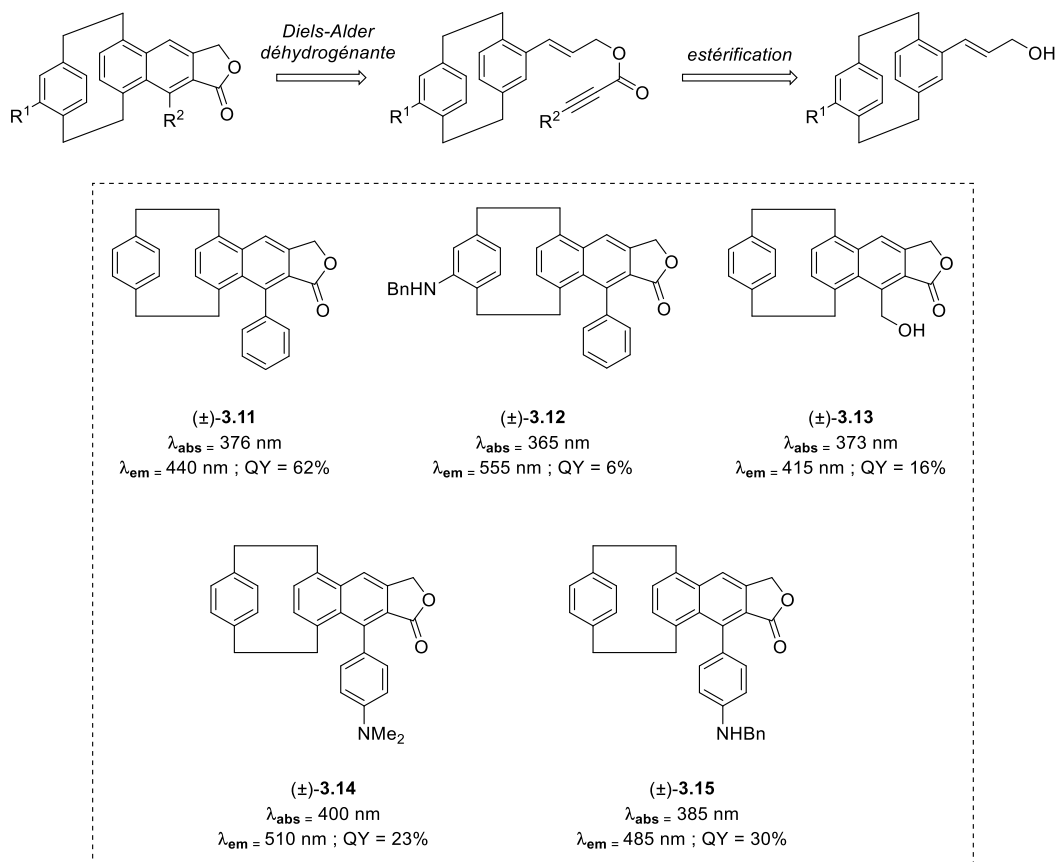


Schéma 37. Rétrosynthèse et exemples de naphthalènes dérivés du [2.2]paracyclophane synthétisés par notre équipe. (Analyse spectroscopique réalisée dans le DCM)

Les travaux passés et défis actuels entourant les transferts de charge à travers l'espace dans des molécules d'architecture originale et leurs applications, notamment au TADF et aux propriétés optiques non linéaires, ont été compilés très récemment dans une revue par Qiu et Ye.²⁴⁸ L'architecture particulière du [2.2]paracyclophane permet donc d'importants transferts de charge à travers l'espace. Différents composés ont mis en évidence des déplacements bathochromes en absorption et en émission qu'engendre l'introduction d'un motif pCp dans un fluorochrome. Bien que la majorité des composés décrits soient basés sur l'extension du système conjugué par des motifs styréniques, notre équipe a participé à la diversification des structures disponibles et présenté des molécules plus compactes conservant les spécificités spectroscopiques des dérivés pCp. Par ailleurs, d'autres travaux exploitent la géométrie originale du [2.2]paracyclophane afin de produire des composés à chiralité planaire et étudier leurs propriétés chiroptiques par CD ou CPL.

I.2 Fluorochromes chiraux énanti enrichis dérivés du pCp

I.2.1 Rappels sur les propriétés chiroptiques et l'émission de lumière polarisée

Les fluorochromes chiraux sont capables d'absorber des photons, de la même manière que les fluorophores achiraux (ou racémiques). Toutefois, à la différence de ces derniers, les structures chirales vont absorber différemment la lumière polarisée vers la droite ou vers la gauche. Cette propriété fascinante est observable par dichroïsme circulaire. Au cours de l'enregistrement d'un spectre CD, l'absorption de lumière polarisée vers la droite ou vers la gauche est représentée positivement ou négativement.^{249,250} Cette propriété peut être caractérisée par le coefficient d'absorption molaire dichroïque ($\Delta\epsilon$) défini par l'équation suivante :

$$\Delta\epsilon(\lambda) = \epsilon_G(\lambda) - \epsilon_D(\lambda)$$

Dans l'équation ci-dessus, $\epsilon_G(\lambda)$ et $\epsilon_D(\lambda)$ correspondent aux coefficients d'extinction molaire des lumières circulairement polarisées vers la gauche et la droite respectivement. Le $\Delta\epsilon$ d'un composé peut varier, parfois d'un signe à l'autre, en fonction de la longueur d'onde d'étude ; les spectres CD sont donc composés d'une alternance de bandes positives et négatives caractéristiques de l'effet Cotton.^{251,252} L'intensité du CD d'un fluorophore chiral est quantifiée par son facteur de dissymétrie d'absorption (g_{abs}), calculable comme suit :

$$g_{\text{abs}} = \frac{2\Delta\epsilon(\lambda)}{\epsilon_G(\lambda) + \epsilon_D(\lambda)}$$

Les données de CD permettent de caractériser le comportement d'absorption chiral des composés à l'état fondamental. Elles sont notamment utilisées dans le cadre des études d'interaction hôte-invité²⁵³ ou de la caractérisation du repliement de macromolécules et de protéines.^{254,255}

Les fluorophores chiraux peuvent aussi présenter des propriétés d'émission de lumière circulairement polarisée.²⁵⁶⁻²⁵⁸ En conséquence de la chiralité de leur état excité, la lumière émise par ces molécules est orientée vers la droite ou vers la gauche, de manière analogue aux absorbances d'un spectre CD. Cette propriété est caractérisée par le coefficient ΔI calculée selon l'équation ci-dessous :

$$\Delta I(\lambda) = I_G(\lambda) - I_D(\lambda)$$

Ici, les termes $I_G(\lambda)$ et $I_D(\lambda)$ correspondent à l'intensité d'émission détectée polarisée vers la gauche ou la droite respectivement. À nouveau, comme pour le coefficient $\Delta\epsilon(\lambda)$, un effet Cotton peut être observé puisque $\Delta I(\lambda)$ varie en fonction de la longueur d'ondes d'analyse. Enfin le degré de dissymétrie de luminescence d'un composé chiral est quantifié par son facteur de dissymétrie de luminescence (g_{lum}), analogue du g_{abs} en émission :

$$g_{lum} = \frac{2\Delta I(\lambda)}{I_G(\lambda) + I_D(\lambda)}$$

De nombreux composés à luminescence chirale présentant des structures variées, des petites molécules organiques comme de très larges complexes de lanthanides par exemple, ont été développés ces dernières années. Certains, et notamment des complexes de lanthanides, présentent des g_{lum} très élevés, signe d'une dissymétrie importante de leur émission lumineuse, mais leurs applications pratiques pâtissent encore de leurs faibles rendements quantiques.²⁵⁹ À l'inverse, les composés purement organiques peuvent présenter de bons QY mais les valeurs de g_{lum} de ceux-ci sont jusqu'à présent relativement faibles.^{256,257,249} Dans cette dernière catégorie, les composés les plus prometteurs isolés à ce jour sont des hélicènes chiraux dont certains dérivés s'avèrent avoir des propriétés chiroptiques très intéressantes.²⁶⁰⁻²⁶⁵ De la même manière, plusieurs équipes de recherche se sont attelées à l'exploitation de la structure chirale aisément fonctionnalisable et bien résolue du [2.2]paracyclophane afin de produire de nouveaux fluorophores aux propriétés chiroptiques intéressantes.

1.2.2 Exemples choisis de fluorophores chiraux incluant un motif pCp

L'équipe de Morisaki et Chujo a énormément contribué à la synthèse de fluorochromes énantiopurs dérivés du pCp dans le cadre de leurs études sur les propriétés chiroptiques.^{266,267} À cette fin, les composés (S_p)- et (R_p)-**3.15** présentant une structure hélicoïdale ont été synthétisés, et leurs propriétés chiroptiques comparées à celles de leurs précurseurs de synthèse respectifs (S_p)- et (R_p)-**3.16** (**Figure 36**). En absorption comme en émission, à 10^{-5} M dans le chloroforme, un déplacement bathochrome des maxima des composés **3.15** a été observé par rapport à ceux des composés non hélicoïdaux **3.16** ; notons que les QY de ces dérivés sont très proches et ne semblent pas affectés par la cyclisation intramoléculaire.

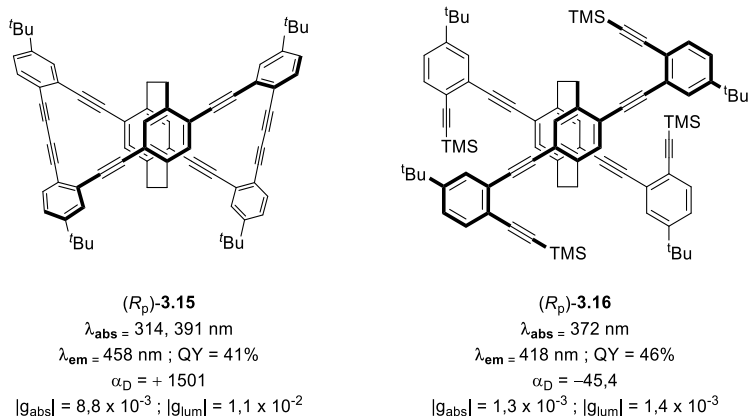


Figure 36. Exemples de fluorochromes énantiopurs présentés par Morisaki et Chujo

Ceux-ci ont ensuite procédé à l'analyse des propriétés chiroptiques de ces composés. Pour les deux énantiomères de chacun des fluorochromes, un effet Cotton est observé sur les spectres CD et CPL ; ces derniers sont l'image miroir l'un de l'autre (symétrique par rapport à l'abscisse des graphes, **Figure 37**). Ces composés se sont révélés avoir des excellents g_{abs} et g_{lum} , particulièrement les pCps à structure hélicoïdale **3.15** ; ceux-ci possèdent aussi un pouvoir rotatoire extrêmement élevé (+1501, **Figure 36**). La structure hautement ordonnée et contrainte de ces dérivés polycycliques intriqués **3.15** explique la stabilité de leurs états excités et leurs propriétés émissives chirales exceptionnelles (g_{abs} , g_{lum}). De plus, ceux-ci présentent de bons rendements quantiques (41 %), ce qui les rend d'autant plus intéressants. Malheureusement, leur préparation nécessite de nombreuses étapes de synthèse ce qui limite fortement leurs possibles applications.

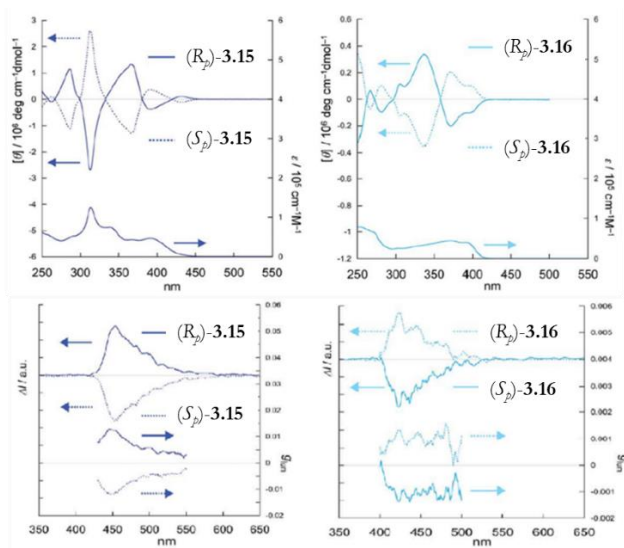


Figure 37. Spectres CD et CPL des énantiomères des composés **3.17** et **3.18**

Morisaki et Inoue ont très récemment décrit la synthèse, par photocyclisation oxydante à partir des stilbènes **3.17** et **3.18**, des hélicènes dérivés du [2.2]paracyclophane (S_p)- et (R_p)-**3.19** ainsi que (S_p)- et (R_p)-**3.20** (Figure 38).²⁶⁸ Après analyse XRD, ils ont pu constater que les énantiomères R_p des précurseurs pCp entraînent une hélicité P des [3]- ou [4]hélicènes constitués. Les données chiroptiques recueillies ont montré des spectres CD miroir avec effet Cotton, pour les énantiomères respectifs des composés **3.19** et **3.20**, proches de ceux fréquemment observés pour des hélicènes non cyclophanes. Bien que ces dérivés ne présentent que de faibles rendements quantiques comparés à leurs précurseurs **3.17** et **3.18** respectivement, leurs g_{lum} sont plus élevés. Il s'agit de la première caractérisation chiroptique de [3]- ou [4]hélicènes. L'étude théorique des états excités de ces molécules a révélé que ceux-ci sont délocalisés sur l'ensemble de leurs structures, ce qui explique sans doute leurs bons facteurs de dissymétrie.

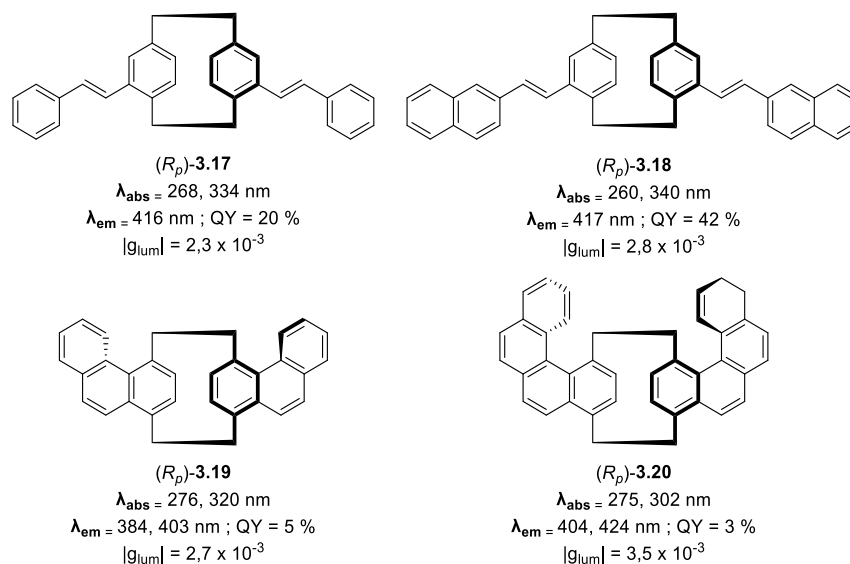


Figure 38. Composés hélicènes pCp présentés par Morisaki et Inoue. (Analyses spectroscopiques à 10^{-5} dans le chloroforme)

D'autres [2.2]paracyclophanes énantiopurs à émission de lumière polarisée similaires à ceux développés en version racémique par l'équipe de Bazan ont été développés.²⁶⁹ Des dérivés aux structures proches des stilbènes cyclophaniques **3.6** – remplaçant les substituants styrènes par des groupements phénylacétylènes pour (S_p)- **3.21**, ethynylnaphtalène pour (S_p)- **3.22** ou ethynylantracène pour (S_p)- **3.23** – ont été synthétisés et comparés à leurs analogues « monomères » non cyclophanes (Figure 39). Leurs comportements sont logiquement analogues à ceux des composés décrits précédemment, (\pm)-**3.1** et (\pm)-**3.4** notamment. Ainsi un important déplacement bathochrome, en

absorption et en émission, à 10^{-5} ou 10^{-6} M dans le chloroforme, a été observé pour ces fluorochromes par rapport à leurs monomères respectifs. L'étude de leurs propriétés chiroptiques a mené à l'obtention de spectres CD et CPL typiques (effet Cotton, images miroirs des énantiomères), et de facteurs de dissymétrie, g_{abs} et g_{lum} , calculés pour ces composés sont de l'ordre de $0,5$ à 2×10^{-3} . Le pCp substitué par des motifs anthracènes s'est avéré avoir de plus faibles valeurs laissant à penser que l'état excité de celui-ci n'est que très peu affecté par la chiralité de [2.2]paracyclophane sur lequel il n'est sans doute donc pas centré.

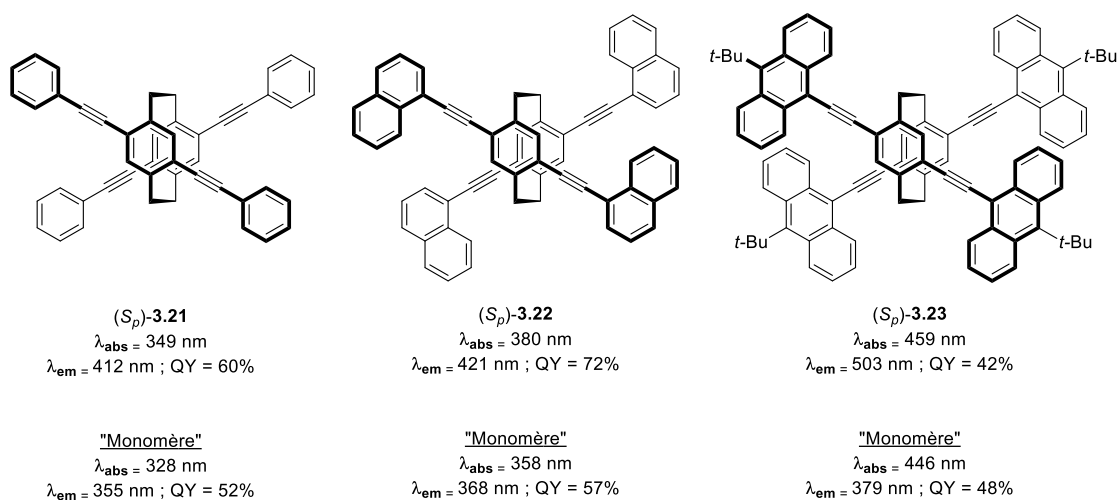


Figure 39. Composés tétrasubstitués présentés par Morisaki et Chujo

Enfin notre équipe a, quant à elle, développé une synthèse divergente de dérivés pyranones du [2.2]paracyclophane (composés (\pm) -3.24 à (\pm) -3.27, analyses spectroscopiques à 10^{-6} dans le DCM **Schéma 38** haut et gauche).²⁷⁰ Bien que 15 coumarines différentes aient été synthétisées en version racémique et qu'une étude spectroscopique complète ait clairement montré le comportement solvatochrome et l'important déplacement de Stokes de ces molécules, notamment pour (\pm) -3.26 et (\pm) -3.27, une seule coumarine énantiopure, (S_p) - et (R_p) -3.25, a été présentée au cours de cette étude. Celle-ci s'est avérée avoir de très bonnes propriétés chiroptiques avec des g_{abs} et g_{lum} de 8×10^{-3} et 5×10^{-3} respectivement (**Schéma 38** droite).

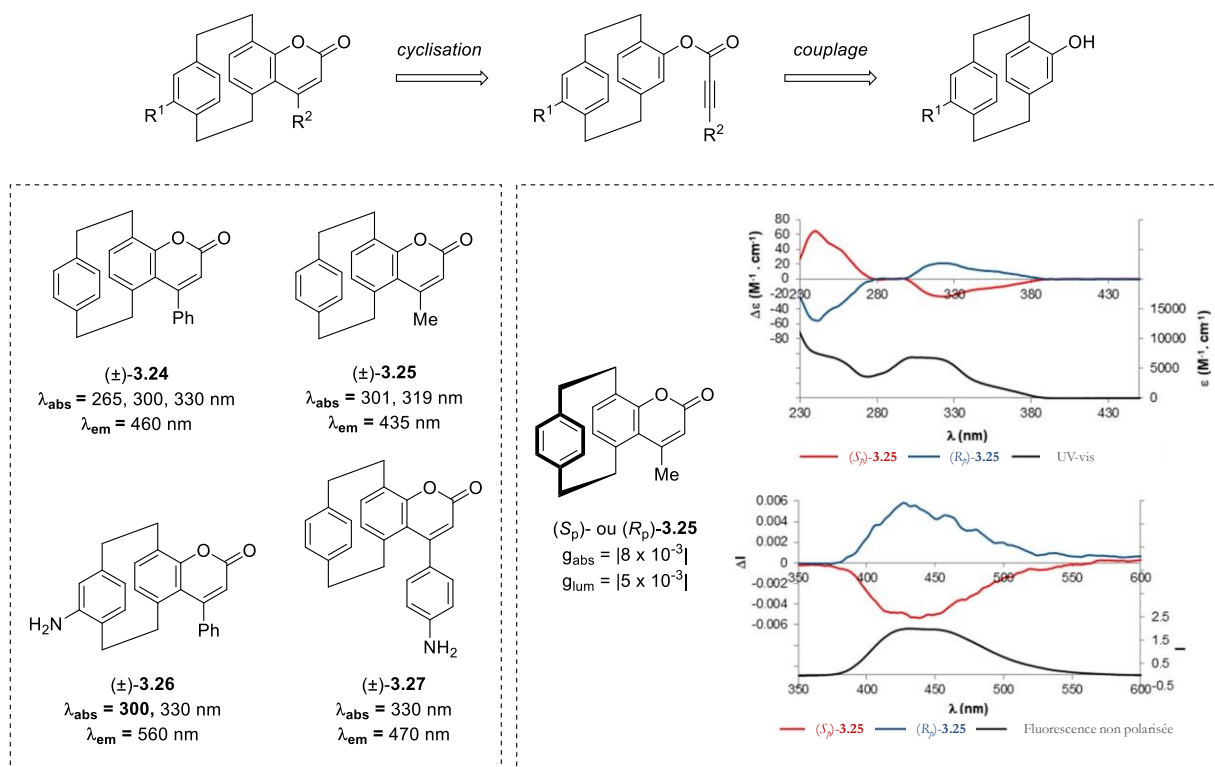


Schéma 38. (Haut) Rétrosynthèse, (gauche) exemples de coumarines dérivées du [2.2]paracyclophane synthétisées par notre équipe ; (droite) propriétés chiroptiques de **3.25**.

Notons, en sus, les travaux récents et remarquables des équipes de Zuo (composés **3.28**, **Figure 40**), Zhao (composés **3.29** et **3.30**) et Mazaki sur les fluorochromes actifs en CPL et en TADF.²⁷¹⁻²⁷⁴ Très récemment, Morisaki et Inoue (composés **3.31**) ont présenté un composé pCp hélicoïdal contraint présentant un excellent g_{abs} de $2,3 \times 10^{-2}$;²⁷⁵ et une monographie complète a aussi très récemment été publiée par Morisaki sur les applications de la spectroscopie CPL aux [2.2]paracyclophanes.²⁷⁶

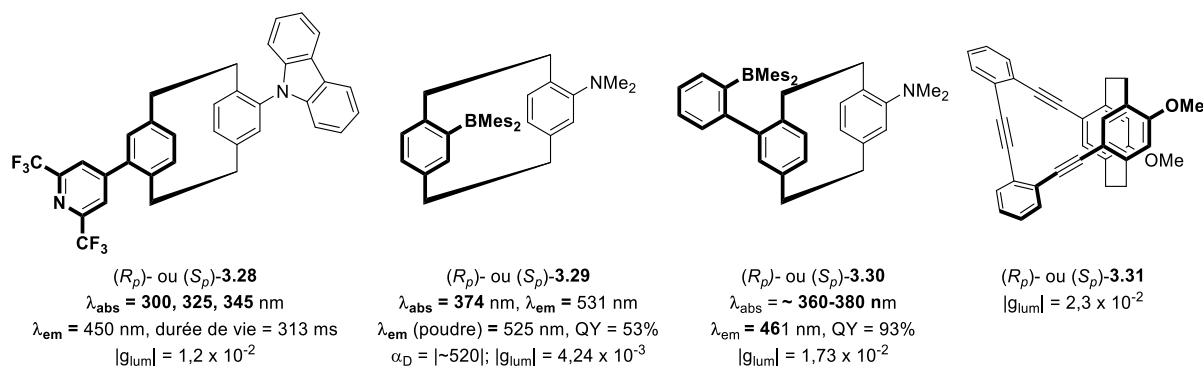


Figure 40. Exemples récents de [2.2]paracyclophanes énantiométriques à émission polarisée

Beaucoup de fluorophores incluant un cœur [2.2]paracyclophane ont donc été produits, étudiés et/ou appliqués, par exemple très récemment par Jiang pour des applications de dopage en chimie des matériaux.²⁷⁷ Mais, à ce jour, aucune application de sonde biologique dérivée du [2.2]paracyclophane n'a été développée à notre connaissance, malgré les propriétés attractives qui lui sont décrites.

II – Analogues du PRODAN à chiralité planaire

II.1 Synthèse des analogues tridimensionnels

II.1.1 Contexte et objectifs

Le PRODAN est un dérivé du naphthalène fluorescent à transfert de charge intramoléculaire substitué par des groupements diméthylamino électrodonneur et propionyl électroaccepteur, en position C₂ et C₆ respectivement. Il s'agit d'un fluorophore solvatochrome notamment utilisé en biologie afin d'étudier la composition et la fluidité des membranes cellulaires, ainsi que les interactions entre différents acides gras et leurs protéines associées.^{278–280} En effet, après excitation par irradiation lumineuse, le changement de son moment dipolaire entraîne d'importantes variations de ses propriétés émissives dans différents solvants (**Schéma 39**).^{281,282}

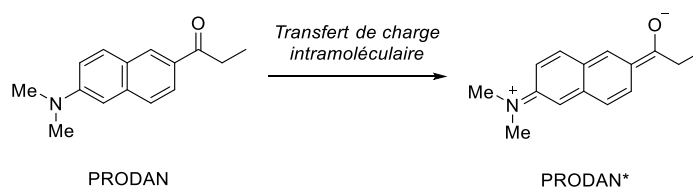


Schéma 39. État excité du PRODAN par transfert de charge intramoléculaire

Dans le cadre de nos recherches sur les fluorophores compacts dérivés du [2.2]paracyclophane, nous avons souhaité évaluer l'influence de la conjugaison à travers l'espace et du modèle de substitution sur les propriétés émissives d'analogues tridimensionnels du PRODAN. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés à la synthèse des pCps *para* et pseudo-*para* disubstitués **3.32** et **3.33** (**Figure 41**).

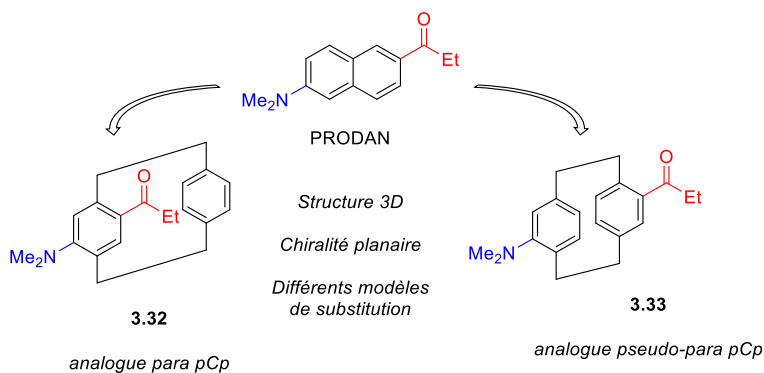


Figure 41. Le PRODAN et ses analogues pCp

II.1.2 Analogue pseudo-para

Une première synthèse de l'analogue tridimensionnel du PRODAN (\pm)-**3.33**, substitué en position pseudo-*para*, a été mise au point lors de la thèse de Marie-Léonie Delcourt avec pour étape clé un couplage de Buchwald-Hartwig (BH) permettant l'introduction d'un groupement amine protégé (Schéma 40).

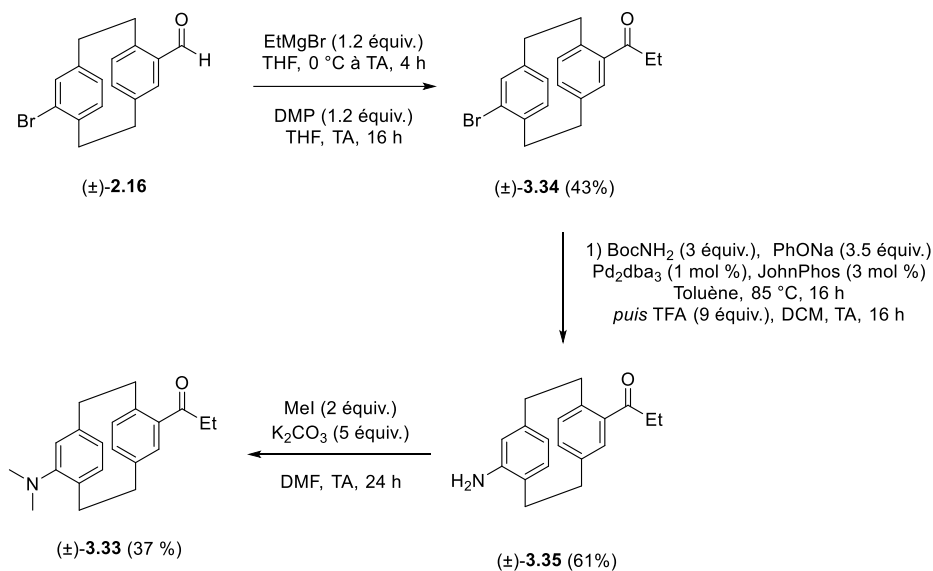


Schéma 40. Synthèse racémique de l'analogue pseudo-*para* pCp du PRODAN

Le composé (\pm)-**2.16**, facilement obtenu par monoformylation du pseudo-*para* 4,16-dibromo[2.2]paracyclophane, est engagé dans une réaction avec du bromure d'éthylmagnésium, et l'alcool résultant est réoxydé en utilisant du periodinane de Dess-Martin (DMP) pendant 16 h à

température ambiante pour obtenir la cétone bromée (\pm)-**3.34** avec un rendement de 43 % sur ces deux étapes. La réaction pallado-catalysée de BH précédemment évoquée procède en présence de carbamate de *tert*-butyl, de phénolate de sodium avec le ligand monophosphine JohnPhos dans le toluène pendant 16h. L'aniline (\pm)-**3.35**, isolé avec 61 % de rendement après déprotection avec de l'acide trifluoroacétique, est ensuite diméthylé à température ambiante par traitement avec du carbonate de potassium et de l'iodure de méthyle pendant 24h. L'analogue pseudo-*para* racémique (\pm)-**3.33** a ainsi pu être obtenu avec 49 % de rendement (environ 13 % de rendement global).

Pour accéder aux deux énantiomères du composé **3.22**, nous avons dû mettre au point une approche synthétique différente reposant sur la réaction de désymétrisation par ATH (**Schéma 18**). Le dialdéhyde centrosymétrique **2.14** a été soumis à la réduction promue par l'un ou l'autre énantiomère du catalyseur de Noyori **2.12** dans un mélange 1:1 *i*PrOH/DMF (**Schéma 41**). Les alcools énantiopurs résultants (*S_p*)- et (*R_p*)-**2.15**, obtenus avec 64 % et 72 % de rendement respectivement, ont ensuite été mis à réagir en présence de bromure d'éthylmagnésium et réoxydés avec du DMP pour donner les produits (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.36** avec des rendements de 72 % et 81 % respectivement sur deux étapes. Ces dérivés ont été convertis en oximes correspondantes (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.37** via une réaction de condensation avec de l'hydroxylamine dans de l'éthanol basique à reflux avec un rendement de 94 % et 81 % respectivement.

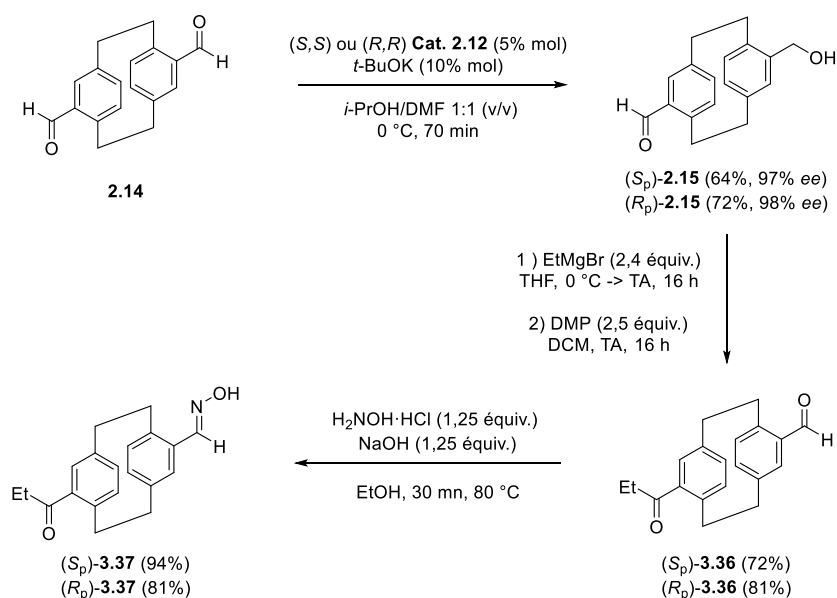


Schéma 41. Synthèse des intermédiaires cétone oxime pseudo-*para* pCp **3.26** énantiopurs

Les composés (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.37** ont été traités avec le réactif de Koser pour générer les anilines correspondantes (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.35** en une seule étape et des rendements de 61 % et 67 % (**Schéma 42**).^{222,223} La diméthylation de la fonction amine a finalement conduit aux analogues tridimensionnels du PRODAN (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.33**, isolés avec des rendements de 80 % et 81 % respectivement.

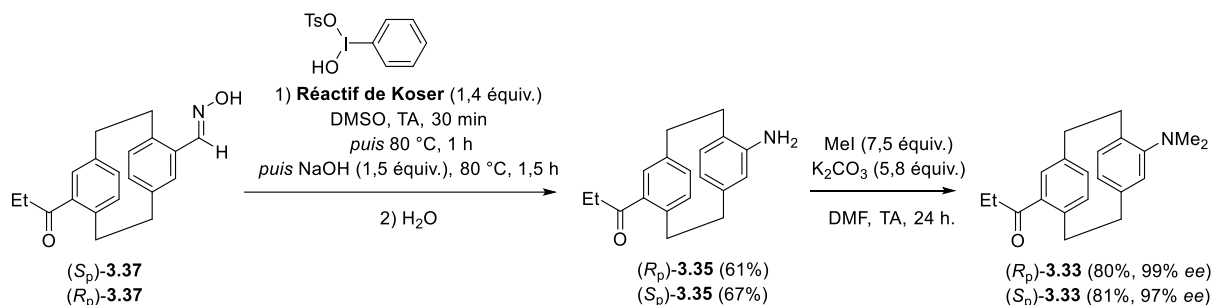


Schéma 42. Synthèse des analogues pseudo-*para* pCp énantiopurs du PRODAN

Une fois ces composés pseudo-*para* obtenus de manière racémique et énantiopure, nous nous sommes tournés vers la synthèse des analogues du PRODAN *para* disubstitués **3.32**.

II.1.3 Analogue *para*

L'analogue *para* disubstitué du PRODAN, dérivé du pCp, a été synthétisé à partir de l'intermédiaire clé **2.38** dont la synthèse a été décrite dans le deuxième chapitre de cette thèse. Par analogie avec les synthèses préalablement réalisées, le produit paraformylé (\pm)-**2.38** a tout d'abord été traité avec du bromure d'éthylmagnésium pour accéder quantitativement au produit (\pm)-**3.38** (**Schéma 43**). Différents agents oxydants ont ensuite été testés pour convertir l'alcool éthylique obtenu en cétone correspondante (\pm)-**3.32** (**Tableau 7**). Cependant, aucune conversion n'a été observée après chaque essai, hormis la dégradation du substrat sous certaines conditions trop dures. Dans ce cas, la présence d'un groupe amino sur les molécules a probablement empêché la réaction de se produire. Des problèmes similaires ont été décrits sur l'analogue plan de **3.38**.²⁸³

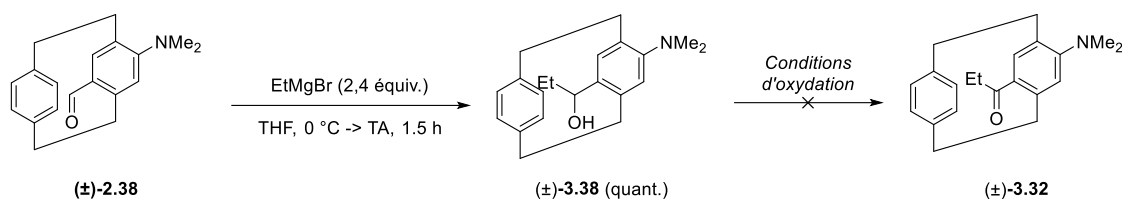


Schéma 43. Voie de synthèse par addition et oxydation envisagée afin d'accéder à l'analogue para pCp du PRODAN

Réactif(s)	Solvant	Durée (h)	T (° C)	Conversion
DMP (2.5 équiv.)	DCM	16	TA	0 %
MnO ₂ (10 équiv.)	DCM	96	TA	0 %
MnO ₂ (10 équiv.)	MeCN	16	80	0 %
DDQ (1.3 équiv.)	DCM	16	25	Dégrad.

Tableau 7. Essais d'oxydation du composé (±)-3.38

D'autres conditions ont donc été évaluées pour accéder au dérivé (±)-3.32. Nous avons, par exemple, envisagé de réaliser une homologation de l'aldéhyde (±)-2.38 afin de former l'alcyne terminal correspondant (±)-3.39 (Schéma 44). En effet, l'obtention de tels dérivés serait hautement souhaitable de par la réactivité spécifique et précieuse en synthèse organique et organométallique des alcynes (coordination, couplage de Sonogashira, cycloaddition de Huisgens et « chimie click », ...).²⁸⁴⁻²⁸⁷ Plus spécifiquement dans le cadre de notre projet, une séquence de substitution, pour obtenir le dérivé propynyl correspondant, suivie d'une hydratation dans différentes conditions possibles,^{288,289} a été considérée pour parvenir au dérivé (±)-3.32. Mais, malgré une bibliographie fournie d'homologations réalisée avec succès sur des dérivés pCp mono-, di- ou tetrasubstitués,²⁹⁰ dans le cas du composé (±)-2.38, la réaction n'a pu avoir lieu et ce quelles que soient les conditions utilisées : réaction de Seyferth-Gilbert avec le réactif de Bestmann-Ohira^{291,292}, réaction de Wittig²⁹⁰ ou de Corey-Fuchs^{293,294} (Tableau 8).

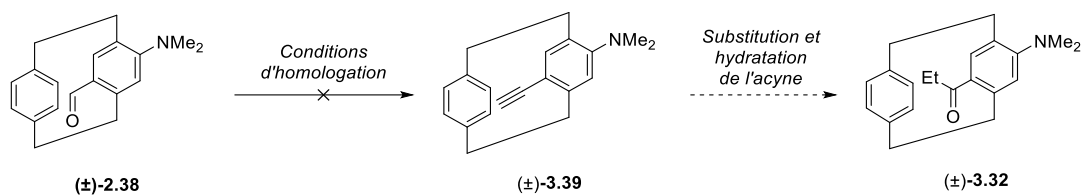


Schéma 44. Voie de synthèse par homologation envisagée afin d'accéder à l'analogue para pCp du PRODAN

Réaction	Réactif(s)	Solvant	Durée	T. (°C)	Conversion
(Seyferth-Gilbert) ^{294,295}	Réactif de Bestmann-Ohira (1.5 équiv.), K ₂ CO ₃ (2 équiv.)	MeOH	48 h	TA	8 %
	Réactif de Bestmann-Ohira (5 équiv.), K ₂ CO ₃ (2 équiv.)	MeOH	26 h	TA	6 %
	Réactif de Bestmann-Ohira (1.5 équiv.), Cs ₂ CO ₃ (2 équiv.)	MeOH	26 h	TA	3 %
	Réactif de Bestmann-Ohira (5 équiv.), Cs ₂ CO ₃ (6 équiv.)	MeOH	26 h	TA	Dégrad.
(Wittig) ²⁹⁰	[Ph ₃ P(MeBr)]Br (2.2 équiv.), ^t BuOK (8 équiv.)	THF	8 h	-78 à 70	Dégrad.
(Corey-Fuchs) ^{293,296}	CBr ₄ (3.5 équiv.), PPh ₃ (3.5 équiv.)	DCM	48 h	TA	0 %
	CBr ₄ (2 équiv.), PPh ₃ (4 équiv.), Zn (4 équiv.)	DCM	48 h	TA	Dégrad.

Tableau 8. Essais d'homologation du composé (±)-3.39

Une troisième voie de synthèse a donc dû être imaginée pour pouvoir accéder au pCp *para* disubstitué analogue du PRODAN. Celle-ci exploite la chimie dite « umpolung », développée par Seebach et Corey,²⁹⁷⁻²⁹⁹ pour former un site nucléophile en lieu et place du carbone électrophile de l'aldéhyde sur la molécule (±)-**2.38** (Schéma 45). L'aldéhyde a ainsi été masqué par un groupement 1,3-dithiane avec un rendement de 93 %, après réaction avec du propane-1,3-dithiol et un acide Lewis, puis un groupement éthyle a pu être introduit, par déprotonation avec du *n*-BuLi et capture de l'anion lithié avec de l'iodure d'éthyle.^{300,301} Le produit quaternaire (±)-**3.40** a été isolé avec 77 % de rendement pour un rendement global de 72 % sur deux étapes. Les dithianes sont cependant notoirement difficiles à déprotéger et notre composé s'est révélé compliqué à transformer malgré nos essais pour accéder au produit souhaité (±)-**3.32** (Tableau 9).^{302,303}

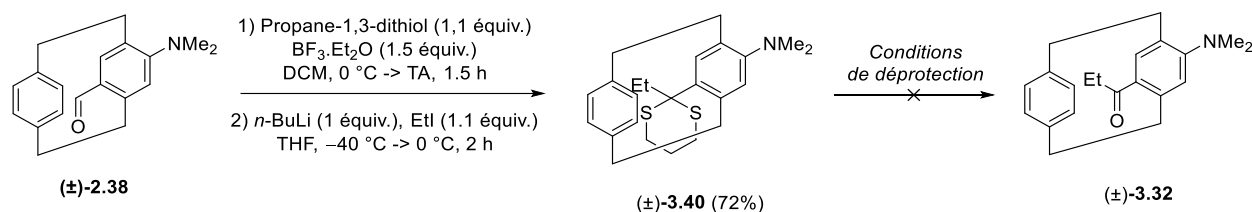


Schéma 45. Voie de synthèse par « umpolung » envisagée afin d'accéder à l'analogue *para* pCp du PRODAN

Réactif(s)	Solvant	Durée	T (°C)	Conversion
NBS (8 équiv.)	MeCN:H ₂ O (7 :1)	2 h	0	0 %
(DMSO)	DMSO	2 h	0	0 %
NaI (20 équiv.), TMSCl (10 équiv.)	MeCN	24 h	60	0 %

Tableau 9. Essais de déprotection du groupement 1,3-dithiane du composé (±)-**3.29**

Finalement, nous avons choisi d'explorer la possibilité d'accéder au composé (±)-**3.32** par isomérisation de la double liaison d'un alcool allylique (Schéma 46).^{304,305} Tout d'abord, nous avons engagé le composé (±)-**2.38** dans une réaction avec du bromure de vinylmagnésium pour former l'intermédiaire souhaité (±)-**3.41** (non isolé, conversion complète par RMN ¹H). En réalisant l'isomérisation de la double liaison de ce composé, l'état d'oxydation de la molécule n'est pas altéré,

contrairement à la séquence synthétique précédemment décrite reposant sur l'intermédiaire (\pm)-**3.38** (**Schéma 43**). Cette nouvelle stratégie s'est révélée efficace. En effet, la réaction d'isomérisation a pu être effectuée en utilisant comme catalyseur le dihydrure de ruthénium formé *in situ* lors de l'activation du précatalyseur dichloré avec 2 équivalents de *n*-BuLi.³⁰⁶ Après introduction d'une solution du substrat (\pm)-**3.41** et chauffage à reflux dans le THF pendant 16h, le produit (\pm)-**3.32** a pu être isolé avec 33 % de rendement.

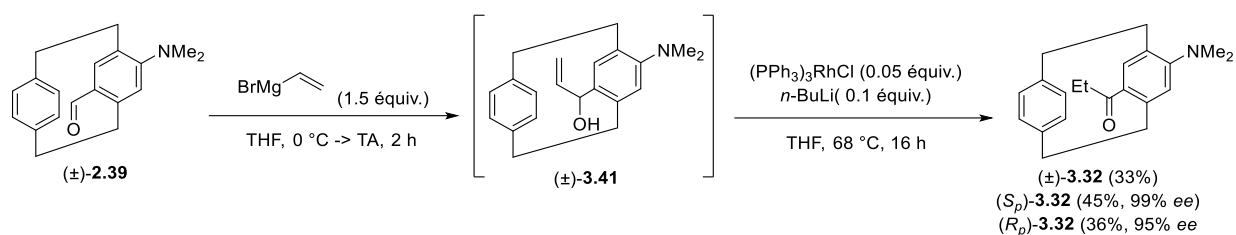


Schéma 46. Synthèse de l'analogue *para* pCp du PRODAN

Une fois son efficacité prouvée, cette voie de synthèse a également été utilisée pour accéder aux analogues du PRODAN (S_p)- et (R_p)-**3.32** à partir des aldéhydes énantiopurs (S_p)- et (R_p)-**2.38** (**Schéma 46**). Ayant obtenu les différents analogues tridimensionnels du PRODAN souhaités, en version racémique et énantiopure, nous avons entrepris d'en analyser les propriétés spectroscopiques et chiroptiques comparativement au PRODAN plan disponible commercialement.

II.2 Propriétés physico-chimiques

II.2.1 Propriétés spectroscopiques

En solution dans le DCM (10^{-5} M), les maxima d'absorption et de fluorescence de l'analogue à base de pCp disubstitué en *para* (\pm)-**3.32** se sont avérés être localisés à 350 nm et 437 nm respectivement, comme le PRODAN disponible commercialement, le léger décalage vers le bleu de (\pm)-**3.32** étant la conséquence logique du chemin de conjugaison plus court (**Figure 42**). En revanche, le dérivé disubstitué pseudo-*para* (\pm)-**3.33** a montré un spectre d'absorption décalé vers le bleu avec une bande plus faible autour de 328 nm, ainsi qu'une émission décalée vers le rouge culminant à 542 nm (**Figure 43**). En conséquence, un déplacement de Stokes extrêmement important de 214 nm a été obtenu pour ce composé. Une telle valeur extrême peut s'expliquer par la grande relaxation géométrique d'un état excité à fort caractère dipolaire. Les deux chromophores à base de pCp ont

montré de faibles rendements quantiques de fluorescence dans le DCM (1 % et <0,1 % pour (±)-**3.33** et (±)-**3.32** respectivement). Le rendement quantique inférieur de ces dérivés par rapport au PRODAN plan provient de la flexibilité accrue des colorants et des voies non radiatives associées (**Figure 32**). De plus, pour (±)-**3.33**, les calculs théoriques montrent que l'état d'émission devient beaucoup moins dipôle autorisé (force de l'oscillateur largement diminuée par rapport à (±)-**3.32** et PRODAN), et on observe par conséquent une diminution du taux d'émission radiative.

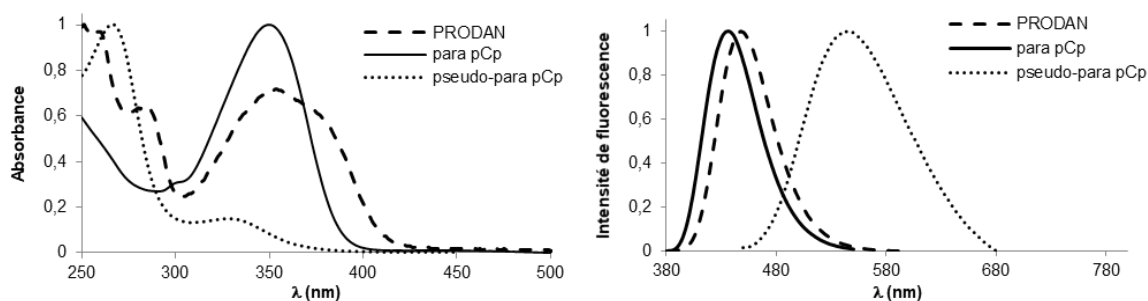


Figure 42. Spectres d'absorption et d'émission des composés étudiés

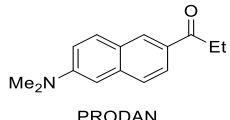
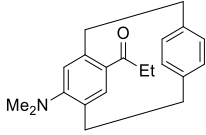
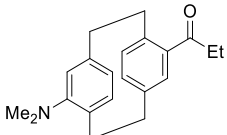
Composé	Solvant	λ_{em} (nm)
 PRODAN	toluène	416
	1,4-dioxane	422
	DCM	446
	MeCN	455
	EtOH	485
 (±)- 3.32	toluène	424
	1,4-dioxane	425
	DCM	437
	MeCN	440
	EtOH	458
 (±)- 3.33	toluène	486
	1,4-dioxane	506
	DCM	542
	MeCN	/
	EtOH	/

Figure 43. Maxima d'émission des composés étudiés dans différents solvants

Le comportement solvatochrome des composés (\pm)-**3.32** et (\pm)-**3.33** a également été examiné et rapporté dans le tableau ci-contre (**Figure 43**). Comme prévu, l'augmentation de la polarité du solvant a entraîné de clairs décalages vers le rouge des spectres d'émission pour les deux analogues tridimensionnels du PRODAN à base de pCp. Le composé *para*-substitué (\pm)-**3.32** a montré un solvatochromisme moins prononcé par rapport au PRODAN disponible commercialement (34 nm vs 69 nm du toluène à l'éthanol). Le dérivé pseudo-*para* substitué (\pm)-**3.33**, quant à lui, subit une extinction de fluorescence dans l'acétonitrile et l'éthanol. Même ainsi, ce chromophore a montré des maxima d'émission à 486 nm dans le toluène et 542 nm dans le dichlorométhane, correspondant à un fort décalage vers le rouge de ses bandes (jusqu'à 56 nm, du toluène au DCM, vs 30 nm pour le PRODAN plan dans les mêmes solvants). Notons que, de manière assez intéressante, le dérivé pCp (\pm)-**3.33** s'est avéré présenter une fluorescence améliorée à l'état solide (cf. partie expérimentale). En effet, après excitation à 360 nm, une large bande d'émission a été observée avec un maximum à 480 nm. Un rendement quantique absolu de 9 % a pu être mesuré par la Dr Jeanne Crassous. Cet effet d'augmentation des émissions induit par l'agrégation provient probablement d'une organisation se produisant à l'état solide qui diminue l'efficacité des voies non radiatives. En bref, nos résultats montrent clairement que les propriétés photophysiques des analogues de PRODAN à base de pCp sont fortement influencées par les interactions à travers l'espace et peuvent facilement être modulées en modifiant la position relative des groupes électrodonneurs et électroattracteurs sur les deux groupes aromatiques du [2.2]paracyclophane.

II.2.2 Calculs thoriques

Afin de mieux comprendre nos observations expérimentales sur le comportement photophysique des dérivés pCp du PRODAN, nous avons entrepris une étude théorique sur les états excités de nos composés. Ces explications sont le résultat de notre collaboration avec le Dr Denis Jacquemin (Université de Nantes).

Afin d'approfondir la photophysique des composés « phane », un benchmark des fonctions d'échange-corrélation sur la sonde PRODAN disponible dans le commerce (voir partie expérimentale, **table S1**) a été effectué en utilisant les données expérimentales des composés **3.32** et **3.33** pour sélectionner la fonction ω B97X-D. Dans le DCM, le *para* pCp **3.32** présente des caractéristiques similaires à celles du PRODAN disponible commercialement (**Figure S4** et **table S5**), la première excitation étant un transfert de charge π - π^* , on observe le passage d'un caractère purement HOMO à

un caractère LUMO accompagné d'une forte augmentation du moment dipolaire (+4,92 D). À titre de comparaison, dans le PRODAN plan, l'excitation apparaît légèrement décalée vers le rouge (+12 nm par rapport à **3.32**), avec une augmentation légèrement plus importante du moment dipolaire lors de l'excitation (+5,79 D). Ces résultats sont conformes aux tendances expérimentales. Les orbitales frontières de **3.32** sont situées, comme prévu, sur la fraction aminée (HOMO) et la cétone (LUMO), d'où la différence de densité électronique (EDD) ne montre aucune implication du pCp phényle sur cette transition (**Figure 44**). En diminuant la polarité du solvant, cet état CT π - π^* est déstabilisé donc décalé vers le bleu, ce qui se traduit par un mélange d'états et d'intensité empruntant aux états d'énergie plus élevés n- π^* (**Table S3**) encore accentués par les formes proches de la perte et du gain de zone de densité électronique des EDD S1 et S2 dans le 1,4-dioxane (**Figure S3**). Dans le DCM, l'état CT relaxé se situe à 3,19 eV au-dessus de l'état fondamental, conduisant à une émission à environ 389 nm est calculé (**Table S5**), similaire à celui de PRODAN commercial. Le mélange d'états intense nous a empêchés d'optimiser les géométries d'états excités dans un solvant moins polaire.

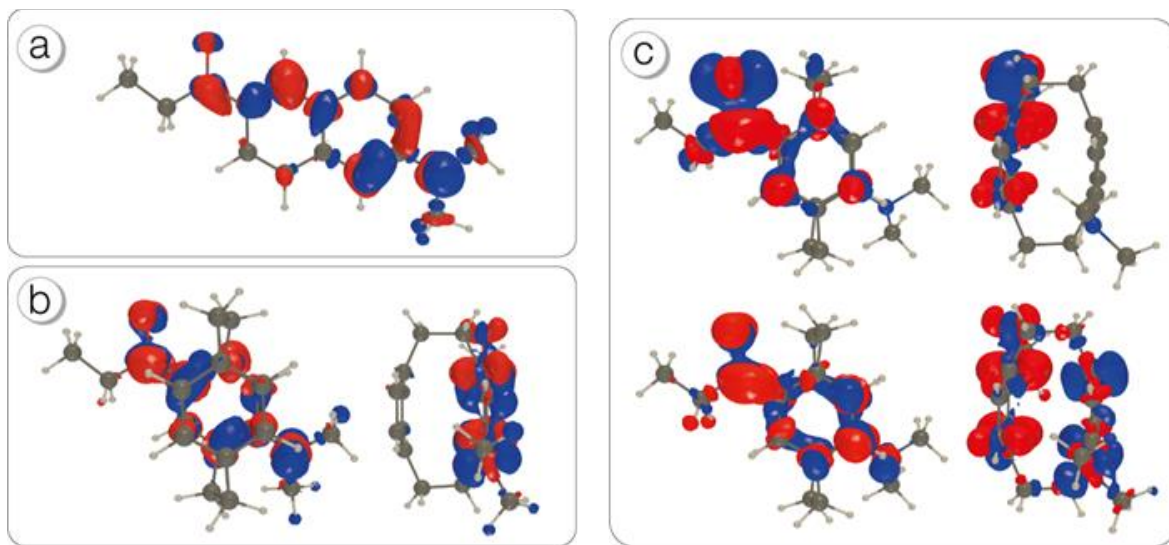


Figure 44. Représentation des EDD dans le DCM pour les états : (a) S1 du PRODAN, (b) S1 de l'analogue *para* **3.32**, (c), en haut, S1 et, en bas, S2 de l'analogue *pseudo-para* **3.33**.

Les transitions vers les états excités les plus bas du composé **3.33** présentent de petites forces d'oscillateur, et la première transition intense correspond aux cinquième et sixième états excités dans le DCM (**Figure S6-S8**). Ceci explique le décalage vers le bleu de la bande d'absorption remarquée expérimentalement. En étudiant l'émission, nous avons remarqué que les deux états excités les plus

bas ont des énergies similaires au point de corrélation de fluorescence (FC). Comme on peut le voir sur la **Figure 44**, le S1 est une excitation locale n- π^* sur l'aromatique substitué par la cétone, tandis que l'état S2 correspond à un fort CT entre les deux systèmes annulaires. Il s'agit en fait de l'excitation HOMO à LUMO, ces deux orbitales frontières étant localisées sur des cycles différents (**Figures S7 et S8**). Cette excitation de type CT induit une forte augmentation du moment dipolaire ($\Delta\mu = +6,65$ D dans le DCM). Lors de l'optimisation des deux états excités les plus bas dans le DCM, on constate logiquement un échange d'état, la seconde excitation au point FC devenant la plus basse après relaxation géométrique. Pour **3.33**, les états les plus bas absorbants et émissifs sont donc de nature totalement différente. Le déplacement de Stokes expérimental extrêmement fort enregistré dans le DCM, expliqué par cette particularité, est également reproduit quantitativement par les calculs. En effet, l'état de fluorescence hautement polaire est fortement stabilisé avec une émission calculée à 510 nm. Cela correspond à un décalage de Stokes de $12\,650\text{ cm}^{-1}$ dans le DCM, ce qui s'avère parfaitement conforme aux mesures. Finalement, nous notons que la force de l'oscillateur de cet état est faible ($f=0,011$ contre $f=0,431$ pour **3.32**), cohérent avec le très faible QY d'émission observé expérimentalement pour **3.33**.

II.2.3 Propriétés chiroptiques et impact du modèle de substitution

Après cette étude expérimentale et théorique sur les propriétés spectroscopiques du PRODAN et de ces analogues pCp racémiques, grâce à une collaboration avec la Dr Jeanne Crassous, nous avons pu analyser les propriétés chiroptiques (CD et CPL) des composés énantiopurs (S_p)- et (R_p)-**3.32**, et (S_p)- et (R_p)-**3.33** synthétisés préalablement.

Les spectres CD des paires énantiomères, **3.32** et **3.33** susmentionnées, enregistrés dans le DCM affichent des relations d'image miroir typiques des effets Cotton (solutions à 10^{-3} M dans le DCM, **Figure 45**). Plusieurs bandes actives en CD d'intensité modérée sont observées, par exemple à 250 nm ($\Delta\epsilon = -18\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), 272 nm ($+15\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), 304 nm ($-5\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), 334 nm ($+2\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) et 365 nm ($-1\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) pour (S_p)-**3.33** et à 230 nm ($\Delta\epsilon = -48\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), 255 nm ($-35\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), 285 nm ($+9\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), 322 nm ($+7\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) et 352 nm ($+17\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) pour (S_p)-**3.32**. Dans l'ensemble, les formes CD pour les analogues *para*- et pseudo-*para* pCp sont différentes, et les principales caractéristiques générales sont reproduites par la théorie (**Figure S6 et S10**).

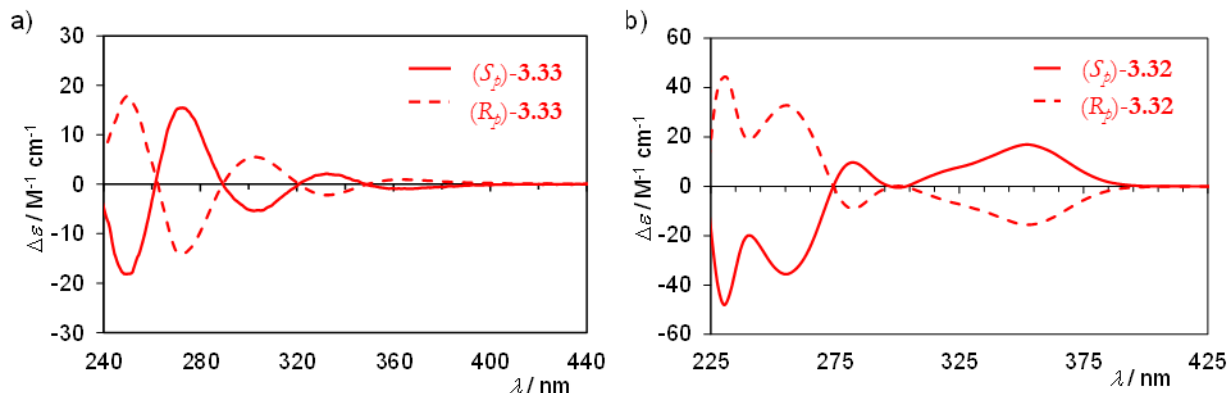


Figure 45. Spectres CD des composés : a) (S_p)- et (R_p)-**3.33**, b) (S_p)- et (R_p)-**3.32**

L'activité CPL d'échantillons énantiomériques de **3.32** et **3.33** a également été étudiée (solutions à 10^{-5} M dans le toluène, **Figure 46**). Cependant, en raison des faibles rendements quantiques de fluorescence et de solubilité dans le toluène, les signaux CPL semblaient difficiles à enregistrer et seule la paire énantiomère (S_p)- et (R_p)-**3.33** dans le toluène a donné des signatures CPL en image miroir nettes (**Figure 46**), avec des facteurs de dissymétrie g_{lum} de 4×10^{-3} ($\lambda_{exc} = 350$ nm, $\lambda_{em} = 486$ nm, signal positif pour l'énantiomère (S_p)). Ces valeurs sont en accord avec celles déjà rapportées pour des substrats analogues.^{249,19,276} Les tentatives de mesure du CPL à l'état solide ont échoué.

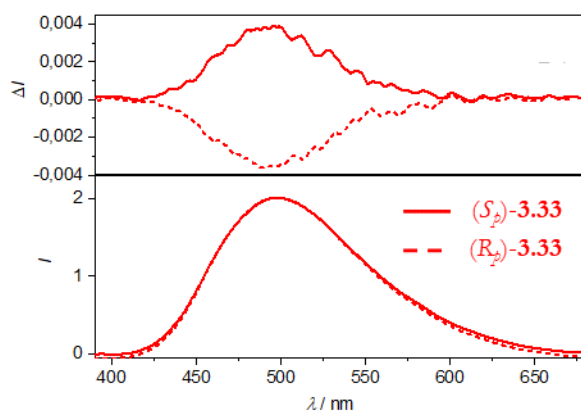


Figure 46. Spectres CPL en image miroir du (S_p)- et (R_p)-**3.33**

Une autre spectroscopie chiroptique intéressante pour les dérivés pCp est le dichroïsme circulaire vibratoire (VCD), qui peut donner accès à une empreinte riche dans la région infrarouge (IR) et permettre de faire la distinction entre différents régioisomères.^{150,307,308} En règle générale, de

nombreuses bandes actives en spectroscopie IR affichent des signes positifs ou négatifs sur un spectre VCD, leur comparaison avec les spectres calculés par DFT peut fournir des informations importantes sur les conformations et les caractéristiques structurales.^{309,310,251} Ainsi, les spectres IR et VCD expérimentaux des énantiomères pseudo-*para* **3.33** et *para* pCp **3.32** ont été mesurés et comparés (solutions à 10^{-1} M dans le DCM, 200 μm de trajet optique, **Figure 47**).

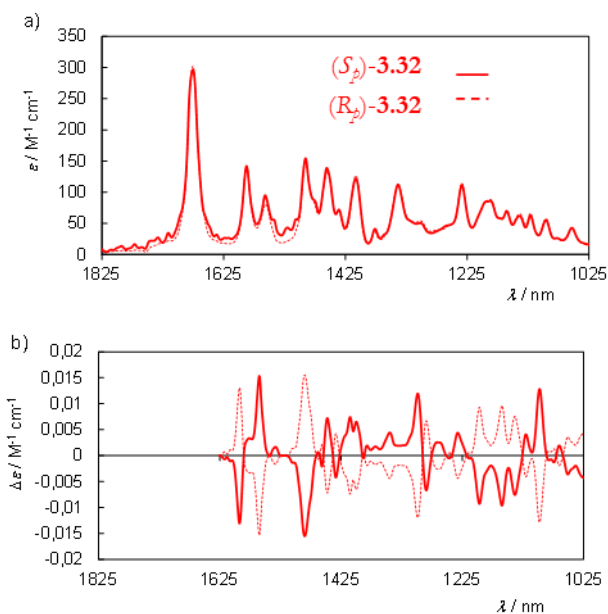


Figure 47. Spectres a) IR et b) VCD à image miroir de (S_p)- et (R_p)-**3.33**

Les deux composés présentent un ensemble de plusieurs bandes IR d'intensité modérée et une bande forte autour de $1655\text{-}1675\text{ cm}^{-1}$ caractéristique du mode d'élongation du groupement carbonyle (**Figure 47a**, **Figure S11** et **S12**). Ces caractéristiques sont reproduites par les calculs (**Figure S12**). Alors que de beaux spectres VCD expérimentaux à image miroir ont été enregistrés dans le DCM pour (S_p)- et (R_p)-**3.22** (**Figure 47b**) et ont affiché plusieurs empreintes claires entre 1025 cm^{-1} et 1625 cm^{-1} alors que celles de (S_p)- et (R_p)-**3.32** étaient beaucoup moins résolues et d'intensité beaucoup plus faibles (**Figure S12**), mettant ainsi à nouveau en évidence des différences claires entre les deux régioisomères. Le mode d'élongation C=O était trop fort pour permettre les mesures VCD en raison de la saturation. Les calculs par DFT révèlent deux conformères pour **3.32** et **3.33** en fonction de l'orientation des groupes carbonyle (**Figure S2**), mais les nombreuses conformations possibles des chaînes éthyle n'ont pas été prises en compte dans les calculs DFT. De toute évidence, le spectre calculé par la moyenne de Boltzmann ressemble étroitement à ceux expérimentaux (**Figure S12** et **S2**). Les

spectres VCD simulés reproduisent les principales caractéristiques de (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.33** entre 1 625 cm⁻¹ à 1 025 cm⁻¹, mais aussi celles de (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.32** avec la bonne alternance et forme des pics positifs et négatifs entre 1 025 cm⁻¹ et 1 150 cm⁻¹ et 1 550 cm⁻¹ à 1 625 cm⁻¹ (**Figure S5** et **S9**).

II.2.4 Conclusion

Dans la seconde partie de ce chapitre III, nous avons décrit la synthèse d'analogues tridimensionnels différemment substitués du PRODAN sur la base d'un motif [2.2]paracyclophane. Les composés à base de pCp incorporent un groupe diméthylamino donneur d'électrons et un fragment propionyle attracteur d'électrons à leurs positions *para* ou pseudo-*para*. Les propriétés photophysiques des nouveaux colorants varient considérablement en fonction de leurs modes de substitution. Le dérivé pseudo-*para* **3.33** a révélé un comportement solvatochrome accru par rapport au PRODAN commercial, ainsi que des propriétés chiroptiques intéressantes tant en absorption (CD ou VCD) qu'en émission (CPL, $g_{lum} = 4 \times 10^{-3}$), malgré un faible rendement quantique de fluorescence. En revanche, l'absorption UV-Vis non polarisée et l'émission de fluorescence de l'analogue pCp **3.32** *para*-substitué se sont révélées similaires à celles de PRODAN plan, même si un rendement quantique significativement inférieur a été observé. Des spectres CD et VCD moins résolus ont été enregistrés pour le dérivé du pCp **3.32**, et aucune émission de lumière circulairement polarisée n'a pu être détectée. Des études théoriques ont été menées pour rationaliser les processus photophysiques et ont confirmé que les états absorbant et émissif les plus bas des composés **3.33** et **3.32** ont une nature totalement différente. Ces résultats nous permettent de conclure que, pour cette série de composés, des comportements solvatochromes et chiroptiques plus prononcés sont observés lorsque les deux substituants sont placés sur les deux cycles du noyau pCp dans un arrangement non continu (composé **3.33**). Ce travail démontre que le passage d'une structure plane à une structure tridimensionnelle élargit l'espace photophysique qui peut être exploré en jouant sur les effets de substitution. Cette observation peut être particulièrement utile pour la conception de nouveaux chromophores à base de pCps avec des propriétés photophysiques finement contrôlées.³¹¹

III – Ligands dicétones : synthèse de fluorophores chiraux

III.1 Synthèse des ligands acétylacétonates énantiopurs

III.1.1 Contexte et objectifs du projet

Les ligands acétylacétonates sont particulièrement utilisés en chimie inorganique pour leurs propriétés chélatantes.³¹² Ce sont de bons ligands oxygénés présentant une structure conjuguée après déprotonation de par leur structure tautomérique. Leur appellation dérive de l'acétylacétone ou propane-2,4-dione **3.42** (Schéma 47). Parmi leurs nombreuses applications, les ligands dicétones sont à l'origine de fluorophores de type bodipy, ceux-ci étant notamment utilisés pour la conception de sondes biologiques.³¹³⁻³¹⁶

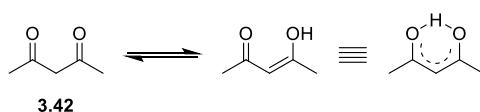


Schéma 47. Équilibre tautomérique de l'acétylacétone **3.31**

Pour ce projet, nous avons envisagé d'utiliser le [2.2]paracyclophane comme motif élémentaire pour accéder à de nouveaux fluorophores chiraux compacts incorporant des motifs dicétones dissymétriques complexés par des atomes de bore substitués. L'introduction de cet élément structural devrait induire un déplacement bathochrome des bandes d'absorption et d'émission des nouveaux composés fluorescents par rapport à celles du pCp non substitué. L'absorption et l'émission de tels pCp fluorescents devraient ainsi se situer au-delà de la région d'auto-fluorescence des biomolécules. Les complexes chiraux à base de bore pourraient posséder des propriétés chiroptiques (dichroïsme circulaire et émission de luminescence circulairement polarisée) très utiles en vue du développement de nouvelles sondes pour l'étude de milieux biologiques.

La synthèse de ligands dicétones basés sur des motifs pCps a déjà été réalisée en version racémique par Belokon et Rozenberg à la fin des années 1990, puis utilisée pour la conception de fluorochromes de type bodipy par Trofimov et Ikeda plus récemment.³¹⁷⁻³¹⁹

La stratégie de synthèse utilisée précédemment pour l'obtention de ce type de composés en version racémique débute avec l'aldéhyde (\pm)-**2.4** comme substrat de départ pour obtenir la cétone

méthylée correspondante avant condensation de Claisen avec un ester méthylique permettant l'accès aux dicétones correspondantes qui seront complexés avec du diéthyléthérate de trifluorure de bore pour donner les fluorochromes **3.43**. Grâce à notre méthodologie de dédoublement cinétique par ATH de l'aldéhyde pCp (\pm)-**2.4**, nous pouvons aisément envisager d'utiliser la même séquence réactionnelle pour accéder aux dérivés énantiopurs (S_p)- et (R_p)-**3.32** (Schéma 48).

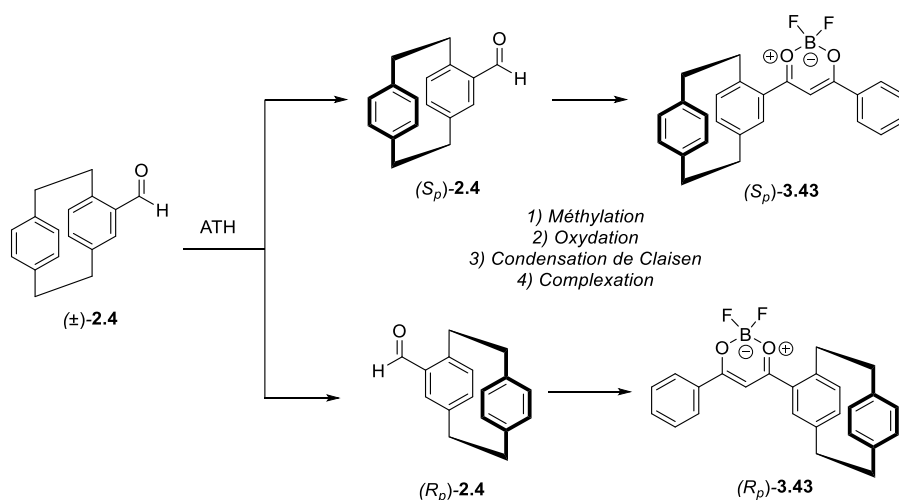


Schéma 48. Stratégie synthétique envisagée pour l'obtention des composés (S_p)- et (R_p)-**3.32**

Ce projet, et particulièrement la synthèse des ligands dicétones phényles et des complexes fluorés **3.43**, a été mené à bien par Damian Contant que j'ai eu le plaisir d'encadrer lors de son stage de L3 au sein de notre laboratoire.

III.1.2 Synthèse des ligands et diversification

Comme décrit précédemment, la synthèse des ligands dicétones dérivés du pCp débute avec le dédoublement cinétique de l'aldéhyde **2.4**. Une fois l'aldéhyde énantiopur obtenu, une séquence classique d'addition avec du bromure de méthylmagnésium suivie d'une réaction d'oxydation avec du DMP permet l'obtention des dérivés cétones (S_p)- et (R_p)-**2.1** avec 83 % et 70 % de rendement sur deux étapes respectivement (Schéma 49). Le groupement dicétone est ensuite formé à partir des cétones obtenues par condensation de Claisen avec l'ester **3.44**. Après traitement par de l'hydrure de sodium, l'anion formé est mis en présence de benzoate de méthyle dans le THF à reflux pendant 24h. À la suite d'un traitement aqueux, les ligands dicétones phényles (S_p)- et (R_p)-**3.45** sont isolées avec un rendement de 69 % et 64 % respectivement (18 % et 13 % de rendement global).

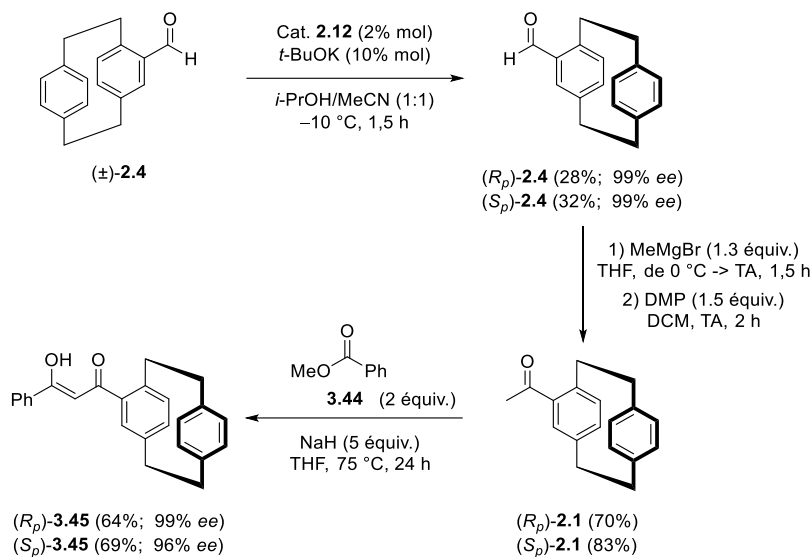


Schéma 49. Synthèse des ligands dicétones phényles comprenant un motif pCp

À la suite de cette synthèse réussie, nous avons souhaité utiliser un ester différent dans la dernière étape de cette séquence afin d'obtenir deux paires de ligands énantiopurs à comparer dans nos études. Pour cela, les cétones **2.1** ont à nouveau été engagées dans une condensation de Claisen en utilisant le *p*-méthoxybenzoate de méthyle comme partenaire réactionnel, dans le but d'ajouter un groupement électrodonneur à nos ligands. Ces produits (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.46** ont pu être isolés avec des rendements de 76 % et 83 % respectivement (Schéma 50).³²⁰

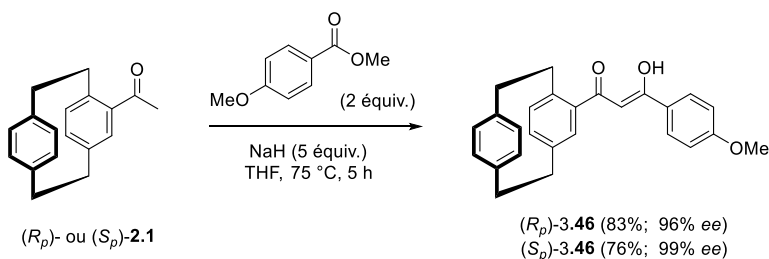


Schéma 50. Condensation de Claisen pour l'obtention de ligands dicétones différemment substitués

Les ligands dicétones **3.45** et **3.46** ont ensuite été utilisés pour former différents fluorophores énantiopurs dérivés de bore, mais aussi des complexes de lanthanides dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Dr Olivier Maury (ENS Lyon).

III.2 Fluorochromes synthétisés et propriétés spectroscopiques

III.2.1 Fluorophores organiques : *bodipy*

À partir des ligands dicétones **3.45** et **3.46**, nous avons synthétisé plusieurs fluorophores par réaction avec différents dérivés borés. Comme présenté dans le **Schéma 48**, nous avons tout d'abord souhaité produire des dérivés bodipy difluorés. De même que pour la synthèse des ligands, les bodipy **3.43** ont été décrits en version racémique par Ikeda. Afin de reproduire leurs résultats en utilisant nos ligands énantiopurs, nous avons engagé les composés (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.45** dans une réaction de complexation avec du diéthyléthérate de trifluorure de bore (**Schéma 51** et **Tableau 10**). À la suite de cette étape, les bodipy (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.43** ont été obtenus avec d'excellents rendements. La même réaction de complexation, à reflux cette fois, a ensuite été réalisée avec succès en utilisant les ligands (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.46**, et les deux énantiomères (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.47** ont été isolés avec des rendements de 90 % et 98 % respectivement (**Tableau 10**).

En employant du triphénylborane et les mêmes conditions que précédemment, dans le toluène à reflux, les différents énantiomères des bodipy substitués par des groupements phényles **3.48** et **3.49** ont été obtenus avec des rendements allant de 62 % à 85 %. Par la suite, nous avons souhaité produire un analogue de ces dérivés comportant un atome de fluor en *para* des substituants phényles afin d'en moduler les effets électroniques. Le borane correspondant n'étant pas disponible commercialement, nous avons synthétisé le composé **3.50** selon une procédure précédemment publiée.³²¹ Celle-ci emploie le bromure de *p*-fluorobenzène-magnésium et du diéthyléthérate de trifluorure de bore dans le diéthyl éther (Et₂O) à 0 °C afin de produire le composé instable **3.50**. Après évaporation du solvant, le solide gris résultant est rapidement engagé dans la réaction de complexation avec le ligand dicétone pCp dans le DCM pendant 3h à température ambiante. Les dérivés (*S_p*)- et (*R_p*)-**3.51** ont été isolés avec 25 % et 14 % de rendement respectivement. Ces deux produits se sont avérés être non luminescents et les ligands **3.46** n'ont donc pas été utilisés pour cette réaction.

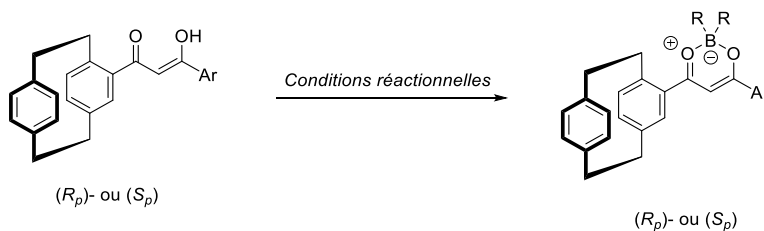
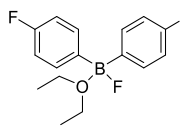


Schéma 51. Synthèse des différents dérivés bodipy pCp

Substrat	Ar	R	Conditions réactionnelles	Produit : Rdt, ee
3.45	Ph	F	BF ₃ ·Et ₂ O (1.9 équiv.), toluène, 120 °C, 18 h	(S _p)- 3.43 : quant., 99 %
				(R _p)- 3.43 : 93 %, 99 %
				(S _p)- 3.47 : 90 %, 96 %
3.46	<i>p</i> -OMePh			(R _p)- 3.47 : 98 %, 95 %
3.45	Ph	Ph	BPh ₃ (5 équiv.), toluène, 120 °C, 18 h	(S _p)- 3.48 : 62 %, - * %
				(R _p)- 3.48 : 68 %, - * %
				(S _p)- 3.49 : 64 %, 97 %
3.46	<i>p</i> -OMePh			(R _p)- 3.49 : 85 %, 95 %
3.45	Ph	<i>p</i> -FPh	 3.50	(S _p)- 3.51 : 25 %, 95 %
				(R _p)- 3.51 : 14 %, 80 %
			(5 équiv.), DCM, TA, 3 h	

* Ces composés n'ont pu être séparés par HPLC

Tableau 10. Récapitulatif des différents bodipy pCp synthétisés

III.2.3 Propriétés spectroscopique et chiroptiques des bodipy pCp

Les propriétés spectroscopiques des ligands et fluorophores synthétisés ont ensuite été analysées par spectroscopie UV-visible et de fluorescence (solution dans le CHCl₃ à 10⁻⁵ M et 10⁻⁶ M respectivement, **Tableau 11**). On remarque tout d'abord que les longueurs d'onde maximales en absorbance, à environ 360 nm, et en émission, à 435 nm, des deux ligands **3.45** et **3.46** sont très similaires. La présence du groupement dicétone électroattracteur déplace comme attendu la bande cyclophane vers le rouge de 30-40 nm. En émission, les deux composés présentent une bande intense à 435 nm avec un bon déplacement de Stokes de 80 nm. L'addition d'un groupement *p*-OMe sur la portion dicétone ne semble pas avoir d'influence sur les propriétés spectroscopiques des ligands [2.2]paracyclophane.

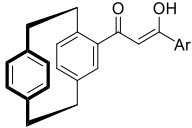
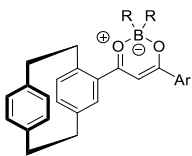
Composé	Ar, R	λ_{abs} max (nm)	λ_{em} max (nm)	
	3.45	Ph, Ø	354	435
	3.46	p-OMePh, Ø	360	435
	3.43	Ph, F	320, 390	550
	3.47	p-OMePh, F	330, 408	535
	3.48	Ph, Ph	285, 405	-
	3.49	p-OMePh, Ph	325, 411	-
	3.51	Ph, <i>p</i> -FPh	270, 405	-

Tableau 11. Propriétés spectroscopiques des dés dérivés dicétones et bodipys pCp synthétisés

Les différents bodipy synthétisés présentent tous une absorption déplacée, par rapport à leurs ligands respectifs, aux alentours de 410 nm ($\Delta\lambda$ de 30-50 nm). Les dérivés **3.48**, **3.49** et **3.51** se sont avérés très faiblement ou non luminescents. En revanche, les bodipy difluorés **3.43** et **3.47** présentent tous deux une bande de fluorescence intense à 550 nm et 535 nm respectivement, ce qui correspond à d'importants déplacements de Stokes de 160 et 127 nm respectivement. Le QY du composé **3.47** dans le DCM a pu être calculée à 2,6 %, par comparaison avec l'anthracène dans le cyclohexane.

Nous avons ensuite pu étudier les propriétés chiroptiques (CD et CPL) des quatre composés présentant des émissions de fluorescence intéressantes (**3.45**, **3.46**, **3.43** et **3.47**) – en collaboration avec la Dr Jeanne Crassous. Les spectres CD enregistrés présentent des images miroir nettes de chacun des énantiomères de chaque composé (solutions dans le DCM à une concentration de 10^{-4} ou 10^{-5} M, **Figure 48**). Nous avons aussi pu calculer de bons g_{abs} allant jusqu'à 4×10^{-3} pour les bodipy **3.47** contre environ $1,5 \times 10^{-3}$ pour les ligands **3.45** et **3.46** et 3×10^{-3} pour **3.43**.

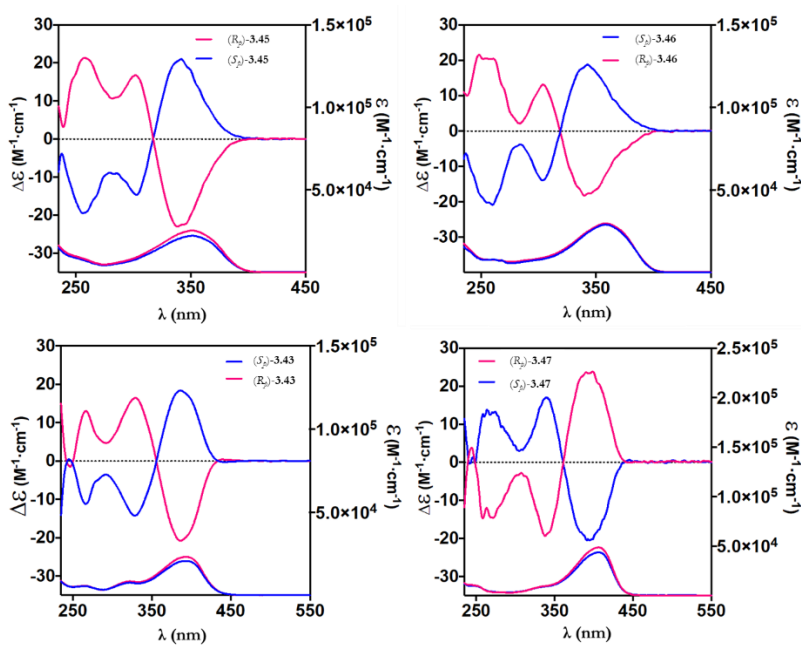


Figure 48. Spectres CD des composés dicétones et bodipy

Dans un second temps, des spectres CPL des deux bodipy **3.43** et **3.47** ont été enregistrés (solutions dans le DCM à une concentration de 10^{-4} ou 10^{-5} M, excitation à 360 nm, **Figure 49**). Nous avons pu calculer des g_{lum} d'environ 2×10^{-3} pour les composés **3.43** et **3.47**. En revanche les deux ligands **3.45** et **3.46** se sont avérés avoir des émissions trop faibles pour être observées en CPL. L'introduction d'un groupement *p*-OMe électrodonneur sur le ligand **3.46** semble mener à des bodipy capables d'émissions de fluorescence plus intenses et mieux résolues en CPL. Il est possible que l'état excité du fluorophore **3.47** soit stabilisé par les effets électrodonneurs du ligand et donc sa désexcitation radiative renforcée malgré un léger déplacement hypsochrome.³²⁰

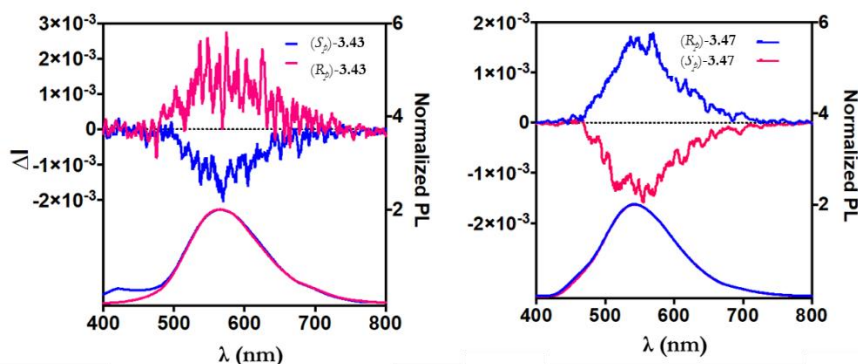


Figure 49. Spectres CPL des bodipy difluorés **3.43** et **3.47**

Ce travail nous a donc permis de synthétiser 4 ligands dicétones énantiopurs basés sur un motif pCp, et substitués avec un groupement phényle ou *p*-anisole, et six bodipy énantiopurs différemment substitués. Les fluorophores synthétisés au cours de cette étude se sont tous avérés avoir un large déplacement bathochrome en absorbance UV comparés aux ligands, et les dérivés difluorés se sont révélés être de bons fluorochromes avec de très larges déplacements de Stokes et une bonne activité CPL pour le dérivé anisole (g_{abs} de 4×10^{-3} , g_{lum} de 2×10^{-3}). Le QY de 2,6 % calculé pour le composé **3.47** se révèle bien en-deçà des standards des fluorophores bodipy (QY = 80 % pour le bore-dipyrrométhène originel), il s'agit là d'une conséquence bien connue de l'introduction de groupements cyclophanes.

III.2.3 Fluorophores inorganiques : complexes de lanthanides

Une autre application envisagée pour des ligands dicétones **3.45** et **3.46** est leur utilisation comme antenne moléculaire chirale pour la conception de complexes de lanthanides fluorescents. En effet, les propriétés émissives de ces derniers proviennent de transitions f-f dites « interdites de Laporte » pour cause d'orbitales de symétries différentes (absence ou présence d'un centre d'inversion i), il en résulte que ces centres métalliques sont caractérisés par de faibles rendements d'absorption. Les complexes de lanthanides nécessitent donc qu'une architecture, organique dans le cas du pCp, agisse comme antenne photosensible afin de capter et transférer l'énergie photonique. Il est possible de modifier les propriétés d'absorption, de conduction et de sensibilisation de ces antennes afin de moduler les propriétés émissives du centre métallique associé. Les complexes de lanthanides sont particulièrement intéressants pour leur émission précise et bien résolues avec des bandes fines, particulièrement dans l'infrarouge. Leurs états excités se révèlent stables avec des temps de vie longs.³²² Ils sont notamment employés pour produire des diodes électroluminescentes moléculaires, des composés pour la thérapie photodynamique, des senseurs d'anions ou encore des sondes biologiques fluorescentes.^{323–326}

Dans le cadre d'une collaboration avec le Dr Olivier Maury, la Dr Laura Abad-Galan a pu utiliser nos ligands dicétones énantiopurs **3.45** afin de former des complexes de lanthanides luminescents (**Figure 50**). Une étude similaire a été menée sur la dicétone **3.45**, en version racémique, par Lazar et Lyssenko en 2016.³²⁷ Au cours de leurs recherches sur des diodes électroluminescentes électrosensibles, leurs équipes ont synthétisé et étudié les complexes d'euprium correspondant et montré que l'introduction d'un ligand pCp améliorerait les propriétés photophysiques de celles-ci.

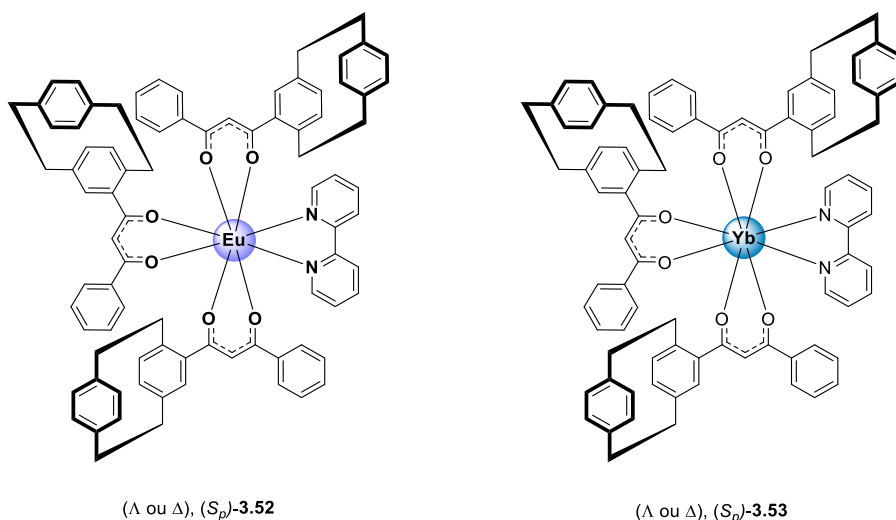


Figure 50. Complexes de lanthanides formés avec les ligands dicétones pCp (*S_p*)-3.45

Les complexes (Δ ou Λ),(*S_p*)-3.52 et (Δ ou Λ),(*S_p*)-3.53 comprennent trois ligands dicétones pCp (*S_p*)-3.45 autour de leur centre lanthanide (III), Eu^{III} ou Yb^{III} respectivement. Un ligand bipyridine vient compléter la sphère de coordination du métal afin d'éviter la coordination de molécules de solvants source d'extinction de fluorescence ; particulièrement dans les IR proches. La géométrie octaédrique de complexes de lanthanides comportant 3 ligands bidentes entraîne la formation d'énantiomères appelés Δ et Λ . La complexation avec le ligand énantiopur (*S_p*)-3.45 n'a pas permis l'obtention d'une configuration stable et majoritaire de l'une des deux formes. L'encombrement du ligand est certainement responsable de cette instabilité configurationnelle.

Les analyses photophysiques de ces composés ont confirmé les observations de Lyssenko concernant la sensibilisation des centres lanthanides par le ligand dicétone pCp. Les ligands et les complexes formés présentent tous deux un maximum d'absorption à 350 nm (**Figure 51** gauche) signe que le ligand pCp est bien en capacité d'absorber la lumière au sein du complexe. Le complexe 3.52 s'est avéré capable d'émission de fluorescence avec un maximum à 612 nm (**Figure 51** droite).

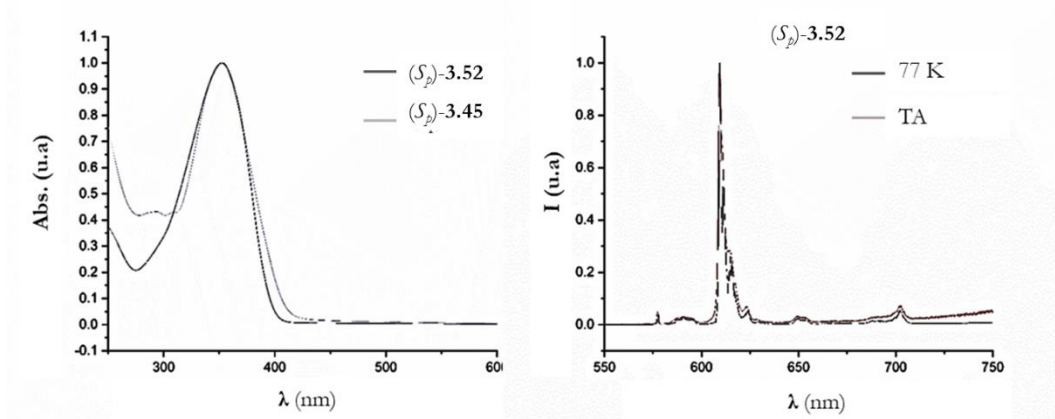


Figure 51. (Gauche) Spectres d'absorption du ligand **3.45** et du complexe **3.52** ; (Droite) Émission de fluorescence de **3.52** à TA et à 77 K.

Le ligand **3.45** permet la sensibilisation, à la fois de l'Eu^{III} et l'Yb^{III}, mais l'analogue ytterbium a encore besoin d'une caractérisation plus poussée. Dans le cas de l'euporium, des valeurs de durées de vie tout à fait standard pour de tels composés sont observées, en particulier en solution à TA. Comme expliqué lors de l'introduction de ce chapitre, les procédés non radiatifs semblent particulièrement efficaces pour les pCp non contraints en solution, ce qui dans le cas de nos ligands phényles suggère une efficacité de sensibilisation limitée. Ces observations sont similaires à celles faites par Lyssenko sur ses dérivés électroluminescents. Les composés analysés révèlent de faibles signaux en CPL avec une mauvaise résolution chirale. À nouveau, l'encombrement des ligands semble altérer la stabilité des complexes ainsi que leur dissymétrie.

L'étude sur des complexes d'Eu^{III} et d'Yb^{III} que nous avons pu réaliser en est à son commencement. L'obtention de cristaux des complexes permettrait une étude plus poussée de leurs propriétés structurales et émissives. Les résultats obtenus sont prometteurs et les [2.2]paracyclophanes se révèlent être de bonnes antennes pour la sensibilisation des lanthanides. Plusieurs analyses sont encore en cours sur les complexes de lanthanides déjà formé, et un autre ligand dicétone moins encombré comportant un groupement trifluorométhyle a été synthétisé. Ce ligand proche de la dicétone méthylé utilisée par Trofimov et Lyssenko devrait permettre une meilleure stabilité des complexes et donc une meilleure induction chirale et une diminution des pertes non radiatives au niveau du ligand. Une seconde étude menée par notre équipe a conduit à de très bons résultats et a déjà été publiée sur le sujet.²⁹⁵

IV – Dérivés cyanine : synthèse et allumage de fluorescence

IV.1 Synthèse des cyanines plate et tridimensionnelle

IV.1.1 Contexte et objectifs du projet

Les polyméthines cyanées, ou cyanines, sont des fluorophores caractérisés par un CT intramoléculaire. Elles sont constituées d'un groupement donneur de type amine et d'un groupement attracteur de type ammonium reliés par une chaîne conjuguée polyméthine. Ces groupements peuvent être ou non impliqués dans un hétérocycle (**Figure 52**).³²⁸

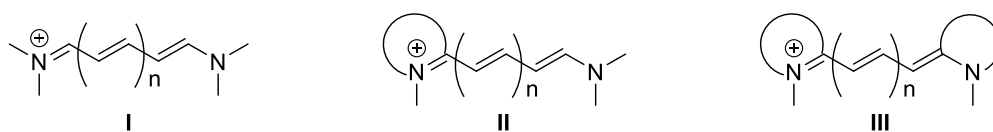


Figure 52. Structure des (I) streptocyanines, (II) hémicyanines, (III) cyanines à chaîne fermée

Les cyanines sont une vaste classe de molécules, présentant généralement d'intéressantes propriétés optiques, et dont les premiers exemples ont été synthétisés au début du XX^e siècle. La popularité des cyanines dans la communauté scientifique vient principalement de leur polyvalence. En effet, elles trouvent des applications dans de nombreux domaines (photographie, sondes médicales, colorants de textiles, agents anti-tumoraux, polymères, ...) et ont été régulièrement utilisées pour leurs émissions robustes et modulables, ainsi que pour leurs propriétés électroniques conjuguées.³²⁸ Des exemples d'applications au ciblage biologique, et plus particulièrement à la reconnaissance d'acides nucléiques, seront précisés dans le chapitre IV.³²⁹

Comme mis en avant précédemment, nous envisageons d'utiliser les propriétés de fluorescence particulières des pCp pour étudier leur capacité à se lier à l'ARN. Nous avons donc sélectionné un exemple de cyanine présentant des propriétés de fluorescence, d'agrégation et de reconnaissance d'acides nucléiques par allumage de fluorescence intéressantes.³³⁰⁻³³² Dans la première partie de ce projet, notre objectif a été de synthétiser un analogue pCp tridimensionnel d'une cyanine plane afin d'étudier la modification des propriétés physico-chimiques de ces composés induite par l'introduction d'un groupement [2.2]paracyclophane (**Schéma 52**). Dans un deuxième temps, nous étudierons plus en détail l'interaction sélective et/ou spécifique des sondes formées avec plusieurs acides nucléiques.

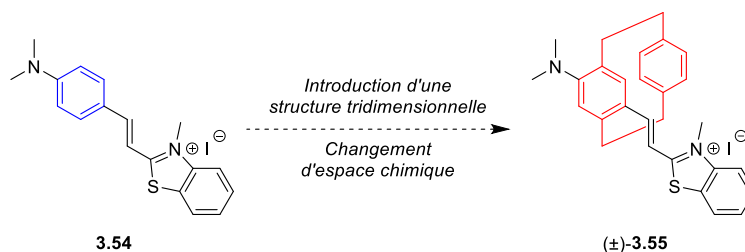


Schéma 52. Changement d'architecture envisagée pour les cyanines synthétisées

IV.1.2 Synthèse des cyanines

La voie de synthèse généralement privilégiée pour accéder à des cyanines telles que **3.54** est la condensation de Knoevenagel entre un aldéhyde et un site nucléophile déprotoné.³³³ Pour réaliser cette procédure, le dérivé **3.57** est tout d'abord obtenu par *N*-méthylation du 2-méthylbenzo[*d*]thiazole **3.56**, avec de l'iodure de méthyle dans l'acétonitrile à chaud, après simple filtration et avec un rendement de 66 %. La condensation de **3.57** avec le *p*-diméthylamino benzaldéhyde a pu ensuite être réalisée par traitement catalytique du mélange avec de la pyridine dans le MeOH à chaud.^{334,335} La cyanine **3.54** a été isolée avec 87 % de rendement après double recristallisation dans le MeOH.

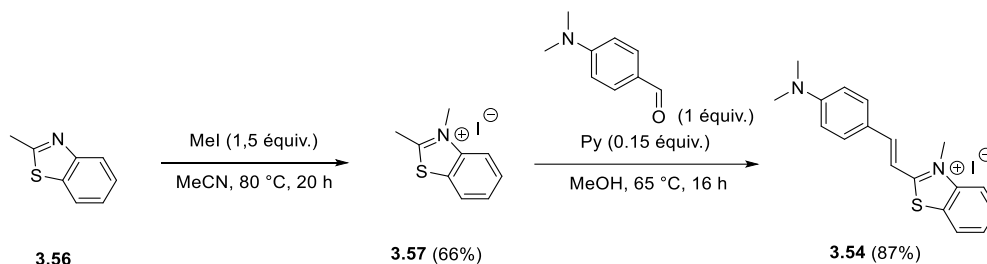


Schéma 53. Synthèse de la cyanine plane **3.54** par condensation de Knoevenagel

Une voie de synthèse similaire a tout d'abord été explorée pour obtenir la cyanine dérivée du pCp **3.55** en utilisant l'intermédiaire clé **2.38**, produit de la réaction de formylation développée dans le chapitre II. Plusieurs protocoles sont décrits dans la littérature pour effectuer une telle transformation. Nous avons employé des conditions réactionnelles classiques et essayé plusieurs solvants, différentes températures ainsi que des méthodes de chauffage/activation variées (bain d'huile ou micro-ondes), mais nous nous sommes à chaque fois heurtés à des problèmes de purification des mélanges de composés obtenus (Schéma 54).³³⁵⁻³³⁹ En effet, les produits de la réaction présentent une faible solubilité dans les solvants organiques apolaires mais ne cristallisent pas spontanément, même en

employant des co-solvants. Par cette méthode, seuls quelques milligrammes de la cyanine **3.55** ont pu être récupérés et analysés.

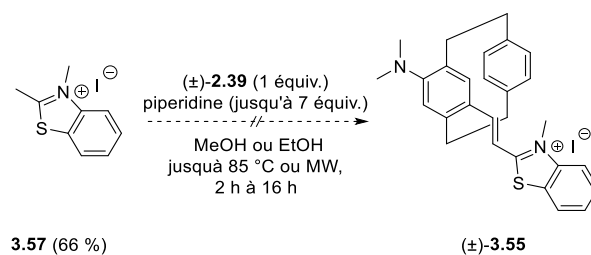


Schéma 54. Essais de condensation de Knoevenagel sur l'aldéhyde pCp **2.38**

Pour obtenir des quantités plus importantes du pCp **3.55**, nous nous sommes inspirés des réactions de Wittig réalisées précédemment et nous avons élaboré une nouvelle voie de synthèse reposant sur une réaction d'Horner-Wadsworth-Emmons (HWE, **Schéma 55**). Le diéthylphosphonate **3.58** a ainsi été synthétisé, à partir du 2-bromométhylbenzo[*d*]thiazole et de phosphite de triéthyle selon une procédure de la littérature,^{340,341} et utilisé immédiatement après purification.

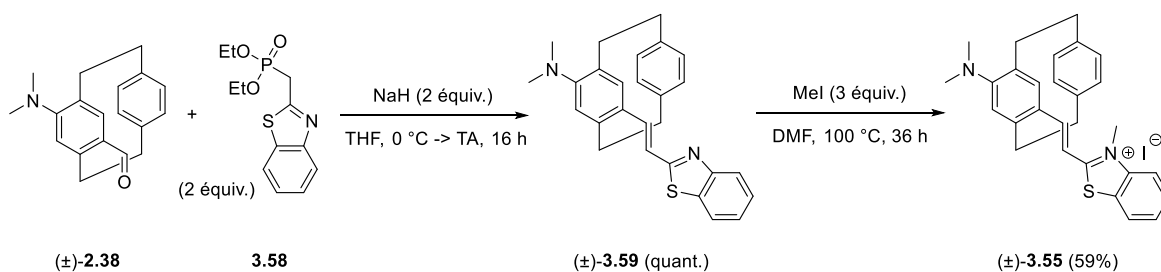


Schéma 55. Synthèse de la cyanine tridimensionnelle **3.55** par réaction d'HWE

En employant deux équivalents du réactif **3.58** et d'hydrure de sodium à 0 °C, l'ylure de phosphore stabilisé correspondant a été formé et une solution de **2.38** dans le THF a ensuite été ajoutée goutte à goutte. Après 20h de réaction à TA, le composé de configuration *E* **3.59** a pu être obtenu quantitativement. Notons que la double liaison de ce composé s'isomérise rapidement à la lumière pour donner le produit *Z*.³⁴² Afin d'éviter ce processus non désiré, toutes les manipulations de ce composé ont été opérées dans l'obscurité autant que possible. Le benzothiazole du dérivé *E* **3.59** a ensuite pu être quaternarisé par méthylation avec de l'iodure de méthyle dans la DMF à 100 °C pendant 36 h, et la cyanine **3.55** a été isolée avec 59 % de rendement. La purification de ce dernier produit a été

grandement améliorée par l'utilisation de triturations au pentane. Le composé final est lui de configuration stable à la lumière.

IV.2 Propriétés spectroscopiques et agrégatives

IV.2.1 Caractérisations spectroscopiques des cyanines

Une fois les composés **3.54** et **3.55** obtenus, nous avons pu nous tourner vers la caractérisation de leurs propriétés spectroscopiques respectives. Nous avons tout d'abord procédé à l'enregistrement et l'analyse de leurs spectres d'absorption UV-visible (solution à 10^{-5} M dans le solvant choisi, **Figure 53**). La cyanine plane **3.54** possède une bande d'absorption maximale à 553 nm dans le DCM et à 515 nm dans un tampon aqueux Tris·HCl, EDTA (10 mM, 1 mM ; TE). L'intermédiaire **3.59** absorbe lui à 416 nm dans le DCM, tandis que la cyanine **3.55** absorbe à 597 nm dans le même solvant. Dans l'acétonitrile, l'EtOH et le tampon TE, les longueurs d'ondes maximales d'absorption de ce dernier composé sont déplacées vers le bleu aux alentours de 565-575 nm. On constate donc que l'ajout du groupement méthyle, de **3.59** à **3.55**, entraîne un déplacement bathochrome de 180 nm en absorption lié au TC. En revanche, le passage d'une cyanine plane à une cyanine tridimensionnelle induit lui un déplacement vers le rouge de 80 nm correspondant à l'effet, déjà connu, de l'introduction d'un pCp agissant comme un groupement légèrement électroattracteur. Enfin, un léger déplacement hypsochrome est observé en passant du DCM à l'acétonitrile pour la cyanine pCp. Couplé à la forte baisse d'absorbance observée (ϵ passe de $54\,400\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ dans le DCM à $33\,800\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ dans le TE) dans les solvants les plus polaires (eau et EtOH), ce déplacement vers le bleu laisse penser que des phénomènes agrégatifs entrent en jeu.

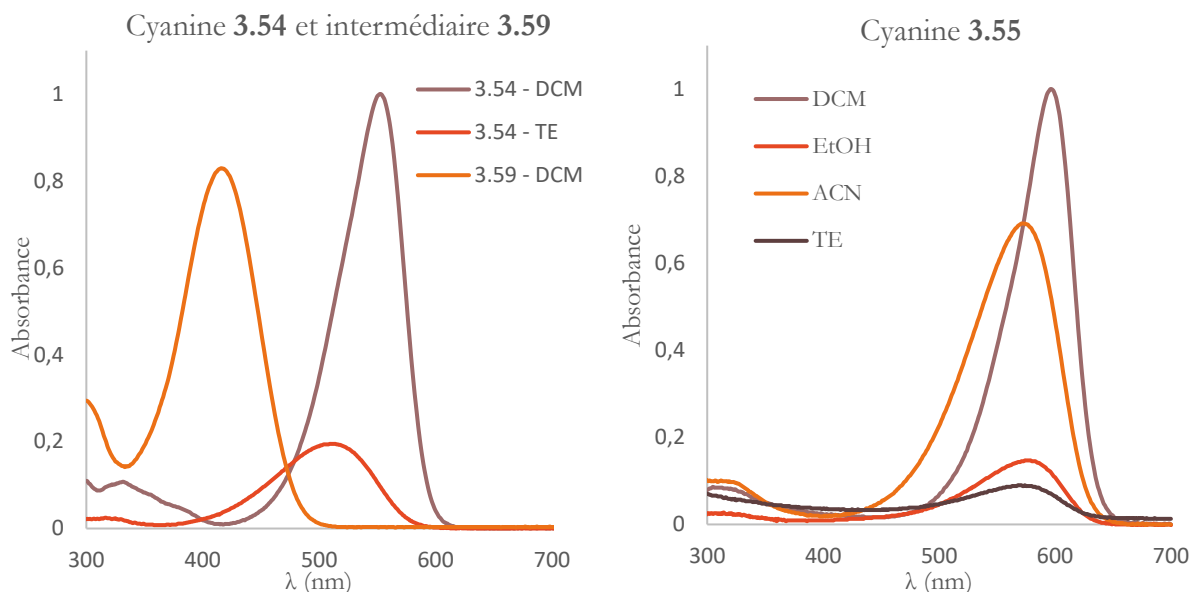


Figure 53. Spectres UV-visibles des composés 3.54, 3.55 et 3.59

En émission, les composés **3.54**, **3.55** et **3.59** présentent tous les trois des propriétés de fluorescence avec des maxima d'émission dans le DCM à 415 nm et 645 nm pour les composés **3.59** et **3.55**, et à 595 nm et 630 nm pour les composés **3.54** et **3.55** dans le TE (solution à 10^{-6} M, cf. partie expérimentale). Ces différences de maxima d'émission (10-20 nm) sont corrélées pour les composés **3.54** et **3.55** avec une chute du rendement quantique (de 2,3 % à moins de 1 % pour le dérivé **3.55** entre le DCM et le TE).

Il est bien connu que les cyanines tendent à s'agréger en solution en fonction de leur degré de solubilité.³²⁹ Ces composés vont former des agrégats et leurs propriétés photophysiques en seront modifiées.³⁴³ Dans notre cas, il semble que les cyanines sont agrégées dans le TE et dissociées – ou au moins, plus dissociées – dans le DCM. On observe donc les « multimères » en solution dans le TE caractérisés par une bande large en absorption, un déplacement vers le bleu, une baisse de ϵ et une extinction de fluorescence. Tandis que dans le DCM un aspect « monomérique » se dégage avec une bande plus fine, un déplacement vers le rouge, une augmentation de ϵ et une fluorescence intense. Notons que des tendances similaires, « multimère » vs « monomère », peuvent être observées avec des solutions de **3.55** dans le DCM à différentes concentrations.

IV.2.2 Agrégation des cyanines en solution et à l'état solide

Afin de confirmer ces premières observations spectroscopiques, nous avons mené une étude RMN ^1H sur le pCp (\pm)-**3.55** dans le DCM deutéré à différentes concentrations (**Figure 54**). En superposant les différents spectres réalisés, nous pouvons analyser les déplacements des signaux afin de mieux comprendre et caractériser les interactions intermoléculaires en solution.

On peut voir sur la **Figure 54** que les protons 8, 21, 31 et 28 subissent un important déblindage lorsque la concentration de l'échantillon augmente. En revanche, les protons 5, 18 et 19 sont légèrement blindés au cours de ces expériences. Ces modifications sont la conséquence des interactions engendrées par les phénomènes agrégatifs en solution. En effet, le déplacement d'un proton en RMN ^1H est lié à la densité électronique de son environnement proche. Ainsi, lorsque la concentration augmente, les composés se rapprochent les uns et des autres pour former des agrégats par interactions π . Il apparaît que l'interface cyanine-pCp est la zone subissant le plus d'effets électroniques modifiés lors de l'agrégation, il s'agit sans doute de la portion réalisant les interactions co-faciales avec les autres molécules. D'autres analyses DOSY sont en cours afin de confirmer ces observations préliminaires.

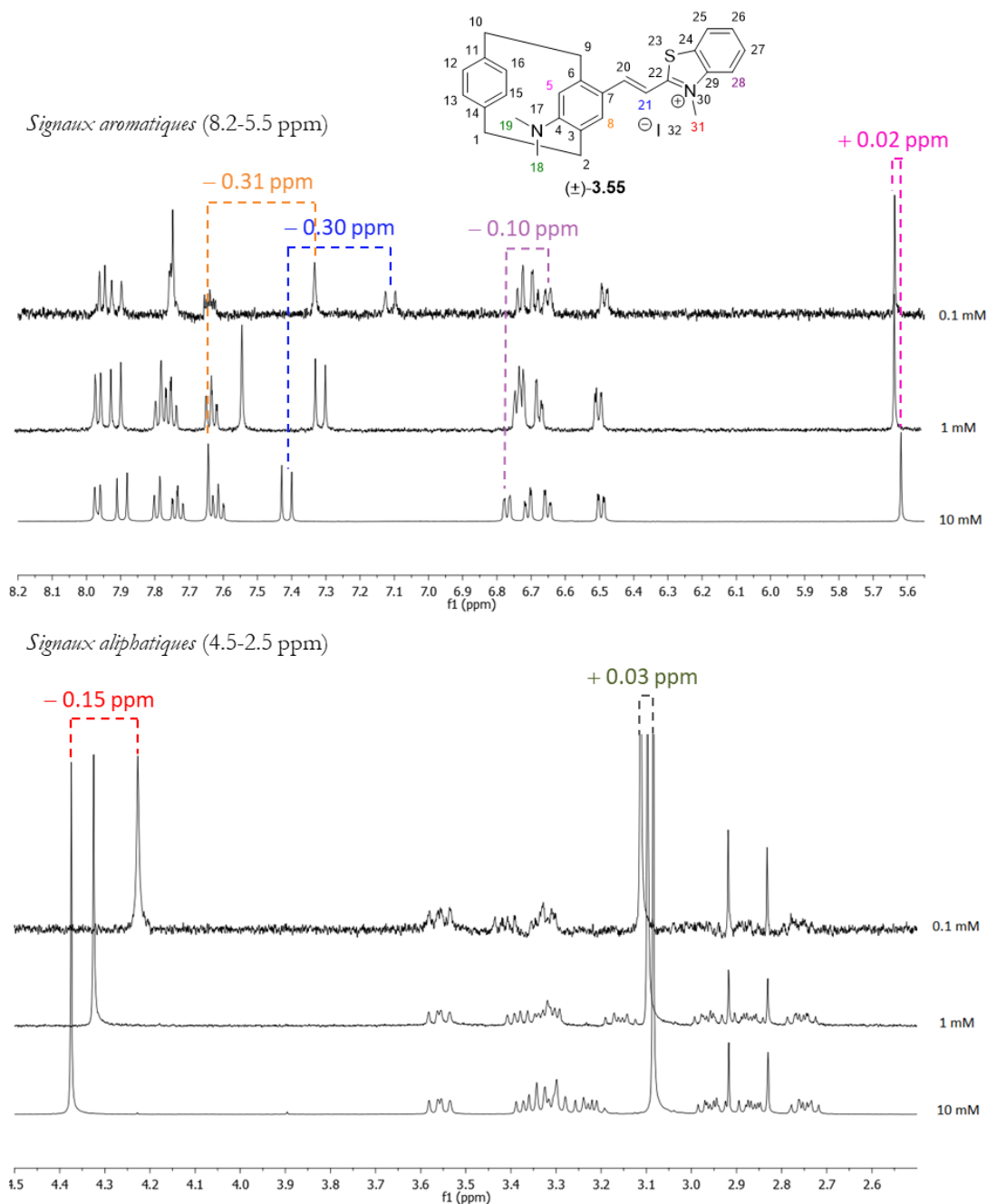


Figure 54. Déplacement des signaux en RMN ^1H des signaux de **3.55** en fonction de la concentration

Une analyse XRD de ce composé nous a ensuite permis de confirmer la structure synthétisée et la tridimensionnalité induite par le motif pCp, mais aussi de mieux caractériser les phénomènes agrégatifs observés (**Figure 55**). Un monocristal de **3.55** a pu être obtenu par diffusion de vapeur dans le DCM et, après diffraction, nous a permis d'accéder à l'empaquetage de ces molécules.

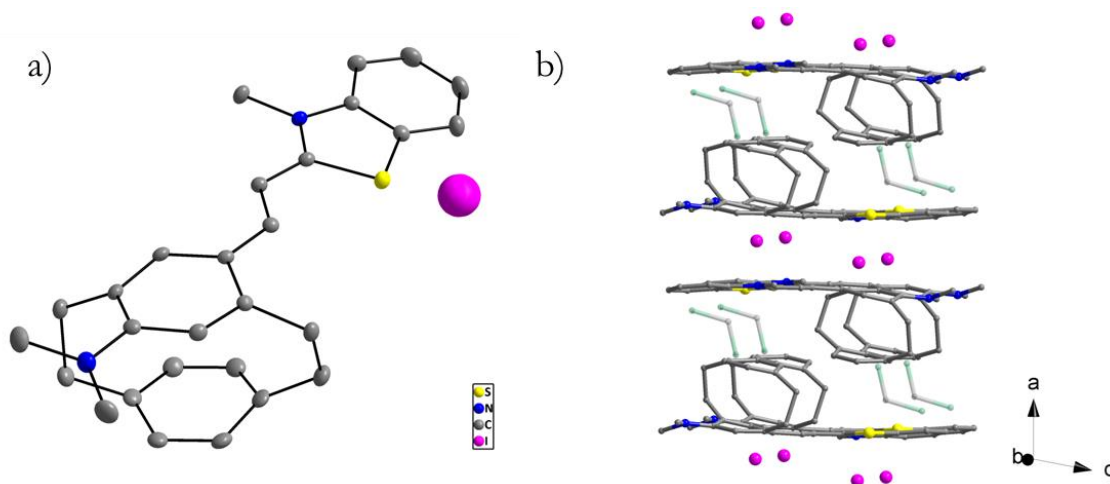


Figure 55. (a) Structure XRD et (b) empilement moléculaire de la cyanine pCp 3.55

On observe tout d'abord sur la **Figure 55a** que la structure de notre cyanine est bien celle attendue, que la configuration Z de l'insaturation a été conservée et que notre groupement pCp induit bien la tridimensionnalité attendue. Sur la **Figure 55b**, on peut voir qu'à grande échelle les cyanines pCp s'imbriquent les unes dans les autres tête bêche. Le cycle non substitué du [2.2]paracyclophane vient interagir avec la portion plane d'une autre cyanine, et inversement. À plus grande échelle, cet agencement des pCp forme des feuillets entre lesquels viennent s'insérer les atomes d'iode. Ces derniers interagissent particulièrement avec les protons 8 et 21 d'un composé et 28 et 31 de celui en-dessous en biais.

L'agencement spatial de ces composés en agrégats de type H (tête bêche avec alternance des charges) entraîne une extinction de fluorescence par dispersion de l'énergie à travers le système empilé.³⁴⁴ Ces interactions sont aussi la source de propriétés intéressantes, non seulement d'émission déplacée vers les proches infrarouges, mais aussi de modulation de cette fluorescence en fonction de l'état d'agrégation des molécules pour créer un effet d'allumage. En effet, à l'état « monomères » les composés sont fluorescents, tandis qu'à l'état « multimères » ils n'émettent pas de rayonnements, ils sont donc « éteints ». Comme observé dans le cas de notre composé **3.55** dans un milieu aqueux, quand la sonde n'est pas bien solubilisée, l'effet hydrophobe couplé aux interactions de Van der Waals favorables entraîne une agrégation afin de limiter l'exposition au solvant. Il n'y a donc pas d'émission. Si un ligand du composé se présente, et est suffisamment affiné pour entraîner la désagrégation, une certaine proportion de la population en solution, selon l'équilibre en place, sera à l'état monomérique.

Une émission de fluorescence sera alors observée.³⁴⁵ Cette propriété peut être utilisée pour former des senseurs,^{346,347} notamment biologiques,³⁴⁸ et plus spécifiquement des sondes d'acides nucléiques.³²⁹

Les interactions des composés **3.54** et **3.55** avec des acides nucléiques seront présentées au cours du dernier chapitre de cette thèse. Leur capacité à jouer le rôle de sondes à allumage de fluorescence sera évaluée, ainsi que leur spécificité et sélectivité vis-à-vis de l'ADN et de l'ARN.

Bilan et Perspectives du chapitre III

Au cours de ce chapitre nous avons présenté dans les grandes lignes les travaux sur la fluorescence des pCp de la communauté et de notre équipe. Nos travaux ont permis la synthèse de quatre nouvelles classes de fluorophores chiraux dérivés du pCp : des dérivés du PRODAN, des bodipy, des complexes de lanthanides et des cyanines. Plusieurs d'entre eux se sont avérés avoir des propriétés particulières et intéressantes à étudier plus avant. Parmi celles-ci, notons spécialement : le très bon solvatochromisme et déplacement de Stokes, ainsi que la fluorescence à l'état solide, de l'analogue pseudo-*para* du PRODAN, les bons déplacements de Stokes et τ_{lum} en CPL des bodipy difluorés, et enfin le comportement agrégatif avec extinction de fluorescence de la cyanine dérivée du pCp synthétisée. Dans l'ensemble, le [2.2]paracyclophane est une structure prometteuse et stimulante pour la production de fluorophores chiraux efficaces et compacts. Nos travaux sur le sujet se poursuivent et plusieurs autres études sont en cours.

Notre étude des analogues du PRODAN a été menée à son terme et peu de résultats viennent compléter ces travaux. Toutefois, la fluorescence à l'état solide, avec amélioration du rendement quantique, observée pour le composé pseudo-*para* **3.33** est très intéressante. Nous avons cherché à analyser des cristaux de cette molécule afin de caractériser la structure cristalline et l'empaquetage de ce dérivé, mais aucune image de diffraction n'a pu être obtenue. Il est probable qu'un haut degré d'association et de rigidification de la molécule soit responsable des caractéristiques observées. Celles-ci peuvent s'avérer intéressantes pour la conception de matériaux à TADF ou pour les composés actifs en fluorescence à deux photons. Nous n'avons pas encore pu examiner ces propriétés dans le détail.

La synthèse de ligands dicétones débutée par Damian a donné d'excellents résultats ce qui nous a poussés à poursuivre ce travail. Lors de son stage, Damian a aussi pu initier la synthèse d'un dérivé pseudo-*para* bis-dicétone dissymétrique énantiopur **3.60** (Schéma 56). Malheureusement, nous n'avons pu aller au terme de cette synthèse compliquée par l'incompatibilité de la condensation de Claisen en présence d'aldéhyde sur l'analogue méthylcétone de **3.36** (Schéma 41). Sans doute qu'une étape de protection de cette fonction permettrait de résoudre ce problème afin de mener ce projet à bien. Ces composés seraient très intéressants pour compléter l'étude déjà entreprise, les dérivés phényle et anisate de méthyle symétriques (donc non chiraux) ou non devraient se révéler être de bons

fluorophores. La communication entre les cycles aromatiques du [2.2]paracyclophane tous deux substitués par un groupement émissif pourrait aussi avoir un effet intéressant à observer.

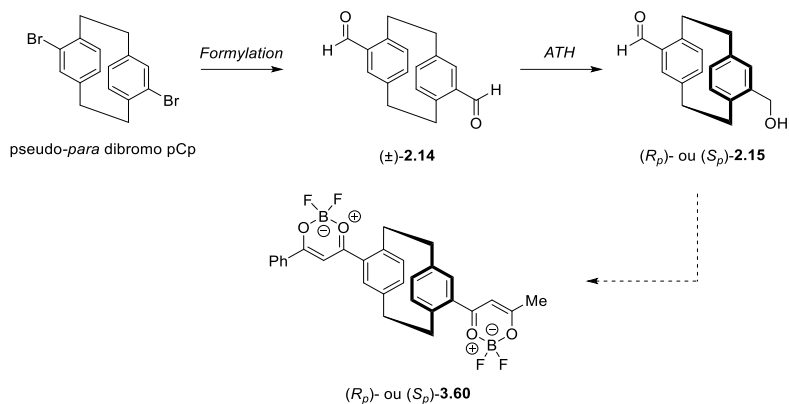


Schéma 56. Synthèse envisagée pour l'obtention d'un dérivé bis-dicétone pCp dissymétrique

En plus des différents bodipy présentés dans le corps de ce chapitre (**Schéma 51** et **Tableau 10**), un troisième borane a été utilisé mais n'a pas mené au produit souhaité. En effet, en employant du trimésitylborane dans les mêmes conditions que pour le triphénylborane, nous n'avons pas obtenu le produit bodipy dimésitylé **3.61** mais un autre composé similaire aux bodipy (aspect, RMN) et lui aussi fluorescent mais dont l'attribution n'est pas claire. Nous pensons qu'il s'agit du bodipy bis-dicétone **3.62** (HRMS correctes). Aucune suite n'a été donnée à ce résultat et ces dérivés ne présentent pas de spécificités ou de propriétés intéressantes à investiguer.

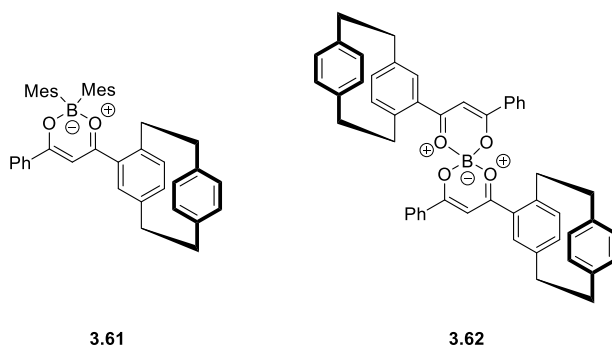


Figure 56. Produit attendu et suspecté de la réaction avec du trimésitylborane

Nous avons pu synthétiser un analogue cyanine incorporant un [2.2]paracyclophane lors de ce chapitre. Ce composé semble prometteur et sera pleinement étudié en tant que sonde au cours du chapitre suivant. Toutefois, plusieurs aspects de sa synthèse et de sa caractérisation pourraient être mieux développés. Plusieurs expériences de RMN DOSY sont en cours afin de caractériser la formation de multimères en solution. Bien que la synthèse par condensation de ce composé ait échoué à ce stade, cette stratégie reste la plus pratique et facile pour le développement de larges bibliothèques diversifiées ; la synthèse de phosphonates n'est pas une voie d'accès simple et économique vers ces composés. De plus, les avancées expérimentales réalisées, après la réaction d'HWE, dans la purification des mélanges obtenus devraient permettre de réaliser une étude plus complète des conditions de condensation possibles. Une meilleure voie d'accès permettrait en retour une perspective simple de nos efforts vers la synthèse de cyanines dérivées du pCp : la diversification des substrats utilisés afin d'étudier plus de composés pCps cyanés. Premièrement, de nombreux dérivés du benzothiazole pré-fonctionnalisés pourraient être utilisés pour modifier la portion hétérocyclique des composés ; une indolénine tétraméthylée **3.63** a par exemple déjà été synthétisée à cette fin. Mais, encore une fois, le pCp est la plus grande source de diversité dans ce cas : des substituants pourraient être ajoutés et/ ou déplacés sur les cycles aromatiques pour obtenir des structures telles **3.64**. Enfin, la perspective de former des bis-cyanines avec des répartitions spatiales différentes, pseudo-*para* comme **3.65** ou pseudo-*ortho* comme **3.66** par exemple, serait particulièrement intéressante.

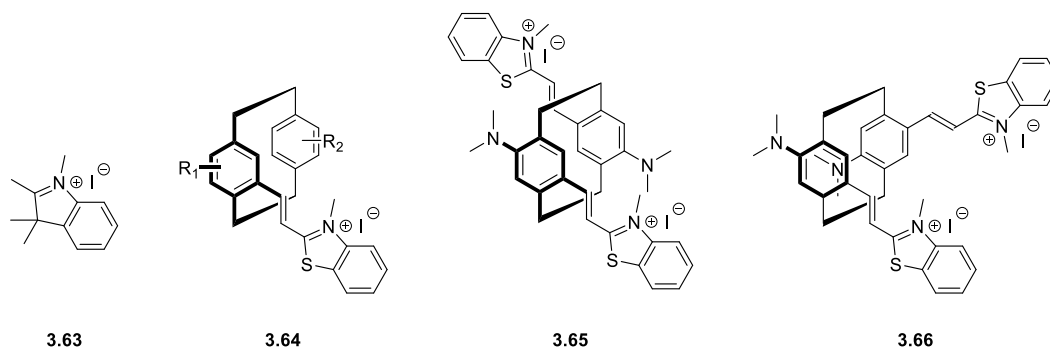


Figure 57. Exemples de substrats et de cyanines pCp envisageables

. Comme souligné précédemment, les cyanines sont une classe de molécules aux applications multiples et variées, autant de domaines qui pourraient bénéficier des propriétés si particulières du pCp. Au vu de nos travaux sur l'obtention de synthons énantiopurs du [2.2]paracyclophane (cf. chapitre II), il est évident que la synthèse de cyanines énantiopures paraît hautement souhaitable, non seulement pour étudier leurs propriétés chiroptiques, mais aussi pour transposer tout ce qui a été

mentionné en version chirale. L'étude des phénomènes auto-agrégatifs de telles molécules chirales seraient particulièrement intéressants, des expériences d'induction chirale pourraient être envisageables pour l'assemblage contrôlé de structures organisées (mais aussi pour la fluorescence en CPL).^{349–352}

Chapitre IV : Interactions entre le [2.2]paracyclophane et des acides nucléiques

Les travaux présentés dans les chapitres précédents nous permettent désormais d'envisager l'élaboration de nouveaux ligands d'ARN incorporant le motif [2.2]paracyclophane. Nous avons vu dans le troisième chapitre de cette thèse que le [2.2]paracyclophane possède des propriétés de fluorescence particulièrement intéressantes à étudier. Le contrôle et la compréhension de ces propriétés optiques pourraient s'avérer importants pour la suite de ce travail. Comme mentionné plusieurs fois au cours des premiers chapitres, les composés fluorescents sont fréquemment utilisés comme sondes ou senseurs. En effet, la grande sensibilité de détection des émissions lumineuses en fait une méthode de choix pour le suivi de composés en milieu biologique. Naturellement, les acides nucléiques font partie des cibles évidentes pour lesquelles de nombreuses sondes fluorescentes ont été développées (**Figure 58**).³⁵³ Notons que, malgré la polyvalence du [2.2]paracyclophane et son application à de nombreux domaines de la chimie à notre connaissance, aucune étude ou presque n'a été menée sur les propriétés biologiques ou l'utilisation du [2.2]paracyclophane en chimobiologie. Un unique composé à visée médicale incluant un motif pCp, l'odallasvir, a très récemment été annoncé et décrit par Janssen (entrée en phase 3) pour lutter contre l'infection chronique au virus de l'hépatite C avec comme cible une protéase.³⁵⁴ Ainsi l'idée de suivre les interactions entre le motif [2.2]paracyclophane et les acides nucléiques, et des ARN en particulier, par spectroscopie de fluorescence est une approche résolument nouvelle et prometteuse.

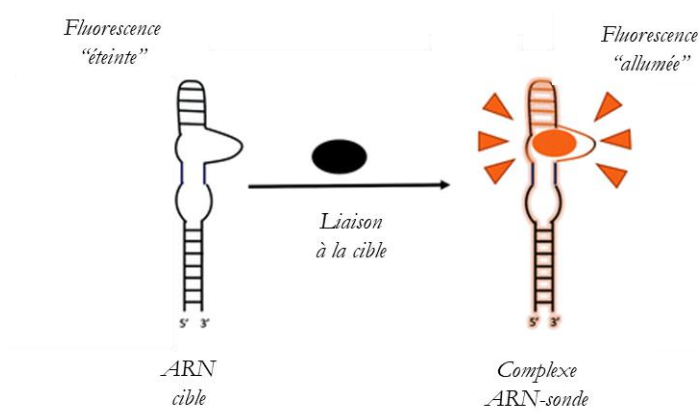


Figure 58. Principe de fonctionnement d'une sonde d'ARN à allumage de fluorescence

Toutefois ces deux aspects, fluorescence et capacité de liaison aux acides nucléiques, sont sensibles à la somme des effets des substituants de la molécule. De ce fait, les conditions moléculaires

permettant l'obtention de bons ligands de structures spécifiques de l'ARN influenceront nécessairement la capacité de ces composés à être de bons fluorophores, et inversement. En conséquence, et en lien direct avec les problèmes inhérents à la dérivatisation de pCp évoqués précédemment, nous anticipons que la gestion de la répartition spatiale des substituants et de leur accessibilité sera un déterminant clé dans les interactions de composés pCp avec des structures tridimensionnelles de l'ARN.

Nous étudierons tout d'abord les interactions et les propriétés d'allumage de fluorescence des cyanines plane et tridimensionnelle dérivée du pCp **3.54** et **3.55** que nous avons synthétisées et caractérisées lors du chapitre précédent. Dans un second temps, nous présenterons des expériences de SELEX destinées à isoler des oligonucléotides aptamères de ligands dérivés du [2.2]paracyclophane afin de mieux comprendre les déterminants de cette association.

I – Caractérisation d'une sonde cyanine pCp sélective de l'ARN

I.1 État de l'art

I.1.1 Rappels sur le fonctionnement des sondes fluorescentes

La chimie de synthèse est un vecteur d'innovation important dans le développement de nouveaux outils moléculaires à destination des sciences biologiques. La production d'objets moléculaires permettant de modifier, marquer, localiser ou repérer les biomolécules est une étape nécessaire à la meilleure compréhension de phénomènes aussi complexes que ceux qui régissent l'homéostasie cellulaire. Afin d'étudier la régulation ou la répartition de composants à l'échelle d'organismes entiers, il est nécessaire de concevoir des réactifs et/ou des sondes spécifiques permettant la réalisation d'expériences avec des résultats fiables et clairs. Parmi les nombreuses technologies développées à des fins biologiques, la détection de molécules *in cellulo* par fluorescence présente des avantages certains.³⁵⁵ Il s'agit d'une technique très sensible permettant la quantification de très faibles quantités de photons, avec une bonne résolution spatiale et temporelle. De plus, les avancées et le développement des techniques d'analyse du signal et le raffinement atteint par certains modes de détection en font un domaine dynamique dans lequel beaucoup de progrès sont encore faits. La

fluorescence à l'échelle de la molécule unique, la reconstruction 3D et l'amélioration constante de la résolution des images microscopiques sont notamment des défis actuels dans le domaine.^{356–359}

Trois types de phénomènes sont très majoritairement exploités dans le développement de sondes fluorescentes : la suppression de fluorescence par transfert d'électron photoinduit (PET), le transfert d'énergie par résonance de Förster (FRET) ou la modulation du CT intramoléculaire.³⁵⁵ Dans le premier cas, après excitation, un élément donneur du composé transfère un électron à la portion fluorophore empêchant de fait la relaxation radiative. La fluorescence est à nouveau possible une fois que les électrons du donneur ne sont plus disponibles. L'élément donneur est typiquement un azote benzylique ou hétérocyclique dont le doublet non-liant est libre ou non selon la liaison au ligand (**Schéma 57**).

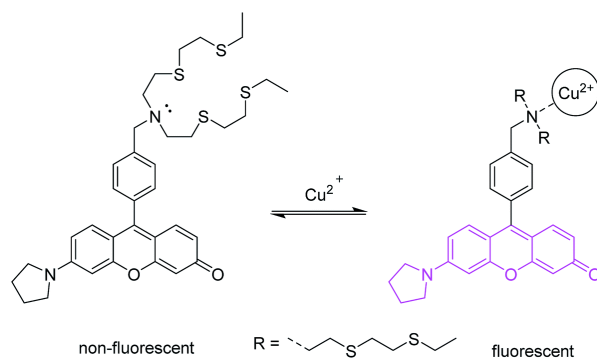


Schéma 57. Exemple de sonde par suppression de PET

Dans le FRET, un premier fluorophore donneur absorbe de l'énergie lumineuse et excite un second fluorophore accepteur par des phénomènes non radiatifs, ce second fluorophore accepteur émet ensuite un rayonnement. Cette stratégie nécessite une proximité spatiale entre les fluorophores, mais aussi que les niveaux énergétiques des deux partenaires soient en adéquation afin d'obtenir un transfert efficace et une bonne émission de fluorescence (**Figure 59**). Typiquement, les fluorophores de la paire à effet FRET sont séparés sur le composé non lié et rapprochés par la liaison de l'élément détecté entraînant l'émission de fluorescence.

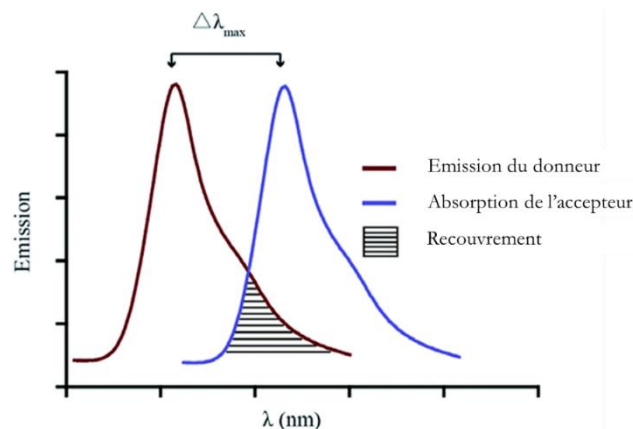


Figure 59. Recouvrement de l'émission du donneur et l'absorption de l'accepteur dans une paire de fluorophores à effet FRET

Dans le cas des fluorophores à CT intramoléculaire, la détection des ligands se fait par changement de l'état dipolaire de l'état excité du fluorophore. En effet, la fluorescence de cette classe de composés est liée à un fort moment dipolaire à l'état excité qui induit la réorganisation de sa sphère de solvation. En se liant à un autre composé, la conjugaison du fluorophore est modifiée et le CT en est renforcé ou diminué (**Schéma 58**). L'émission du fluorophore subit alors un déplacement bathochrome ou hypsochrome respectivement. Ainsi la détection dans ce cas ne se fait pas nécessairement par allumage de fluorescence mais aussi par la modification de la longueur d'ondes d'émission (bien qu'il puisse y avoir extinction complète de fluorescence d'un état à l'autre).

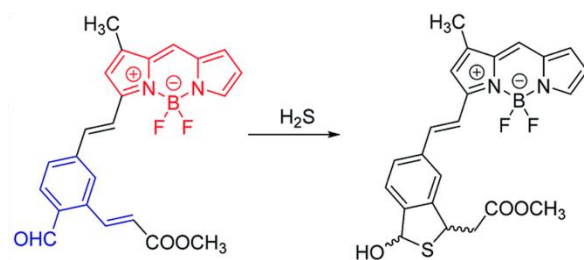


Schéma 58. Exemple de sondes à extinction de fluorescence par CT intramoléculaire

Enfin, une quatrième option, moins fréquemment utilisée, permettant la conception de sondes fluorescentes, s'avère être l'exploitation des phénomènes d'agrégation. Selon les composés utilisés, les agrégats formés peuvent s'avérer fluorescents ou non, et la détection se fera par allumage ou extinction de fluorescence.^{360,361} Ces deux mécanismes de détection par agrégation en présence de la cible ont été utilisés à de nombreuses reprises pour former des sondes. Les phénomènes inverses de désagrégation

ont en revanche longtemps été sous-exploités pour l'élaboration de senseurs car l'agrégation est souvent un processus irréversible.^{362,345} Comme expliqué dans le chapitre III, dans ce cas les sondes agrégées sont éteintes et la fluorescence empêchée par empilements, la cible permet la désagrégation des molécules et donc la fluorescence s'allume (**Figure 60**). Une application de ce procédé employant une cyanine pour la détection de quadruplexes G a notamment été décrite par Xu.³⁶³

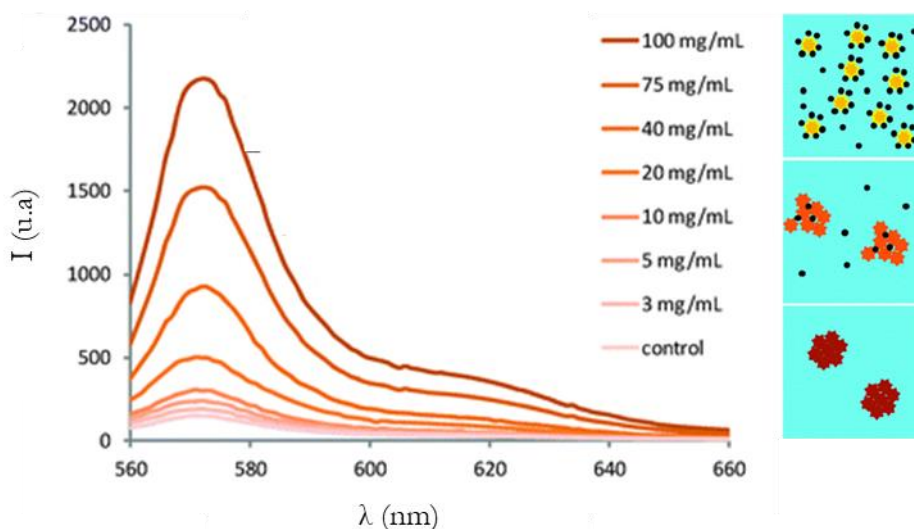


Figure 60. Allumage de fluorescence par désagrégation d'un bodipy par Chang ; à droite l'état d'agrégation de la sonde avec l'augmentation de la concentration du ligand (points noirs).

Plusieurs classes de fluorophores peuvent être utilisées pour l'élaboration de sondes avec ces types de procédés : les coumarines, les rhodamines, les fluorescéines, les naphthalimides, les bodipy et les cyanines sont les plus couramment utilisées.³⁶⁴

1.1.2 Exemples de sondes fluorescentes d'acides nucléiques commerciales

La détection d'acides nucléiques par fluorescence est basée sur les technologies décrites ci-avant. Des systèmes de marquage reposant sur la reconnaissance de la séquence primaire d'ARN ou d'ADN ont été développés. L'hybridation fluorescente in situ (FISH), par exemple, consiste à accrocher un fluorophore sur une séquence oligonucléotidique afin d'obtenir une émission lumineuse quand celle-ci s'apparie avec sa séquence complémentaire. De façon analogue aux ASO, cette stratégie n'est pas basée sur les interactions entre des petites molécules et les acides nucléiques. Dans ce cas, tous les fluorophores sont utilisables puisqu'il n'est pas question de reconnaissance structurale ; il en va de même pour les sondes couplées à des anticorps ou à des nucléotides. Bien qu'il s'agisse de

stratégies importantes et efficaces pour le marquage de structures biologiques *in vivo*, nous nous intéresserons ci-après aux molécules dont la fluorescence est directement liée à leurs interactions avec l'ADN et/ou l'ARN.

De par leur capacité de liaison aux acides nucléiques, beaucoup de composés poly(hétéro)aromatiques sont utilisés pour le marquage de ces biomolécules ; citons par exemple les colorants Hoechst **4.1**, les dérivés de l'acridine **4.2**, le DAPI **4.3**, le bromure d'éthidium **4.4** ou encore le thiazole orange (TO) **4.5** (**Figure 61**).

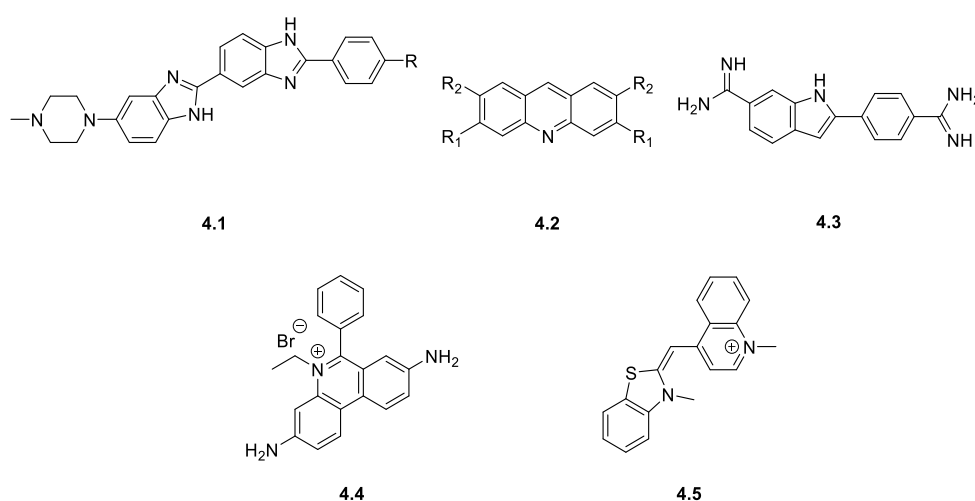


Figure 61. Exemple de classes de fluorophores utilisés pour la détection des acides nucléiques

Ces structures historiquement utilisées pour révéler la présence d'acides nucléiques s'avèrent toxiques et ne possèdent pas toujours des propriétés de marquage optimales (manque de spécificité, mauvaise résolution, sensibilité aux conditions physico-chimiques). Pour pallier ces défauts, d'autres colorants plus sûrs et aux émissions plus robustes ont été développés à partir des années 1990, basés notamment sur la structure du thiazole orange **4.5**,³⁶⁵ et commercialisés en grande partie par Molecular Probes.³⁶⁶

La majorité des colorants d'acides nucléiques développés jusqu'à présent sont des cyanines dissymétriques basées sur une structure de type TO ou ses dérivés (BO pour benzoxazole, PO pour pyridine, ...). En modifiant les différents substituants de ces composés, des familles de sondes peuvent être produites avec des propriétés diverses.³⁵³ La famille des colorants SYTO a rapidement été supplantée par la série des SYBR. Les SYBR Green I et II, composés **4.6** et **4.7**, sont des colorants

spécifiques de acides nucléiques db et sb respectivement (tous les deux meilleurs pour l'ADN par rapport l'ARN). Le SYBR Green I est le composé fluorescent standard pour la réalisation de réaction d'amplification par polymérase (PCR) en temps réel ou PCR quantitative (RT-qPCR). Le PicoGreen **4.8** et le SYBR Gold **4.9** sont, respectivement, la sonde la plus sensible (très peu de fluorescence résiduelle) et celle la plus affine pour l'ARN et l'ADN à ce jour. Enfin, le SYBR Safe **4.10** est l'alternative la moins toxique au bromure d'éthidium comme révélateur fluorescent pour les gels.

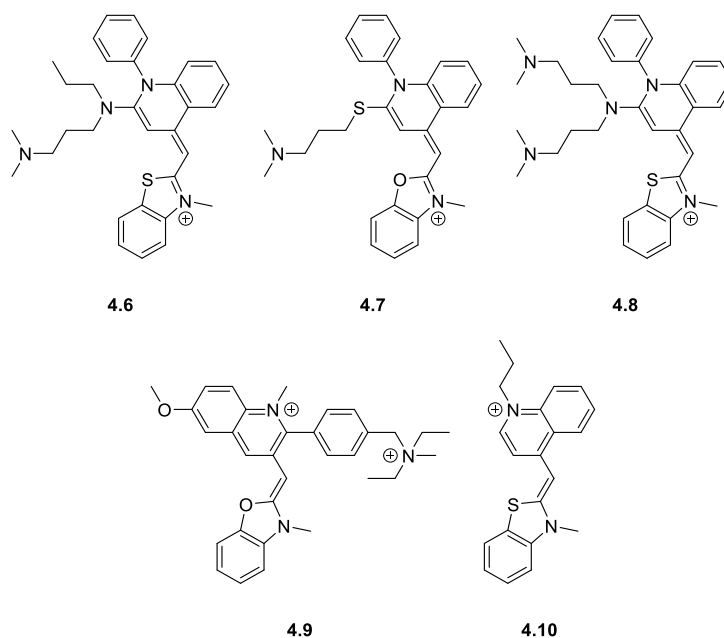


Figure 62. Exemples de cyanines utilisées pour le marquage d'acides nucléiques

Les cyanines présentent différentes qualités qui en font de bonnes sondes fluorescentes pour la détection d'acides nucléiques : une bonne affinité pour ces biomolécules, des coefficients d'extinction molaire élevés ($\epsilon > 50\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), une fluorescence intense en présence de ligands et une émission résiduelle très faible. Par ailleurs leur structure hautement modulable permet de couvrir une large portion du spectre électromagnétique et ainsi d'effectuer des co-marquages avec différentes cyanines. Leur extinction de fluorescence à l'état libre en solution provient généralement de la liberté de rotation autour du pont méthine empêchant la conjugaison des parties donneuse et acceptrice de la molécule. Une fois contrainte par leur liaison aux acides nucléiques, la conformation plane adoptée permet un CT intramoléculaire et la cyanine devient fluorescente. Ce sont donc des sondes à allumage de fluorescence.

L'interaction des cyanines avec les acides nucléiques est un aspect difficile à étudier et à élucider. Il s'agit d'un mélange d'intercalation et de liaison aux petits sillons (**Figure 63**) dépendant des conditions expérimentales (ratio colorant vs acides nucléiques, pH, structures des composés), mais pas de la séquence nucléotidique précise de la cible. Les dimères de cyanines symétriques (TO-TO ou YO-YO par exemple) forment généralement des ligands des sillons, tandis que les monomères plans tendent à être des intercalants. De plus, les modes d'interaction sont complexifiés par des phénomènes agrégatifs. En effet, des agrégats peuvent se former par proximité entre les composés dans les sillons ou être eux-mêmes directement ligands des sillons. Des équilibres complexes entre les phénomènes agrégatifs et associatifs peuvent donc se mettre en place.³²⁹

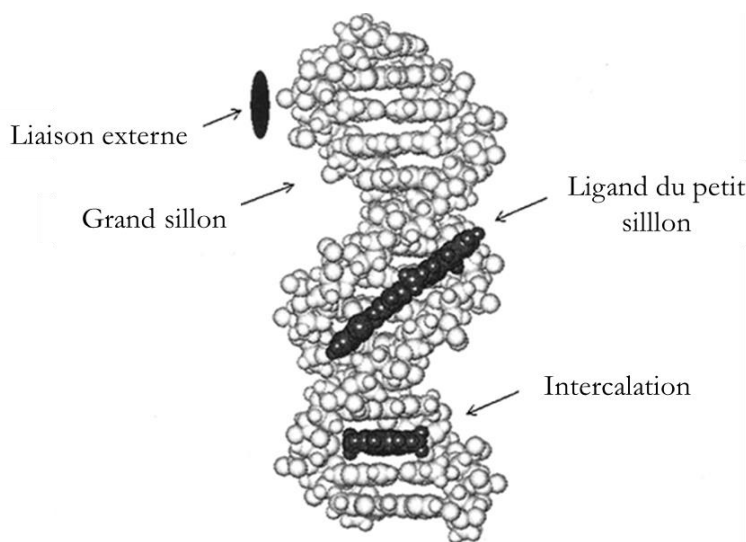


Figure 63. Différents modes d'interactions possibles avec des acides nucléiques

Le développement de ces sondes cyanines a longtemps été centré sur l'obtention de très bonnes spécificités et sensibilités (Kd de l'ordre du nanomolaire, jusqu'à 20 pg d'ADN détectable).³⁶⁷ Cependant, jusqu'à peu, seul un nombre réduit de composés étaient évalués pour leur sélectivité. De la même manière que pour la conception de ligands sélectifs de structures de l'ARN, le développement de sondes spécifiques de structures ribonucléiques est un défi pour les chimistes et peu de sondes sont à ce jour obtenues par conception rationnelle plutôt que par criblage.

1.1.3 Rappel sur le ciblage des ARN et exemples de sondes sélectives

Les structures mises en avant dans la **Figure 62** ont en commun d'être dérivées du thiazole orange **4.4** (**Figure 61**). Celui-ci a servi de base pour le développement de nombreuses sondes plus ou moins sélectives de différentes structures nucléotidiques. Si, comme mentionné précédemment, les sondes SYBR sont spécifiques de certaines structures ou acides nucléiques, leur liaison à l'ADN reste globalement plus favorable par rapport à l'ARN. Au cours de la dernière décennie des progrès certains ont été accomplis dans le développement de sondes sélectives de l'ARN. Une sonde commerciale très utilisée, le SYTO RNASelect, présente d'excellentes affinités pour l'ARN ($K_d(\text{ARN}) = 17 \mu\text{M}$) mais une sélectivité peu marquée pour les acides ribonucléiques ($K_d(\text{ADN}) = 1,2 \mu\text{M}$). Malheureusement sa structure n'a pas été révélée par la compagnie Molecular Probes.

En parallèle de l'intérêt récent de compagnies pharmaceutiques pour l'étude des composés se liant à l'ARN, les travaux sur la synthèse et l'obtention de sondes permettant le marquage sélectif et spécifique de familles d'ARN se multiplient. La stratégie de dérivation chimique ou de combinaison de fluorophores pour atteindre des sélectivités intéressantes a été utilisée à de multiples reprises. Des groupements connus pour faciliter les interactions avec les ARN – comme les polyalkylamines, les ammoniums ou les hétérocycles – ont notamment été greffés à des molécules fluorescentes. Ainsi des sondes sélectives des ARNr ou des nucléoles ont pu être développées.^{368–375} Mais comme souvent pour ce type de stratégie, les composés obtenus se révèlent d'une faible diversité structurale, et les architectures de ces molécules se ressemblent toutes fortement rendant les perspectives d'une réelle sélectivité structurale marquée peu plausibles.

Deux stratégies principales ont été utilisées pour former des sondes fluorescentes sélectives de structures spécifiques de l'ARN : la dérivation et le criblage de sondes contre des cibles très structurées (quadruplexes G notamment)^{376–379} ou la sélection d'aptamères pour des ligands fluorescents.^{380–382} Cette dernière technologie a conduit au développement des ARN Mango, Spinach ou Broccoli, décrits par Unrau et Jaffrey notamment, qui présentent d'excellentes spécificités pour leurs ligands respectifs, et ont été utilisés à maintes reprises pour visualiser des processus cellulaires ou comme rapporteurs d'expression génique.^{383–386} Le développement d'aptamères ne repose pas sur une conception rationnelle de ligands d'ARN. Il permet par contre, en analysant les complexes sélectionnés, d'en apprendre davantage sur le sujet, et notamment sur la liaison de petites molécules aux quadruplexes G.³⁸⁷

I.2 Sélectivité des sondes et apport du pCp dans le ciblage des acides nucléiques

I.2.1 Allumage de fluorescence et sélectivité de la sonde en présence de différents acides nucléiques

Afin d'évaluer la capacité de nos molécules (cf. chapitre III) à se lier aux acides nucléiques et à se comporter comme des sondes, les composés plan **3.54** et pCp **3.55** (solutions à 10^{-6} M dans le tampon TE, **Figure 64**) ont été mis en présence de quantités croissantes d'ARN total de levures (~85 % d'ARNr). On peut voir qu'en l'absence d'ARN la fluorescence des deux cyanines dans le tampon TE est très faible voire inexistante. Les deux sondes « s'allument » quand de l'ARN est introduit et présentent un comportement dose-réponse dans lequel la fluorescence émise est directement dépendante de la quantité d'ARN présent jusqu'à atteindre un plateau de saturation. On observe un déplacement bathochrome de la longueur d'onde d'émission maximale des composés ($\Delta\lambda$ de 20-40 nm) ainsi qu'une augmentation drastique de l'intensité de fluorescence (x 20-40 en présence de 2 mg d'ARNr).

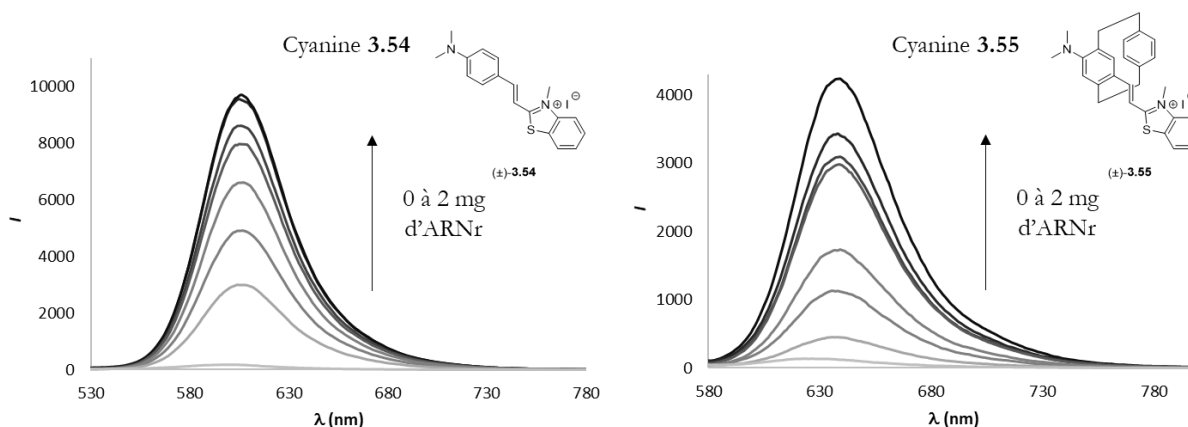


Figure 64. Allumage de fluorescence des cyanines **3.54** et **3.55** avec de l'ARNr

Au vu de la bonne capacité des sondes à s'allumer en présence d'ARN, nous avons effectué des dosages fluorimétriques similaires (**Figure 64**) en utilisant de l'ADN de thymus de veau, des ARNt de levures et des séquences d'ARNss (5'-3': UUGUACUACACAAAAGUACUG) et ds(5'-3': CCAGUUCGUAGUAACCC)³⁷⁴ (**Figure 65**). Les réponses de fluorescence ont été collectées pour chaque titration à différentes concentrations d'acides nucléiques dans le tampon TE (concentration de cyanines constante à 10^{-6} M). Les augmentations fluorescence (I/I_0) sont ensuite comparées. La sonde **3.54** s'avère présenter un allumage de fluorescence similaire pour tous les acides nucléiques utilisés avec une légère préférence pour l'ARNt et l'ADN comparé à l'ARNss ou l'ARN total. La sonde pCp

3.55, quant à elle, présente un comportement différent. La sonde tridimensionnelle n'est que très peu fluorescente en présence d'acides nucléiques db. Celle-ci s'allume beaucoup plus intensément en présence d'ARNt comparativement aux autres acides nucléiques.

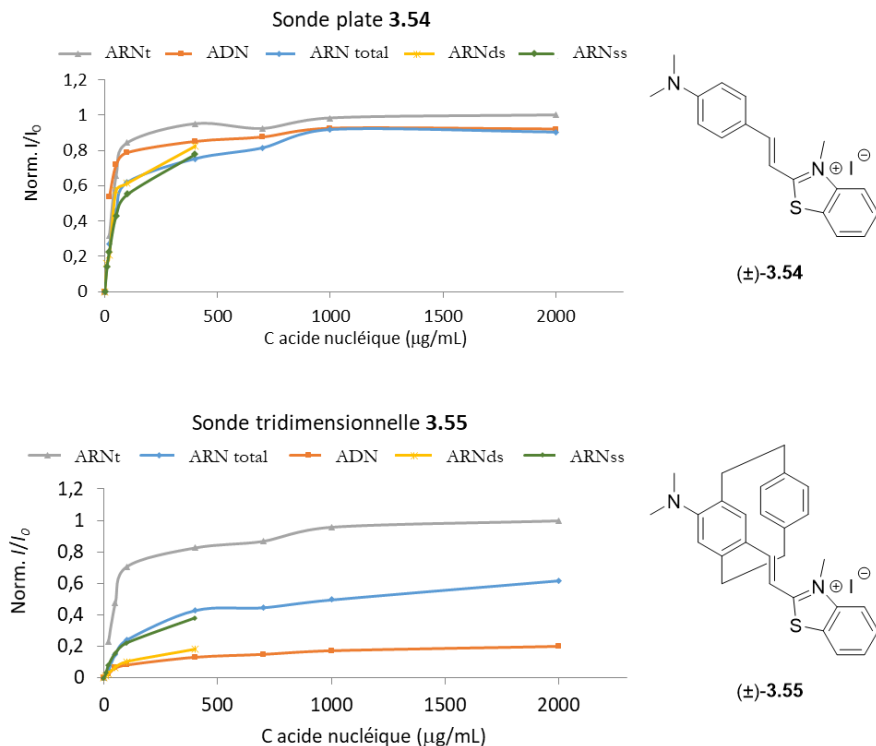


Figure 65. Dosages fluorimétriques des sondes 3.54 et 3.55 avec différents acides nucléiques

Un graphe représentant les augmentations de fluorescence (I/I_0) pour une même concentration d'acides nucléiques (400 µg/mL) permet de mieux visualiser les différences de sélectivité entre les deux sondes (Figure 66).

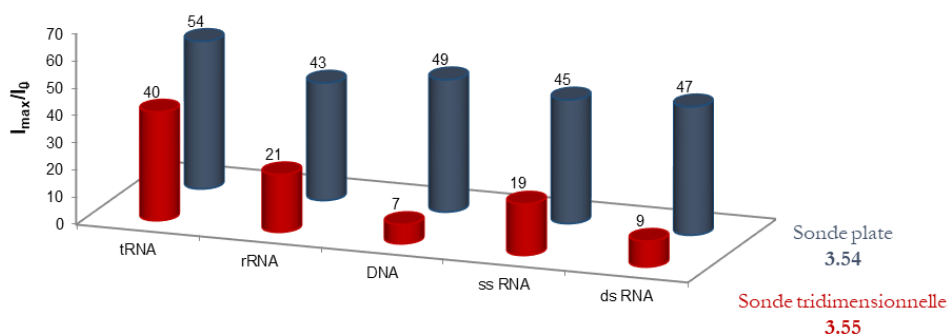


Figure 66. Graphe comparatif des augmentations de fluorescence des sondes cyanines en présence de 400 µg/mL d'acides nucléiques

En présence d'ARNt, les sondes **3.54** et **3.55** présentent des I/I_0 élevés et similaires (54 et 40 respectivement). Pour tous les autres acides nucléiques, les augmentations de fluorescence en présence de la sonde plane sont très semblables, avec un minimum pour l'ARNr à 43, et ne révèlent pas de sélectivité importante. Au contraire, une faible augmentation de fluorescence est observée dans le cas de la sonde tridimensionnelle en présence d'ADN et d'ARN double brin (I/I_0 de 7 et 9 respectivement). Un important différentiel d'émission lumineuse pour la sonde **3.55** est donc observé entre l'ADN ou l'ARNdb et l'ARNt à concentrations égales. Une différence de sélectivité vis-à-vis des ARN simple brin ou structurés (ARNss, ARNr et ARNt) est bien mise en évidence à travers cette expérience. Ce résultat démontre clairement une différence d'interaction de la sonde tridimensionnelle **3.55** et la sonde plane **3.54** avec les acides nucléiques structurés.

Des titrations en utilisant des quantités croissantes d'ARNt ont par la suite été réalisées afin de caractériser le comportement des sondes cyanines **3.54** et **3.55** en absorption. Sur les spectres d'absorbance (solutions à 10^{-5} M dans le TE, réalisé avec de l'ARNt, **Figure 67**), on observe un déplacement de la longueur d'onde d'absorption maximale vers le rouge avec l'augmentation de la quantité d'ARN ($\Delta\lambda$ de 30-50 nm), ainsi qu'une augmentation du coefficient d'extinction molaire.

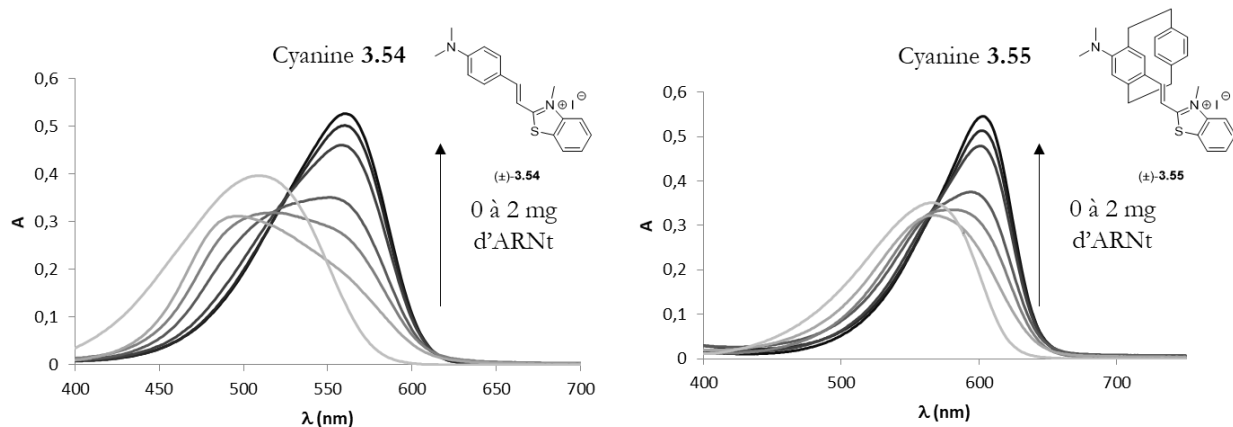


Figure 67. Spectres d'absorbance du dosage des sondes cyanines avec de l'ARNt

Ce déplacement graduel du maximum d'absorption et d'émission vers le rouge confirme notre hypothèse concernant les phénomènes de fluorescence induite par la désagrégation. En effet, la transition de multimères vers des monomères dans la population de colorants entraîne la cohabitation de deux états émissifs différents à deux longueurs d'ondes différentes. Les monomères associés à l'ARNt présentent un état excité mieux stabilisé et donc une absorbance et une émission plus basses

en énergie. Notons qu'en cas de CT intramoléculaire déformé (TICT), un autre mécanisme d'extinction de fluorescence, un phénomène inverse serait observé, les monomères ont des émissions moins intenses et déplacées vers le bleu.^{388,389} L'addition d'ARN à une population de cyanines agrégées entraîne la désagrégation de celles-ci et leur association à un état désagrégé avec les structures nucléotidiques.

Afin de nous assurer que les différences spectroscopiques observées sont bien dues aux interactions de nos sondes avec l'ARN, nous avons réalisé une expérience de digestion par ribonucléase (RNase). La cyanine **3.55** a donc été mise en présence de 2 mg d'ARNt pour obtenir une fluorescence intense similaire à celle vue sur la **Figure 64**, l'introduction de 0,3 unités de RNase A provoque une diminution immédiate de la fluorescence (**Figure 68a et b**). Dans les mêmes conditions d'exposition mais en l'absence de RNase, la sonde est photostable seule ou en présence d'ARN (**Figure 68c**). La sonde **3.54** quant à elle semble se dégrader au cours du temps (**d**).

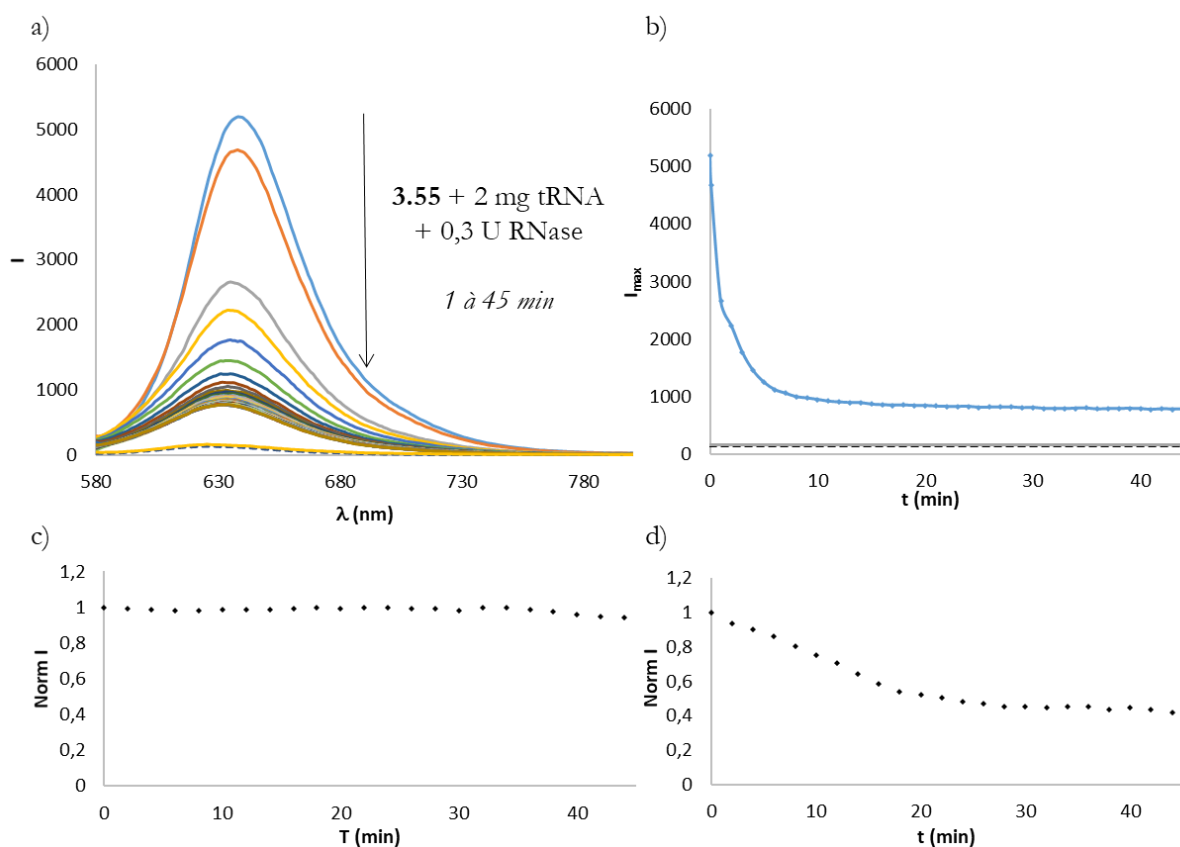


Figure 68. (a) Digestion avec RNase du complexe **3.55** avec de 2 mg d'ARNt pendant 45 min ; (b) Intensité de fluorescence au cours du temps pendant la digestion ; (c) Photostabilité de **3.55** + 2 mg ARNt ; (d) Photostabilité de **3.54** + 2 mg ARNt

La sonde **3.55** reproduit bien les phénomènes d'allumage de fluorescence de la cyanine plane **3.54**. Les deux sondes montrent une importante augmentation de fluorescence en présence d'ARN et donc un certain degré d'affinité pour ceux-ci. La cyanine **3.54** a déjà plusieurs fois été étudiée pour ses capacités de liaison à l'ADN,^{330–332,390} bien que son mode de liaison exact ne soit pas clairement élucidé, Yarmoluk indique qu'il s'agit probablement d'un intercalant. Or, comme nous l'avions souligné lors de notre chapitre bibliographique, le [2.2]paracyclophane possède un système encombré qui ne se prête pas à l'intercalation ($\sim 3,1$ Å sépare les deux cycles pour $\sim 3,4$ Å entre deux bases nucléotidiques). Cette particularité structurale explique sans doute en partie la sélectivité observée, et particulièrement la faible affinité de la sonde **3.55** pour les acides nucléiques double brins. Mais il a aussi été montré que la sonde plane **3.54** se révélait être affine pour les ARN, et même un bon marqueur des nucléoles *in cellulo*,³⁷¹ ce qui en fait donc bien un ligand universel d'acides nucléiques. Les titrations que nous avons pu effectuer sont en accord avec ces résultats.

1.2.2 Comparaison du comportement des cyanines plate et tridimensionnelle *in cellulo*

L'introduction d'un motif pCp semblant induire un fort biais de sélection entre les ARN et l'ADN, nous avons souhaité évaluer le comportement des deux sondes étudiées en milieu cellulaire (**Figure 69**). Des cellules HeLa ont donc été incubées pendant 20 min avec la sonde **3.54** (1 ou 5 μ M dans du TE isotonique) ou la sonde **3.55** (5 ou 10 μ M, même tampon) puis analysées par microscopie de fluorescence. Sur les images résultantes, on constate tout d'abord que les cyanines formées sont capables de traverser la membrane cellulaire pour marquer des éléments cytoplasmiques. En début d'exposition à la lumière, la cyanine plane **3.54** présente un délicat marquage fibrillaire uniquement cytoplasmique qui devient diffus puis fortement nucléolaire en quelques secondes après irradiation lumineuse. Cette variation de localisation au cours du temps peut s'expliquer par une phototoxicité de la sonde **3.54**, souvent décrite pour les cyanines. Ce phénomène n'a pas lieu en présence de la cyanine **3.55**, un marquage diffus, plus ou moins fibrillaire, mais exclusivement cytoplasmique est observé de manière stable et reproductible pendant plusieurs minutes.

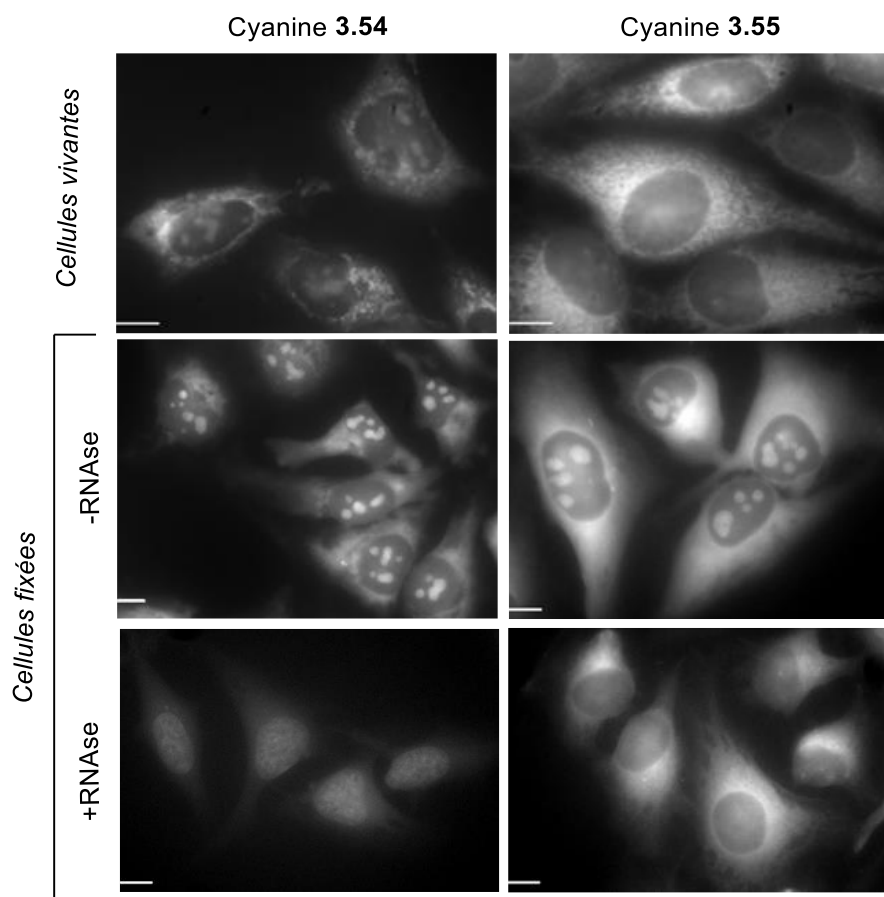


Figure 69. Images de microscopie à épifluorescence de cellules HeLa incubées avec la sonde **3.54** ou **3.55** pendant 20 min. Les cellules fixées ont été traitées ou non avec de la RNase A pendant 2h à 37 °C. Barres d'échelle : 10 µm.

Des expériences de marquage ont aussi été réalisées sur des cellules HeLa fixées au formaldéhyde et perméabilisées (**Figure 69**). Après incubation avec les sondes et lavage des plaques, les cellules ont été traitées pendant 2h à 37 °C par une solution de RNase (150 µg/mL) dans le TE ou dans le tampon seul. En l'absence de RNase, les cellules incubées avec la sonde **3.54** ou la sonde **3.55** présentent un marquage similaire avec une composante cytoplasmique diffuse et une fluorescence nucléolaire intense. En revanche, après traitement avec de la RNase, les deux fluorophores montrent des comportements bien différents. Leur fluorescence est fortement diminuée mais celle de la sonde plane **3.54** celle-ci devient exclusivement nucléaire, alors qu'avec la sonde **3.55** la disparition du marquage nucléolaire n'est pas été suivie d'une augmentation de la fluorescence nucléaire. Ces résultats concordent avec les observations réalisées *in cellulo* par Wang pour la sonde **3.54**.³⁷¹ Cette cyanine est donc suffisamment affine pour marquer l'ADN après digestion des ARN cellulaires. Ce n'est pas le

cas pour les cellules marquées avec la sonde **3.55** qui ont simplement perdu leur fluorescence nucléolaire. Notons que les cellules marquées par la sonde pCp présentent un cône ou une couronne fluorescente périnucléaire, et ce dans toutes les conditions de marquages étudiées, y compris après traitement à la RNase. Si l'origine de cette fluorescence n'a pas été élucidée avec certitude, nous faisons l'hypothèse qu'il s'agit de l'environnement cellulaire du RE, riche en ARN.

En conclusion, cette partie de notre étude montre clairement que le simple passage d'un motif plan à une structure tridimensionnelle peut entraîner l'apparition de sélectivité pour le ciblage des acides nucléiques. Une sonde spécifique des acides nucléiques mais non sélective des ARN par rapport à l'ADN a été modifiée par l'introduction d'un [2.2]paracyclophane. La sonde nouvellement formée **3.55** s'avère, elle, sélective des ARN par rapport à l'ADN.

I.3 Vers des ligands spécifiques et sélectifs de structures secondaires de l'ARN

I.3.1 Sélectivité envers des motifs « tige-boucle »

Après avoir montré l'affinité préférentielle de la sonde **3.55** pour des structures ARN par rapport à l'ADN, nous nous sommes intéressés à la sélectivité des sondes synthétisées vis-à-vis des structures secondaires de l'ARN. En analysant la **Figure 65**, nous avons souligné que les cyanines **3.54** et **3.55** se lient toutes les deux de manière comparable aux ARNt. Les ARNt sont caractérisés par des motifs secondaires de type « tige – boucles » comportant 4 à 12 nucléotides non appariés.

Nous avons alors envisagé que la grande augmentation de fluorescence observée soit liée à une interaction spécifique avec un motif « tige-boucle ». Afin de tester cette hypothèse, nous avons réalisé des dosages fluorimétriques en présence de nos sondes et d'ARN formant des structures « tige-boucle » de différentes tailles – dont la structure secondaire simulée est représentée dans le **Tableau 12** – et calculé les constantes de dissociation des sondes **3.54** et **3.55** pour ces séquences (solution de sondes à 10^{-6} ou 10^{-7} M dans le TE, pour une stoechiométrie de 1 pour 1, supramolecular.org, **Tableau 12**).^{391,392}

Sonde	I ^[a]	II ^[a]	III ^[a]	IV ^[b]	IV ^[c]	V ^[b]
3.54	4,1 ± 1,9	7,5 ± 0,33	5,5 ± 0,82	0,1 ± 0,02	0,72 ± 0,03	0,37 ± 0,06
3.55	20 ± 11	26 ± 6.1	6.66 ± 1.8	0.45 ± 0.05	1.2 ± 0.03	1.0 ± 0.19

[a] Solution de sondes à 10^{-6} M dans le TE [b] Solution de sondes à 10^{-6} M dans le TE [c] Solution de sondes à 10^{-6} M dans le TE additionné de 100 mM KCl, et 2 mM $MgCl_2$.

Tableau 12. Constantes de dissociations (K_d , μM) pour les interactions entre les séquences « tige-boucle » et les sondes cyanines **3.54** et **3.55**

Nous avons commencé par mesurer le K_d des sondes cyanines pour l'ARNss **I** utilisé précédemment (**Figure 65**). Comme observé auparavant, la sonde **3.54** s'avère avoir une bonne affinité pour cette séquence avec un K_d de 4,1 μM . La sonde **3.55** est, elle, faiblement affine pour l'ARNss (K_d de 20 μM). Pour les séquences « tige-boucle » **II** et **III**, avec quatre et six bases non appariées respectivement, les K_d mesurés avec la sonde plane **3.54** sont du même ordre que pour **I** ($\sim 5 \mu M$). Les K_d mesurés avec la sonde **3.55** diminuent eux avec l'augmentation de la taille de la boucle à 6 bases pour atteindre $\sim 6 \mu M$. Cette tendance s'accroît encore avec le passage à 8 bases, le K_d mesuré dans le TE pour la sonde tridimensionnelle avec la séquence **IV** est de 0,45 μM , ce qui note un très net gain d'affinité par rapport aux boucles plus petites (~ 15 x plus que pour la boucle **III**, ~ 60 x par rapport à **II**). En revanche, avec une boucle à 10 comme **V**, le K_d mesuré est supérieur à celui calculé pour **IV** (1 μM , ~ 2 x supérieur). Les résultats obtenus pour ces séquences **IV** et **V** avec la sonde **3.54** ne concordent pas avec la tendance stable observée pour les ARN **I**, **II** et **III**. En effet, dans ces conditions de mesure, la cyanine **3.54** s'avère posséder une affinité exceptionnelle pour la boucle **IV** avec un $K_d \sim 100$ nM. Le K_d mesuré pour la boucle à 10 bases **V** est de 0,37 μM . Ces résultats surprenants pourraient s'avérer être dus aux modèles mathématiques utilisés pour estimer les valeurs. En effet, les méthodes de calcul analytique utilisées nécessitent que la stœchiométrie de l'association

soit connue. Dans notre cas, ces calculs ont été réalisés en présupposant une stœchiométrie d'association d'un ARN pour une sonde. Il est tout à fait envisageable que les sondes étudiées aient des comportements différents, non seulement en termes de stœchiométrie mais aussi d'équilibre dynamique de désagrégation, en fonction des conditions utilisées (concentrations notamment). Nos efforts pour mesurer la stœchiométrie de ces associations (Job plots) ne se sont malheureusement pas avérés concluants.

Enfin, nous avons réalisé un dosage avec la séquence **IV** en utilisant un tampon additionné de sels (données **en gras, Tableau 12**). L'augmentation de la force ionique permet de diminuer la composante électrostatique de la liaison d'un composé à une biomolécule chargée. Dans ces conditions, les sondes **3.54** et **3.55** présentent des K_d pour la séquence **IV** de 0,72 et 1,2 μM respectivement. Par conséquent, en présence d'ions, le K_d de la sonde **3.54** est multiplié par ~ 8 alors que celui de la sonde **3.55** par $\sim 2,5$ uniquement. Ce résultat suggère que la contribution électrostatique, peu sélective, joue un rôle plus important dans l'association entre **IV** et la cyanine plate **3.54** que dans celle avec la sonde tridimensionnelle **3.55**.

Suite à cette étude fluorimétrique, il apparaît que la sonde **3.55** présente de bonnes affinités ($\sim \mu\text{M}$) pour des structures en « tige-boucle » avec une sélectivité marquée pour les motifs à 8 nucléotides non appariés. Ces résultats sont contrebalancés par l'affinité et la sélectivité supérieure montrée par la sonde **3.54** pour la même boucle ; le comportement de cette cyanine est différent à basses concentrations, et nous suspectons que les valeurs mesurées dans ces cas ne sont pas le reflet du K_d mais plutôt de la conjonction entre les dynamiques désagrégative et associative. Il ressort tout de même, à ce stade, que le motif [2.2]paracyclophane permet, comme espéré, d'apporter une sélectivité importante dans la reconnaissance de structures d'ARN.

Nous avons cherché à approfondir ces travaux en essayant de déterminer les interactions possibles avec des ARN plus complexes. Nous avons pour cela d'ores et déjà réalisé des expériences SHAPE (acylations sélectives de la position 2' analysées par extension d'amorce, développée par Weeks^{393,394}) en utilisant des ARN tels que 5'-UTR du VIH ou un ARN de didymium, un champignon, en collaboration avec les Dr Bruno Sargueil et Pierre Hardouin (Université de Paris). Nous sommes dans l'attente des résultats des derniers essais effectués après une première tentative prometteuse mais non concluante.

1.3.2 Conclusion

Cette preuve de concept apportée par nos pCp fluorescents nous permet d'envisager deux types de développement pour exploiter l'utilisation de ce motif dans la conception de ligands d'ARN. Premièrement, une librairie de ligands pCp différemment décorés pourrait être synthétisée et ses interactions avec un ARN cible investiguées pour pouvoir ensuite dériver le meilleur ligand trouvé et raffiner son affinité et/ou sa sélectivité. Il s'agit d'une stratégie conceptuellement proche du HTS, laborieuse et coûteuse en synthèse organique et en cible (**Figure 70**).

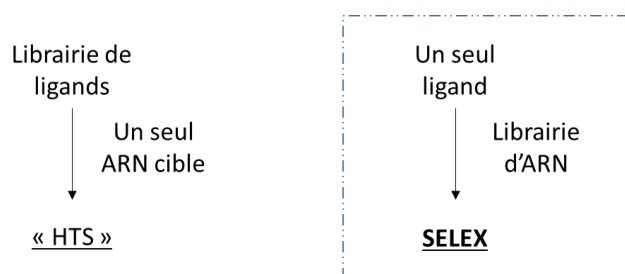


Figure 70. Approches envisagées pour l'isolation de séquences d'ARN affines de dérivés pCp

Une approche alternative permettant d'affiner notre compréhension des interactions entre des ARN et le [2.2]paracyclophane consiste à produire une paire ligand-cible par une démarche inverse : la synthèse d'un unique ligand pCp à utiliser en SELEX afin d'isoler un ou des aptamères affins pour celui-ci. Nous pensons ainsi, dans un premier temps, mieux comprendre les déterminants de l'association entre le pCp et les ARN pour pouvoir ensuite modifier nos ligands afin de cibler des ARN cellulaires naturels (**Figure 71**). Cette approche est exposée dans la partie suivante.

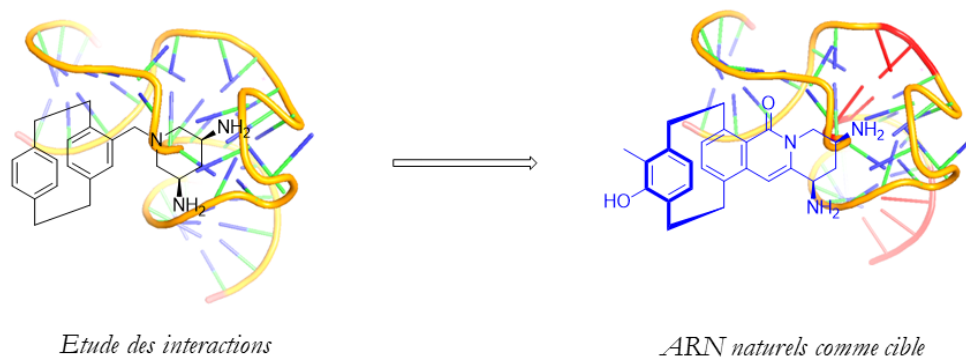


Figure 71. Stratégie de rationalisation des interactions de ligands pCp pour cibler des ARN naturels

II – Sélections d'aptamères pour un ligand dérivé du pCp

II.1 Le SELEX, un outil pour l'obtention de ligands spécifiques

Le processus de SELEX, décrit en 1990 par Szostak et Gold, est une stratégie d'évolution darwinienne d'oligonucléotides, d'ARN initialement puis étendue aux ADNsb, basée sur des cycles de sélection et d'amplification par PCR à partir d'une librairie aléatoire (**Figure 72**).^{6,7} Les séquences finalement sélectionnées sont appelées des aptamères. En utilisant cette stratégie, de nombreuses séquences spécifiques et sélectives de cibles diverses ont pu être isolées et utilisées pour différentes applications.

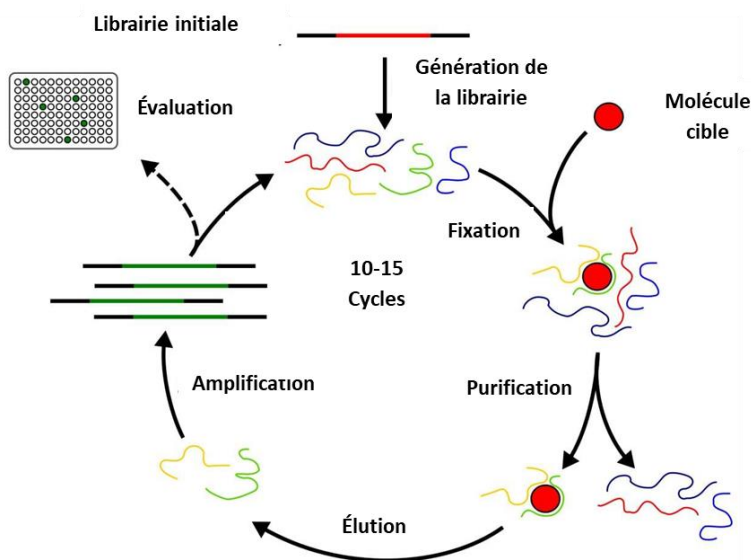


Figure 72. Processus de SELEX

Le principe de fonctionnement de ce processus est d'appliquer une pression de sélection graduelle sur une librairie d'oligonucléotides aléatoires afin d'isoler et d'amplifier celles capables d'adopter une structure tridimensionnelle affine pour la cible. La cible immobilisée est donc incubée avec la librairie d'oligonucléotides, généralement appelée **G0**, puis lavée pour ne conserver que les séquences liées. Ces séquences sont éluées puis amplifiées par PCR afin de former une nouvelle librairie enrichie (**G1**).³⁹⁵ En procédant ainsi par cycles, et en appliquant une pression graduellement de plus en plus forte, il est possible de sélectionner des aptamères possédant des affinités nanomolaires pour leurs cibles.³⁹⁶

L'utilisation de bibliothèques comprenant des séquences aléatoires de 20 à 40 nucléotides permet généralement d'atteindre un nombre suffisant de structures tridimensionnelles, combinaisons possibles de nucléotides (10^{10} à 10^{25} séquences uniques, généralement des bibliothèques comprenant 10^{11} - 10^{15} séquences amplifiables sont employées).³⁹⁷ La technique d'amplification reposant sur la PCR, elle doit s'appliquer à une famille d'ADN. Pour travailler sur des ARN en revanche, il faut ajouter une étape de transcription avant l'incubation avec la cible puis une étape de transcription inverse des séquences sélectionnées. Il est théoriquement possible d'utiliser la méthode SELEX, en adaptant les protocoles, pour sélectionner des aptamères pour tous types de cibles : petite molécule, protéine, cellule entière ou matériau inorganique. Il apparaît tout de même préférable que la cible, et les petites molécules en particulier, possède au moins une charge cationique et des sites d'interactions H et/ou π .^{396,398} Cette technique désormais très répandue a été utilisée pour isoler toutes sortes d'aptamères employés notamment pour la détection de virus ou de drogues, mais aussi pour des applications thérapeutiques.³⁹⁹⁻⁴⁰⁶ Nous avons préalablement mentionné la sélection d'aptamères induisant un allumage de fluorescence par interaction avec leurs cibles qui est une autre utilisation fascinante de la diversité structurale et fonctionnelle des ARN. La technologie aptamère a notablement aussi été employée pour la création de riborégulateurs artificiels et le contrôle de fonctions ou d'expressions géniques *in vivo* en introduisant une séquence aptamère exogène dans le génome d'un organisme.^{11,407,408} En 1994, Polisky et son équipe ont par exemple montré qu'un aptamère à la théophylline (K_d de 0,32 μ M) était capable de sélectivités remarquables vis-à-vis de la caféine (K_d de 3,5 mM) qui n'a pourtant qu'un groupement méthyle supplémentaire (**Figure 73**).⁸

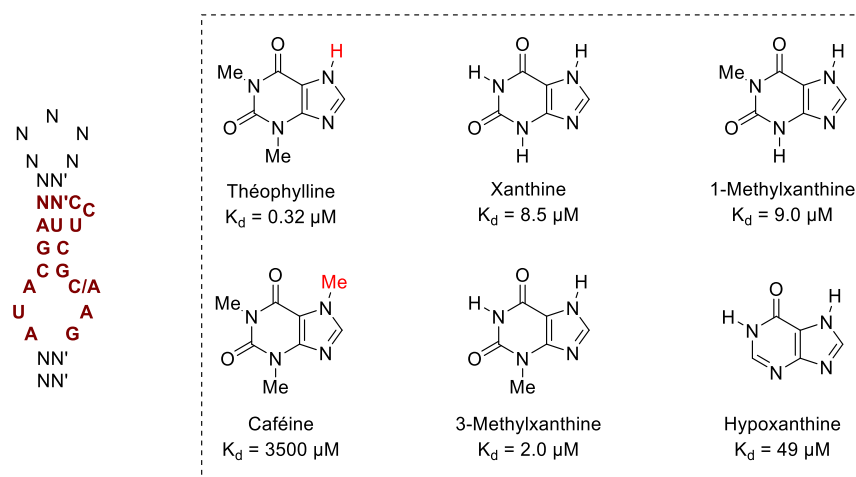


Figure 73. (Gauche) Structure schématique de différents aptamères de la théophylline ; (droite) Constantes de dissociations de différentes molécules en présence d'un aptamère de la théophylline

Plusieurs procédures sont possibles pour la mise en œuvre des expériences de SELEX. Historiquement, et encore majoritairement à ce jour, les sélections ont été réalisées en utilisant des colonnes d'agarose ou de sépharose greffées covalamment avec la cible. Les colonnes sont ensuite incubées avec les bibliothèques d'oligonucléotides puis lavées avec des tampons afin de n'isoler que les séquences liées à la cible immobilisée après élution ; de manière similaire à ce qui peut être fait pour la purification de protéines par chromatographie d'affinité. Une seconde stratégie développée par Stoltenburg en 2007, et appelée FluMag, emploie des billes magnétiques modifiées avec une streptavidine à la place des colonnes greffées pour retenir les molécules cibles.⁴⁰⁹ Cette technique présente l'avantage d'être économique en composé cible et les sélections peuvent être réalisées sur de plus petites échelles (μg de produits et d'oligonucléotides). En contrepartie la cible doit comporter un groupement biotine afin de s'associer à la streptavidine des billes. La pression de sélection, appliquée de manière croissante au cours du processus, peut elle aussi être modifiée. Les principaux facteurs pris en compte sont : la concentration des différents éléments, le temps d'incubation de la cible avec l'ARN, la température et la composition des solutions de lavage. Celles-ci incluent par exemple fréquemment la cible elle-même, à des concentrations plus ou moins importantes, afin de contre-sélectionner des aptamères de faible affinité.

II.2 Expériences de SELEX

En collaboration avec le Dr Marcel Hollenstein (Institut Pasteur), nous avons opté pour une stratégie FluMag et conçu le ligand **4.11** biotinylé à cette fin (**Figure 74**). Cette molécule est centrée sur un cœur pCp, pourvoyeur d'interactions π , et comporte un groupement *cis*-3,5-diaminopipéridine, dérivé de la 2-DOS des aminoglycosides connue pour ses interactions électrostatiques et liaisons H avec les acides nucléiques. La synthèse des deux énantiomères du pCp pseudo-*para* **4.11** a fait l'objet de mon stage de M2 dans l'équipe lors de la thèse de Marie-Léonie Delcourt.

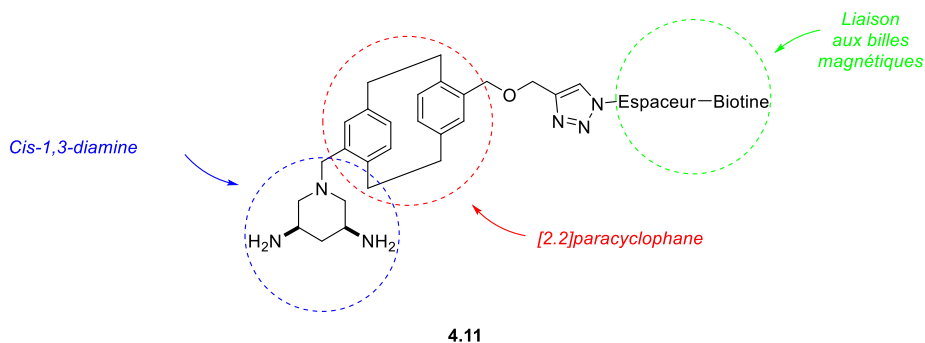


Figure 74. Ligand synthétisé pour les expériences de SELEX

II.2.1 Synthèse des ligands

Comme représenté sur le **Schéma 59**, la synthèse du composé **4.11** se fait tout d'abord par propargylation du composé **2.15** pour obtenir le fragment pCp **4.12**. Celui-ci est ensuite lié au motif pipéridine par amination réductrice pour former l'intermédiaire clé **4.13** sur lequel est ajouté un groupement biotine par chimie « click ». Cette voie de synthèse utilisant le produit **2.15** de la réaction de désymétrisation par ATH permet l'obtention aisée de ligands énantiopurs (S_p)- ou (R_p)-**4.11** à utiliser en SELEX.

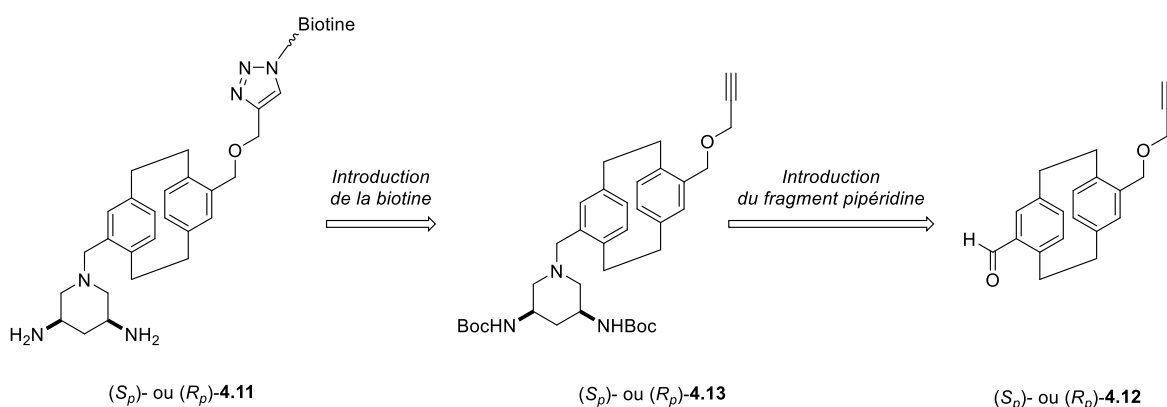
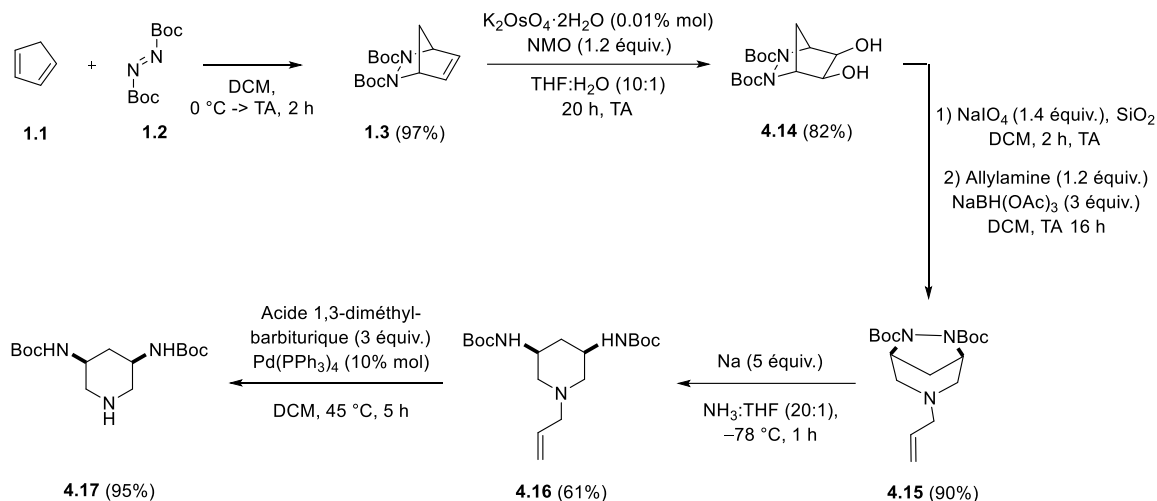


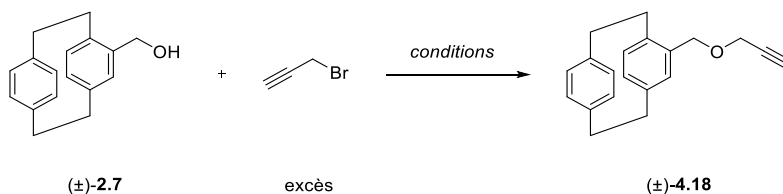
Schéma 59. Approche rétrosynthétique du ligand 4.41

La préparation du fragment pipéridine a été adaptée par le Dr Haitham Hassan lors de son post-doctorat dans l'équipe selon une procédure décrite au laboratoire (**Schéma 60**).⁹⁰ Le bicyclic **1.3**, formé avec 97 % de rendement par cycloaddition de Diels-Alder des composés **1.1** et **1.2** dans le DCM, est dihydroxylé en présence de d'osmate de potassium et de *N*-oxyde de *N*-méthylmorpholine (NMO) dans un mélange de THF et d'eau avec un rendement de 82 %. Le composé **4.14** est ensuite engagé dans une séquence de coupure oxydante avec du periodate de sodium supporté sur silice suivie d'une amination réductrice avec de l'allylamine et du triacétoxyborohydrure de sodium pour obtenir le bicyclic allylé **4.15** avec 90 % de rendement. Une réduction de Birch employant du sodium dans de l'ammoniac condensé à -78 °C pendant 1 h a permis la rupture de liaison de l'hydrazide et l'obtention du produit *cis*-3,5-diaminopipéridine **4.16** allylé avec 61 % de rendement. Enfin, l'amine secondaire a pu être déprotégée sélectivement avec 95 % de rendement (rendement global de 42 %) par déallylation catalysée au palladium en présence d'acide 1,3 diméthylbarbiturique.



Sch\u00e9ma 60. Synth\u00e8se du fragment *cis*-3,5-diaminopip\u00e9ridine d\u00e9velopp\u00e9e au laboratoire

La pr\u00e9paration du fragment pCp **4.12** a ensuite \u00e9t\u00e9 \u00e9tudi\u00e9e. L'addition d'un groupement propargyl sur l'interm\u00e9diaire **2.15** a tout d'abord \u00e9t\u00e9 tent\u00e9e sur un substrat mod\u00e8le rac\u00e9mique, le pCp (\pm)-**2.7** (Sch\u00e9ma 61 et Tableau 13).



Sch\u00e9ma 61. \u00c9valuation des conditions de propargylation sur le substrat mod\u00e8le **2.7**

Conditions	t (h)	Rdt
KOH (4 \u00e9quiv.), DMSO, TA	24	0 %
NaI (5 \u00e9quiv.), DIPEA (5.5 \u00e9quiv.), DME, 85 \u00b0 C	24	traces
NaH (1.1 \u00e9quiv.), THF, TA	16	20 %
NaH (1.8 \u00e9quiv.), THF, -20 \u00b0 C -> TA	16	64 %

Tableau 13. Conditions de propargylation test\u00e9es

Le produit propargylé **4.18** n'a pu être obtenu ni en utilisant le KOH comme base dans le DMSO à TA,⁴¹⁰ ni en employant la diisopropyléthylamine (DIPEA) et de l'iodure de sodium dans le diméthoxyéthane (DME) à reflux (**Tableau 13**). En utilisant un seul équivalent de NaH dans le THF à TA, le produit propargylé a pu être isolé avec 20 % de rendement. Ce dernier est augmenté à 64 % en réalisant l'addition de deux équivalents de NaH à -20 °C.

Les synthons propargylés énantiopurs (*S_p*)- et (*R_p*)-**4.12** ont été préparés à partir des deux énantiomères (*S_p*)- et (*R_p*)-**2.15** obtenus par désymétrisation du dialdéhyde pCp **2.14** (**Schéma 18**). Les produits (*S_p*)- et (*R_p*)-**4.12** ont été obtenus avec 32 % et 38 % de rendement respectivement (**Schéma 62**). Cette baisse de rendement pour le substrat **2.15** par rapport à **2.7** s'explique sans doute par la présence d'un groupement aldéhyde en pseudo-*para*.

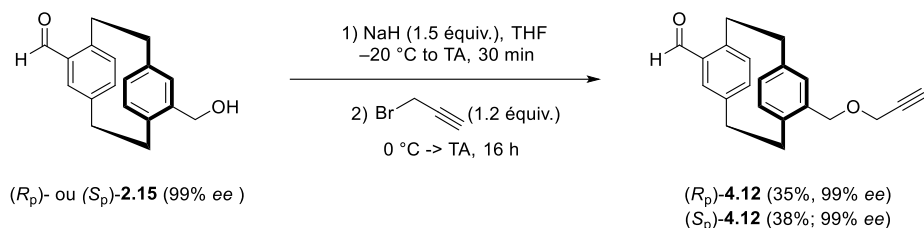


Schéma 62. Synthèse des énantiomères **4.12** par propargylation

La réaction clé d'amination réductrice réunissant la diamine protégée **4.17** et le pCp **4.12** a été testée en utilisant comme substrat modèle racémique le 4-formyl[2.2]paracyclophane (\pm)-**2.6** (**Schéma 63**). Pour tous les essais réalisés, l'amine et l'aldéhyde ont tout d'abord été mélangés avec du MgSO₄ afin de former l'intermédiaire iminium ensuite engagé dans une étape de réduction *in situ*. Le triacétoxyborohydrure de sodium a tout d'abord été employé à cet effet dans un mélange 1:1 de DCM et MeOH avec un rendement de 23 % après 48h de réaction (**Tableau 14**).

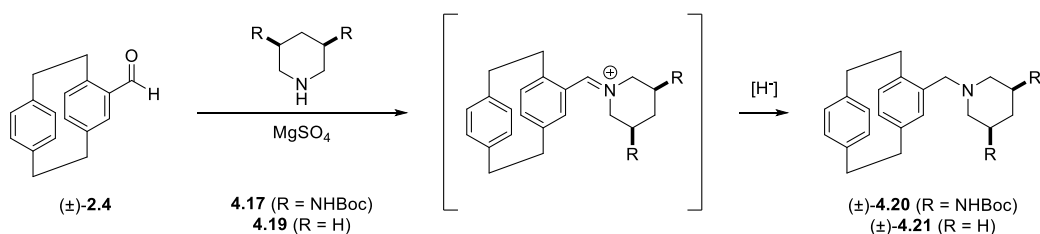


Schéma 63. Évaluation des conditions d'amination réductrice sur le substrat modèle **2.6**

Amine	Réducteur	Acide	Solvant	t (h)	Produit	Rdt (%)
4.17	NaBH(OAc) ₃ (7 équiv.)	-	DCM: MeOH (1:1)	48	4.20	23
4.17	NaBH(OAc) ₃ (1.4 équiv.)	AcOH (1 équiv.)	DCM: MeOH (1:1)	48	4.20	20
4.19	NaBH(OAc) ₃ (2 équiv.)	AcOH (1 équiv.)	DCE	1.5	4.21	48
4.19	NaBH ₃ CN (0.7 équiv.)	Ti(OiPr) ₄ (1.25 équiv.)	MeOH	20	4.21	61
4.17	NaBH ₃ CN (0.7 équiv.)	Ti(OiPr) ₄ (1.25 équiv.)	MeOH	20	4.20	29

Tableau 14. Conditions de d'amination réductrice testées

Afin de favoriser l'étape de déshydratation et la formation de l'iminium un équivalent d'acide de Brønsted (AcOH) a été employé dans des conditions proches, mais seuls 20 % de rendement ont été obtenus. En simplifiant l'amine utilisée (pipéridine non substitué, **4.19**), et avec les mêmes réactifs dans le DCE à reflux, l'amine tertiaire correspondante **4.21** a pu être isolée avec 48 % de rendement (Tableau 14). Des conditions dans la littérature décrivent l'utilisation d'acides de Lewis, et particulièrement d'isopropoxide de titane, pour favoriser la formation de l'iminium dans le cas d'amines encombrées.⁴¹¹ En employant cette procédure, avec de l'isopropoxide de titane et du cyanoborohydrure de sodium comme réducteur dans le MeOH, il a été possible d'obtenir le produit **4.21** avec 61 % de rendement. Ces mêmes conditions n'ont toutefois mené à l'isolation de **4.20** qu'avec 29 % de rendement.

Malgré cela, ces conditions ont été retenues pour réaliser la réaction d'amination réductrice entre les composés énantiopurs (*S_p*)- ou (*R_p*)-**4.12** et la pipéridine **4.17**. En augmentant la quantité d'acide de Lewis de 1,25 à 6 équivalents, nous avons pu isoler les produits (*S_p*)- ou (*R_p*)-**4.13** sans perte d'*ee* et avec 47 % et 51 % de rendement respectivement (Schéma 64). (Le rendement de cette réaction monte même à 86 % en utilisant 15 équivalents d'isopropoxide de titane).

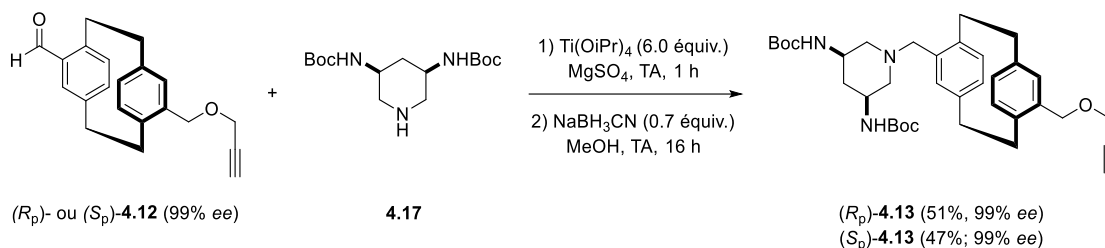


Schéma 64. Synthèse des énantiomères **4.22** par amination réductrice

Deux conditions d'introduction du bras biotinylé par cycloaddition de Huisgens catalysée au cuivre, ont été évaluées en utilisant le dérivé **4.22** (Schéma 65), modèle simplifié de **4.13**, obtenu par propargylation de l'alcool benzylique correspondant. Le dérivé biotine azoture **4.23** utilisé dans cette réaction a été synthétisé par l'équipe du Dr Marcel Hollenstein. Un premier essai de réaction « click » a été tenté en utilisant 0,25 équivalents de sulfate de cuivre et 1,2 équivalents d'ascorbate de sodium dans un mélange 5:1 de THF et de MeOH (conditions A). Seuls 37 % de rendement ont été obtenus après 17 h de réaction à TA. Nous avons par la suite réalisé cette cycloaddition en présence de 0,1 équivalent de sulfate de cuivre avec la même quantité d'ascorbate de sodium dans un mélange 3:1 de *t*-BuOH et d'eau pendant 3 h à TA (conditions B). Le produit **4.24** a pu être isolé avec 61 % de rendement.

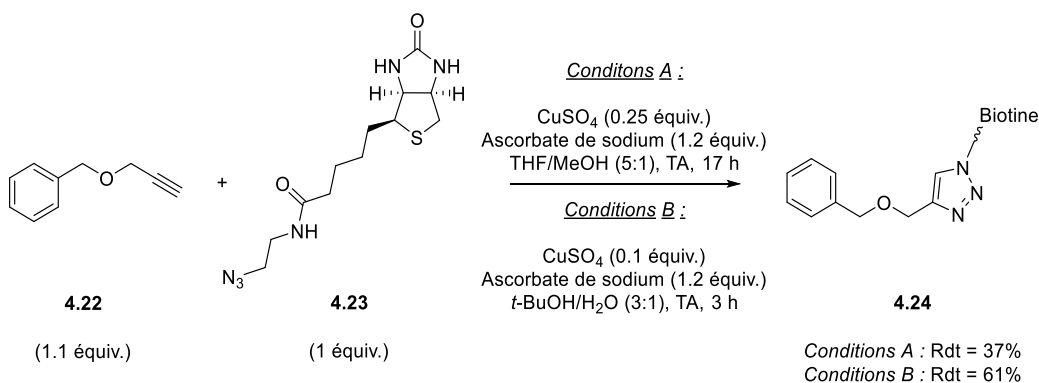


Schéma 65. Évaluation des conditions de cycloaddition sur le substrat modèle **4.22**

Les conditions B étant satisfaisantes, la réaction a donc ensuite été réalisée en utilisant les pCp (*S_p*)- ou (*R_p*)-**4.13** et l'azoture **4.23** comme substrats de départ (Schéma 66). Les dérivés triazoles correspondants (*S_p*)- ou (*R_p*)-**4.26** ont ainsi été isolés avec 34 % et 54 % de rendement respectivement. Dans un second temps, un autre dérivé biotine azoture **4.25**, avec un espaceur plus long d'un carbone,

a été obtenu par simple couplage peptidique entre la biotine acide et l'azidopropan-3-amine (l'azidoéthan-2-amine n'étant plus disponible commercialement). Sans surprise, la réaction catalysée au cuivre entre (*R_p*)-**4.13** et **4.25** a pu avoir lieu dans les mêmes conditions que précédemment et le produit (*R_p*)-**4.27** a pu être isolé avec 66 % de rendement.

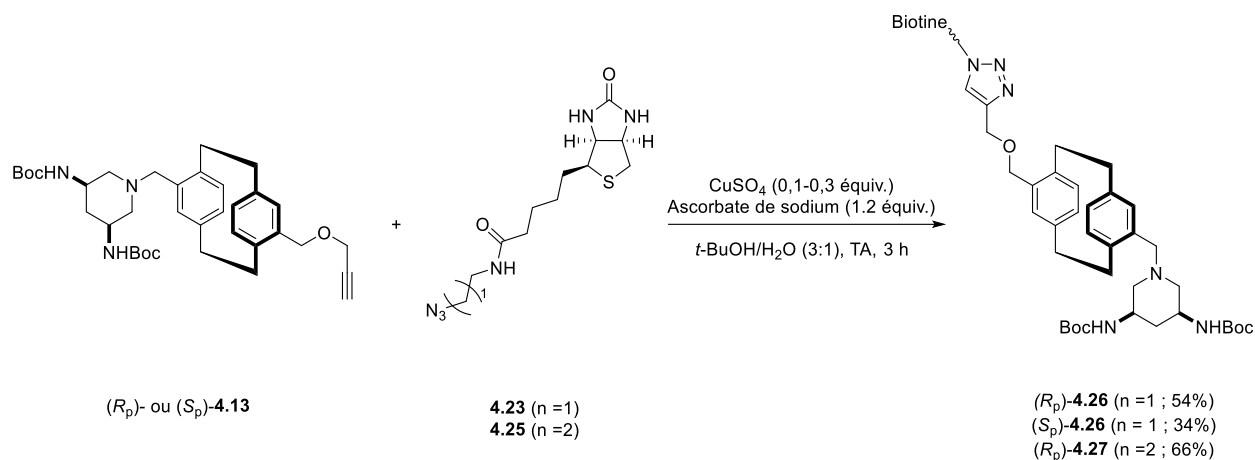


Schéma 66. Synthèse des énantiomères de **4.26** et (*R_p*)-**4.27** par cycloaddition de Huisgens

Enfin, l'étape finale de déprotection des diamines a été réalisée en traitant les composés (*S_p*)- ou (*R_p*)-**4.26** et (*R_p*)-**4.27** avec de l'acide hydrochlorique à 4 M dans le 1,4-dioxane pendant 4h à TA (**Schéma 67**). Les chlorhydrates correspondants (*S_p*)- ou (*R_p*)-**4.28** et (*R_p*)-**4.29** ont pu être isolés avec des rendements de 87 % à 100 % (rendements globaux de 5 à 20 % sur 4 étapes depuis **2.15**).

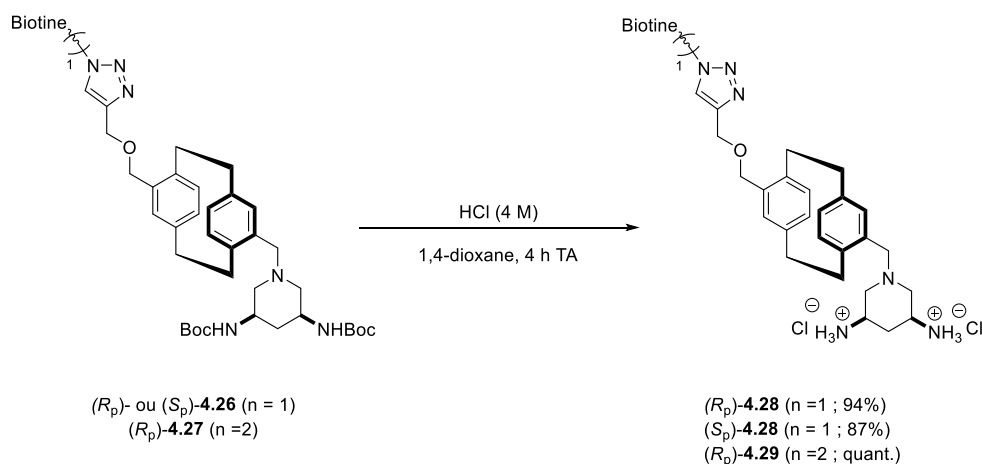


Schéma 67. Déprotection des énantiomères de **4.26** et (*R_p*)-**4.27**

La synthèse convergente de ces composés dérivés du [2.2]paracyclophane comportant à la fois un groupement *cis*-1,3-diaminopipéridine et un bras biotinylé en position pseudo-*para* nous permet maintenant d'envisager de réaliser des expériences de sélections d'aptamères pour ces dérivés en exploitant l'association femtomolaire entre la streptavidine et la biotine pour immobiliser notre cible sur support solide.

II.2.2 Sélections avec une librairie ADN

Une fois les composés **4.28** et **4.29** formés, j'ai pu être accueilli à l'Institut Pasteur au sein du laboratoire du Dr Marcel Hollenstein et y mener les expériences décrites dans cette sous-partie.

Nous avons, dans un premier temps, choisi de travailler sur des ADN, à la fois pour maîtriser les techniques de sélection, mais aussi de façon à les comparer à d'éventuels aptamères ARN. Pour ces sélections d'aptamères, nous avons utilisé le composé (S_p)-**4.28**. Une librairie initiale d'ADN (10 pmol, $\sim 6 \times 10^{11}$ séquences uniques) d'une longueur totale de 71 bp et comprenant une partie centrale de 35 nucléotides aléatoires (N) (5'- CGT ACG GTC GAC GCT AGC - N₃₅ - CAC GTG GAG CTC GGA TCC -3') a été amplifiée par PCR en utilisant une amorce 5'-phosphate. Après digestion de ce brin phosphate par une exonucléase lambda et purification, nous avons pu obtenir une librairie **G0** d'ADNs comprenant $\sim 10^{14}$ molécules (~ 250 pmol). Cette librairie a ensuite été utilisée dans les sélections d'aptamères pour le pCp (S_p)-**4.28**. Ce ligand (S_p)-**4.28** a lui été solubilisé à 10 mM dans un tampon TE additionné de 150 mM de NaCl (tampon A) et de 5 % de DMSO, puis dilué à une concentration finale de 0,1 mM avec le tampon A seul. La concentration des différentes solutions d'oligonucléotides a été évaluée et suivie par absorbance (OD₂₆₀) tout au long des sélections, et leurs puretés par gel d'agarose.

La librairie mère **G0** (100 pmol, 0,5 μ M) a tout d'abord été incubée pendant 1h à 37 °C dans le tampon A avec les billes streptavidines magnétiques seules (~ 200 pmol de sites streptavidines disponibles, 1 μ M), en l'absence du ligand pCp, afin d'éliminer les séquences affines pour le plastique des tubes ou pour les billes (**Tableau 15**). En parallèle, la cible pCp (200 pmol, 1 μ M) a été immobilisée sur les billes streptavidines, dans les mêmes conditions d'incubation que la librairie. Les tubes ont ensuite été posés sur un rack magnétique permettant l'immobilisation des billes et le surnageant du tube contenant la cible pCp est remplacé par celui de la librairie préincubée sur les billes. Ainsi, seules les séquences libres en solution, non liées aux billes, sont mises en présence de la cible immobilisée sur les billes magnétiques. Après 2h d'incubation à 37 °C, la suspension a à nouveau été posée sur un rack

magnétique et les billes liées au complexe ligand-ADN sont lavées avec le tampon A. Les séquences affines ont ensuite été éluées par chauffage à 95 °C (dissociation biotine streptavidine) et collectées pour constituer après amplification par PCR la librairie fille **G1** à utiliser pour le second cycle (**Tableau 15**).

Librairie mère (100 pmol)	Contre-sélection	(<i>S_p</i>)-4.28 (pmol)	Durée d'incubation (h)	Librairie fille
G0		200	2	G1
G1	Billes	200	2	G2
G2		200	2	G3
G3		200	2	G4
G4		200	2	G5
G5		200	2	G6
G6	4.24	100	2	G7
G7	(200 pmol)	100	1	G8
G8		100	1	G9
G9		50	0.5	G10

Tableau 15. Paramètres de sélection à chaque cycle du SELEX pour (*S_p*)-4.28

Chaque cycle consiste en la répétition de ces mêmes étapes générales. Les concentrations en cible pCp et les durées d'incubation avec la librairie sont diminuées au fil des cycles afin d'accroître la pression de sélection appliquée. À partir du cinquième cycle (**G4** mère), la contre-sélection a été effectuée sur les billes liées au composé phényle **4.24**, toujours pendant 1h, afin de renforcer la pression envers des motifs tridimensionnels.

Après 10 tours de sélections (**G10** fille), nous avons souhaité évaluer la capacité de nos dernières générations à se lier à notre cible pCp. Nous avons pour cela réalisé de nouveaux cycles de sélection en utilisant les librairies **G0**, **G8**, **G9** et **G10**, avec ou sans présélection sur le composé **4.24**. Les librairies ont donc été régénérées par PCR en utilisant une amorce 3' fluorescente **P**. Après incubation des librairies modifiées avec (*S_p*)-**4.28**, toutes les fractions de surnageant, de lavage et d'éluion collectées ont été analysées par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide (PAGE) (**Figure 75**).

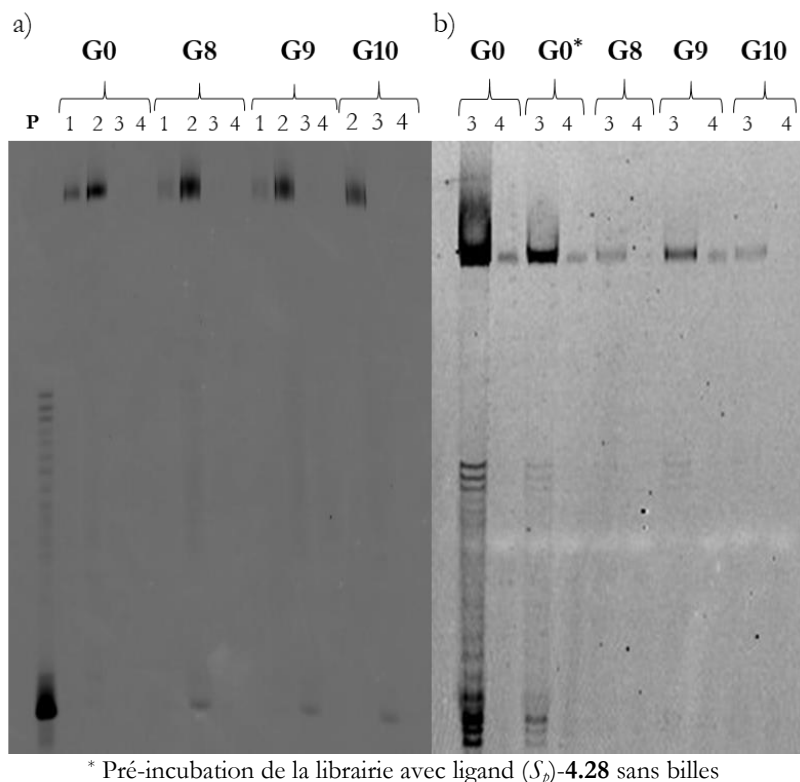


Figure 75. Images des PAGE obtenus a) avec ou b) sans présélection pour les différentes fractions collectées : 1, librairie mère avant sélection ; 2, surnageant ; 3, lavages ; 4, élution ; **P**, amorce fluorescente utilisée lors des réactions de PCR.

Avec présélection (**Figure 75a**), on peut observer que la fluorescence des librairies avant sélection (ligne 1) est présente et confirme que la PCR avec l'amorce **P** a bien engendré une librairie fluorescente. L'intensité lumineuse de la fraction de surnageant (ligne 2) est très importante dans toutes les générations, la majorité des séquences ne sont pas retenues par la cible et restent en solution, ce qui est normal dans le SELEX. Aucune des fractions d'élution (ligne 4) ne laisse apparaître de fluorescence. L'intensité des surnageants étant trop importante, l'analyse des images est altérée (sensibilité moindre, basse exposition) elle pourrait masquer une émission plus faible dans une autre fraction, nous avons donc décidé de ne pas utiliser les fractions 1 et 2 pour la suite. Sans présélection (**Figure 75b**), la librairie **G0** a été évaluée dans deux conditions différentes, en introduisant les billes avec le ligand avant (**G0**) ou après la librairie (**G0***) afin de tester l'influence des billes sur l'association avec le composé pCp. Les résultats de ces deux expériences sont très similaires et révèlent une bande fluorescente prometteuse dans les fractions élues après incubation (ligne 4). Cette bande est aussi retrouvée dans la fraction élue de la **G9**, mais pas pour les **G8** et **G10**. Afin de confirmer ce résultat, l'expérience a été renouvelée une troisième fois en réalisant cette fois une réaction de PCR sur les fractions collectées.

Une bande de très faible intensité a à nouveau pu être observée pour la fraction éluée de la librairie mère **G9** (non présenté). Cette bande devrait correspondre à la génération fille **G10**, toutefois aucune fluorescence n'est observable pour les fractions éluées de la **G10** mère.

Suite à ces résultats, nous avons souhaité séquencer la génération **G10**, fille de **G9**, en supposant que les motifs sélectionnés y seraient retrouvés, pour cela la technique du clonage-séquençage a été choisie. La librairie **G10** a donc été amplifiée par PCR avec un primer 5' non phosphate, vectorisée puis utilisée pour la transformation de cellules compétentes Dh5 α .⁴¹² Après sélection et culture des colonies, celles-ci peuvent être lysées pour obtenir une multitude de copies des séquences introduites sous forme de plasmides cycliques. L'évaluation par gels d'agarose de la qualité de ces plasmides permet ensuite de séquencer un nombre raisonné mais limité d'oligonucléotides. Dans notre cas, 56 ADN ont pu être séquencés, mais aucune séquence répétée n'a pu être isolée lors de cette analyse.

Ce résultat n'est pas conclusif. L'analyse d'une portion limitée (60 colonies sélectionnées) d'une seule génération ne permet pas de réellement rendre compte de la diversité de toutes les séquences contenues dans nos librairies. Bien qu'historique, la technique du clonage-séquençage a maintenant été supplantée par le séquençage nouvelle génération (NGS) qui permet l'analyse directe d'une quantité d'échantillons (10^6 - 10^8) beaucoup plus grande et plus rapidement. Ces avantages sont contrebalancés par un coût beaucoup plus élevé. En plus de séquencer d'autres générations, par NGS, préférentiellement **G9**, à ce stade du projet, trois développements sont possibles : soit continuer à effectuer des cycles de sélection, soit recommencer une nouvelle sélection ; dans les deux cas, en enlevant la contre-sélection qui semble délétère et éventuellement en modifiant les pressions appliquées. Le taux de succès des sélections étant de 20 à 30 % en moyenne, la troisième possibilité est de changer de librairie de départ. En effet, d'autres séquences, de longueurs différentes ou incluant des bases modifiées par exemple, peuvent être utilisées et présenter des affinités différentes. Nous avons opté pour cette dernière approche et l'objectif étant de cibler des ARN, nous avons décidé de passer à une librairie d'ARN.

II.2.3 Sélections avec une librairie ARN

Toutes les expériences décrites dans cette sous-partie ont été réalisées au sein de notre laboratoire grâce à l'expertise acquise au cours de mes travaux chez le Dr Hollenstein et aux conseils précieux du Dr Bruno Sargueil (Université de Paris).

À la suite de nos sélections d'oligonucléotides ADN pour le ligand pCp (S_p)-**4.28**, nous avons décidé de mener une seconde série de sélection sur des bibliothèques d'ARN en utilisant pour cible le ligand (R_p)-**4.29**. Si le protocole utilisé ci-après est très proche de celui décrit précédemment, deux différences majeures y sont introduites (**Figure 72**). Afin de travailler sur des ARN, des étapes de transcription puis de rétrotranscription sont ajoutées, respectivement avant et après l'incubation avec la cible.

Une bibliothèque d'ADN initiale (10 pmol, $\sim 6 \times 10^{11}$ séquences uniques), d'une longueur totale de 68 bp (90 bp après PCR), comprenant une partie centrale de 30 nucléotides aléatoires (N) (5'- ATA CGC TCT AGA ATT CAA TT - N₃₀ - AGA TAG CTC GAG CAA TGC -3') a été amplifiée par PCR en utilisant une amorce 5' comprenant une séquence promotrice de l'ARN polymérase T7 (5'- GTA TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGA TAC GCT CTA GAA TTC ATT-3').³⁸⁰ Après transcription et purification, nous avons pu obtenir une bibliothèque **G0** d'ARN comprenant $\sim 5 \times 10^{14}$ molécules (~ 850 pmol). Cette bibliothèque a ensuite été utilisée dans les sélections d'aptamères pour le pCp (R_p)-**4.29**. La concentration des différentes solutions d'oligonucléotides a été évaluée et suivie par absorbance (OD₂₆₀ et ratio OD₂₆₀/OD₂₈₀) tout au long des sélections, et leurs puretés par gels d'agarose. La bibliothèque d'ARN (200 pmol, 1 μ M) a ensuite été renaturée et mise en présence des billes seules (200 pmoles de streptavidine, 1 μ M) dans un tampon TE additionné de 150 mM de NaCl et 5 mM de MgCl₂ (tampon B) (**Tableau 16**). Après 2h, la librairie a été incubée avec le ligand (R_p)-**4.29** seul pendant 1h et en présence des billes magnétiques pendant 1h, toujours dans le tampon B. Les complexes bille-ARN-ligand ont ensuite été lavés et les ARN élués par chauffage à 95 °C pendant 5 min. Ces derniers immédiatement ont été engagés dans une réaction de transcription inverse avec l'enzyme SuperScript II ou M-MLV afin de récupérer les ADNss correspondants à amplifier par PCR pour constituer la **G1** fille.

Librairie Mère (200 pmol)	Durée de la contre-sélection (h)	(<i>R_p</i>)-4.29 (pmol)	Durée de préincubation (h)	Durée d'incubation (h)	Librairie fille
G0	2 h	200	1 h	1 h	G1
G1	0.5 h	200	1 h	1 h	G2
G2	0.5 h	200	1 h	1 h	G3
G3	/	200	1 h	1 h	G4
G4	/	200	1 h	1 h	G5
G5	/	100	1 h	1 h	G6
G6	/	100	/	1 h	G7
G7	/	50	/	1 h	G8
G8	/	50	/	1 h	G9
G9	/	50	/	0.5	G10

Tableau 16. Paramètres de sélection à chaque cycle du SELEX pour (*R_p*)-4.29

Une plus grande quantité de librairie a été utilisée (200 pmol au lieu de 100 pmol précédemment) afin d'améliorer la probabilité de conservation de séquences pendant les premiers cycles. En effet, 95 à 99 % des séquences initiales sont généralement perdues lors des trois à quatre premiers cycles. Dans ce but, une préincubation de la librairie avec le ligand seul a aussi été ajoutée pour s'assurer que les billes n'introduisent pas un biais dans l'association (et pour éliminer tout aptamère potentiel à la biotine accessoirement). Nous avons, cette fois, choisi de ne pas appliquer de contre-sélection pendant tous les cycles mais seulement au cours des trois premiers cycles. Par ailleurs, le composé **4.24** n'a pas été utilisé : nous pensons que les interactions aromatiques intercalantes y sont trop favorables et réduisent la diversité de la librairie au lieu de l'enrichir. Une pression de sélection graduelle a à nouveau été appliquée en réduisant progressivement la quantité de **4.29** et en supprimant la préincubation après 6 tours, puis en réduisant le temps d'incubation.

Après 10 tours de sélection, nous avons choisi d'analyser les générations **G0**, **G5**, **G8**, **G9** et **G10** par séquençage à haut-débit. Le séquençage NGS et l'analyse avec le logiciel PatternitySeq ont été réalisés par le Dr Frédéric Ducongé (CEA Saclay).⁴¹³ Un total de 4 millions de séquences a été lu, 3,7 millions desquelles se sont avérées uniques. La librairie **G0** s'est révélée être bien équilibrée en nucléotides (entre 20 % et 30 % chacun), ce qui atteste d'une bonne diversité dans les oligonucléotides amplifiés initialement (**Figure 76**). L'analyse des portions aléatoires des séquences révèle une proportion relativement importante de dimères d'amorces (0 nucléotides aléatoires, N = 0) dans les

librairies sélectionnées (de 5 à 15 %), maximale pour **G5** (uniquement 65 % de séquences avec N = 28 à 32) et nulle dans **G0** (99 % de séquences de la taille attendue). Il s'agit d'un biais commun des réactions de biologie moléculaire. Ceci est sans doute dû aux conditions de transcription utilisées (températures d'appariement des amorces non compatibles en particulier), la présence d'une seconde bande sur les gels d'ARN purifiés avait déjà été remarquée lors des sélections.

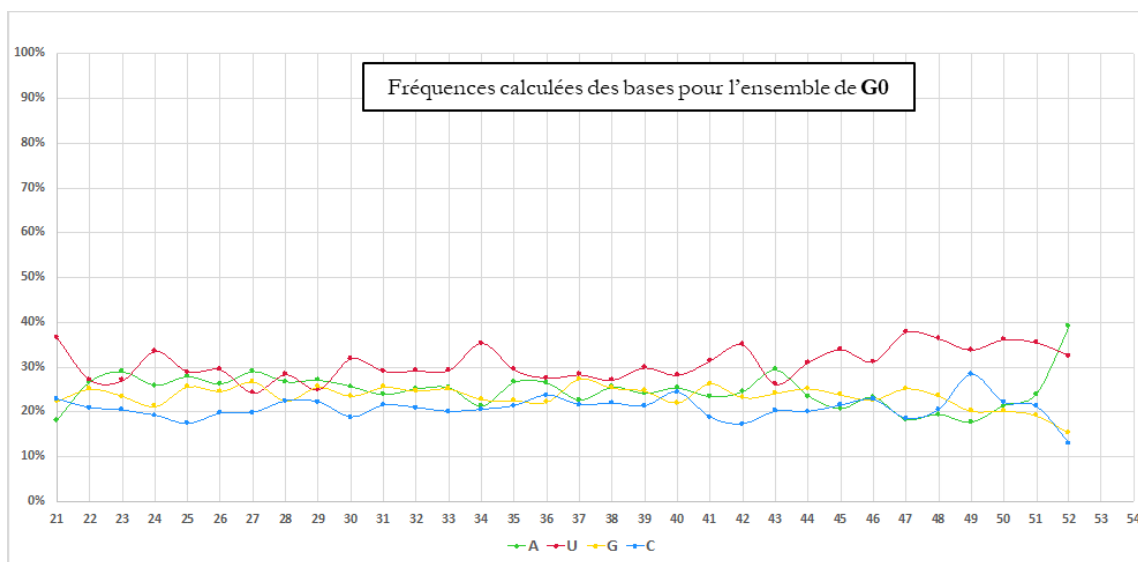


Figure 76. Fréquences d'apparition calculées des bases nucléotidiques dans la totalité des séquences de **G0** analysées

Les résultats de séquençage pour des sélections sont analysés à la recherche de signes d'enrichissements corrélés avec l'avancement des cycles de SELEX ; c'est-à-dire des séquences ou des motifs structuraux récurrents dans une même génération mais aussi dans les générations successives. Pour cela, on fixe un seuil de fréquences d'apparition en pourcentage par rapport à la population totale à partir duquel une séquence est considérée comme surreprésentée. Dans notre cas, ce seuil est fixé à 0,01 % (valeur standard pour ce type d'analyses). Les séquences sont ensuite classées par familles en fonction de leur homologie, et l'évolution de ces familles peut être suivie génération après génération.

Sur le graphe du haut de la **Figure 77**, on peut voir que la **G0** ne présente aucune séquence répétée ou presque, confirmant encore une fois la bonne diversité de la librairie initiale. Les librairies **G5**, **G8** et **G9** en comportent un peu plus mais moins de 50 (de < 0,01% à 0,04 % des séquences), en revanche le nombre de séquences ayant une fréquence supérieure au seuil atteint 220 avec la G10 (~0,7 % de la génération). Ces 220 séquences sont regroupées en 206 familles. Sur le graphe du bas de la

même figure, on peut voir l'évolution, selon un score sans dimension calculé par le logiciel (paramètres non publics), des 20 familles les plus enrichies de chaque génération.

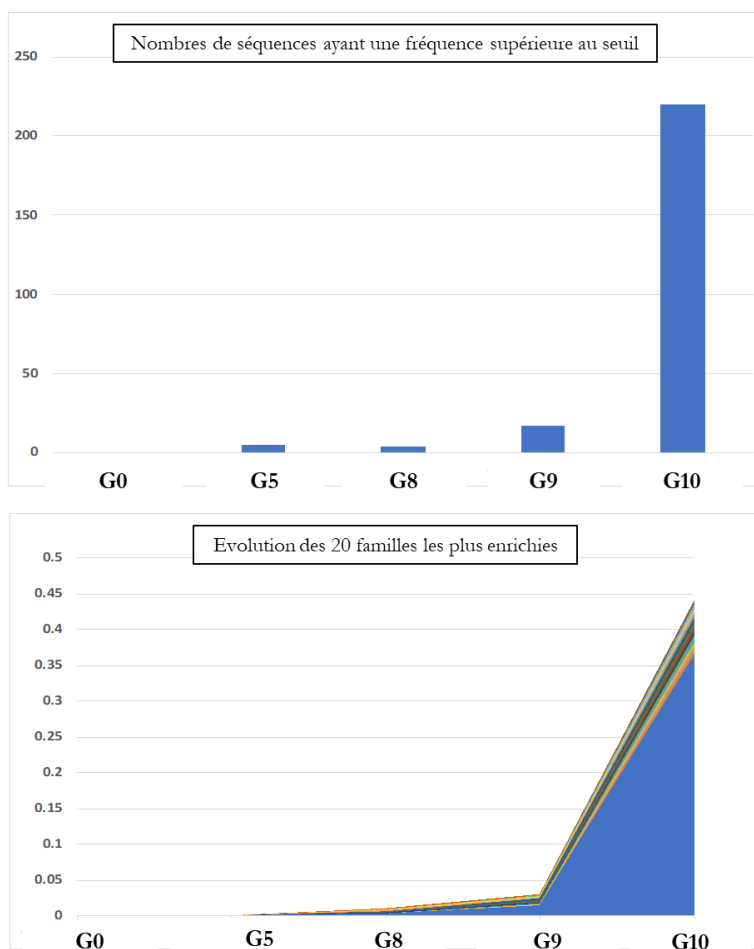


Figure 77. Résultats obtenus après le séquençage des générations sélectionnées pour la cible (Rp)-4.29

Une seule famille semble devenir majoritaire, d'abord très lentement de **G5** à **G9** puis soudainement à partir de **G10** (**Figure 77** bas). Cette famille majoritaire comprend 14 variants présentant une unique mutation (l'introduction de G/C est favorisée par la polymérase Taq et peut causer de telles mutations uniques). Celles-ci représentent à elle seule ~0,37 % des séquences au-dessus du seuil dans la **G10** (0,28 % pour la séquence majoritaire). On peut voir ci-dessous sur la **Figure 78** que les fréquences d'apparition des bases dans les séquences surreprésentées de **G10** sont plus ordonnées et plus élevées que pour **G9**. Les fréquences de **G9** sont moyennes (~40 %) et aucune séquence majoritaire ne semble se dégager (surreprésentation des G de 37 à 50, quadruplexes G ?). En

revanche dans **G10**, les fréquences des bases pour chaque position atteignent près de 70 %, signe qu'une séquence majoritaire domine la génération.

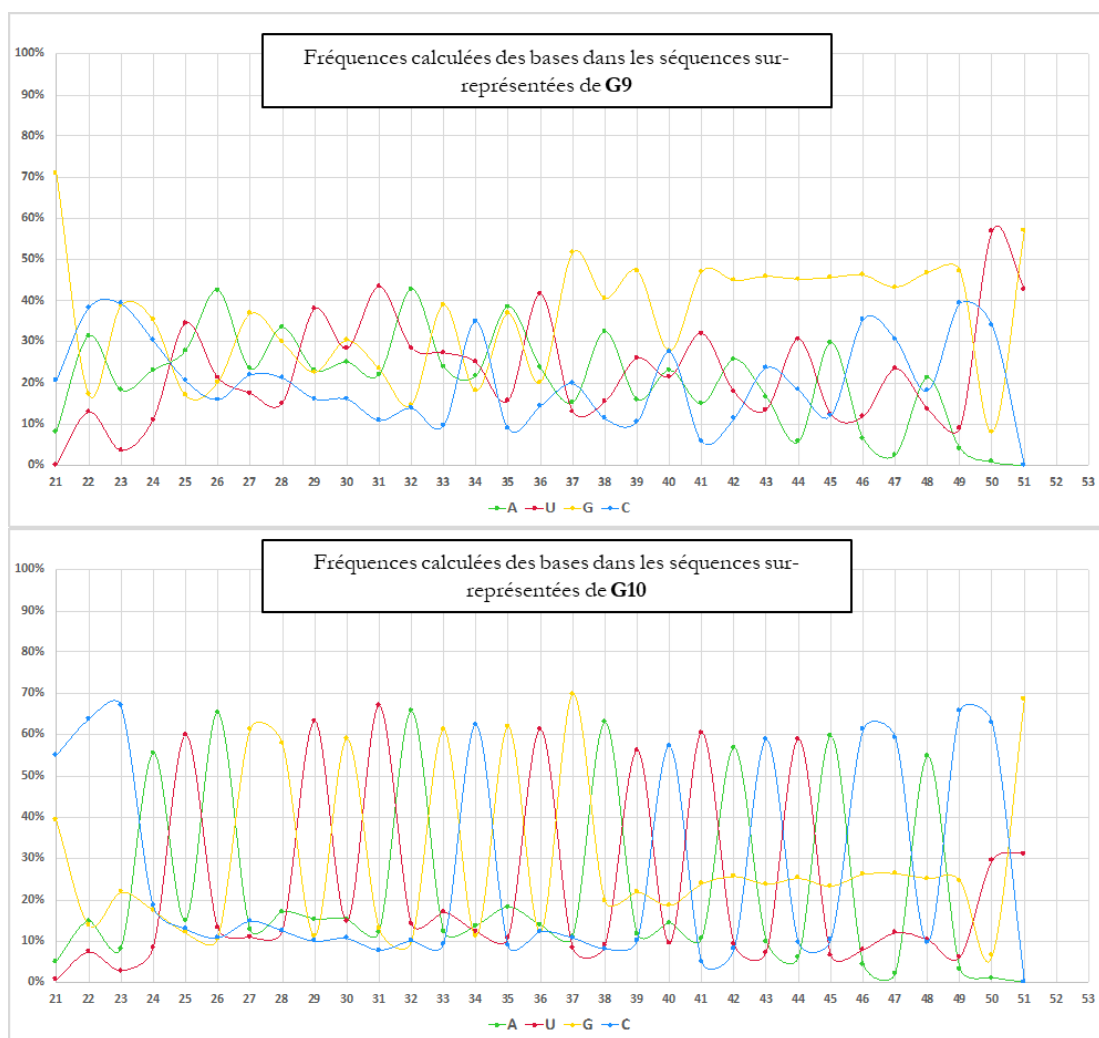


Figure 78. Fréquences d'apparition calculées des bases nucléotidiques dans la totalité des séquences de (haut) **G9** et (bas) **G10** analysées

La représentation plane des potentielles structures secondaires de la séquence majoritaire de la famille surreprésentée dans la **G10** a été prédite, avec une bonne probabilité d'existence ($\Delta G = -11,6$ kCal.mol⁻¹), en utilisant le logiciel mfold disponible librement (**Figure 79**). Cette structure possède 4 renflements internes et deux « tige-boucle » à 6 et 3 nucléotides non appariés. Notons que, comme fréquemment dans les sélections, cette structure implique les amorces utilisées pour la PCR.

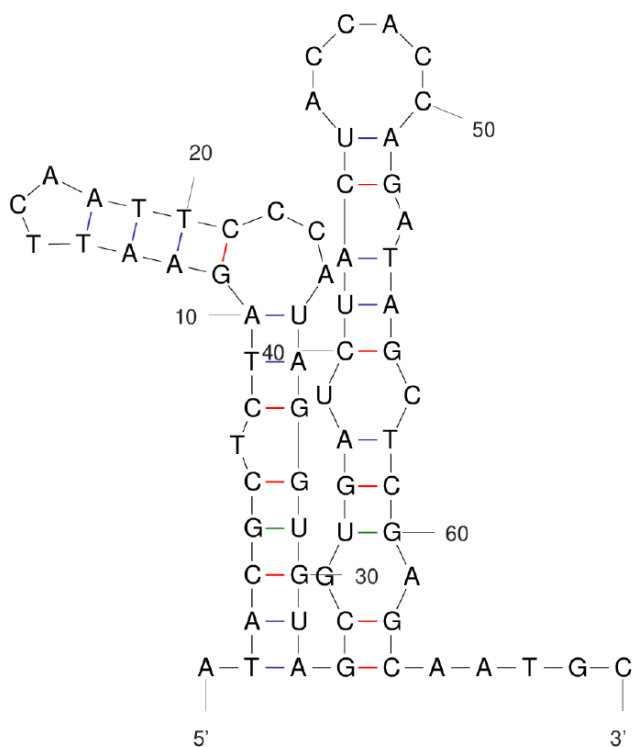


Figure 79. Structure secondaire prédite de la séquence majoritaire isolée dans la **G10**

Les résultats de séquençage obtenus après 10 tours de SELEX sur une librairie d'ARN pour le ligand (R_p)-**4.29** sont indicatifs d'une sélection à ses débuts. Un clair enrichissement semble se dessiner à partir de la génération 10 avec une famille majoritaire dominée à plus de 50 % par une seule séquence et complétée de 13 mono-mutants. Toutefois, ces séquences restent minoritaires à l'échelle de la génération et les séquences au-dessus du seuil de fréquence ne représentent que 0,7 % de la population. À ce stade, ces résultats obtenus en fin de thèse sont tout de même prometteurs et la sélection devrait être poursuivie en conservant les conditions de sélection appliquée pour l'isolation de la librairie fille **G10**. En effet, ces conditions semblent avoir permis de réduire la diversité de la population et d'isoler une séquence surreprésentée. Il est bien entendu aussi possible que les séquences surreprésentées ne soient que des artefacts d'analyse ou de sélection contre une autre cible non souhaitée. Afin de pouvoir clarifier ce dernier point, les deux derniers tours de la poursuite de sélection pourraient être « ramifiés ». Le protocole de SELEX « ramifié » consiste à réaliser les cycles sur une même génération en double, avec et sans la cible, afin de pouvoir comparer les résultats de séquençage. Dans un cas, les séquences surreprésentées devraient être conservées alors qu'elles devraient majoritairement décroître ou disparaître en l'absence du ligand cible.

Bilan et perspectives du chapitre IV

Au cours du quatrième et dernier chapitre de cette thèse, nous avons souhaité étudier les interactions entre le motif [2.2]paracyclophane et des ARN. Dans cet objectif, nous avons utilisé un composé fluorescent synthétisé au cours du chapitre III comme sonde lumineuse au cours d'expérience de fluorimétrie. Nous avons pu montrer en comparant ce composé avec son analogue plan que l'introduction d'un motif [2.2]paracyclophane dans une sonde d'acides nucléiques induisait une perte d'affinité pour les structures db et un gain de sélectivité envers les ARN structurés, comme les ARNt. Des études de marquages *in cellulo* nous ont ensuite permis de mettre en avant le comportement différent *in vivo* de la sonde tridimensionnelle pCp, notamment son incapacité à fluorescer en présence d'ADN seul. Dans un second temps, nous avons montré que cette sonde était sélective d'un motif secondaire de l'ARN, une boucle en épingle à 8 bases non appariées, malgré des complications dans les mesures sans doute causées par des phénomènes dynamiques en solution. Ces résultats renforcent encore l'intérêt des structures aromatiques non planes pour la conception de ligands spécifiques et sélectifs des structures tridimensionnelles de l'ARN.

Comme déjà suggéré dans le chapitre III pour l'étude des effets du modèle de substitution sur les propriétés physico-chimiques de ces composés, la synthèse d'autres structures de cyanines serait souhaitable afin d'approfondir les observations déjà faites et d'optimiser les interactions entre ces pCp et les ARN (**Figure 80**).

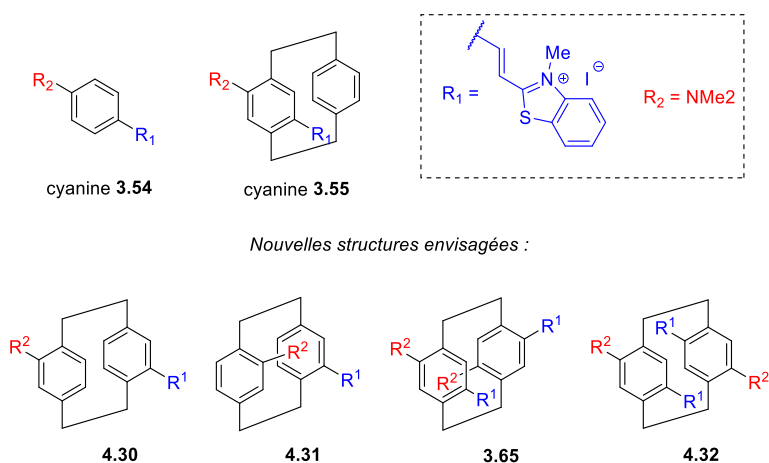


Figure 80. Nouvelles cyanines envisagées

Les analogues **4.30**, **4.31**, **3.65** et **4.32** présentent tous les mêmes sources d'interactions mais avec une répartition spatiale différente et occupent donc des espaces chimiques différents comme visualisé sur la **Figure 81**. L'étude des interactions d'autres composés, tels que la pseudo-*ortho* biscyanine **3.65**, particulièrement déplacée vers les structures planes, ou l'analogue pseudo-*gem* **4.32**, qui semble structurellement très proche du linezolid, avec des ARN permettrait de tracer les premiers contours d'une sélectivité des pCp vis-à-vis de l'ARN.

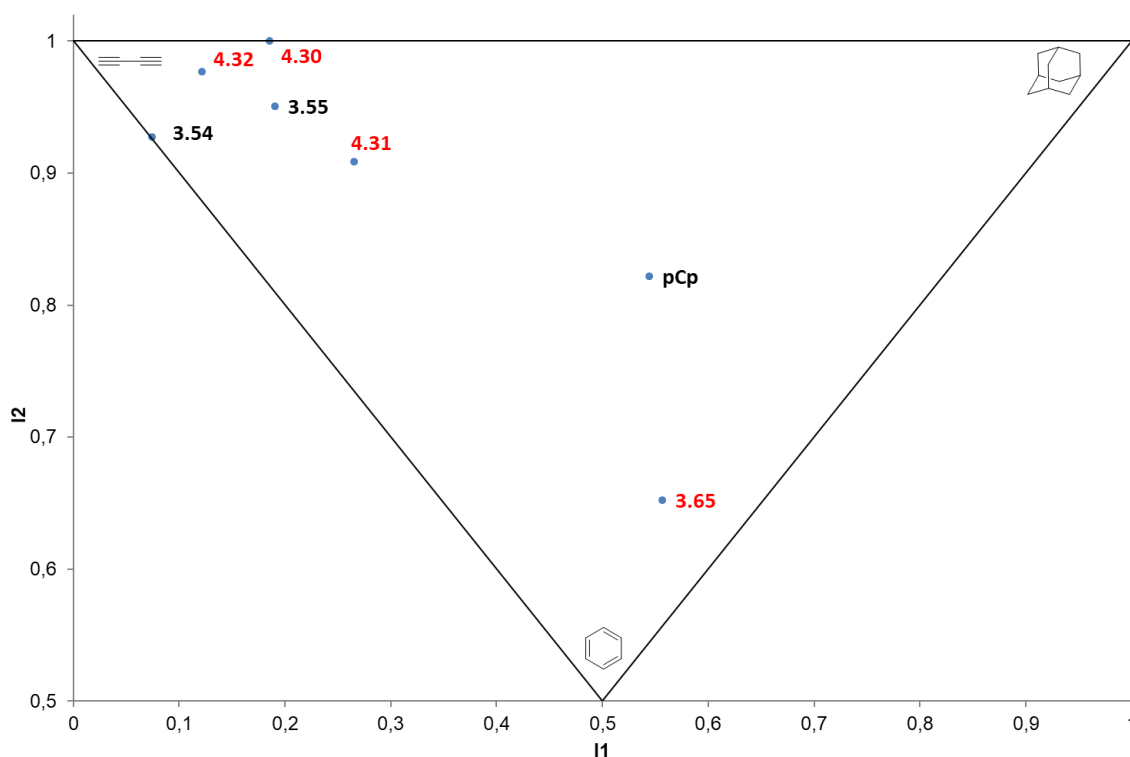


Figure 81. Graphe des PMI de sondes et ligands d'ARN

Dans une seconde étude, nous avons exploré la possibilité de réaliser des sélections d'aptamères pour des ligands pCp spécifiquement conçus et synthétisés dans ce but. Bien que nos expériences de SELEX sur une librairie d'ADN n'aient pas donné de résultats probants, le développement d'un protocole adapté à des sélections d'ARN et l'utilisation du NGS nous ont permis de faire un premier pas intéressant en direction d'aptamères pour le pCp.

Ces études de SELEX sur des motifs pCp devront impérativement être poursuivies. Les résultats finaux, bien qu'obtenus tardivement au cours de ses travaux, sont prometteurs. L'isolation

d'aptamères pour un ligand pCp serait une seconde étape importante – après la cyanine **3.55** – vers l'élucidation des interactions de ce motif avec les ARN. La validation de notre protocole de SELEX sur des bibliothèques ARN permettrait d'envisager la synthèse d'autres ligands et par exemple de fluorophores afin de développer des technologies d'aptamères à allumage de fluorescence.

Conclusion générale

L'ensemble de ce travail s'inscrit dans la thématique générale portant sur la synthèse et l'exploitation de nouvelles structures originales pour des applications biologiques, et particulièrement le ciblage sélectif de l'ARN. En effet, les ARN sont au cœur de la régulation génique cellulaire et représentent donc des cibles attractives et pertinentes. Celles-ci sont notamment caractérisées par des structures complexes et dynamiques qui les différencient de l'ADN génomique à double brin en hélice.

Cette thèse est centrée sur l'analyse du motif [2.2]paracyclophane pour la conception de petites molécules capables de se lier de manière sélective et spécifique à des structures tridimensionnelles de l'ARN. Le pCp est un dérivé aromatique non plan dont la structure chirale et la réactivité particulière ont intéressé les chimistes depuis les années 1950. Beaucoup d'études ont été menées autour de son utilisation comme auxiliaire ou catalyseur chiral mais aussi pour l'exploitation de ses propriétés optiques originales, essentiellement dans le domaine des matériaux. Notre équipe a donc souhaité utiliser le [2.2]paracyclophane pour l'élaboration de ligands d'ARN et de composés fluorescents chiraux, avec comme hypothèse que sa structure aromatique particulière pourrait permettre d'interagir sélectivement avec des structures tridimensionnelles propres aux ARN.

L'élaboration de stratégies de réduction d'aldéhydes par ATH pour l'obtention de synthons pCp énantiopurs à tout d'abord été décrite, et dans un second temps nous avons mené des études théoriques et expérimentales sur le mécanisme de cette réaction (**Figure 82**). Des tentatives d'application à d'autres aldéhydes à chiralité non centrales ont été réalisées. Enfin, une stratégie de formylation régiosélective a été mise au point afin d'accéder facilement à des dérivés pCp bisubstitués en position *para* sur un seul cycle.

Grâce à ces travaux méthodologiques, nous avons pu préparer des analogues cyclophanes de plusieurs classes de fluorophores : PRODAN, bodipy, complexes de lanthanides ou cyanines (**Figure 82**). Les énantiomères de plusieurs d'entre eux ont été synthétisés et leurs propriétés chiroptiques analysées. Ces différents travaux nous ont permis de maîtriser la chiralité planaires des pCp et d'établir des relations structure-propriétés optiques avec ces objets.

Ces différents éléments ensuite ont été mis à profit pour évaluer l'interaction d'objets paracyclophane avec des ARN. Dans une première approche, nous avons mis au point la synthèse

d'une cyanine pCp et exploité ses propriétés de fluorescence pour étudier son interaction avec des acides nucléiques. Cette étude a révélé une affinité décriue de la sonde pCp pour l'ADN et une sélectivité accrue pour les ARN, et notamment les ARNt par rapport à une sonde analogue plane qui s'est révélée non sélective. Des expériences de marquage cellulaire concordent avec ces observations. L'affinité du dérivé cyclophane fluorescent pour des motifs « tige-boucle » de différentes tailles a aussi été évaluée. Nous avons pu montrer que cette sonde se liait préférentielle à une tige-boucle possédant un motif de 8 nucléotides non appariés avec une affinité sub-micromolaire et une bonne sélectivité.

Enfin, des expériences de sélections d'aptamères pour des cibles dérivées du [2.2]paracyclophane (**Figure 82**) ont été réalisées en employant successivement des bibliothèques d'ADNss et d'ARN. Les résultats de la sélection ADN ne sont pas complets mais ne montrent pas de motifs récurrents à ce stade. Avec les ARN, un début d'enrichissement a pu être détecté en fin de sélection et il semble qu'un oligonucléotide majoritaire ait commencé à être sélectionné, confirmant une interaction privilégiée entre l'ARN et des structures de type [2.2] paracyclophane.

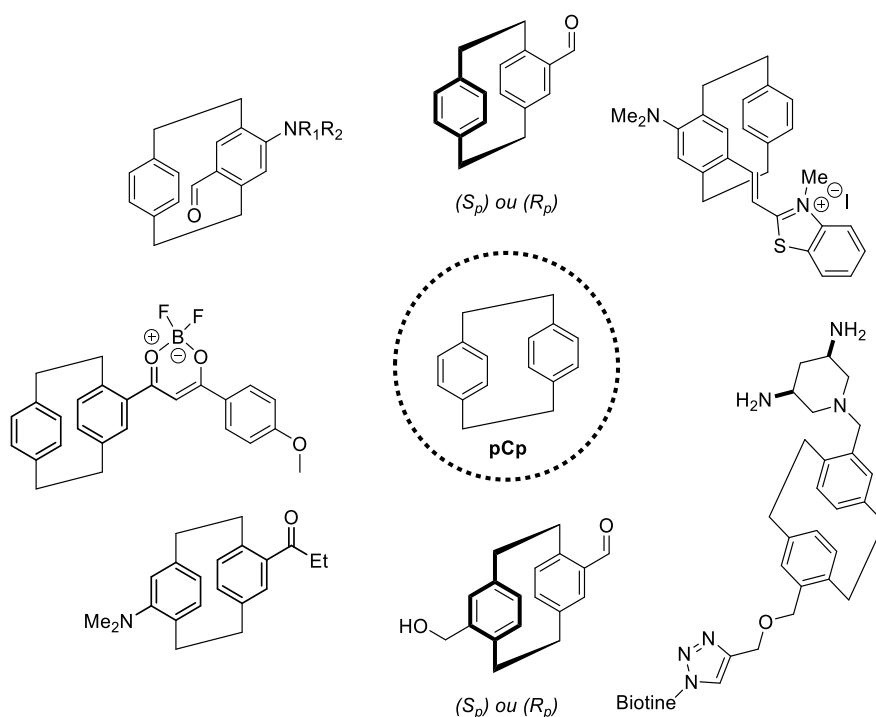


Figure 82. Diversité chimique des différents composés dérivés de pCp synthétisés

Les différents projets présentés dans ce manuscrit se sont tous avérés très ouverts et beaucoup de développements sont envisageables, parmi lesquels :

- a) la meilleure compréhension de l'énantiodiscrimination exceptionnelle observée dans les réactions d'ATH
- b) la synthèse de nouveaux fluorophores (cyanines et bodipy notamment) polysubstitués pour l'exploration de la luminescence du pCp
- c) l'élaboration de sondes cyanines et l'élucidation de leur mécanisme d'agrégation en lien avec l'allumage de fluorescence, mais aussi de leurs interactions avec des ARN
- d) la poursuite des études de SELEX qui se sont révélées prometteuses et l'analyse fine de l'interaction des ligands pCp avec leurs aptamères.

Liste de publications

Plusieurs parties de ce travail doctoral ont été publiées, ou soumises pour publication, dans des revues scientifiques, par ordre d'apparition dans ce manuscrit :

- 1- Felder, S.; Wu, S.; Brom, J.; Micouin, L.; Benedetti, E. Enantiopure Planar Chiral [2.2]Paracyclophanes: Synthesis and Applications in Asymmetric Organocatalysis. *Chirality* **2021**, *33* (9), 506–527. <https://doi.org/10.1002/chir.23335>.¹⁴⁶
- 2- Delcourt, M.-L.; Felder, S.; Benedetti, E.; Micouin, L. Highly Enantioselective Desymmetrization of Centrosymmetric Pseudo-Para-Diformyl[2.2]Paracyclophane via Asymmetric Transfer Hydrogenation. *ACS Catal.* **2018**, *8* (7), 6612–6616. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b01872>.¹⁴⁸
- 3- Delcourt, M.-L.; Felder, S.; Turcaud, S.; Pollok, C. H.; Merten, C.; Micouin, L.; Benedetti, E. Highly Enantioselective Asymmetric Transfer Hydrogenation: A Practical and Scalable Method To Efficiently Access Planar Chiral [2.2]Paracyclophanes. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (9), 5369–5382. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b00372>.¹⁴⁹
- 4- Felder, S.; Micouin, L.; Benedetti, E. Para-Functionalization of N-Substituted 4-Amino[2.2]Paracyclophanes by Regioselective Formylation. *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, *2021* (29), 4015–4018. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202100288>.²²⁴
- 5- Felder, S.; Delcourt, M.-L.; Bousquet, M. H. E.; Jacquemin, D.; Rodríguez, R.; Favereau, L.; Crassous, J.; Micouin, L.; Benedetti, E. Planar Chiral Analogues of PRODAN Based on a [2.2]Paracyclophane Scaffold: Synthesis and Photophysical Studies. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (1), 147–158. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02071>.³¹¹
- 6- Felder, S.; Sagné, C.; Bendetti, E.; Micouin, L. Small Molecule 3D ligand for RNA recognition : tuning selectivity through scaffold hopping *Submitted for publication*.

Experimental part

I. General Remarks

All reactions were carried out under inert atmosphere, in oven-dried glassware, using dry solvents unless otherwise specified. All commercially available compounds were purchased from Aldrich Chemical Co., Acros Organics, Alfa Aesar, Carbosynth, TCI or Ugarit and used as received. Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on silica gel plates (Merck 60F254) visualized either with a UV lamp (254 nm) or by using solutions of p-anisaldehyde/sulfuric acid/acetic acid (AcOH) in ethanol (EtOH) or KMnO₄/K₂CO₃/AcOH in water followed by heating. Ninhydrin and 1,4-dinitrophenylhydrazine stains were also employed. Flash chromatography was performed on silica gel (60-230 mesh) unless otherwise specified. Organic extracts were dried over anhydrous MgSO₄. All microwave-mediated reactions were carried out using an Anton Paar Monowave EXTRA. The microwave reactions were carried out in 2 - 5 mL microwave vials.

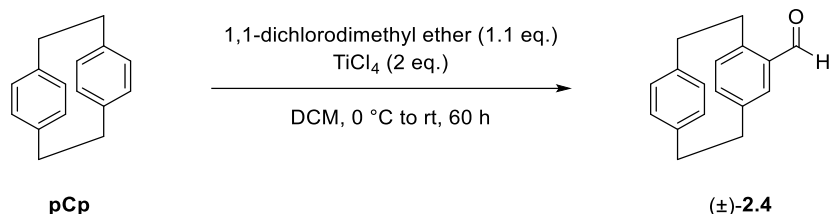
¹H NMR, ¹³C NMR and ¹¹B NMR spectra were recorded on Bruker Avance 500 or 600 spectrometers operating at 500 or 600 MHz (H value) or 125 MHz (C value) or 160 MHz (B value) in CDCl₃ unless otherwise specified. Spectra were referenced to the residual deuterated solvent used (for CHCl₃: 7.26 ppm, ¹H; 77.16 ppm, ¹³C). Chemical shifts are reported in ppm, multiplicities are indicated by s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet) and m (multiplet or overlap of nonequivalent resonances), dd (doublet of doublet), td (triplet of doublet), and br (broad signal). Coupling constants, J, are reported in hertz (Hz). All NMR spectra were obtained at 300K unless otherwise specified. IR spectra were obtained using a spectrum one FT-IR spectrometer (Perkin Elmer). High Resolution mass spectra were recorded on a ThermoFischer Exactive Orbitrap spectrometer. Absorption and fluorescence spectra were recorded on UV-2700 spectrophotometer (Shimadzu) and F-7000 fluorescence spectrometer (Hitachi), respectively. The photophysical measurements were performed on air-equilibrated solutions, using quartz cuvettes with 1 cm optical path length. The fluorescence quantum yields (error ± 10%) were determined with anthracene (QY = 0.27 in ethanol), 9,10-diphenyl anthracene (QY = 0.90 in cyclohexane) and crystal violet (QY = 0.019 in glycerol) as references and corrected for refractive index differences between ethanol or cyclohexane and dichloromethane. All fluorimetric titration assays were performed in Tris EDTA buffer, 10 mM and 1 mM respectively, at pH 7.4, made fresh the day before using commercial RNase-free water (TE buffer) and stored at 4

°C, unless otherwise specified. Electronic circular dichroism (ECD, in M-1 cm⁻¹) was measured on a Jasco J-815 Circular Dichroism Spectrometer (IFR140 facility - Biosit - Université de Rennes 1). The circularly polarized luminescence (CPL) measurements were performed using a home-built CPL spectrofluoropolarimeter. The samples were excited using a 90° geometry with a Xenon ozone-free lamp 150 W LS. The following parameters were used: emission slit width ≈ 2 mm, integration time = 4 sec, scan speed = 50 nm/min, accumulations = 10. The concentration of all the samples was ~10⁻⁵ M (toluene analytical grade) and excitation was performed at 350 nm. HPLC analyses were performed on a Shimadzu chromatograph equipped with a diode array UV/Vis detector. Achiral separations were performed on a Nucleodur EC (250 x 4 mm) column and chiral separations were realized on a Chiralcel OD, Chiralcel AD or Chiralcel OJ (250 x 4.6 mm) columns. Optical rotations (α_D) were measured on a Perkin Elmer polarimeter (model 341) at 20 °C.

II. Experimental procedures of chapter II

II.1 ATH reactions on pCp aldehydes 2.4 et 2.15

(±)-4-Formyl[2.2]paracyclophane 2.4

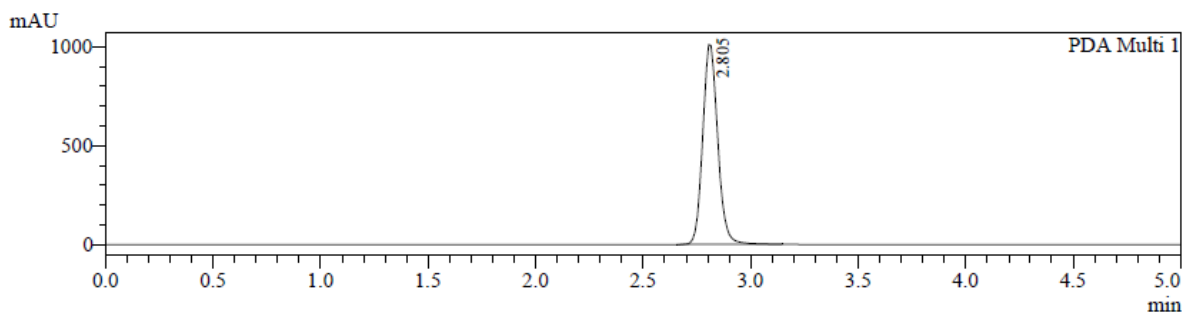


To a 0 °C cooled solution of [2.2]paracyclophane (3 g, 14.4 mmol, 1 eq.) in dry DCM (100 mL), TiCl₄ (1 M in DCM, 58 mL, 28.8 mmol, 2 eq.) and 1,1-dichlorodimethyl ether (1.82 g, 1.43 mL, 15.8 mmol, 1.1 eq.) were added sequentially. The resulting mixture was allowed to warm to rt. After stirring at rt for 60 h, the black solution was poured onto ice and stirred for 3 h until it became dark yellow. The organic phase was separated and the aqueous phase extracted with DCM (2 × 50 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and gravity filtered. The solvent was removed under reduced pressure and the crude product was purified via silica gel column chromatography using DCM/Cyclohexane (1:2 to pure DCM) as the eluent. Compound (±)-2.4 (2.35 g, 9.94 mmol, 69 % yield) was isolated as amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.95 (s, 1H), 7.01 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.73 (dd, J = 7.8, 1.9 Hz, 1H), 6.59 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 6.43 (dd, J = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 6.37 (dd, J = 7.8, 1.9 Hz, 1H), 4.12-4.06 (m, 1H), 3.29-2.96 (m, 7H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 192.0 (CH), 143.4 (C), 140.8 (C), 139.7 (C), 139.6 (C), 138.2 (CH), 136.8 (C), 136.5 (CH), 136.3 (CH), 133.4 (CH), 133.1 (CH), 132.5 (CH), 132.3 (CH), 35.4 (CH₂), 35.3 (CH₂), 35.1 (CH₂), 33.8 (CH₂) ppm.

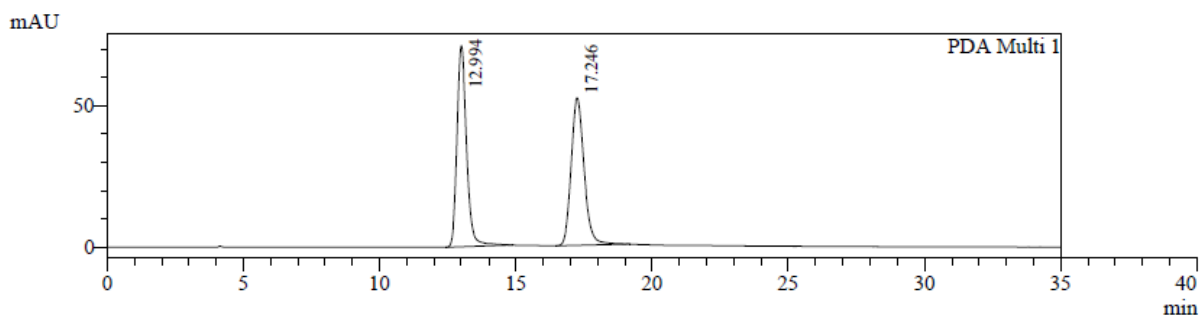
HPLC conditions: *Achiral HPLC analysis:* $t_{R \text{ Aldehyde}}$ = 2.8 min [Column = Nucleodur EC (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); flow = 1 mL/min; λ = 300 nm].



PDA Ch1 300nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	2.805	4889920	100.000
Total		4889920	100.000

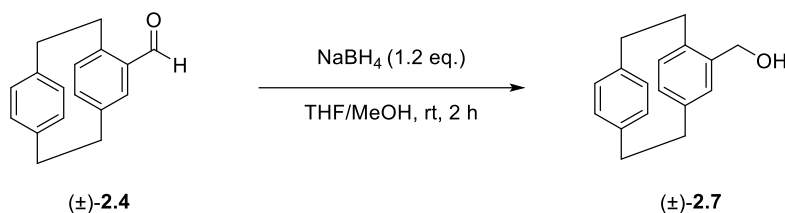
Chiral HPLC analysis: $t_{R \text{ Aldehyde } Sp}$ = 13.0 min; $t_{R \text{ Aldehyde } Rp}$ = 17.2 min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); flow = 1 mL/min; λ = 300 nm]



PDA Ch1 300nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	12.994	1746043	50.153
2	17.246	1735395	49.847
Total		3481438	100.000

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.⁴¹⁴

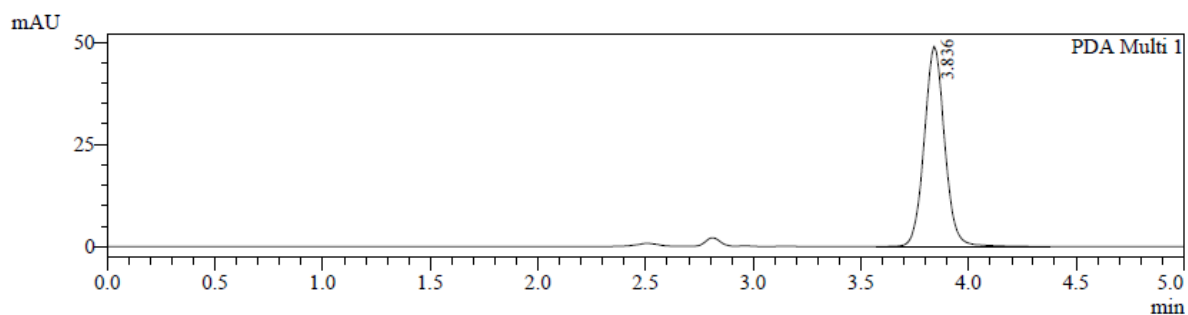
(±)-4-Hydroxymethyl-[2,2]paracyclophane **2.7**

Compound (±)-**2.4** (200 mg, 0.85 mmol, 1 eq.) was dissolved in a 1:10 mixture of methanol and dry THF (22 mL). To this solution, NaBH_4 (68 mg, 1.8 mmol, 2 eq.) was added and the mixture was stirred at rt for 3 h. The excess NaBH_4 was then decomposed by careful addition of water (15 mL). The solution was then diluted by ethyl acetate (20 mL) and washed with aqueous HCl (3 M, 3×20 mL) and water (2×20 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , gravity filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography using DCM as the eluent to afford compound (±)-**2.7** (0.164 g, 0.69 mmol, 81 % yield) as an amorphous white solid.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 6.60 (dd, $J = 9.7$ Hz, 1H), 6.55- 6.38 (m, 6H), 4.72 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 4.39 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 3.43-3.38 (m, 1H), 3.17- 2.98 (m, 6H), 2.90-2.87 (m, 1H) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 140.6 (C), 140.1 (C), 139.9 (C), 139.6 (C), 137.8 (C), 135.3 (CH), 133.7 (CH), 133.6 (CH), 132.7 (CH), 132.5 (CH), 132.4 (CH), 129.4 (CH), 64.8 (CH_2), 35.6 (CH_2), 35.4 (CH_2), 34.7 (CH_2) 33.1 (CH_2) ppm.

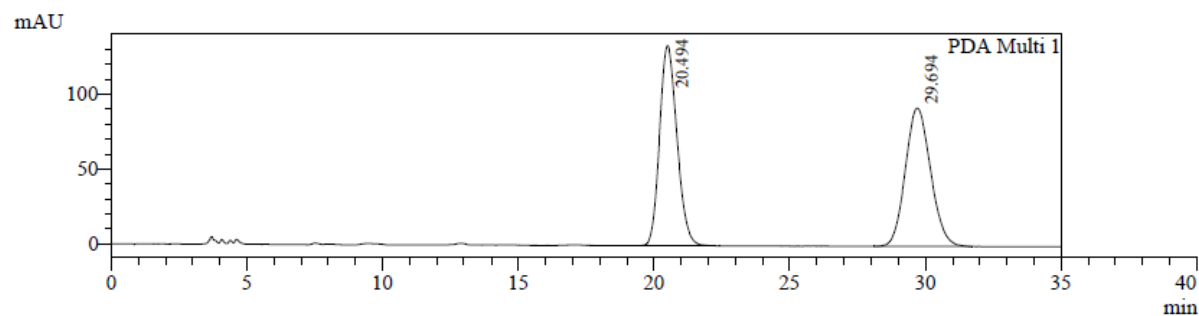
HPLC condition: *Achiral HPLC analysis* $t_{R \text{ Alcohol}} = 3.8 \text{ min}$ [Column = Nucleodur EC (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); flow = 1 mL/min; $\lambda = 300 \text{ nm}$].



PDA Ch1 300nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	3.836	323104	100.000
Total		323104	100.000

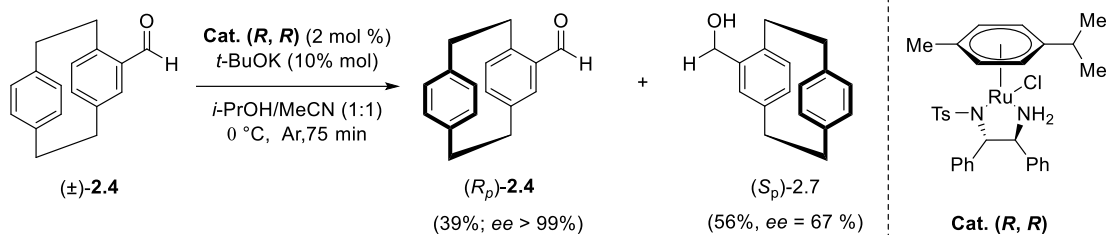
Chiral HPLC analysis $t_{R \text{ Alcohol Sp}} = 20.5 \text{ min}$; $t_{R \text{ Alcohol Rp}} = 29.7 \text{ min}$ [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); flow = 1 mL/min; $\lambda = 210 \text{ nm}$]



PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	20.494	5963232	49.934
2	29.694	5979021	50.066
Total		11942253	100.000

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.⁴¹⁵

(R_p)-4-Formyl[2.2]paracyclophane **2.4**

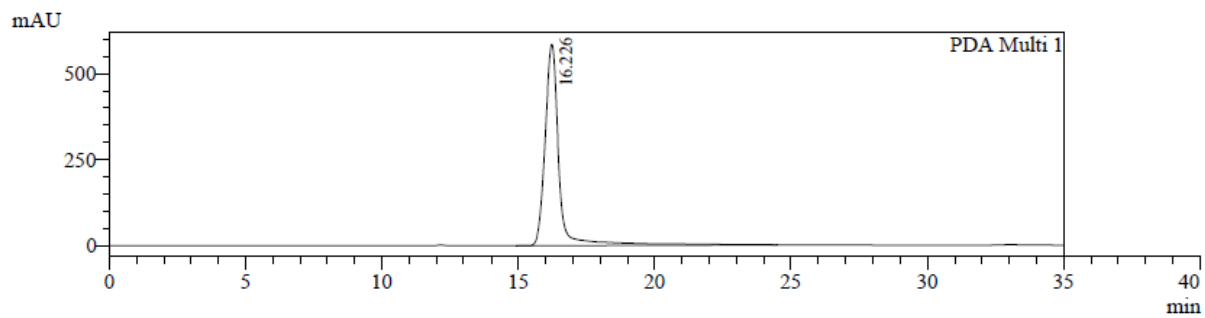
To a solution of compound (±)-4-formyl[2.2]paracyclophane **2.4** (1 eq., 1 g, 4.23 mmol) in 1:1 *i*-PrOH/MeCN (380 mL) was added, dropwise, a mixture of *t*-BuOK (0.1 eq., 48 mg, 0.42 mmol) and RuCl(*p*-cymene)[(R,R)-Ts-DPEN] (2 mol %, 54 mg, 0.085 mmol) (activated catalyst solution) in 1:1 *i*-PrOH/MeCN (20 mL), at 0 °C under an argon atmosphere. The resulting pink mixture was stirred for 75 min at 0 °C. The reaction was then quenched by addition of a saturated NH₄Cl solution (15 mL). The immiscible phases were separated and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3 x 15 mL). The combined organic layers were washed with water (2 x 20 mL) then brine (20 mL), dried over MgSO₄, filtered, and evaporated under reduced pressure. The resulting crude residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, eluent = Cy/DCM 1:1 to pure DCM) to isolate enantiopure (*R_p*)-pCp aldehyde **2.4** (390 mg, 1.65 mmol, 39 %) as an amorphous white solid. The (*S_p*)-enantioenriched corresponding alcohol **2.7** (565 mg, 2.37 mmol, 56 %) was isolated as a reaction by product.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.95 (s, 1H), 7.01 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.73 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 6.64 – 6.53 (m, 2H), 6.50 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 6.43 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 6.38 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 4.17 – 4.05 (m, 1H), 3.31 – 3.15 (m, 3H), 3.15 – 3.01 (m, 3H), 2.99 – 2.92 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 191.9 (CH), 143.2 (C), 140.7 (C), 139.5 (C), 139.4 (C), 138.1 (CH), 136.6 (C), 136.3 (CH), 136.1 (CH), 133.3 (CH), 132.9 (CH), 132.4 (CH), 132.2 (CH), 35.3 (CH₂), 35.2 (CH₂), 35.0 (CH₂), 33.6 (CH₂) ppm.

[α]_{546, 20} = –226 (c 10.2, CHCl₃)

HPLC Conditions: $t_{R \text{ Aldehyde } R_p} = 16.3 \text{ min}$ Column = Chiralcel OD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); flow = 1 mL/min; $\lambda = 300 \text{ nm}$.



PDA Ch1 300nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	16.226	20837985	100.000
Total		20837985	100.000

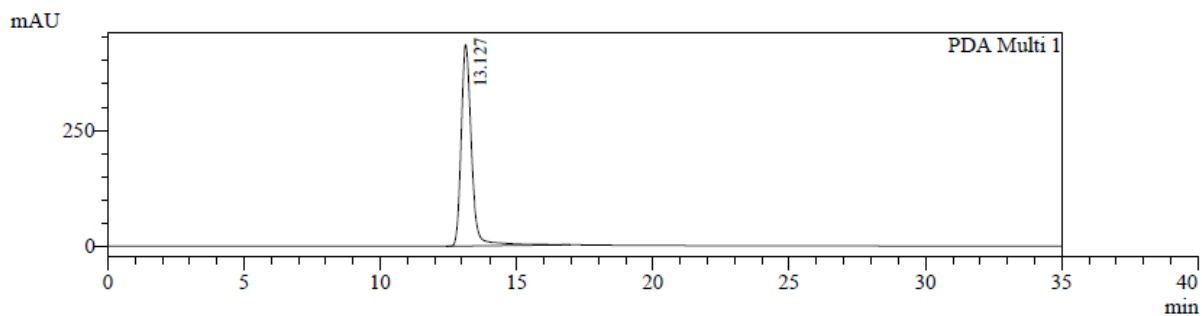
Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.⁴¹⁶

(S_p)-4-Formyl[2.2]paracyclophane 2.4

This compound was prepared following the procedure described for the synthesis of product (*R_p*)-**2.4** using compound (\pm)-4-formyl[2.2]paracyclophane **2.4** (1 eq., 1 g, 4.23 mmol), *t*-BuOK (0.1 eq., 48 mg, 0.42 mmol) and RuCl(*p*-cymene)[(*S,S*)-Ts-DPEN] (2 mol %, 54 mg, 0.085 mmol) to obtain (*S_p*)-**2.4** (493 mg, 49 %) and (*R_p*)-**2.7** (473 mg, 1.98 mmol, 47 %) as a byproduct.

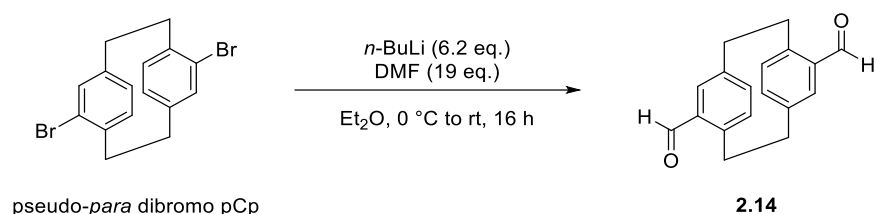
[α]_{546, 20} +240 (c 9.4, CHCl₃)

HPLC conditions: *Chiral HPLC analysis* $t_{R\text{ aldehyde } S_p} = 13.1$ min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); flow = 1 mL/min; $\lambda = 300$ nm]



PDA Ch1 300nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	13.127	11545246	100.000
Total		11545246	100.000

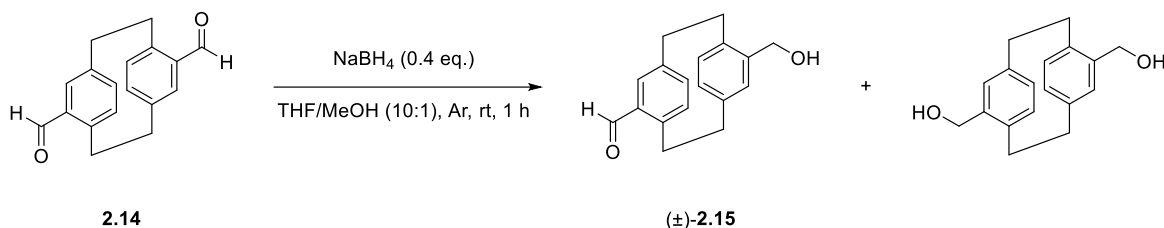
4,16-Diformyl[2.2]paracyclophane **2.14**

An oven-dried one-necked round-bottomed flask was charged with commercially available 4,16-dibromo[2.2]paracyclophane (5 g, 13.7 mmol, 1 eq.). The flask was sealed with a septum, then evacuated and backfilled with argon three times. Dry Et₂O (300 mL) was added and the resulting solution was cooled to 0 °C. *n*-BuLi (2.5 M in hexanes, 32.5 mL, 81.2 mmol, 6 eq.) was added dropwise via syringe. The mixture was allowed to slowly warm up to rt (~ 1 h), stirred for 8 h at rt, then cooled back to 0 °C. Dry DMF (20 mL, 258 mmol, 19 eq.) was finally added. The reaction was allowed to warm to rt and stirred overnight. A 6N HCl aqueous solution (16 mL) was added and the resulting mixture was stirred at rt for 1 h. The reaction was diluted with distilled water (20 mL), then extracted with DCM (2x30 mL). The combined organic layers were washed with a saturated aqueous NaHCO₃ solution (2x20 mL) and brine (2x20 mL), then dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. Recrystallization from toluene afforded compound **2.14** in 93% yield (3.35 g, 12.7 mmol) as colourless crystals (decomp. 240 °C).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.94 (s, 2H), 7.05 (d, *J* = 1.9 Hz, 2H), 6.64 (dd, *J* = 7.8, 2.0 Hz, 2H), 6.53 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.13 (ddd, *J* = 13.0, 10.4, 2.4 Hz, 2H), 3.29 (ddd, *J* = 13.1, 10.7, 2.3 Hz, 2H), 3.16 (ddd, *J* = 13.3, 10.4, 5.8 Hz, 2H), 3.02 (ddd, *J* = 13.1, 10.7, 5.8 Hz, 2H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 191.9 (2CH), 142.9 (2C), 140.5 (2C), 136.9 (2CH), 136.8 (2C), 136.5 (2CH), 135.2 (2CH), 34.4 (2CH₂), 32.8 (2CH₂) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.¹¹⁰

(±)-4-formyl-16-hydroxymethyl[2.2]paracyclophane **2.15**

An oven-dried one-necked round-bottomed flask was charged with compound **2.14** (30 mg, 0.11 mmol, 1 eq.). The flask was sealed with a septum, then evacuated and backfilled with argon three times. A 10:1 mixture of dry MeOH/THF (5 mL) was added, followed by NaBH₄ (2 mg, 0.053 mmol, 0.5 eq.). The reaction was stirred at rt for 1 h, then diluted with distilled water (10 mL). The resulting aqueous phase was extracted with EtOAc (3x 10 mL). The combined organic layers were washed with 1N HCl aqueous solution (2x15 mL), distilled water (2x15 mL) and brine (2x15 mL), then dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude material was purified by column chromatography on silica gel using EtOAc/Cy 3:7 to 4:6 as the eluent to afford compound (*±*)-**2.15** (8 mg, 0.030 mmol, 27% yield) as an amorphous white solid.

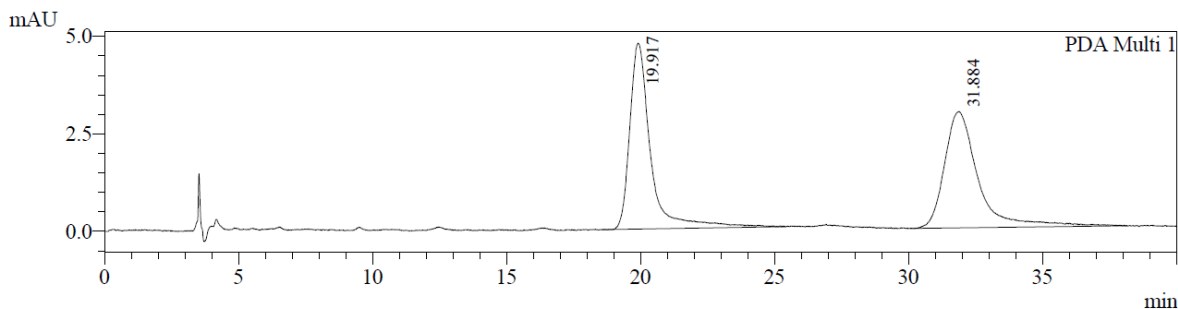
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.95 (s, 1H), 7.00 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.86 (dd, $J = 7.8, 2.0$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 6.39 (d, $J = 1.1$ Hz, 2H), 4.69 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 4.37 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 4.09 (ddd, $J = 12.9, 10.4, 2.1$ Hz, 1H), 3.39 (ddd, $J = 13.5, 10.2, 3.2$ Hz, 1H), 3.25 – 2.99 (m, 4H), 2.99–2.86 (m, 2H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 191.9 (CH), 143.1 (C), 140.2 (C), 140.0 (C), 139.9 (C), 137.3 (C), 136.8 (C), 136.6 (CH), 135.2 (CH), 134.1 (CH), 133.9 (CH), 132.0 (CH), 131.3 (CH), 64.3 (CH₂), 34.5 (CH₂), 33.8 (CH₂), 33.0 (CH₂), 32.0 (CH₂) ppm.

IR (neat): 3397, 2953, 2924, 2854, 1674, 1588, 1484, 1462, 1439, 1411, 1224, 1140, 1023, 986, 903, 787, 718 cm⁻¹.

HRMS (ESI): m/z [M+Na]⁺ calcd for C₁₈H₁₉O₂Na: 267.1380; found: 267.3838.

HPLC conditions: *Chiral HPLC analysis* $t_{R,RP} = 19.9$ min; $t_{R,SP} = 31.9$ min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; $\lambda = 210$ nm, 254 nm or 300 nm]



PDA Ch1 300nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	19.917	259047	49.875
2	31.884	260348	50.125
Total		519394	100.000

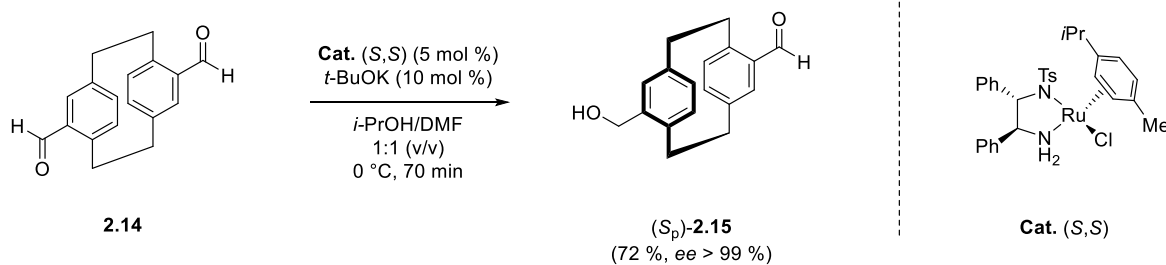
4-16-dihydroxymethyl[2.2]paracyclophane (centrosymmetric *meso* compound) was also isolated as a reaction by-product (white amorphous solid, 12 mg, 0.045 mmol, 40 % yield).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ 6.61 (dd, $J = 7.7, 1.8$ Hz, 2H), 6.39 (d, $J = 1.2$ Hz, 2H), 6.34 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 4.67 (d, $J = 13.0$ Hz, 2H), 4.35 (d, $J = 13.1$ Hz, 2H), 3.40-3.35 (m, 2H), 3.06-3.02 (m, 4H), 2.86-2.80 (m, 2H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): δ 141.4 (2C), 140.8 (2C), 138.5 (2C), 135.0 (2CH), 133.8 (2CH), 129.1 (2CH), 64.6 (2CH₂), 34.6 (2CH₂) 33.1 (2CH₂) ppm.

IR (neat): 3273, 1928, 2855, 1733, 1691, 1595, 1462, 1259, 1139, 1076, 1022, 896, 874, 838, 748, 717 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_2$: 269.1536; found: 269.1557.

(S_p)-4-Formyl-16-hydroxymethyl[2.2]paracyclophane 2.14

An oven-dried one-necked round-bottomed flask was charged with (±)-**2.14** (1 g, 3.78 mmol, 1 equiv) in a 1:1 mixture of *i*-PrOH and dry DMF (180 mL) under an argon atmosphere (solution A). Another oven-dried one-necked round-bottomed flask was charged with RuCl(*p*-cymene)[(*R,R*)-Ts-DPEN] (48 mg, 0,076 mmol, 0.02 equiv) in dry DMF (10 mL) under an argon atmosphere. To this second solution was added *t*-BuOK (42 mg, 0.38 mmol 0.1 equiv) solubilised in *i*-PrOH (10 mL). After the disappearance of the violet colour, the mixture was added to the solution A. The reaction was stirred at 0 °C for 70 min. The consumption of the starting material was monitored by TLC. The mixture was then quenched with a saturated NH₄Cl aqueous solution. The resulting aqueous phase was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, gravity filtered and concentrated under reduced pressure. The crude material was purified by column chromatography on silica gel using Cy/EtOAc (8:2 to 1:1) as eluent to afford the compound (*S_p*)-**2.15** (647 mg, 2.43 mmol, 64% yield, 97% *ee*) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.95 (s, 1H), 7.00 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.86 (dd, *J* = 7.8, 2.0 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 6.39 (d, *J* = 1.1 Hz, 2H), 4.69 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.37 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 4.09 (ddd, *J* = 12.9, 10.4, 2.1 Hz, 1H), 3.39 (ddd, *J* = 13.5, 10.2, 3.2 Hz, 1H), 3.25 – 2.99 (m, 4H), 2.99-2.86 (m, 2H) ppm.

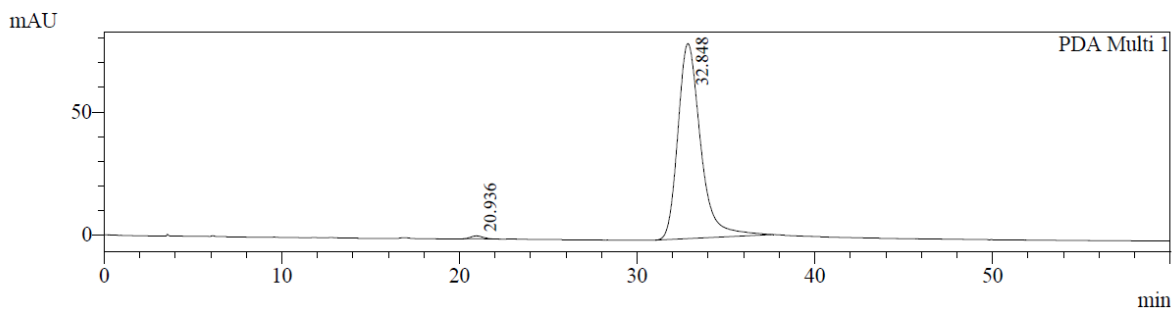
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 191.9 (CH), 143.1 (C), 140.2 (C), 140.0 (C), 139.9 (C), 137.3 (C), 136.8 (C), 136.6 (CH), 135.2 (CH), 134.1 (CH), 133.9 (CH), 132.0 (CH), 131.3 (CH), 64.3 (CH₂), 34.5 (CH₂), 33.8 (CH₂), 33.0 (CH₂), 32.0 (CH₂) ppm.

IR (neat): 3397, 2953, 2924, 2854, 1674, 1588, 1484, 1462, 1439, 1411, 1224, 1140, 1023, 986, 903, 787, 718 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₈H₁₉O₂Na: 267.1380; found: 267.3838.

[α]_{589, 20} +135 (c 0.3, CHCl₃)

HPLC conditions: $t_{R, sp}$ = 32.8 min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; λ = 254 nm]



PDA Ch1 254nm 4nm

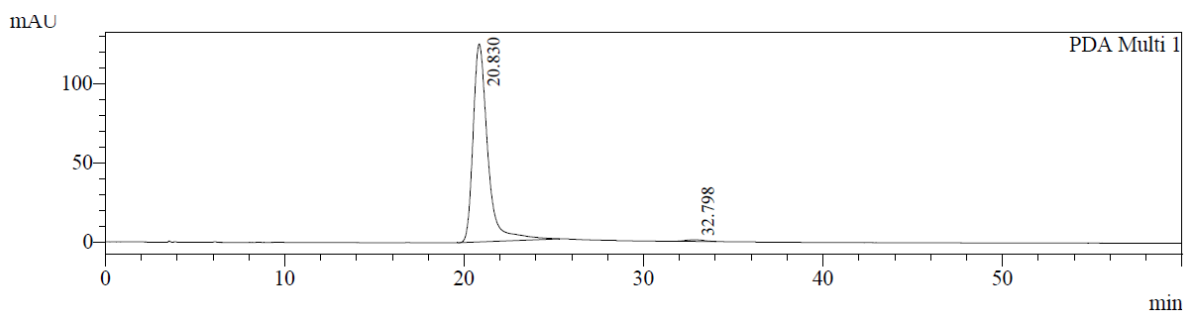
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	20.936	58698	1222	0.824	1.518
2	32.848	7067046	79299	99.176	98.482
Total		7125744	80521	100.000	100.000

(*R_p*)-4-Formyl-16-hydroxymethyl[2.2]paracyclophane 2.15

This compound was prepared following the procedure described for the synthesis of product (*S_p*)-**2.15** using compound (\pm)-**2.14** (1 g, 3.78 mmol, 1 equiv), RuCl(*p*-cymene)[(R,R)-Ts-DPEN (48 mg, 0,076 mmol, 0.02 equiv) and *t*-BuOK (42 mg, 0.38 mmol 0.1 equiv) to obtain (*R_p*)-**2.15** (750 mg, 2.82 mmol, 74 %).

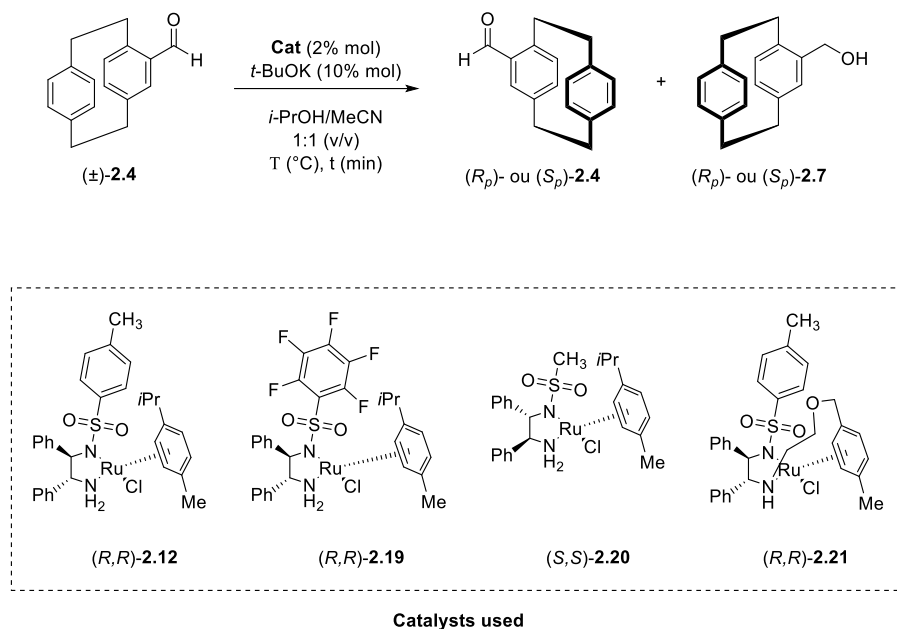
$[\alpha]_{589, 20} -100$ (c 0.3, CHCl₃)

HPLC conditions : Chiral HPLC analysis: $t_{R, Rp} = 20.8$ min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm]



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	20.830	7124023	125093	99.102	99.247
2	32.798	64570	949	0.898	0.753
Total		7188593	126042	100.000	100.000

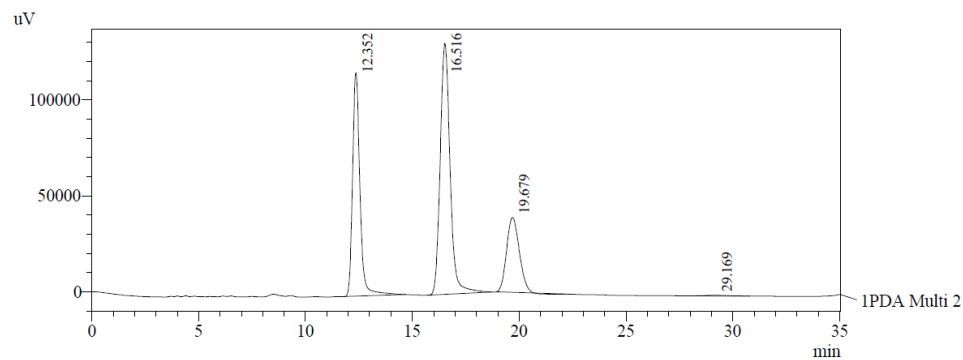
II.2 Experimental study of ATH reaction on **2.4**

All reactions were carried, at the desired temperature, following the procedure described for the synthesis of product (R_p) -**2.4** using compound **(±)-2.4** (50 mg, 0.21 mmol, 1 equiv), the desired catalyst (4.2 μ mol, 0.02 equiv) and *t*-BuOK (2.37 mg, 21 μ m, 0.1 equiv) in a *i*-PrOH:MeCN (1:1, 6 mL total) to obtain product (R_p) - or (S_p) -**2.15**. Samples were collected, quenched with NH_4Cl and mixed 1 mL of EtOAc. The top layer was then evaporated and the conversions and *ee* of samples were obtained by ^1H NMR and HPLC analysis.

HPLC conditions : Column = Chiralcel OD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); flow = 1 mL/min; λ = 254 nm.

Table 1 from chapter II

Entry 1 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 12.4 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 16.6 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 19.7 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 29.2 \text{ min}$



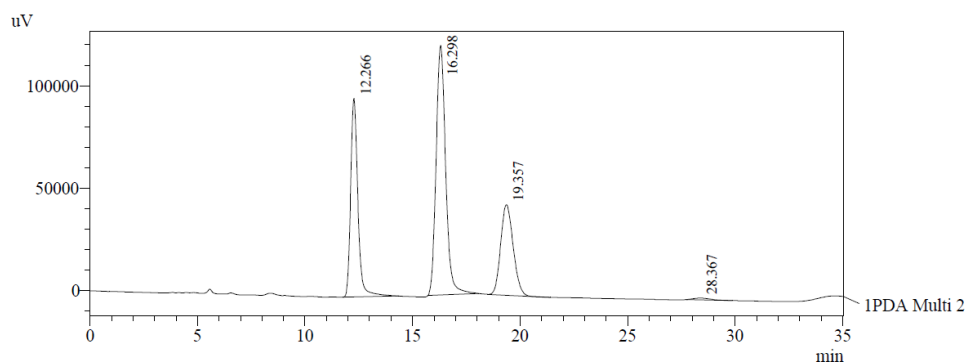
1 PDA Multi 2 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch2 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.352	2804566	116566	32.395	40.618
2	16.516	4227114	130951	48.827	45.630
3	19.679	1603130	39077	18.518	13.616
4	29.169	22517	390	0.260	0.136
Total		8657327	286984	100.000	100.000

Entry 2 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 12.3 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 16.3 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 19.4 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 28.4 \text{ min}$



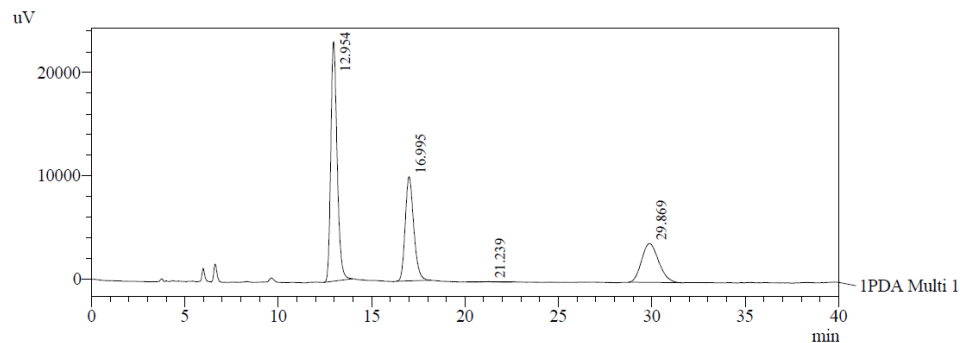
1 PDA Multi 2 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch2 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.266	2275966	96897	28.930	36.752
2	16.298	3765143	121765	47.858	46.184
3	19.357	1780086	44131	22.626	16.738
4	28.367	46076	859	0.586	0.326
Total		7867271	263651	100.000	100.000

Entry 3 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 13.0 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 17.0 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 21.2 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 29.9 \text{ min}$



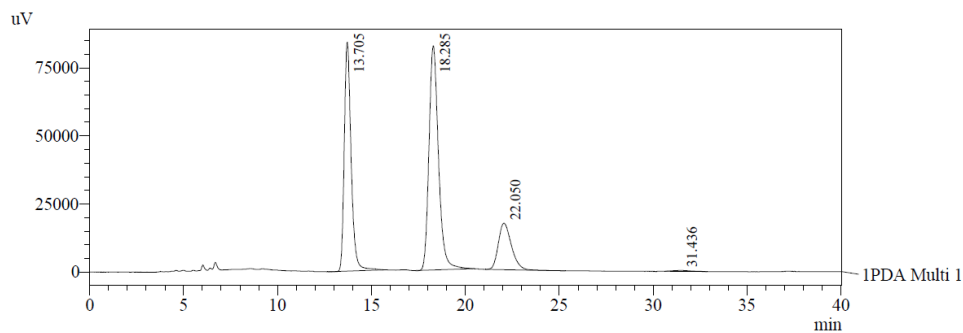
1 PDA Multi 1 / 254nm 4mm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4mm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.954	544221	23200	49.401	62.553
2	16.995	319635	10086	29.015	27.194
3	21.239	25	40	0.002	0.108
4	29.869	237756	3763	21.582	10.145
Total		1101637	37088	100.000	100.000

Entry 4 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 13.7 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 18.3 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 22.1 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 31.4 \text{ min}$



1 PDA Multi 1 / 254nm 4mm

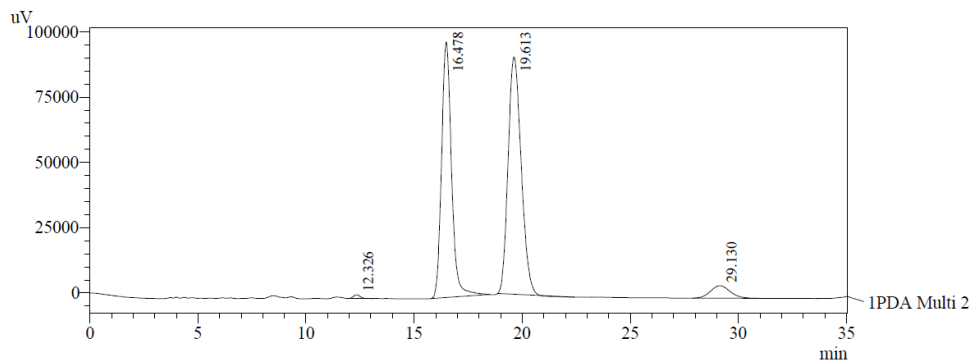
PeakTable

PDA Ch1 254nm 4mm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	13.705	2122136	84003	36.172	45.721
2	18.285	2901074	82307	49.449	44.797
3	22.050	821951	17067	14.010	9.289
4	31.436	21659	355	0.369	0.193
Total		5866820	183731	100.000	100.000

Table 2 from chapter II

Entry 1 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 12.3 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 16.5 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 19.7 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 29.1 \text{ min}$



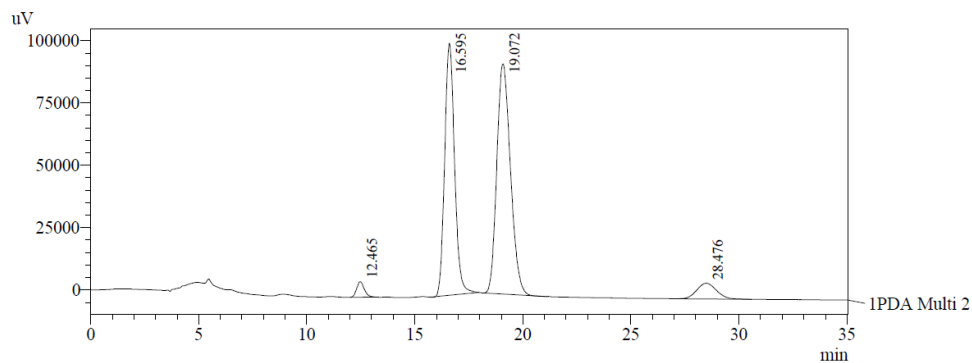
1 PDA Multi 2 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch2 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.326	27441	1342	0.377	0.689
2	16.478	3137246	97858	43.116	50.242
3	19.613	3815013	90854	52.430	46.646
4	29.130	296658	4719	4.077	2.423
Total		7276357	194773	100.000	100.000

Entry 3 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 12.5 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 16.6 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 19.1 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 28.5 \text{ min}$



1 PDA Multi 2 / 254nm 4nm

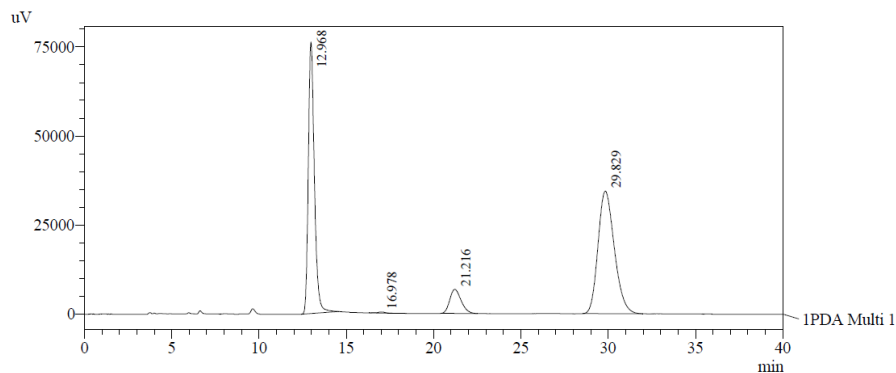
PeakTable

PDA Ch2 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.465	152594	6224	1.950	3.023
2	16.595	3217635	101102	41.124	49.107
3	19.072	4056275	92271	51.843	44.818
4	28.476	397658	6284	5.082	3.052
Total		7824162	205881	100.000	100.000

Experimental part

Entry 3 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 13.0 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 17.0 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 21.2 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 29.9 \text{ min}$



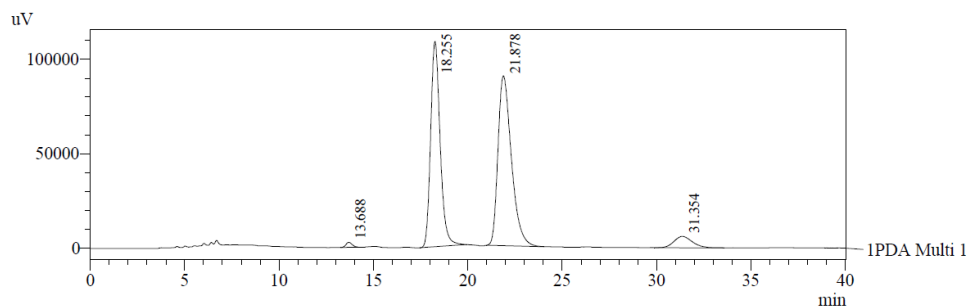
1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.968	1837463	76202	41.831	64.761
2	16.978	8700	275	0.198	0.234
3	21.216	307568	6779	7.002	5.761
4	29.829	2238878	34411	50.969	29.244
Total		4392610	117667	100.000	100.000

Entry 3 : $t_{R \text{ Aldehyde Sp}} = 13.7 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde Rp}} = 18.3 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Sp}} = 21.9 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol Rp}} = 31.4 \text{ min}$

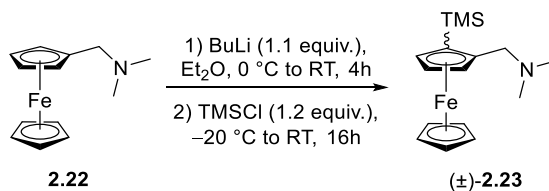


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	13.688	61084	2676	0.702	1.292
2	18.255	3790590	108626	43.562	52.449
3	21.878	4447635	89855	51.112	43.386
4	31.354	402360	5950	4.624	2.873
Total		8701669	207107	100.000	100.000

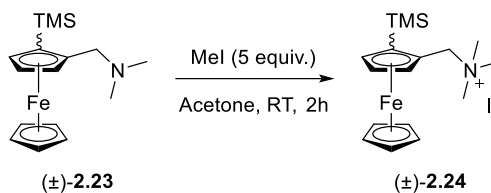
II.3 ATH reactions on aldehyde-bearing ferrocene **2.26** and [6]helicene **2.27****Ferrocenes***(±)*- α -Trimethylsilyl-*N,N*-dimethylaminomethyl ferrocène **2.23**

To a vacuum and flame-dried 25 mL round-bottomed flask was added commercially available *N,N*-dimethylaminomethyl ferrocène **2.22** (1 eq., 1.01 g, 0.82 mL, 3.98 mmol) and Et₂O (4 mL) under Ar atmosphere. The resulting solution was cooled to 0 °C using an ice bath, then *n*-BuLi (2.5 M, 1.13 eq., 1.8 mL, 4.5 mmol) was added dropwise via syringe. The mixture was stirred for 15 min at 0 °C, then the ice bath was removed and the reaction was stirred at RT for 4 h. The orange solution was then cooled to -20 °C using an ice/salt bath and chlorotrimethylsilane (1.22 eq., 0.53 g, 0.62 mL, 4.85 mmol) was added dropwise via syringe. The mixture was warmed up to RT and stirred overnight before quenching with aq. NaOH (2 N). After dilution with Et₂O, the immiscible phases were separated, and the aqueous phase was extracted twice with Et₂O. The organic layers were combined, washed with water and brine, dried over MgSO₄, gravity filtered and evaporated under reduced pressure. The resulting brown oil was purified by column chromatography (SiO₂) using 1:1 Cy/Et₂O as the eluent to afford compound (±)-**2.23** (721.2 mg, 2.29 mmol, 57 %) as a colorless oil.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.00 (m, 1H), 4.23 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H), 4.07 (s, 5H), 4.02 (m, 1H), 3.42 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 3.00 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 2.10 (s, 6H), 0.27 (s, 9H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) 89.8 (C), 73.9 (CH), 73.1 (CH), 71.7 (C), 69.2 (CH), 68.4 (CH), 59.3 (CH₂), 44.7 (CH₃), -0.004 (CH₃) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.¹⁹⁹

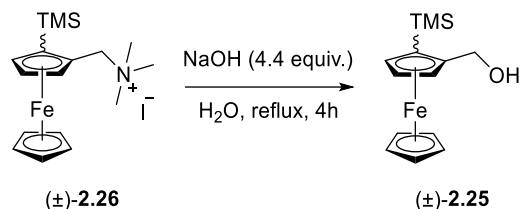
(±)-a-Trimethylsilyl-N,N-iodotrimethylate aminomethyl ferrocène 2.24

To a 50 mL round-bottomed flask were added compound (±)-**2.23** (1 eq., 700 mg, 2.22 mmol), acetone (10 mL), and MeI (5.065 eq., 1596 mg, 0.7 mL, 11.24 mmol). The solution was stirred at 60 °C for 15 mn, then left unstirred at RT for 1h. The resulting thick suspension was poured into Et₂O (100 mL) and filtered on a fritted glass funnel to collect product (±)-**2** (980 mg, 2.14 mmol, 97 %). Compound **2.24**, which was isolated as an amorphous white solid, was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.50 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 4.96 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.30 (s, 5H), 4.22 (s, 1H), 4.05 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 3.33 (s, 9H), 0.34 (s, 9H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) 75.9 (CH), 75.0 (CH), 68.9 (CH), 66.7 (CH₂), 51.7 (CH₃), -0.004 (CH₃) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.¹⁹⁹

(±)-*a*-Trimethylsilyl-hydroxymethyl ferrocène **2.25**

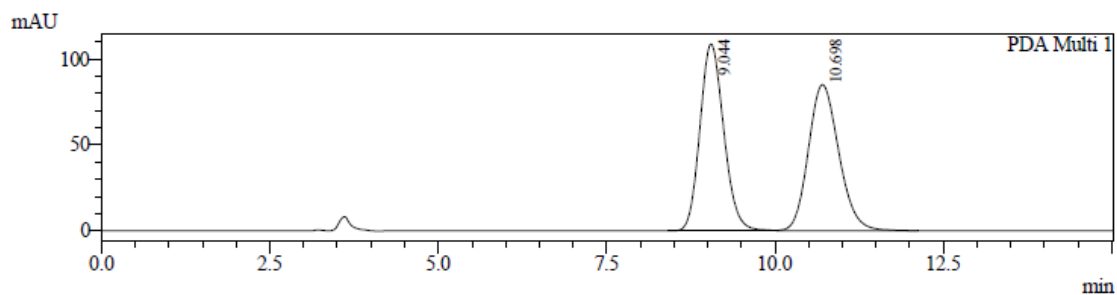
In a 50mL round-bottomed flask were mixed together compound (±)-**2.24** (1 eq., 970 mg, 2.12 mmol), and a suspension of NaOH (4.35 eq., 369 mg, 9.22 mmol) in H₂O (10 mL). The mixture was heated at reflux. A bubbler was used to observe the gas evolution (Et₃N) which takes place during the reaction. After 5h, the mixture is cooled to RT, and diluted with Et₂O. The immiscible phases were separated, and the aqueous phase was extracted twice with Et₂O. The organic layers were combined, washed with water and brine, dried over MgSO₄, gravity filtered and evaporated under reduced pressure. The resulting orange oil was purified by column chromatography (SiO₂) using 8:2 Cy/Et₂O as the eluent to afford product (±)-**2.25** (440.4 mg, 1.53 mmol, 72 %) as an amorphous orange solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.35 (m, 4H), 4.15 (s, 5H), 4.11 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 0.29 (s, 9H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 92.2 (C), 79.4 (CH), 71.3 (CH), 71.3 (CH), 69.8 (CH), 68.1 (CH), 68.1 (CH), 60.6 (CH₂), -0.004 (CH₃) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.¹⁹⁹

Chiral HPLC analysis: $t_{R1} = 9.04$ min ; $t_{R2} = 10.7$ min [Column = Chiralcel OJ (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (99:1); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm]



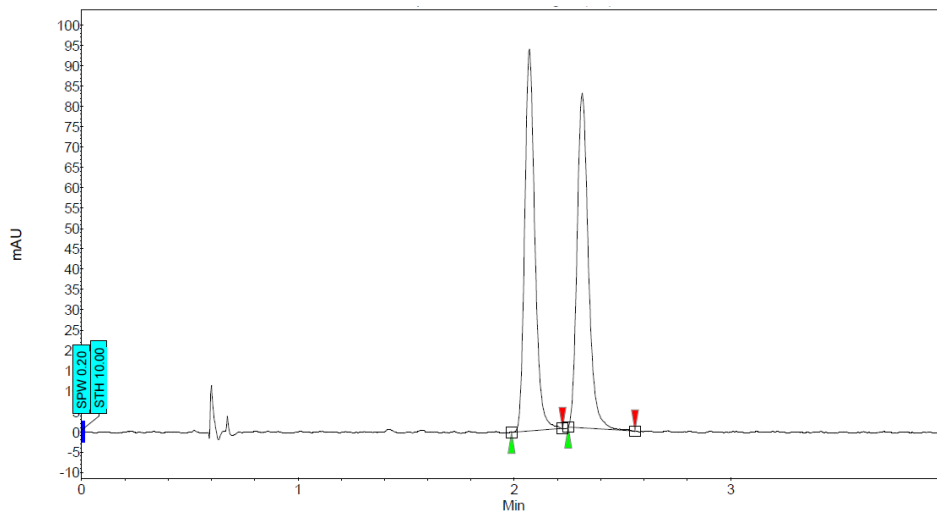
1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

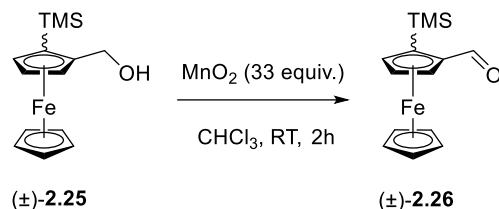
PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.044	2686374	108771	50.034	56.116
2	10.698	2682680	85062	49.966	43.884
Total		5369053	193833	100.000	100.000

Chiral SFC analysis: $t_{R1} = 2.07$ min ; $t_{R2} = 2.31$ min [Column = CHIRALCEL OJ)-H; 4% *i*PrOH, 100 Bars, 5 mL/min ; $\lambda = 210$ nm]



Index	Name	Time [Min]	Height [μV]	Area [μV.Min]	Area [%]	Selectivity	Res. HW
1	UNKNOWN	2.07	93.9	5.1	50.497	0.00	0.00
2	UNKNOWN	2.31	82.3	5.0	49.503	1.12	2.78
Total			176.2	10.1	100.000		

(±)-*a*-Trimethylsilyl-ferrocenecarboxaldehyde **2.26**

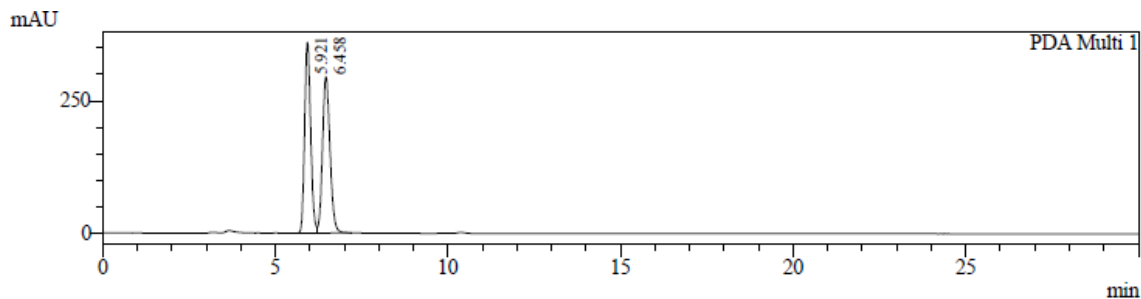
In a 50 mL round-bottomed flask was dissolved compound **(±)-2.25** (450 mg, 1.56 mmol, 1 equiv.) in CHCl_3 (11 mL) under stirring. To this solution was added MnO_2 (32.9 eq., 4.465 g, 51.36 mmol). The resulting black suspension was stirred open air for 2h. The mixture was then filtered through a pad of Celite[®] with DCM washings. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford product **(±)-2.26** (370 mg, 1.29 mmol, 83 %) as an amorphous dark red solid. This compound was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.02 (s, 1H), 4.97 (m, 1H), 4.71 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 4.52 (m, 1H), 4.25 (s, 5H), 0.32 (s, 9H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 194.3 (CH), 83.9 (C), 79.7 (CH), 75.1 (C), 74.7 (CH), 69.6 (CH_3), -0.004 (CH_3) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.¹⁹⁹

Chiral HPLC analysis: $t_{R1} = 5.92$ min ; $t_{R2} = 6.46$ min [Column = Chiralcel OJ (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (99:1); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm]



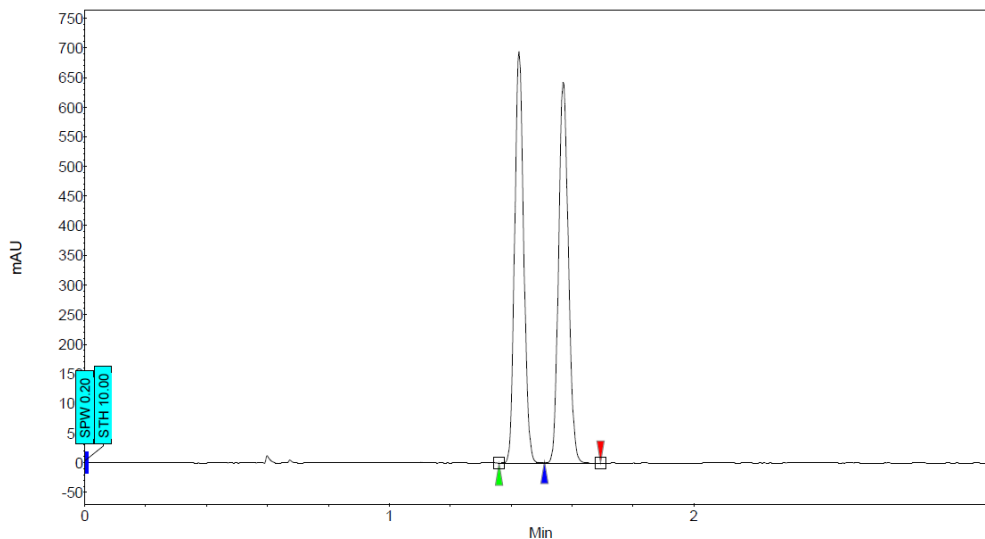
1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

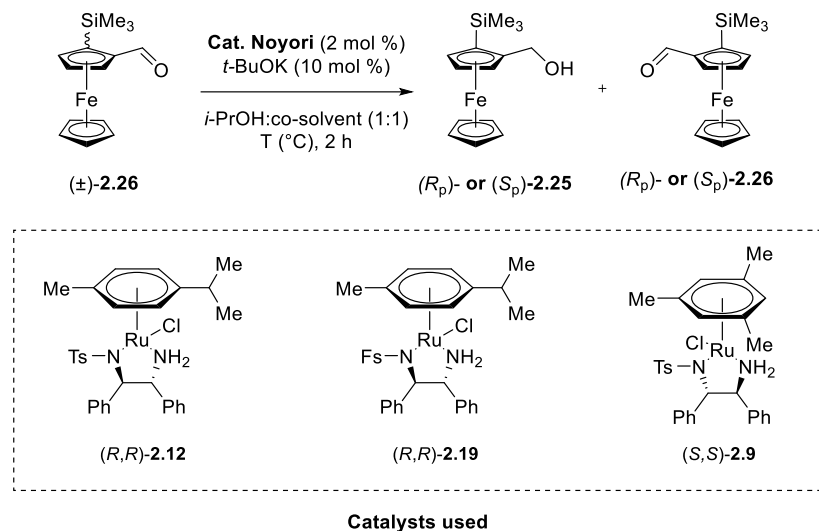
PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	5.921	4399555	361088	49.583	54.968
2	6.458	4473504	295815	50.417	45.032
Total		8873059	656903	100.000	100.000

Chiral SFC analysis: $t_{R1} = 1.43$ min ; $t_{R2} = 1.57$ min [Column = CHIRACEL OJ-H5; 4% *i*PrOH, 100 Bars, 5 mL/min ; $\lambda = 210$ nm]



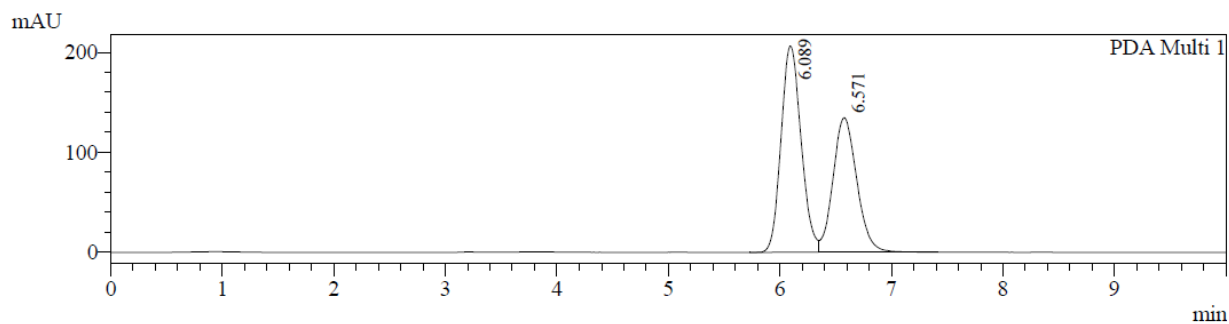
Index	Name	Time	Height	Area	Area	Selectivity	Res. HW
		[Min]	[μ V]	[μ V.Min]	[%]		
1	UNKNOWN	1.43	694.3	23.8	49.828	0.00	0.00
2	UNKNOWN	1.57	642.5	24.0	50.172	1.10	2.54
Total			1336.8	47.8	100.000		

Kinetic resolution of (\pm)- α -trimethylsilyl-ferrocenecarboxaldehyde (\pm)-**2.26** :

All reactions were carried following the procedure described for the synthesis of product (R_p)-**2.4** using compound (\pm)-**2.26** (30 mg, 0.11 mmol, 1 equiv.), the desired catalyst (2.2 μ mol, 0.02 equiv) and *t*-BuOK (1.2 mg, 11 μ mol, 0.1 equiv) in a *i*PrOH:co-solvent (1:1, 6 mL total) to obtain product (R_p)- or (S_p)-**2.25**. The reaction was stirred at the desired temperature for 2 h. The mixture was then quenched with a saturated NH₄Cl aqueous solution and concentrated under reduced pressure. The resulting aqueous phase was extracted with EtOAc (3x). The combined organic layers were washed with brine (2x), dried over MgSO₄, gravity filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography using 10:1 to 8:2 Cy/Et₂O as the eluent to afford compounds **2.25** and **2.26**. Enantiomeric excess was determined by chiral HPLC or SFC.

Chiral HPLC analysis:

For compound **2.26** : $t_{R1} = 6.09$ min ; $t_{R2} = 6.57$ min [Column = Chiralcel OJ (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (99:1); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm]



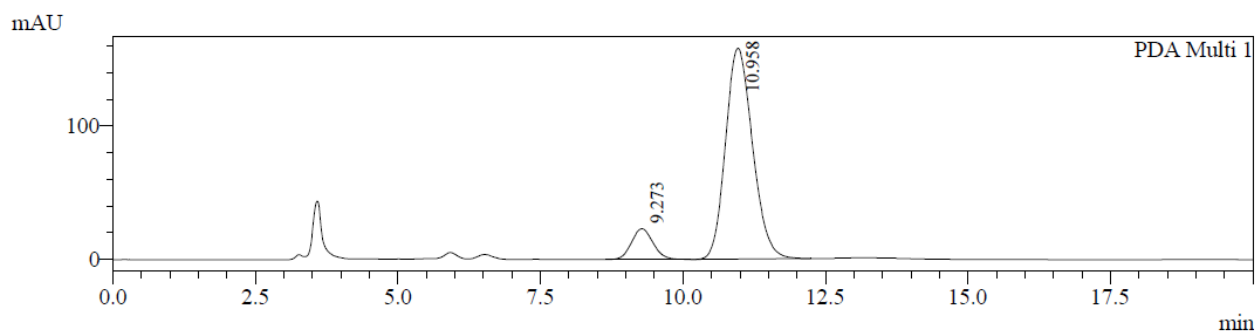
1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	6.089	2575454	206189	56.383	60.575
2	6.571	1992346	134200	43.617	39.425
Total		4567799	340389	100.000	100.000

For compound **2.25** : $t_{R1} = 9.27$ min ; $t_{R2} = 10.96$ min [Column = Chiralcel OJ (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (98:2); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm]



1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

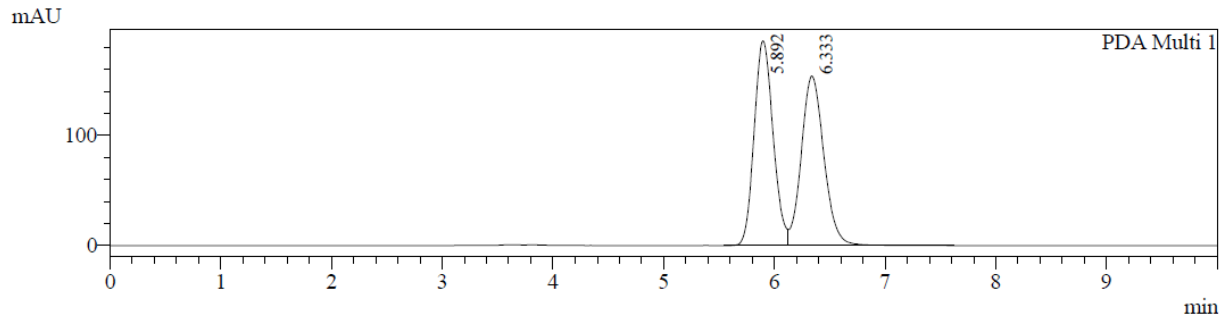
PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.273	601009	22925	10.345	12.686
2	10.958	5208884	157782	89.655	87.314
Total		5809893	180707	100.000	100.000

Table 3 from chapter II

Entry 1 : $t_{R \text{ Aldehyde } 1} = 5.89 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde } 2} = 6.34 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 1} = 9.31 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 2} = 10.99 \text{ min}$

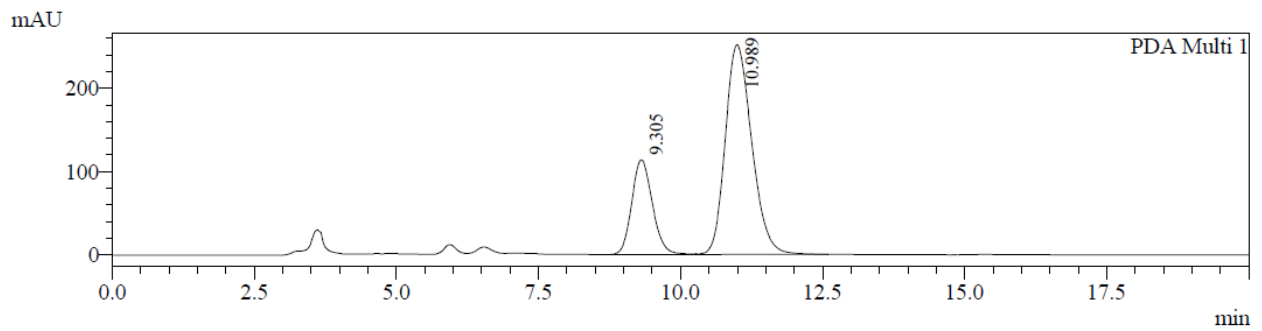


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	5.892	2214401	185983	50.343	54.711
2	6.333	2184261	153953	49.657	45.289
Total		4398662	339936	100.000	100.000



1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

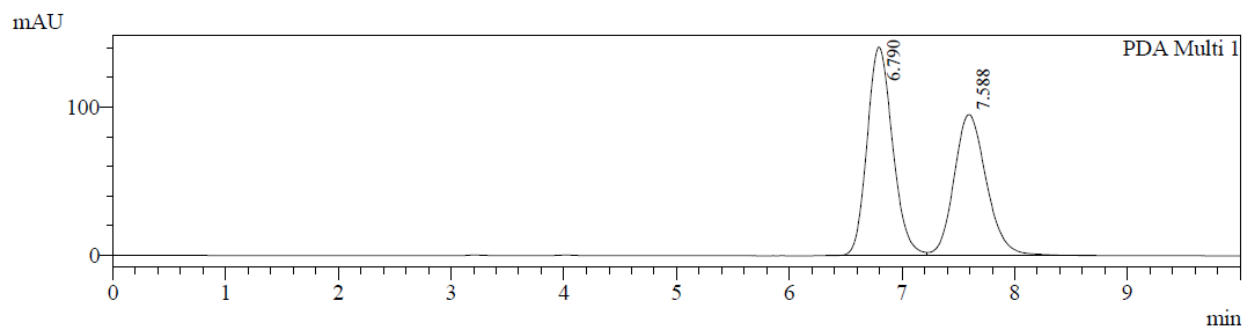
PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.305	2862704	113461	26.019	31.127
2	10.989	8139672	251052	73.981	68.873
Total		11002376	364513	100.000	100.000

Experimental part

Entry 2 : $t_{R \text{ Aldehyde } 1} = 6.79 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde } 2} = 7.59 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 1} = 9.21 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 2} = 10.89 \text{ min}$

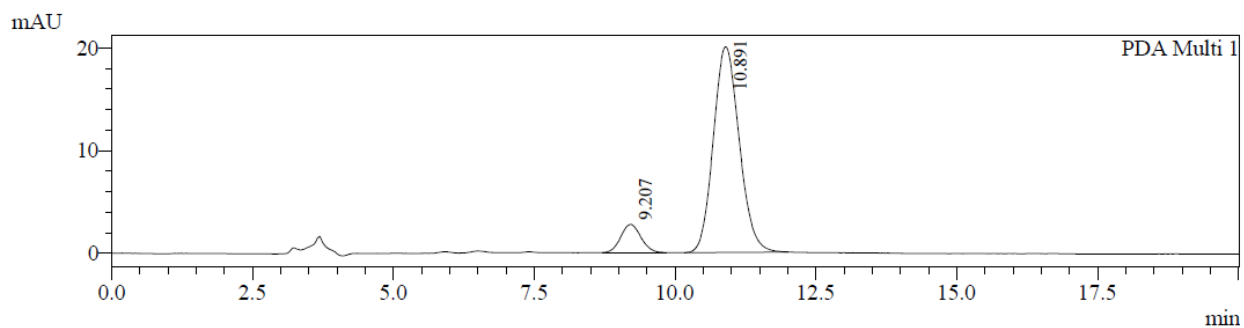


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	6.790	2216870	140842	53.806	59.677
2	7.588	1903248	95165	46.194	40.323
Total		4120118	236007	100.000	100.000



1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

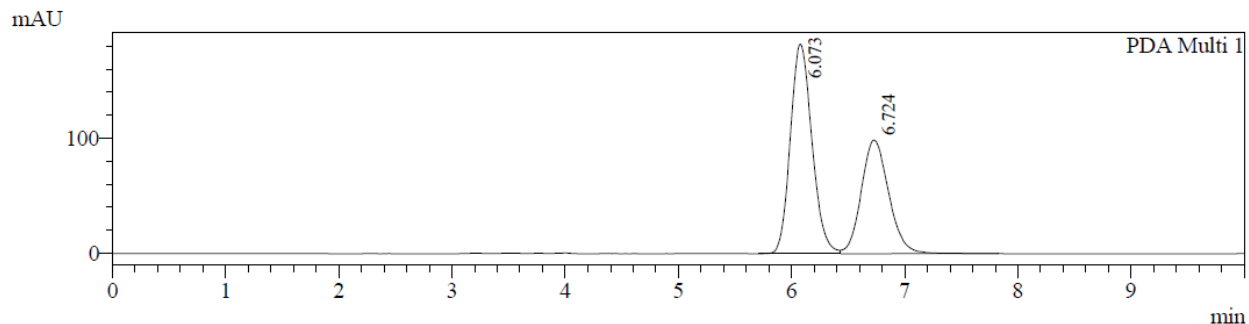
PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.207	68003	2746	9.588	12.065
2	10.891	641218	20018	90.412	87.935
Total		709220	22764	100.000	100.000

Table 4 from chapter II

Entry 1 : $t_{R \text{ Aldehyde } 1} = 6.07 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde } 2} = 6.72 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 1} = 9.38 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 2} = 11.05 \text{ min}$

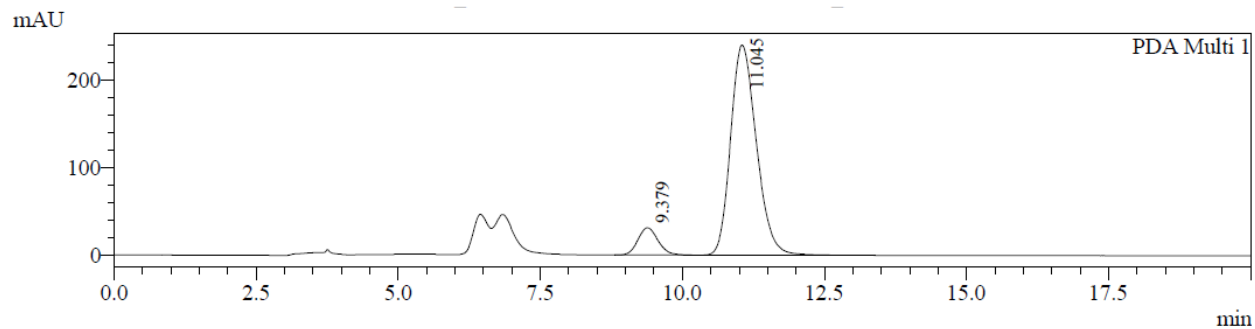


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	6.073	2419846	182126	59.245	64.876
2	6.724	1664633	98604	40.755	35.124
Total		4084479	280730	100.000	100.000



1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

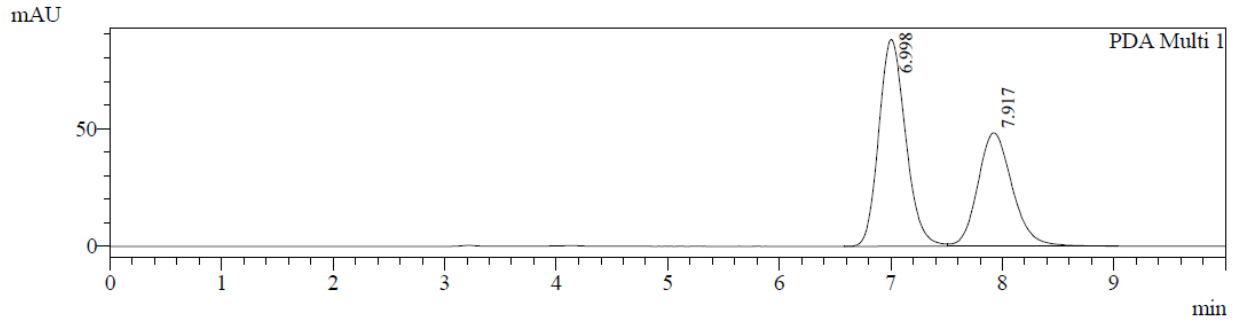
PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.379	762543	31198	9.124	11.477
2	11.045	7595464	240635	90.876	88.523
Total		8358006	271833	100.000	100.000

Experimental part

Entry 2 : $t_{R \text{ Aldehyde } 1} = 7.0 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde } 2} = 7.92 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 1} = 9.18 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol } 2} = 10.85 \text{ min}$

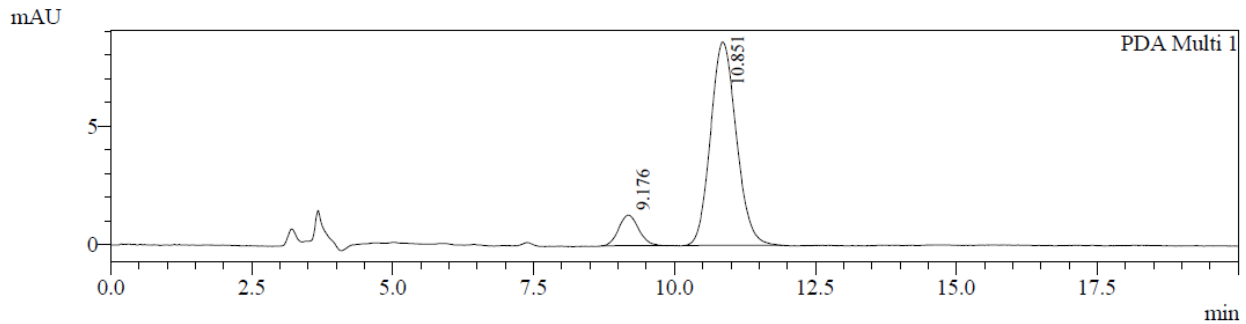


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	6.998	1468772	87770	58.730	64.605
2	7.917	1032099	48087	41.270	35.395
Total		2500872	135856	100.000	100.000



1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

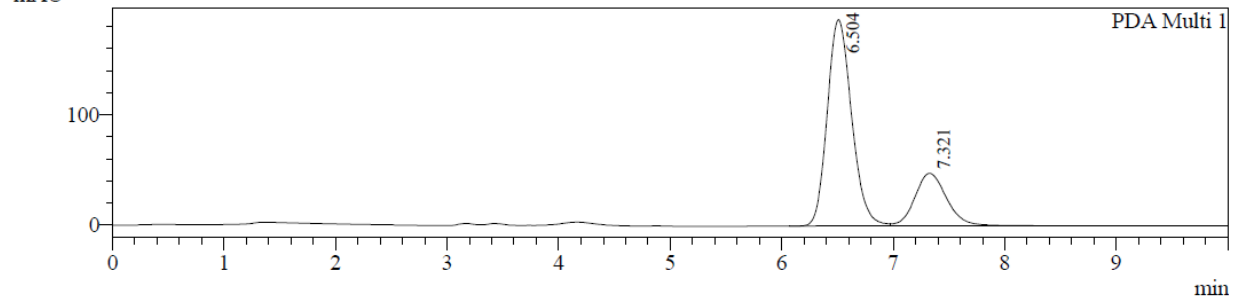
PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.176	31275	1286	10.267	13.035
2	10.851	273352	8581	89.733	86.965
Total		304628	9867	100.000	100.000

Experimental part

Entry 3 : $t_{R \text{ Aldehyde 1}} = 6.5 \text{ min}$; $t_{R \text{ Aldehyde 2}} = 7.32 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol 1}} = 9.20 \text{ min}$; $t_{R \text{ alcohol 2}} = 10.89 \text{ min}$

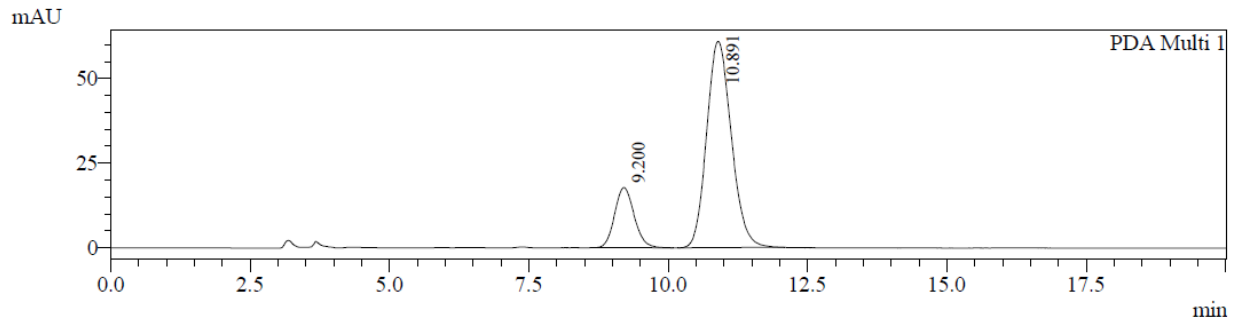


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	6.504	2844647	187117	75.168	79.729
2	7.321	939725	47573	24.832	20.271
Total		3784371	234691	100.000	100.000

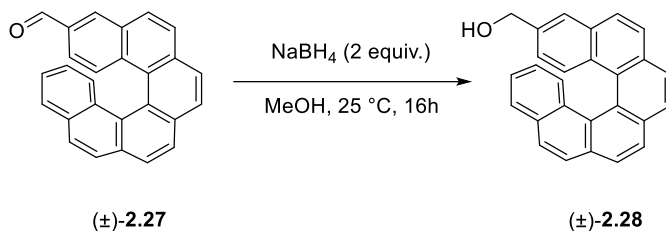


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.200	432044	17784	18.706	22.614
2	10.891	1877597	60857	81.294	77.386
Total		2309641	78641	100.000	100.000

Helicenes*(±)*-(Hexahelicene-2-yl)methanol **2.27**

[6]Helicene-2-yl carbaldehyde (*±*)-**2.27** was provided by our collaborators. This compound was prepared according to a previously reported synthetic procedure.

In a flame and vacuum dried 10 mL flask were introduced compound (*±*)-**2.27** (7 mg, 28 μ mol, 63,6 %) and MeOH (1 mL) under stirring. NaBH₄ (2 eq., 2.12 mg, 0.0561 mmol) was subsequently added. The reaction was stirred for 1h at RT, then quenched with water. EtOAc was added, the immiscible phases were separated, and the aqueous phase was extracted twice with EtOAc. The organic layers were combined, washed with brine, dried over MgSO₄, gravity filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography (SiO₂) using 9:1 Cy/EtOAc as the eluent to afford product (*±*)-**2.26** (6 mg, 18 μ mol, 64 %) as an amorphous yellow solid.

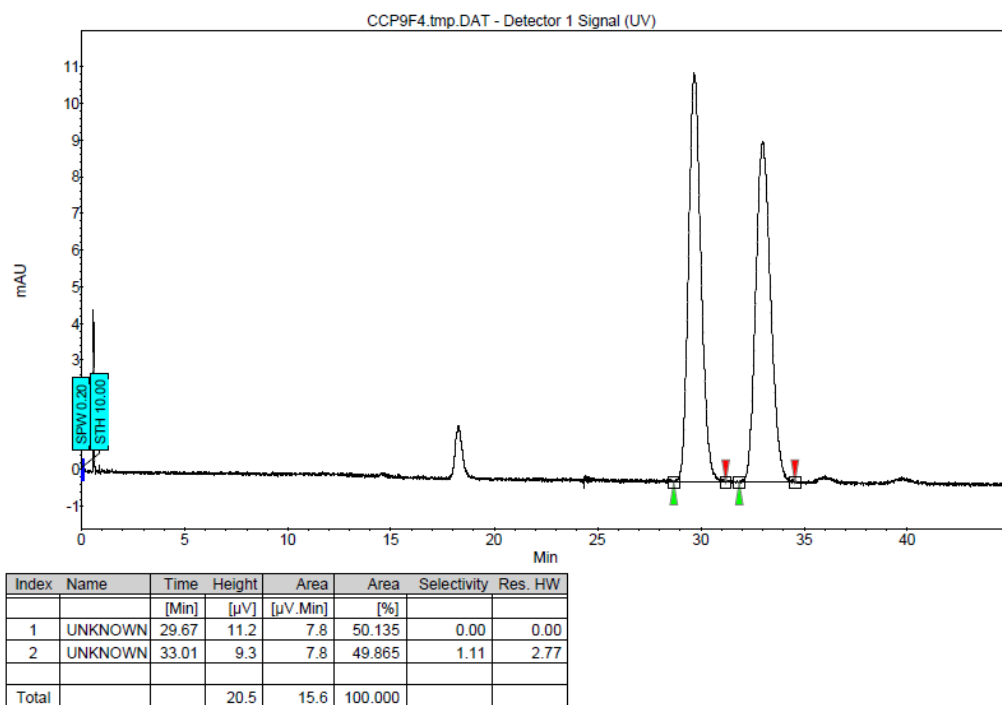
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (q, *J* = 7.3 Hz, 4H), 7.94 (qt, *J* = 8.3, 4H), 7.87 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.27-7.20 (m, 2H), 6.68 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.12 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 3.96 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 137.4 (C), 133.2 (C), 131.7 (C), 131.6 (C), 131.5 (C), 131.4 (C), 130.0 (C), 129.5 (C), 128.8 (C), 128.3 (CH), 128.1 (CH), 127.7 (C), 127.7 (C), 127.6 (CH), 127.6 (CH), 127.4 (CH), 127.3 (CH), 127.2 (CH), 127.2 (CH), 126.8 (CH), 126.6 (CH), 126.5 (CH), 125.4 (CH), 125.2 (CH), 124.6 (CH), 124.1 (CH), 65.7 (CH₂) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.⁴¹⁷

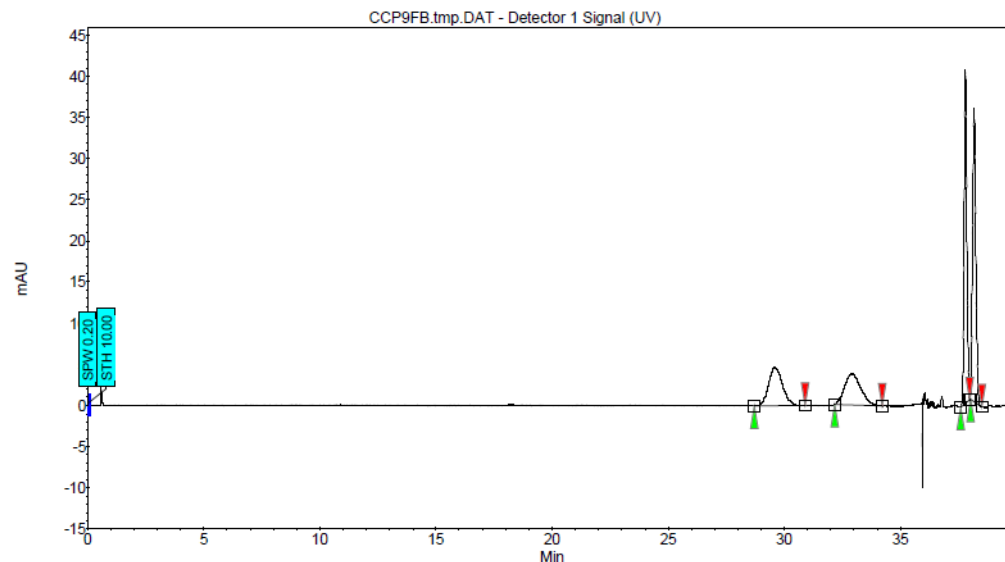
Chiral SFC analysis: $t_{R1} = 29.7$ min ; $t_{R2} = 33.0$ min [Column = CHIRACEL OJ-H5; 5% MeOH, 100 Bars, 5 mL/min ; $\lambda = 300$ nm]

SFC of pure (\pm)-2.27

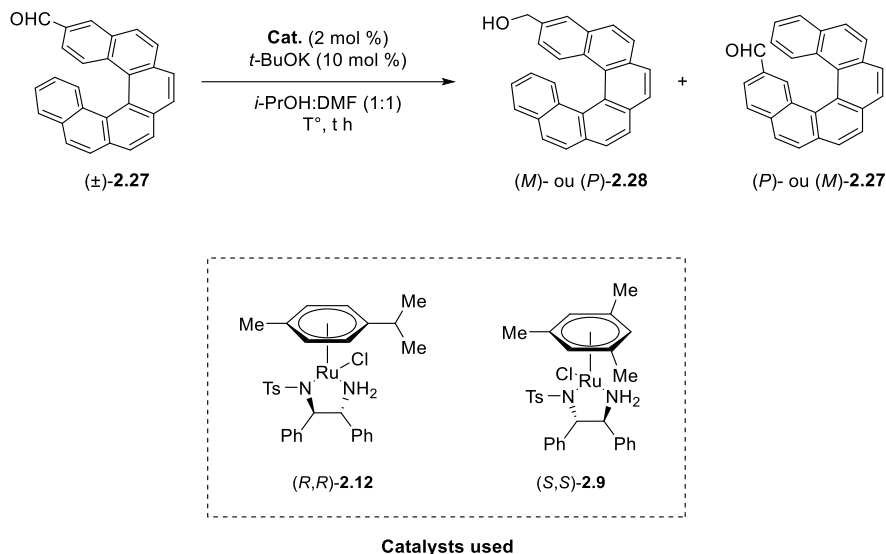


Chiral SFC analysis: $t_{R\text{Ald}1} = 29.7 \text{ min}$; $t_{R\text{Ald}2} = 33.0 \text{ min}$; $t_{R\text{Alc}1} = 37.8 \text{ min}$; $t_{R\text{Alc}2} = 38.2 \text{ min}$ [Column = CHIRACEL OJ-H5; 5% MeOH isocratic until 35 min, up to 9 % MeOH after, 100 Bars, 5 mL./min ; $\lambda = 300 \text{ nm}$]

SFC of a mixture of (\pm)-2.27 and (\pm)-2.28



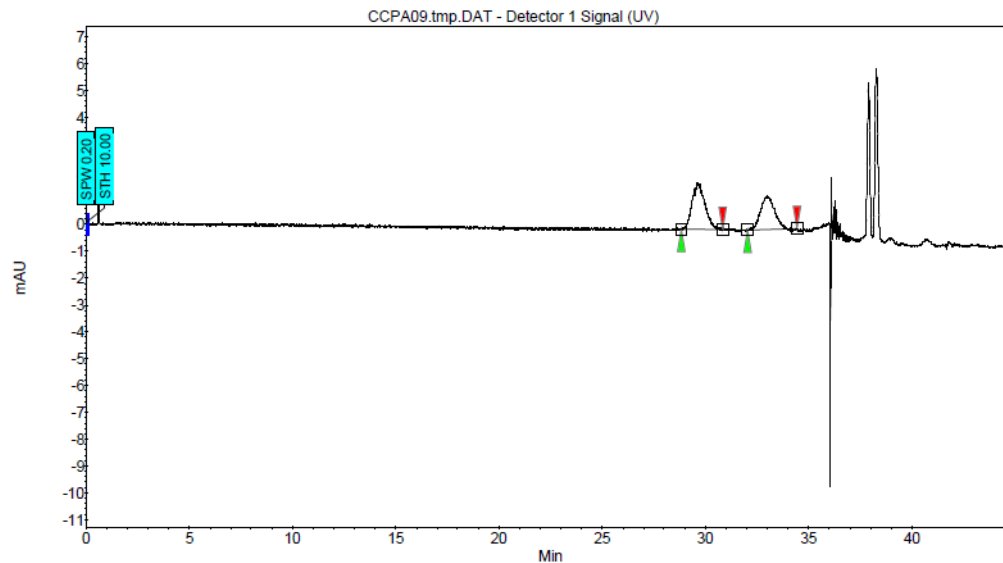
Index	Name	Time	Height	Area	Area	Selectivity	Res. HW
		[Min]	[μV]	[$\mu\text{V} \cdot \text{Min}$]	[%]		
1	UNKNOWN	29.58	4.6	3.2	18.542	0.00	0.00
2	UNKNOWN	32.88	3.8	3.0	17.366	1.11	2.77
3	UNKNOWN	37.79	40.5	5.6	32.254	1.15	6.52
4	UNKNOWN	38.17	35.7	5.5	31.838	1.01	1.61
Total			84.6	17.4	100.000		

Kinetic resolutions of [6]helicene-2-yl carbaldehyde (\pm)-2.28:

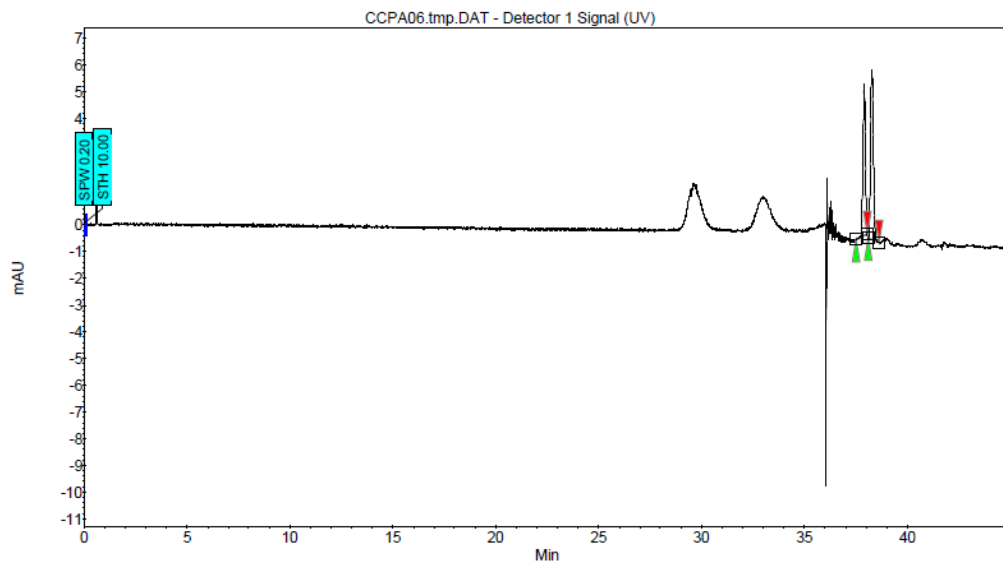
All reactions were carried following the procedure described for the synthesis of product (S_p)-**2.15** using compound (\pm)-**2.28** (20 mg, 0.56 mmol, 1 equiv.), the desired catalyst (1.1 μ mol, 0.02 equiv) and *t*-BuOK (0.6 mg, 11 μ mol, 0.1 equiv) in a *i*PrOH:DMF (1:1, 2.5 mL total) to obtain product (R_p)- or (S_p)-**2.29**. The reaction was stirred at the desired temperature. The mixture was then quenched with a saturated NH_4Cl aqueous solution and concentrated under reduced pressure. The resulting aqueous phase was extracted with EtOAc (3x). The combined organic layers were washed with brine (2x), dried over MgSO_4 , gravity filtered and concentrated under reduced pressure. Conversion was determined by ^1H NMR analysis of the crude residue. Enantiomeric excess was determined by chiral SFC analysis of the crude product.

Chiral SFC analysis: [Column = CHIRACEL OJ-H5; 5% MeOH isocratic until 35 min, up to 9 % MeOH after, 100 Bars, 5 mL/min ; $\lambda = 300$ nm]

Entry 2 : $t_{RAId1} = 29.7$ min ; $t_{RAId2} = 32.9$ min ; $t_{RAIc1} = 37.9$ min ; $t_{RAIc2} = 38.3$ min

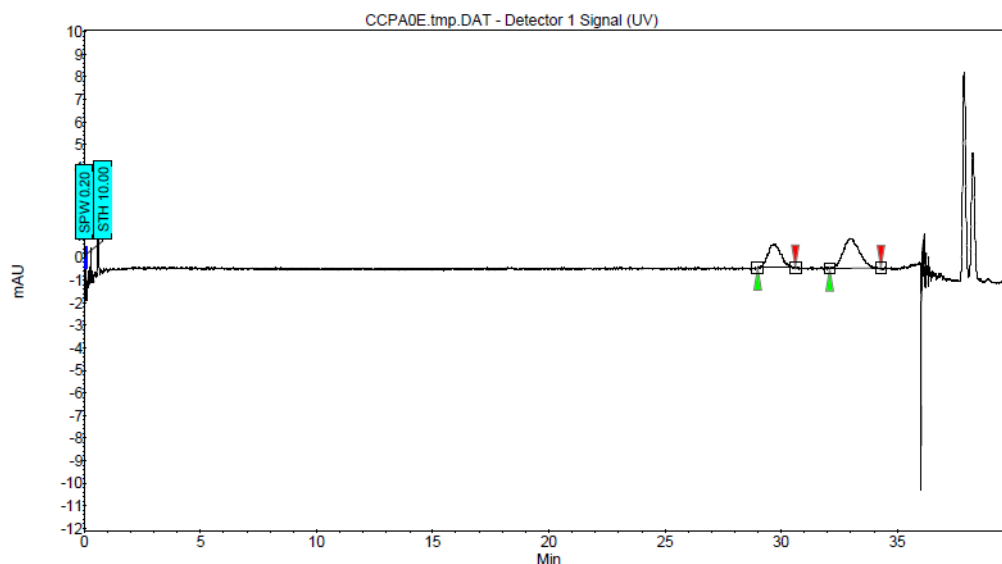


Index	Name	Time [Min]	Height [μ V]	Area [μ V.Min]	Area [%]	Selectivity	Res. HW
1	UNKNOWN	29.62	1.7	1.2	55.358	0.00	0.00
2	UNKNOWN	33.00	1.2	1.0	44.642	1.11	2.80
Total			3.0	2.2	100.000		

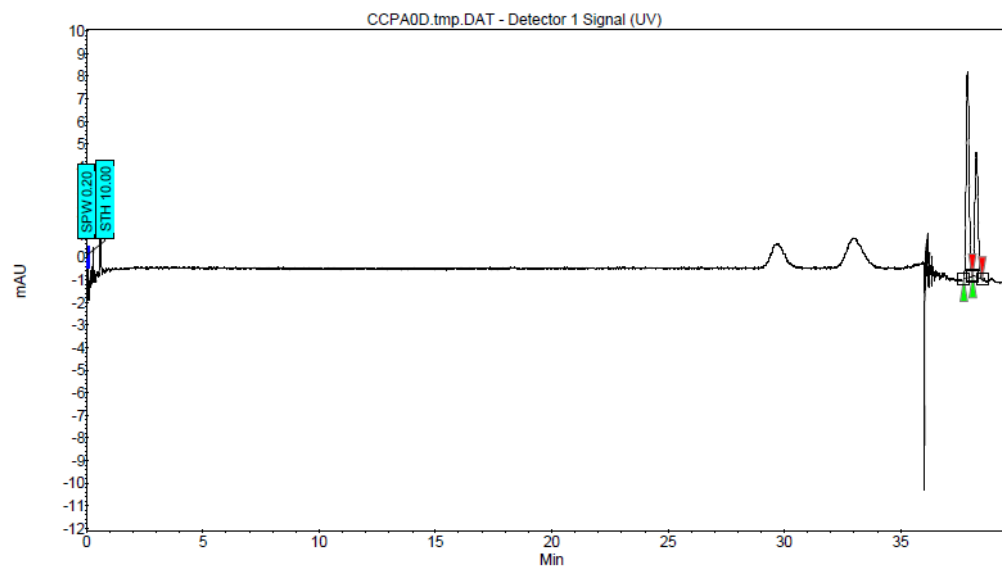


Index	Name	Time [Min]	Height [μ V]	Area [μ V.Min]	Area [%]	Selectivity	Res. HW
1	UNKNOWN	37.90	5.7	0.8	43.734	0.00	0.00
2	UNKNOWN	38.27	6.3	1.0	56.266	1.01	1.59
Total			12.0	1.8	100.000		

Entry 3 : $t_{RAId1} = 29.7$ min ; $t_{RAId2} = 33.0$ min ; $t_{RAIc1} = 37.9$ min ; $t_{RAIc2} = 38.3$ min

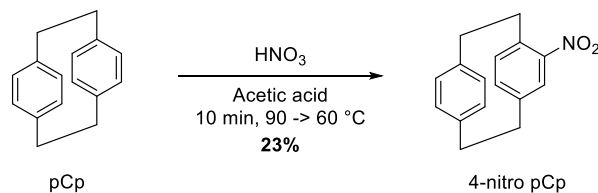


Index	Name	Time [Min]	Height [μV]	Area [μV.Min]	Area [%]	Selectivity	Res. HW
1	UNKNOWN	29.65	1.0	0.7	38.613	0.00	0.00
2	UNKNOWN	32.98	1.3	1.1	61.387	1.11	2.86
Total			2.4	1.7	100.000		



Index	Name	Time [Min]	Height [μV]	Area [μV.Min]	Area [%]	Selectivity	Res. HW
1	UNKNOWN	37.87	9.1	1.3	59.612	0.00	0.00
2	UNKNOWN	38.24	5.5	0.8	40.388	1.01	1.60
Total			14.6	2.1	100.000		

II.4 Regioselective paraformylation

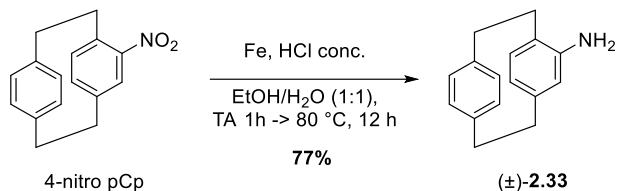
(±)-4-Nitro[2.2]paracyclophane

A stirred suspension of [2.2]paracyclophane (1 eq., 4.45 g, 20.4 mmol) in acetic acid (60 mL) was heated at 90 °C. The suspension was then cooled to 70 °C rapidly and fuming HNO₃ (9 eq., 12.5 mL, 183.6 mmol) was added carefully. The mixture was stirred until a homogeneous solution was obtained (around 10 minutes). The solution was then poured onto ice and the resulting aqueous phase was extracted with DCM (3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with 1M aqueous NaOH (2 x 25 mL), and brine (30 mL), then dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/DCM 2:1 to 1:1) to afford *(±)*-4-nitro[2.2]paracyclophane (1.19 g, 4.7 mmol, 23 % yield) as an amorphous yellow solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.22 (s, 1H), 6.79 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.57 (q, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.48 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.08 – 3.98 (m, 1H), 3.25 – 3.12 (m, 4H), 3.13 – 3.04 (m, 2H), 2.92 – 2.87 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 149.3 (C), 142.0 (C), 139.8 (C), 139.3 (C), 137.7 (CH), 137.3 (CH), 136.4 (C), 133.2 (CH), 133.1 (CH), 132.4 (CH), 130.0 (CH), 129.5 (CH), 36.0 (CH₂), 35.0 (CH₂), 34.8 (CH₂), 34.4 (CH₂) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.²¹¹

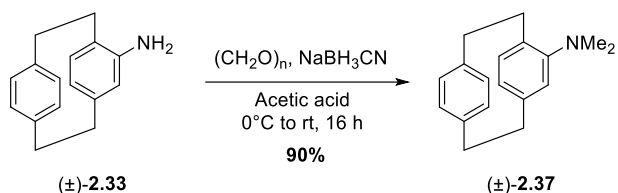
(±)-4-Amino[2.2]paracyclophane 2.33

A suspension of (±)-4-nitro[2.2]paracyclophane (1 eq., 1.15 g, 4.5 mmol) in EtOH (40 mL) and H₂O (40 mL) was stirred for 1 h at rt. Iron powder (9 eq., 2.3 g, 41.2 mmol) was then added and the mixture was heated to reflux. Conc'd HCl (67.6 eq., 9.3 mL, 307 mmol) was added carefully over 3 min and the resulting solution was kept stirring at reflux for 1 h. The reaction was then allowed to cool to rt and poured onto ice/saturated aqueous NaHCO₃. The resulting aqueous phase was extracted with EtOAc (3 x 20 mL). The combined organic phases were washed with brine (25 mL), dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/DCM 1:1 to pure DCM) to afford (±)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** (785 mg, 3.5 mmol, 77 %) as a light yellow amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.17 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.59 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 6.27 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.13 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 3.44 (s, 2H), 3.19 – 2.90 (m, 6H), 2.85 – 2.80 (m, 1H), 2.71 – 2.63 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 144.9 (C), 141.0 (C), 139.0 (C), 138.9 (C), 135.2 (CH), 133.4 (CH), 132.4 (CH), 131.5 (CH), 126.8 (CH), 124.5 (C), 122.9 (CH), 122.3 (CH), 35.4 (CH₂), 35.0 (CH₂), 33.1 (CH₂), 32.2 (CH₂) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.²¹¹

(±)-4-Dimethylamino[2.2]paracyclophane **2.33**

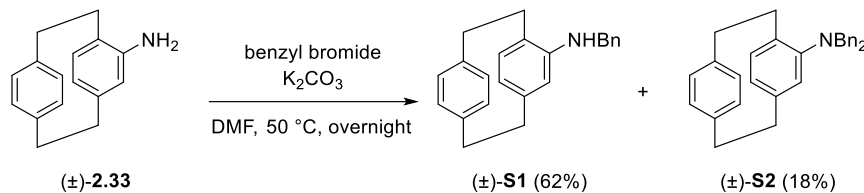
To a degassed solution of the corresponding (*±*)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** (1 eq., 742 mg, 3.3 mmol) in AcOH (22 mL) at room temperature, paraformaldehyde (10 eq., 998 mg, 33.2 mmol) followed by NaBH₃CN (5 eq., 981 mg, 15.7 mmol) were added. The reaction was stirred overnight at rt. The mixture was poured into an ice cold 1M NaOH solution (30 mL) and stirred for 30 min. The aqueous layer was extracted with DCM (3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with water (50 mL), and brine (50 mL), then dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = pentane/DCM 1:1) to afford compound (*±*)-**2.37** (751 mg, 2.9 mmol, 90 %) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.73 (dd, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 6.53 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 6.44 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 6.42 – 6.34 (m, 2H), 6.22 (dd, *J* = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 3.43 (ddd, *J* = 13.5, 9.1, 2.4 Hz, 1H), 3.12 (ddd, *J* = 12.9, 9.0, 7.2 Hz, 1H), 3.07 – 2.85 (m, 5H), 2.81 – 2.63 (m, 7H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 151.4 (C), 140.8 (C), 139.9 (C), 138.7 (C), 136.3 (CH), 132.9 (CH), 132.6 (CH), 131.2 (CH), 130.8 (C), 128.7 (CH), 125.7 (CH), 121.0 (CH), 43.4 (2CH₃), 35.5 (CH₂), 35.3 (CH₂), 35.2 (CH₂), 33.9 (CH₂) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.⁴¹⁸

(±)-4-Benzylamino[2.2]paracyclophane **S1**, (±)-4-Dibenzylamino[2.2]paracyclophane **S2**



A mixture of (±)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** (1 eq., 150 mg, 0.67 mmol), benzyl bromide (4.8 eq., 0.39 mL, 3.22 mmol), and K_2CO_3 (8 eq., 742 mg, 5.37 mmol) in DMF (10 mL) was stirred at 50 °C overnight. H_2O (20 mL) was then added, and the resulting aqueous solution was extracted with DCM (3 x 20 mL). The combined organic phases were washed with water (3 x 50 mL), and brine (35 mL), then dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (eluent = Cy/DCM 2:1) to obtain the (±)-mono-**S1** (130 mg, 0.42 mmol, 62 %) and (±)-dibenzylated **S2** (50 mg, 0.12 mmol, 18 %) products as white amorphous solids.

(±)-Benzylamino[2.2]paracyclophane **S1** product

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.41 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.38 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 6.30 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.13 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.25 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.09 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.14 – 2.88 (m, 7H), 2.69 (dt, $J = 13.5, 8.5$ Hz, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 146.5 (C), 141.4 (C), 139.5 (C), 138.9 (C), 138.8 (C), 134.8 (CH), 133.3 (CH), 132.6 (CH), 130.9 (CH), 128.7 (2CH), 128.1 (2CH), 127.4 (CH), 127.3 (CH), 124.1 (C), 121.7 (CH), 116.8 (CH), 48.2 (CH_2), 35.3 (CH_2), 35.3 (CH_2), 33.0 (CH_2), 32.6 (CH_2) ppm.

IR (neat): ν 3422, 3030, 2924, 2851, 1748, 1595, 1570, 1508, 1452, 1425, 1326, 1297, 1264, 1179, 1160, 1121, 1095, 1028, 913, 875, 796, 747 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}$: 314.1903; found: 314.1892

(±)-Dibenzylamino[2.2]paracyclophane **S2** product

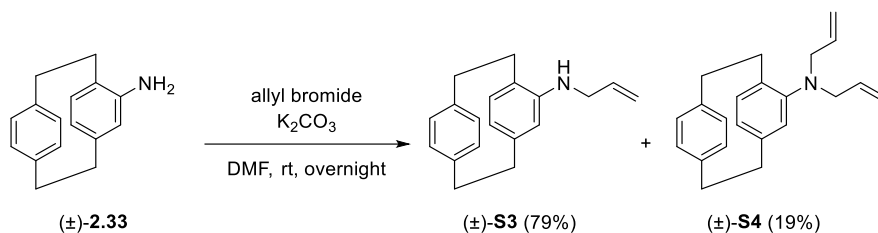
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.26 – 7.12 (m, 6H), 7.03 (d, $J = 7.1$ Hz, 4H), 6.68 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.50 (q, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.42 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.10 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.70 (s, 1H), 4.20 (d, $J = 14.4$ Hz, 2H), 3.83 (d, $J = 14.4$ Hz, 2H), 3.58 (ddd, $J = 13.1, 9.7, 3.0$ Hz, 1H), 3.42 – 3.30 (m, 1H), 3.11 – 2.99 (m, 1H), 2.99 – 2.85 (m, 3H), 2.85 – 2.71 (m, 2H) ppm.

Experimental part

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 150.4 (C), 140.5 (C), 140.0 (C), 139.0 (C), 137.8 (2C), 136.5 (CH), 133.0 (CH), 132.7 (CH), 131.9 (CH), 131.8 (C), 129.1 (CH), 128.8 (4CH), 128.1 (4CH), 127.7 (CH), 127.0 (2CH), 123.3 (CH), 55.2 (2CH₂), 35.3 (CH₂), 35.3 (CH₂), 34.9 (CH₂), 34.7 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 3061, 3007, 2926, 2851, 1568, 1493, 1456, 1413, 1367, 1221, 1145, 1106, 1078, 1027, 976, 935, 909, 894, 797, 751 cm⁻¹.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₀N 404.2373; found: 404.2358

(±)-4-Allylamino[2.2]paracyclophane **S3** and *(±)*-4-Diallylamino[2.2]paracyclophane **S4**

A mixture of *(±)*-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** (1 eq., 200 mg, 0.90 mmol), allyl bromide (1.1 eq., 85 μ L, 0.99 mmol), and K_2CO_3 (1.2 eq., 148 mg, 1.08 mmol) in DMF (4 mL) was stirred at 100 °C overnight. H_2O (20 mL) was then added, and the resulting aqueous solution was extracted with EtOAc (3 x 10 mL). The combined organic phases were washed with water (3 x 50 mL), and brine (35 mL), then dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (eluent = pentane/DCM 7:3 to 1:1) to obtain *(±)*-mono- **S3** (186 mg, 0.71 mmol, 79 %) and *(±)*-diallylated **S4** (52 mg, 0.17 mmol, 19 %) products as white amorphous solids.

(±)-4-Allylamino[2.2]paracyclophane **S3**

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.93 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.56 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 6.38 (dd, $J = 13.7, 7.7$ Hz, 2H), 6.28 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.07 (ddd, $J = 16.9, 13.0, 7.3$ Hz, 2H), 5.34 (d, $J = 17.4$ Hz, 2H), 5.22 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 3.71 (dd, $J = 14.4, 5.1$ Hz, 1H), 3.66 – 3.55 (m, 2H), 3.12 – 3.08 (m, 3H), 3.06 – 2.85 (m, 4H), 2.70 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 146.3 (C), 141.3 (C), 138.9 (C), 138.8 (C), 135.7 (CH), 134.8 (CH), 133.3 (CH), 132.5 (CH), 130.9 (CH), 127.2 (CH), 124.1 (C), 121.4 (CH), 116.7 (CH), 116.4 (CH_2), 46.2 (CH_2), 35.3 (CH_2), 35.2 (CH_2), 32.9 (CH_2), 32.6 (CH_2) ppm.

IR (neat): \square 3068, 3031, 3007, 2925, 2851, 1736, 1644, 1595, 1570, 1506, 1426, 1365, 1325, 1298, 1266, 1229, 1217, 1095, 990, 921, 854, 796, 716 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}$: 264.1747; found: 264.1745.

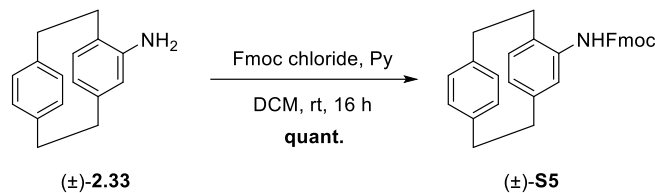
(±)-4-Diallylamino[2.2]paracyclophane S4

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.73 (dd, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 6.57 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.41 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.21 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.91 – 5.81 (m, 2H), 5.80 (br s, 1H), 5.25 – 5.19 (m, 4H), 3.72 (qd, *J* = 15.4, 6.0 Hz, 4H), 3.45 – 3.35 (m, 1H), 3.20 – 3.15 (m, 1H), 3.08 – 2.96 (m, 4H), 2.92 – 2.86 (m, 1H), 2.76 – 2.69 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 150.1 (C), 140.5 (C), 139.9 (C), 138.8 (C), 136.6 (CH), 134.9 (CH), 132.9 (CH), 132.7 (CH), 131.4 (CH), 131.0 (C), 128.9 (CH), 126.2 (CH), 122.2 (2CH), 117.3 (2CH₂), 54.1 (2CH₂), 35.3 (CH₂), 35.3 (CH₂), 35.2 (CH₂), 34.2 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 3072, 3032, 3008, 2926, 2852, 1587, 1489, 14313, 1435, 1358, 1228, 1153, 1105, 1089, 933, 910, 797, 732 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₆N: 304.2060; found: 304.2056.

Fmoc-protected (\pm)-4-amino[2.2]paracyclophane **S5**

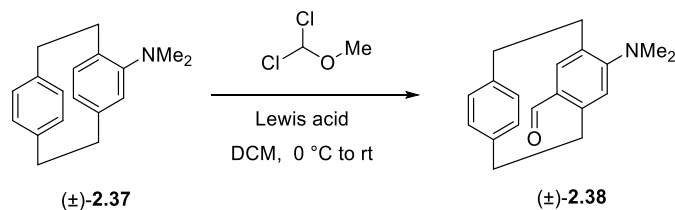
To a stirred solution of of compound (\pm)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** (1 eq., 100 mg, 0.45 mmol), and pyridine (1.2 eq., 0.044 mL, 0.54 mmol) in dry DCM (2 mL) at 0 °C was added a solution of Fmoc chloride (1.1 eq., 128 mg, 0.49 mmol) in dry DCM (2 mL) and the resulting mixture was stirred at room temperature overnight. The solution was then acidified with diluted HCl (1M aqueous solution). The immiscible phases were separated, and the aqueous layer was extracted with DCM (2 x 10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (eluent = Cy/EtOAc 9:1) to afford the (\pm)-Fmoc protected product **S5** (201 mg, 0.45 mmol, quant. yield) as an amorphous white solid.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.81 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.66 (br s, 2H), 7.43 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.40 – 7.27 (br m, 2H), 6.75 (br s, 1H), 6.64 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H), 6.53 (dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, 1H), 6.51 – 6.14 (m, 5H), 4.72 – 4.55 (m, 2H), 4.32 (br s, 1H), 3.26 – 2.86 (m, 7H), 2.79 – 2.73 (m, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 153.2 (C), 143.8 (C), 143.7 (C), 141.4 (2C), 141.3 (C), 139.3 (C), 138.7 (C), 136.3 (C), 135.1 (2CH), 133.1 (CH), 133.0 (2CH), 132.1 (CH), 128.2 (C and CH), 127.8 (2CH), 127.1 (2CH), 124.9 (2CH), 120.1 (2CH), 66.5 (CH_2), 47.3 (CH), 35.2 (CH_2), 34.9 (CH_2), 33.7 (CH_2), 32.7 (CH_2) ppm.

IR (neat): ν 3321, 2929, 2854, 1715, 1572, 1525, 1491, 1451, 1424, 1324, 1292, 1216, 1114, 1052, 976, 910, 875, 799, 758 739 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{NNa}$: 468.1934; found: 468.1926.

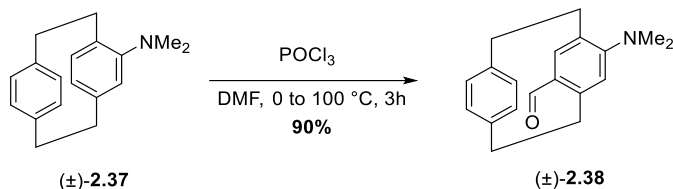
(±)-4-Dimethylamino-7-formyl[2.2]paracyclophane **2.38**Rieche conditions

General procedure : To a 0 °C cooled solution of compound (\pm)-**2.37** (1 equiv) in dry DCM, the Lewis acid and 1,1-dichlorodimethyl ether (1.2 or 1.4 equiv) were added sequentially. The resulting mixture was allowed to warm to rt. After stirring at rt for 8 to 72 h, the resulting solution was poured onto ice and stirred for an additional 3 h. The organic phase was separated and the aqueous phase was extracted with DCM (2 \times 50 mL). The combined organic phases washed with brine, gravity filtered and dried over MgSO₄. The solvent was removed under reduced pressure and the crude product was either purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 9:1) to afford compound (\pm)-**2.38** or analysed by ¹H NMR spectroscopy.

Conditions and results:

Entry	Lewis Acid	equiv	T (°C)	t (h)	(\pm)- 2.8 (%)
1	TiCl ₄	1.2	0 to rt	8	7 ^a
2	TiCl ₄	1.2	0 to rt	17	14 ^a
3	TiCl ₄	1.3	0 to rt	72	13 ^a
4	BF ₃ .Et ₂ O	3	0 to rt	72	0 ^b
5	FeCl ₃	3	0 to rt	72	0 ^c

a) Isolated yield; b) the starting material was recovered after the reaction; c) decomposition of the starting material was observed.

(±)-4-Dimethylamino-7-formyl[2.2]paracyclophane **2.38**Vilsmeier-Haack conditions

In a 25 mL flame and vacuum dried-round bottomed flask, POCl_3 (1 eq., 345 mg, 0.2 mL, 2.25 mmol) was added dropwise to vigorously stirred DMF (2 mL) at 0 °C, under argon atmosphere. After 15 min, a solution of compound **(±)-2.37** (1 eq., 565 mg, 2.25 mmol) in DMF (10 mL) was added dropwise. After another 15 min, the resulting green solution was allowed to warm back to rt and stirred for 1h. The reaction was then heated to 100 °C, and stirred for an additional 2h. The mixture was then poured into ice and water under vigorous stirring. Sat'd aq. NaOAc solution was added until a basic solution was obtained (pH~8). DCM was added and the immiscible phases were separated. The aqueous phase was extracted several times with DCM, until yellow colour faded. The organic phases were then combined, washed with water and brine, dried over MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 9:1) to afford compound **(±)-2.38** (565 mg, 2.02 mmol, 90%) as an amorphous pale yellow solid.

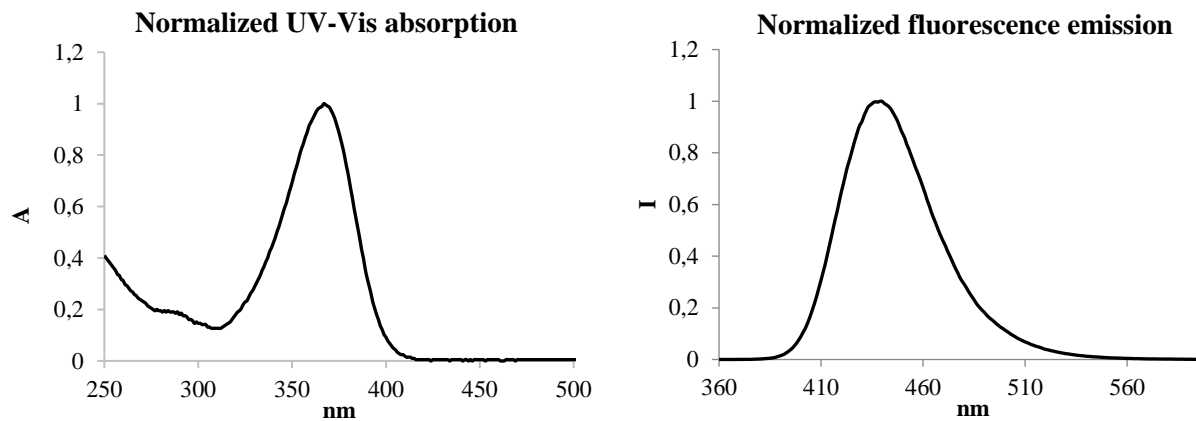
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 9.80 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.67 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.44 (q, $J = 7.9$ Hz, 2H), 5.56 (s, 1H), 4.10 – 3.90 (m, 1H), 3.37 (dd, $J = 13.3, 7.4$ Hz, 1H), 3.27 – 3.09 (m, 2H), 3.05 – 2.99 (m, 1H), 2.93 (s, 6H), 2.88 – 2.64 (m, 3H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 190.0 (CH), 155.4 (C), 145.5 (C), 141.2 (C), 139.4 (C), 138.6 (C), 132.3 (CH), 131.8 (CH), 130.5 (CH), 129.0 (CH), 127.2 (C), 122.4 (CH), 42.3 (2 CH_3), 37.2 (CH_2), 35.2 (CH_2), 33.5 (CH_2), 33.2 (CH_2) ppm.

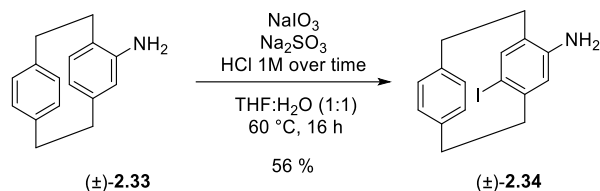
IR (neat): ν 2925, 1702, 1667, 1581, 1530, 1503, 1438, 1412, 1356, 1314, 1260, 1230, 1209, 1157, 1070, 912, 374, 810, 744 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ON}$: 280.1696; found: 280.1693.

UV-vis : Absorbance max: 367 nm (10^{-5} M solution in DCM; $\epsilon \sim 20600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 439 nm (10^{-5} M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$). QY in DCM = 24%¹



¹Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

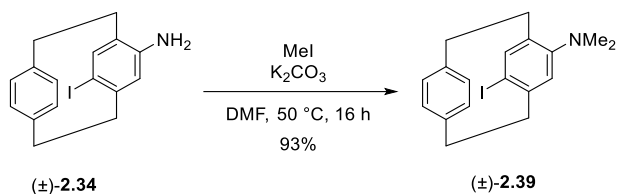
(±)-4-Iodo-7-amino[2.2]paracyclophane **2.34**

In a round bottom flask (*±*)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** (1 eq. 300 mg, 1.35 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (6 mL) and water (6 mL) was added. Afterwards NaIO₃ (1.03 eq., 276 mg, 1.38 mmol) and Na₂SO₃ (2.00 eq., 340 mg, 2.70 mmol) were added. 1 M HCl (200 μL) was slowly added to the reaction mixture (syringe pump, 67 μL/h), which was stirred for overnight at 60 °C. Then saturated aqueous Na₂S₂O₃ (10 mL) was added, the phases were separated and the aqueous layer was extracted with diethyl ether (3 × 15 mL). The combined organic phases were dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (eluent = Cy/EtOAc 85/15) to obtain the corresponding *para*-iodo (*±*)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.34** (257 mg, 0.74 mmol, 55%) as a light pink amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.19 (ddd, J = 14.8, 7.8, 1.9 Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 6.42 (ddd, J = 17.2, 7.8, 1.8 Hz, 2H), 5.43 (s, 1H), 3.51 (br s, 2H), 3.35 – 2.90 (m, 6H), 2.75 – 2.67 (m, 1H), 2.59 – 2.51 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 145.3 (C), 144.3 (CH), 143.6 (C), 138.7 (C), 138.6 (C), 132.9 (CH), 131.6 (CH), 130.0 (CH), 127.8 (CH), 126.5 (C), 123.0 (CH), 89.3 (C), 38.9 (CH₂), 33.2 (CH₂), 32.6 (CH₂), 31.9 (CH₂) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.¹⁶⁵

(±)-4-Iodo-7-dimethylamino[2.2]paracyclophane **2.39**

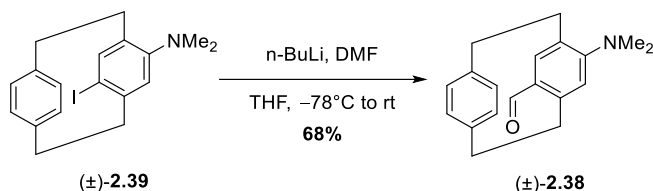
A mixture of the *para*-iodo (\pm)-4-amino[2.2]paracyclophane compound **2.34** (1 eq. mmol, 250 mg, 0.72 mmol), iodomethane (10 eq. 1 g, 7.24 mmol), and K_2CO_3 (25 eq. 2.5 g, 17.67 mmol) in DMF (15 mL) was stirred at 50 °C overnight. H_2O (20 mL) was then added, and the resulting aqueous solution was extracted with DCM (3 x 20 mL). The combined organic phases were washed with water (3 x 50 mL), and brine (35 mL), then dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (eluent = Cy/EtOAc 12:1 to 8:2) to obtain compound (\pm)-**2.39** (250 mg, 0.66 mmol, 93%) as white amorphous solid.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.11 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.39 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.35 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.53 (s, 1H), 3.33 – 3.23 (m, 1H), 3.21 – 3.09 (m, 2H), 3.02 – 2.89 (m, 3H), 2.78 – 2.69 (m, 1H), 2.66 (s, 6H), 2.52 (dd, $J = 13.8, 8.7$ Hz, 1H) ppm.

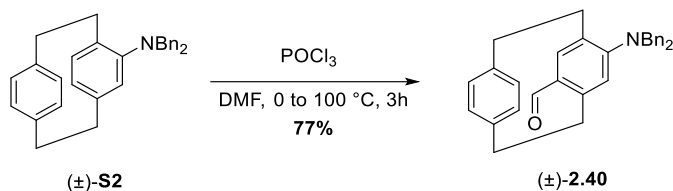
$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 151.7 (C), 145.4 (CH), 143.5 (C), 139.5 (C), 138.4 (C), 132.4 (CH), 132.3 (C), 131.1 (CH), 129.7 (CH), 129.3 (CH), 122.0 (CH), 93.5 (C), 43.1 (2 CH_3), 39.2 (CH_2), 35.6 (CH_2), 33.5 (CH_2), 33.1 (CH_2) ppm.

IR (neat): ν 2935, 1572, 1500, 1483, 1449, 1434, 1375, 1199, 1136, 1112, 1054, 912, 856, 797 735 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NI}$: 378.0713; found: 378.0707.

(±)-4-Dimethylamino-7-formyl[2.2]paracyclophane **2.38**

To a flame-dried 50 mL round-bottomed flask was added compound *(±)*-**2.39** (1 eq., 200 mg, 0.53 mmol) and dry THF (15 mL). The solution was cooled to -78 °C in a dry ice/acetone bath and *n*-BuLi (1.5 eq., 2.5 M solution in hexane, 0.32 mL, 0.80 mmol) was added dropwise via syringe turning the mixture yellow. The reaction was stirred for 30 min at □ 78 °C, and then DMF (7.8 eq., 0.32 mL, 4.14 mmol) was added dropwise via syringe turning the mixture colourless. The solution was allowed to warm to rt and stirred 3.5 h. The mixture was then quenched with a saturated aqueous NH₄Cl solution (10 mL), and the resulting aqueous phase was extracted with EtOAc (3 x 10 mL). The combined organic layers were washed with brine (20 mL), dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent: EtOAc/Cy 2:8) to give compound *(±)*-**2.38** (101 mg, 0.36 mmol, 68 %) as an amorphous white solid. Spectroscopic data were in agreement with those reported above.

(±)-4-Dibenzylamino-7-formyl[2.2]paracyclophane 2.40

In a 5 mL flame and vacuum dried-round bottomed flask, POCl_3 (1 eq., 8 mg, 5 μL , 0.05 mmol) was added dropwise to vigorously stirred DMF (0.2 mL) at 0 °C, under argon atmosphere. After 15 min, a solution of compound (±)-4-dibenzylamino[2.2]paracyclophane **S2** (1 eq., 22 mg, 0.05 mmol) in DMF (1 mL) was added dropwise. After another 15 min, the resulting green solution was allowed to warm back to rt and stirred for 1h. The reaction was then heated to 100 °C, and stirred for an additional 2 h. The mixture was then poured into ice and water under vigorous stirring. Sat'd aq. NaOAc solution was added until a basic solution was obtained (pH~8). DCM was added and the immiscible phases were separated. The aqueous phase was extracted several times with DCM, until yellow colour faded. The organic phases were then combined, washed with water and brine, dried over MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 9:1) to afford compound (±)-**2.40** (18 mg, 0.04 mmol, 77%) as an amorphous pale yellow solid.

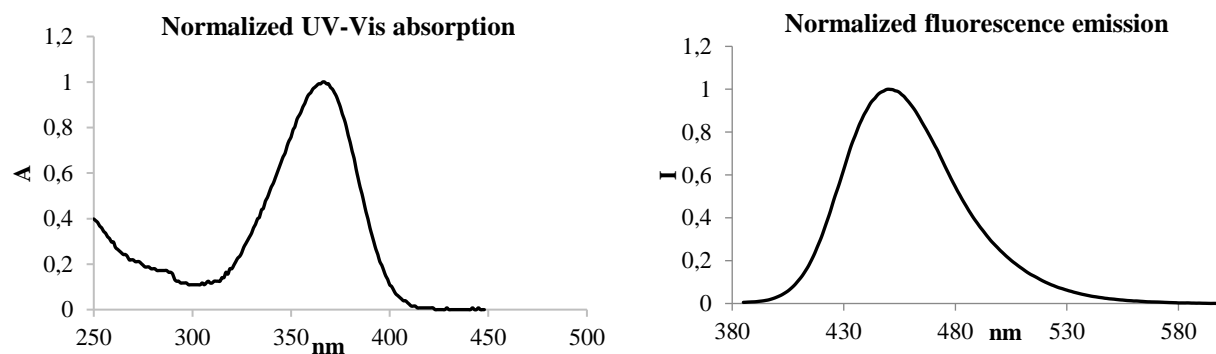
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 9.87 (s, 1H), 7.32 – 7.27 (m, 6H), 7.10 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H), 7.01 (s, 1H), 6.75 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.52 (s, 2H), 6.32 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 4.44 (d, $J = 14.9$ Hz, 2H), 4.12 (d, $J = 15.0$ Hz, 2H), 4.05 – 3.96 (m, 1H), 3.55 – 3.50 (m, 1H), 3.35 – 3.25 (m, 1H), 3.20 – 3.15 (m, 2H), 3.06 – 3.02 (m, 1H), 2.95 – 2.88 (m, 1H), 2.75 – 2.68 (m, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 190.3 (CH), 155.6 (C), 145.7 (C), 140.6 (CH), 139.6 (C), 138.9 (C), 136.9 (2C), 132.4 (CH), 132.1 (CH), 131.6 (CH), 131.1 (C), 130.2 (C), 129.3 (CH), 128.5 (4CH), 128.3 (4CH), 127.4 (2CH), 124.9 (CH), 55.1 (2 CH_2), 35.6 (CH_2), 35.1 (CH_2), 34.4 (CH_2), 33.2 (CH_2) ppm.

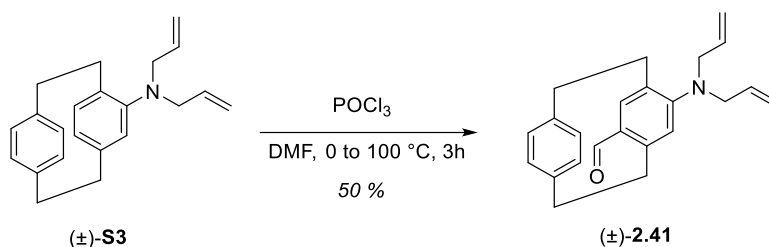
IR (neat): ν 3061, 3028, 2926, 2851, 2356, 342, 2308, 1671, 1577, 1543, 1495, 1453, 1371, 1228, 1074, 910, 749, 732 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{NO}$: 432.2322; found: 432.2317

UV-Vis : Absorbance max: 366 nm (10^{-5} M solution in DCM; $\epsilon \sim 16700 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 450 nm (10^{-5} M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$). QY in DCM = 11%²



² Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

(±)-4-Diallylamino-7-formyl[2.2]paracyclophane **2.41**

In a 5 mL flame and vacuum dried-round bottomed flask, POCl_3 (1.2 eq., 0.019 mL, 0.20 mmol) was added dropwise to vigorously stirred DMF (0.5 mL) at 0 °C, under argon atmosphere. After 15 min, a solution of compound (*±*)-4-diallylamino[2.2]paracyclophane **S3** (1 eq., 52 mg, 0.17 mmol) in DMF (1 mL) was added dropwise. After another 15 min, the resulting green solution was allowed to warm back to rt and stirred for 1h. The reaction was then heated to 100 °C, and stirred for an additional 2 h. The mixture was then poured into ice and water under vigorous stirring. Sat'd aq. NaOAc solution was added until a basic solution was obtained (pH~8). DCM was added and the immiscible phases were separated. The aqueous phase was extracted several times with DCM, until yellow colour faded. The organic phases were then combined, washed with water and brine, dried over MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = DCM) to afford compound (*±*)-**2.41** (28 mg, 0.09 mmol, 50%) as an amorphous pale yellow solid.

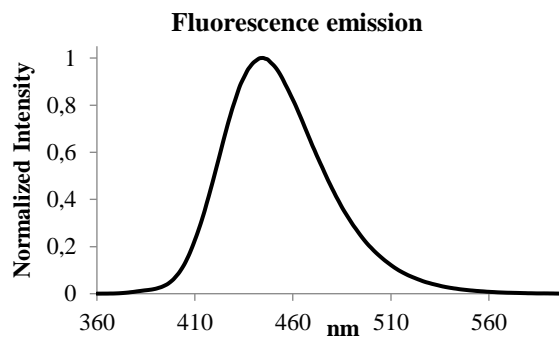
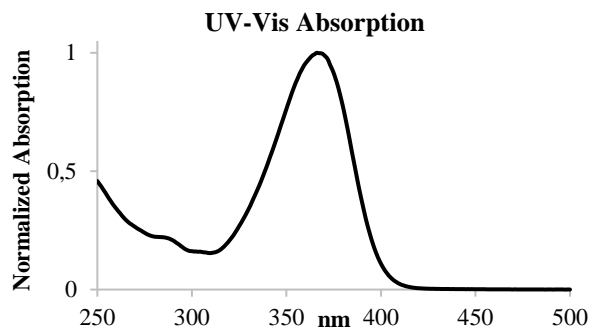
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 9.79 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.70 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H), 6.54 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H), 6.49 (dd, $J = 7.9, 1.7$ Hz, 1H), 6.45 (dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 1H), 5.93 – 5.81 (m, 2H), 5.77 (s, 1H), 5.32 – 5.21 (m, 4H), 4.00 (dd, $J = 11.9, 10.6$ Hz, 1H), 3.92 – 3.79 (m, 4H), 3.33 (ddd, $J = 14.0, 8.5, 1.0$ Hz, 1H), 3.26 – 3.17 (m, 1H), 3.12 (dd, $J = 12.7, 9.7$ Hz, 1H), 3.07 – 2.95 (m, 2H), 2.84 – 2.76 (m, 1H), 2.76 – 2.64 (m, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 190.0 (CH), 154.6 (C), 145.5 (C), 141.2 (CH), 139.4 (C), 138.8 (C), 133.3 (2CH), 132.5 (CH), 131.9 (CH), 131.0 (CH), 129.6 (C), 129.0 (CH), 128.3 (C), 123.6 (CH), 118.2 (2 CH_2), 53.7 (2 CH_2), 36.5 (CH_2), 35.2 (CH_2), 33.7 (CH_2), 33.3 (CH_2) ppm.

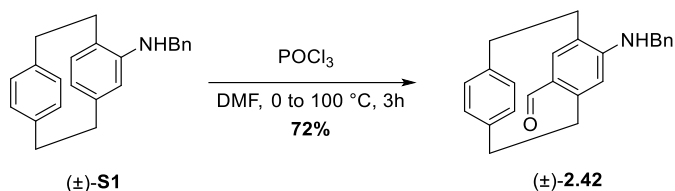
IR (neat): ν 3072, 3006, 2927, 2853, 1738, 1669, 1578, 1530, 1500, 1442, 1395, 1366, 1231, 1218, 1161, 1092, 993, 913, 807, 743 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{NO}$: 332.2009; found: 332.2003

UV-vis : Absorbance max: 366 nm (10^{-5} M solution in DCM; $\epsilon \sim 10400 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 445 nm (10^{-5} M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm). QY in DCM = 4%³



³ Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

(±)-4-Benzylamino-7-formyl[2.2]paracyclophane **2.42**

In a 10 mL flame and vacuum dried-round bottomed flask, POCl₃ (1 eq., 25 mg, 15 μL, 0.16 mmol) was added dropwise to vigorously stirred DMF (0.5 mL) at 0 °C, under argon atmosphere. After 15 min, a solution of compound (*±*)-4-benzylamino[2.2]paracyclophane **S1** (1 eq., 50 mg, 0.16 mmol) in DMF (10 mL) was added dropwise. After another 15 min, the resulting green solution was allowed to warm back to rt and stirred for 1h. The reaction was then heated to 100 °C, and stirred for an additional 2 h. The mixture was then poured into ice and water under vigorous stirring. Sat'd aq. NaOAc solution was added until a basic solution was obtained (pH~8). DCM was added and the immiscible phases were separated. The aqueous phase was extracted several times with DCM, until yellow colour faded. The organic phases were then combined, washed with water and brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 8:2) to afford compound (*±*)-**2.42** (39 mg, 0.11 mmol, 72%) as an amorphous pale yellow solid.

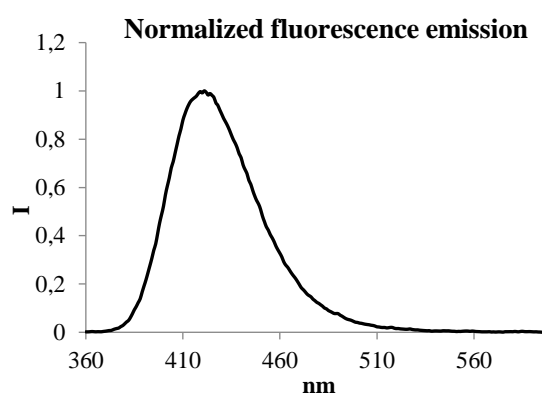
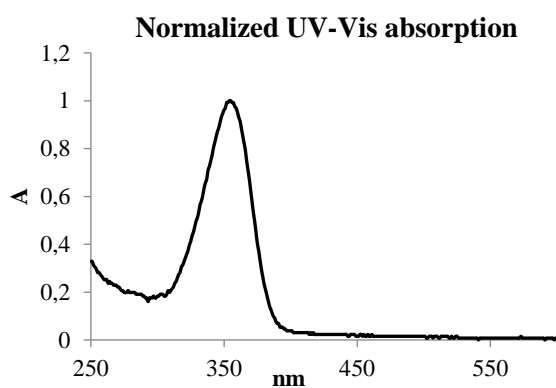
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.78 (s, 1H), 7.54 – 7.29 (m, 5H), 6.90 – 6.88 (m, 2H), 6.50 (dd, *J* = 11.7, 7.8 Hz, 2H), 6.40 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.43 (br s, 1H), 4.35 (dd, *J* = 13.4, 5.2 Hz, 1H), 4.22 (dd, *J* = 13.4, 4.8 Hz, 1H), 4.06 – 3.95 (m, 1H), 3.21 – 3.15 (m, 2H), 3.11 – 2.96 (m, 3H), 2.81 – 2.64 (m, 2H) ppm.

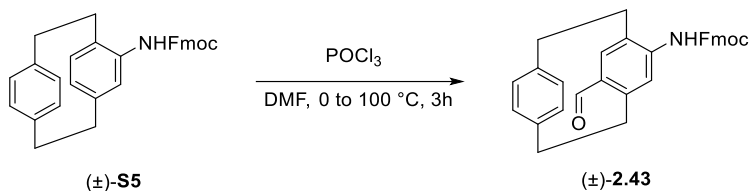
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 189.4 (CH), 151.2 (C), 147.3 (C), 138.8 (C), 138.5 (C), 137.8 (C), 132.6 (CH), 132.4 (CH), 130.8 (CH), 129.0 (2CH), 128.0 (3CH), 127.7 (CH), 127.3 (C), 123.2 (C), 118.1 (CH), 47.8 (CH₂), 35.4 (CH₂), 33.3 (CH₂), 32.7 (CH₂), 32.0 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 3378, 2924, 1656, 1578, 1552, 1518, 1432, 1435, 1347, 1278, 1213, 1158, 1105, 911, 877, 806, 740 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for: C₂₄H₂₄NO: 342.1852; found: 342.1841

UV-Vis : Absorbance max: 355 nm (10^{-5} M solution in DCM; $\epsilon \sim 20300 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 421 nm (10^{-5} M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$). QY in DCM = 7%



(±)-4-Fmoc-amino-7-formyl[2.2]paracyclophane **2.43**

In a 5 mL flame and vacuum dried-round bottomed flask, POCl₃ (1 eq., 0.010 mL, 0.11 mmol) was added dropwise to vigorously stirred DMF (0.5 mL) at 0 °C, under argon atmosphere. After 15 min, a solution of the Fmoc-protected (±)-4-amino[2.2]paracyclophane **S5** (1 eq., 50 mg, 0.11 mmol) in DMF (1 mL) was added dropwise. After another 15 min, the resulting green solution was allowed to warm back to rt and stirred for 1h. The reaction was then heated to 100 °C, and stirred for an additional 2 h. The mixture was then poured into ice and water under vigorous stirring. Sat'd aq. NaOAc solution was added until a basic solution was obtained (pH~8). DCM was added and the immiscible phases were separated. The aqueous phase was extracted several times with DCM, until yellow colour faded. The organic phases were then combined, washed with water and brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 8:2) to afford compound (±)-**2.43** (22 mg, 0.09 mmol, 42%) as an amorphous pale yellow solid.

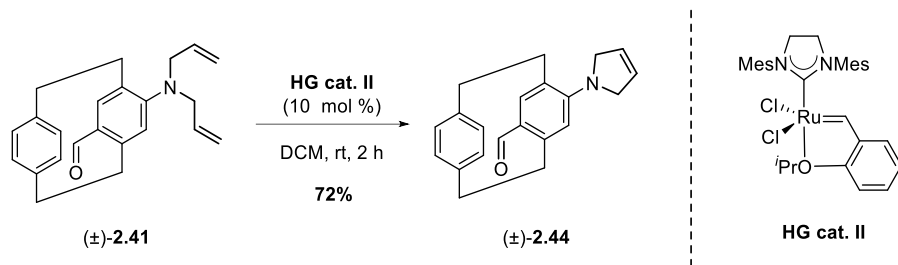
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.90 (s, 1H), 7.83 (dd, *J* = 7.5, 4.4 Hz, 2H), 7.68 (dd, *J* = 7.2, 4.6 Hz, 2H), 7.45 (dt, *J* = 11.1, 7.4 Hz, 2H), 7.38 (ddd, *J* = 12.8, 7.3, 0.9 Hz, 2H), 6.95 (br s, 2H), 6.58 – 6.49 (m, 2H), 6.48 – 6.39 (m, 2H), 6.39 – 6.32 (m, 1H), 4.79 (dd, *J* = 10.9, 6.1 Hz, 1H), 4.73 – 4.62 (m, 1H), 4.34 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.05 – 3.94 (m, 1H), 3.29 – 3.10 (m, 3H), 3.01 – 2.95 (m, 1H), 2.87 – 2.77 (m, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 190.4 (CH), 152.7 (C), 146.1 (C), 143.6 (C), 143.3 (C), 141.7 (C), 141.5 (2C), 139.2 (C), 138.4 (CH), 138.2 (C), 132.6 (CH), 132.2 (2CH), 132.0 (CH), 128.6 (CH), 128.0 (CH), 127.9 (CH), 127.6 (C), 127.2 (2CH), 126.0 (CH), 124.8 (CH), 124.7 (CH), 120.2 (CH), 120.2 (CH), 66.7 (CH₂), 47.3 (CH), 35.2 (CH₂), 33.1 (CH₂), 33.0 (CH₂), 32.3 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 2970, 1738, 1682, 1516, 1521, 1451, 1365, 1216, 1107, 1035, 912, 741 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₂H₂₇O₃NNa: 496.1883; found: 496.1876.

(±)-15-(2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaene-5-carbaldehyde **2.44**



Compound (±)-**2.41** (1 eq., 22 mg, 0.066 mmol) was dissolved in dry DCM (3 mL) under an argon atmosphere. 2nd Generation Hoveyda-Gubbs catalyst (**HG cat. II**, 0.1 eq., 4 mg, 0.007 mmol) was added and the reaction was stirred at rt for 2 h. Water (10 mL) was then added and the mixture was extracted with DCM (3 x 5 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (eluent = Cy/DCM 1:1 to 1:2) to afford the product (±)-**2.44** (15 mg, 0.048 mmol, 72%) as an amorphous yellow solid.

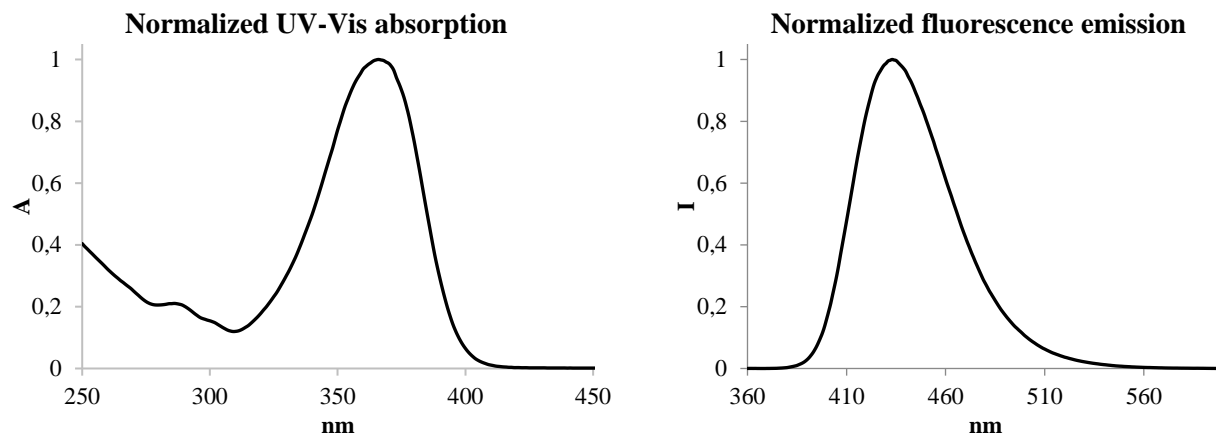
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.61 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.55 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 6.43 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 6.35 (dd, *J* = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 6.33 – 6.28 (m, 1H), 5.84 (s, 2H), 5.18 (s, 1H), 4.26 – 4.08 (m, 2H), 3.93 – 3.87 (m, 3H), 3.21 (dd, *J* = 14.6, 7.9 Hz, 1H), 3.16 – 3.01 (m, 2H), 2.90 – 2.84 (m, 1H), 2.73 – 2.63 (m, 1H), 2.61 – 2.55 (m, 1H), 2.49 – 2.42 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 189.7 (CH), 151.7 (C), 145.1 (C), 142.2 (CH), 139.0 (C), 138.8 (C), 132.3 (CH), 131.3 (CH), 130.7 (CH), 128.9 (CH), 126.9 (C), 125.9 (2CH), 122.7 (CH), 122.3 (C), 56.8 (2CH₂), 37.5 (CH₂), 35.1 (CH₂), 34.6 (CH₂), 33.3 (CH₂) ppm.

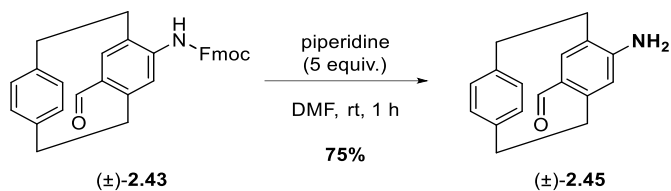
IR (neat): ν 2926, 2846, 1662, 1582, 1524, 1502, 1467, 1424, 1360, 1396, 1297, 1222, 1165, 1131, 1099, 1007, 954, 911, 830, 811, 721 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₂ON: 304.1696; found: 304.1695.

UV-Vis : Absorbance max: 366 nm ($1 \cdot 10^{-5}$ M solution in DCM; $\epsilon \sim 22300 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 433 nm ($1 \cdot 10^{-5}$ M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$). QY in DCM = 10%⁴



⁴ Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

(±)-4-Amino-7-formyl[2.2]paracyclophane **2.45**

Fmoc-protected compound (*±*)-**2.43** (1 eq., 20 mg, 0.042 mmol) was dissolved in dry DMF (3 mL) under an argon atmosphere. Piperidine (5 eq., 20 mg, 0.20 mmol) was added and the reaction was stirred at rt for 1 h. Water (10 mL) was then added and the mixture was extracted with EtOAc (3 x 5 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 7:3) to afford the product (*±*)-**2.45** (7 mg, 0.032 mmol, 75%) as an amorphous white solid.

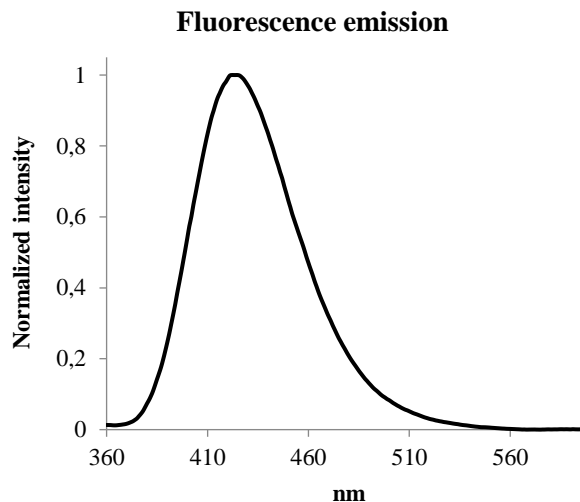
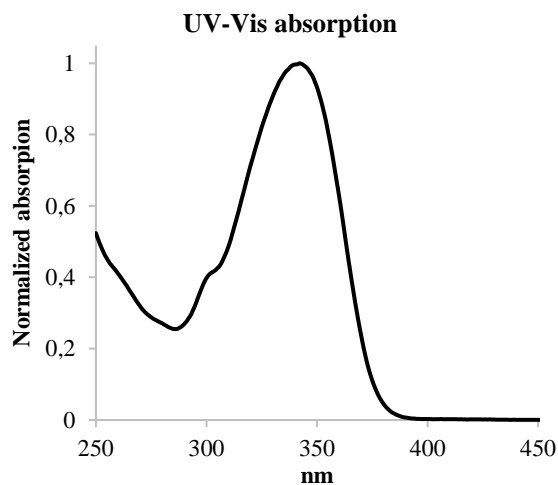
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.76 (s, 1H), 7.11 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.51 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.47 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.40 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.40 (s, 1H), 4.08 (br s, 2H), 4.04 – 3.91 (m, 1H), 3.27 – 3.12 (m, 2H), 3.12 – 2.93 (m, 3H), 2.76 – 2.70 (m, 1H), 2.67 – 2.61 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 189.7 (CH), 150.5 (C), 146.2 (C), 140.2 (CH), 138.7 (C), 138.5 (C), 132.5 (CH), 132.2 (CH), 131.3 (CH), 128.4 (C), 127.2 (CH), 123.4 (CH), 123.3 (C), 35.3 (CH₂), 33.2 (CH₂), 32.2 (CH₂), 31.8 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 3461, 3361, 3236, 2925, 1655, 1633, 1590, 1539, 1426, 1346, 1229, 1161, 1102, 912, 881, 806, 743 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₁₈ON: 252.1383; found: 252.1382

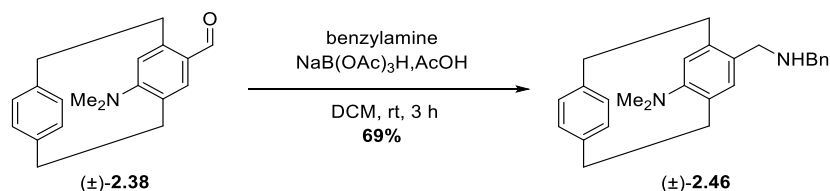
UV-Vis : Absorbance max: 342 nm ($1 \cdot 10^{-5}$ M solution in DCM; $\epsilon \sim 15300 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 424 nm ($1 \cdot 10^{-5}$ M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm). QY in DCM = 1.4%⁵



⁵ Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

15-[(Benzylamino)methyl]-N,N-dimethyltricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-amine

2.46



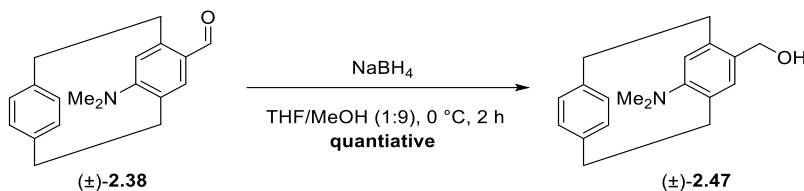
Aldehyde (±)-**2.38** (1 eq., 45 mg, 0.16 mmol) was dissolved in dry DCM (4 mL) under an argon atmosphere. AcOH (1.2 eq., 0.011 mL, 0.19 mmol) was added, followed by benzylamine (1.3 eq., 0.023 mL, 0.21 mmol), and sodium triacetoxyborohydride (3.75 eq., 128 mg, 0.60 mmol). The resulting mixture was stirred at rt overnight. The reaction was then quenched by the addition of a saturated aqueous NaHCO₃ solution (10 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with DCM (3x 10 mL). The combined organic phases were washed with brine (15 mL), dried over MgSO₄, gravity filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 1:1) to afford product (±)-**2.46** (41 mg, 0.11 mmol, 69%) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.34 (dd, *J* = 9.7, 4.3 Hz, 4H), 7.30 – 7.22 (m, 1H), 6.75 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.55 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.39 (t, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.27 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 3.85 – 3.72 (m, 3H), 3.48 – 3.37 (m, 2H), 3.31 – 3.22 (m, 1H), 3.15 – 2.96 (m, 3H), 2.89 (ddd, *J* = 13.0, 10.4, 6.4 Hz, 1H), 2.75 (s, 6H), 2.70 – 2.06 (m, 2H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 150.7 (C), 140.6 (C), 139.9 (C), 138.6 (C), 137.6 (CH), 132.5 (C), 132.2 (CH), 131.2 (CH), 130.5 (C), 129.5 (CH), 129.3 (CH), 128.3 (2CH), 128.1 (2CH), 126.8 (CH), 122.7 (CH), 53.4 (CH₂), 51.5 (CH₂), 43.5 (2CH₃), 35.2 (CH₂), 34.2 (CH₂), 33.4 (CH₂), 33.0 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 3027, 2925, 2854, 2826, 2781, 1737, 1593, 1499, 1452, 1393, 1357, 1334, 1229, 1199, 1161, 1141, 1097, 1057, 967, 933, 906, 796, 733 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₃₁N₂: 371.2482; found: 371.2477.

(±)-4-Dimethylamino-7-hydroxymethyl[2,2]paracyclophane **2.47**

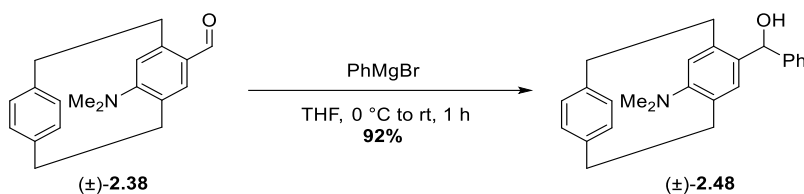
Compound (\pm)-**2.38** (1 eq., 15 mg, 0.054 mmol) was dissolved in a mixture of MeOH (1.5 mL) and anhydrous THF (0.5 mL). The solution was cooled to 0 °C, then NaBH₄ (1.2 eq., 2.44 mg, 0.064 mmol) was added. The resulting mixture was stirred at 0 °C for 2 h. The excess NaBH₄ was then decomposed by careful addition of water (5 mL) and 1 M HCl (5 mL). The solution was then diluted by EtOAc (10 mL). The phases were separated, the aqueous phase was basified with a saturated NaHCO₃ solution (pH ~7), and then extracted with EtOAc (3 x 10 mL). The combined organic layers were washed with brine (2 x 5 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent: EtOAc/Cy 3:7) to afford compound (\pm)-**2.47** (15 mg, 0.054 mmol, quant. yield) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.75 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.55 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.38 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.31 (s, 1H), 5.65 (s, 1H), 4.68 (dd, J = 11.8, 4.4 Hz, 1H), 4.34 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.47 – 3.28 (m, 2H), 3.14 – 3.05 (m, 2H), 3.04 – 2.95 (m, 2H), 2.82 – 2.58 (m, 8H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 151.4 (C), 139.9 (C), 138.7 (C), 138.5 (C), 136.8 (CH), 132.8 (C), 132.3 (CH), 131.2 (CH), 130.6 (C), 129.8 (CH), 129.3 (CH), 122.9 (CH), 64.4 (CH₂), 43.4 (2CH₃), 35.4 (CH₂), 34.3 (CH₂), 33.4 (CH₂), 32.6 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 3376, 2924, 1595, 1501, 1454, 1334, 1064, 934, 907, 867, 800, 743, 727 cm⁻¹.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₂₄NO: 282.1852; found: 282.1841

[15-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl](phenyl) methanol **2.48**

Aldehyde (\pm)-**2.38** (1 eq., 25 mg, 0.09 mmol) was dissolved in dry THF (3 mL) under an argon atmosphere. The solution was cooled to 0 °C, then PhMgBr (1 M in THF, 1.12 eq., 0.1 mL, 0.10 mmol) was added. The mixture was allowed to warm back to rt and stirred overnight. The reaction was then quenched by the addition of a saturated NH₄Cl aqueous solution (10 mL). The mixture was extracted with EtOAc (3 x 5 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product by silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 7:3) to afford product (\pm)-**2.48** (29 mg, 0.08 mmol, 92%, dr>92:8) as an amorphous white solid.

Major diastereomer:

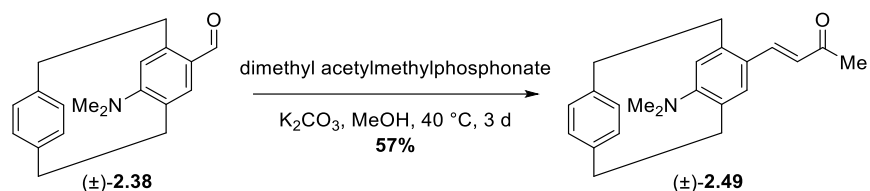
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.30 – 7.25 (m, 4H), 7.23 – 7.17 (m, 1H), 6.83 – 6.77 (m, 2H), 6.70 (s, 1H), 6.53 (dd, J = 7.9, 1.2 Hz, 1H), 6.46 (dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 5.82 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.57 (s, 1H), 3.44 (ddd, J = 13.5, 8.6, 2.0 Hz, 1H), 3.27 – 3.01 (m, 5H), 2.82 – 2.68 (m, 7H), 2.68 – 2.57 (m, 1H), 2.03 (d, J = 4.2 Hz, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 150.9 (C), 144.8 (C), 140.1 (C), 138.5 (C), 136.6 (C), 134.8 (C), 132.8 (CH), 132.1 (CH), 131.0 (CH), 130.4 (C and CH), 129.3 (CH), 128.4 (2CH), 127.4 (CH), 126.9 (2CH), 122.8 (CH), 73.7 (CH), 43.3 (2CH₃), 35.7 (CH₂), 34.2 (CH₂), 33.3 (CH₂), 33.2 (CH₂) ppm.

IR (neat): ν 3436, 2938, 159+2, 1499, 1453, 1393, 1336, 1193, 1159, 1141, 1058, 1016, 911, 879, 796, 727 cm⁻¹.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₈NO: 358.2165; found: 358.2149

(3E)-4-[15-(dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaen-5-yl]but-3-en-2-one **2.49**



To a solution of aldehyde (±)-**2.38** (1 eq., 60 mg, 0.654 mmol), and K_2CO_3 (2 eq., 59 mg, .043mmol) in MeOH (5 mL) under an argon atmosphere was added dimethyl acetylmethylphosphonate (1.2 eq., 0.036 mL, 0.26 mmol). The resulting solution was heated at 40 °C and stirred for 3 days. The reaction was then cooled to rt. Water (10 mL), and EtOAc (5 mL) were added. The phases were separated and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3x 10 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified via silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 9:1 to 8:2) to afford compound (±)-**2.49** (39 mg, 0.12 mmol, 57%) as an amorphous white solid.

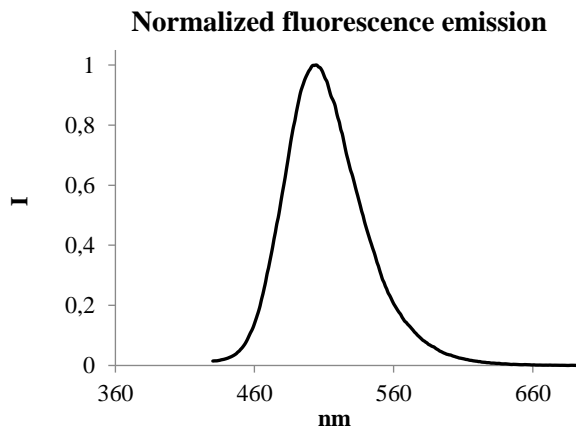
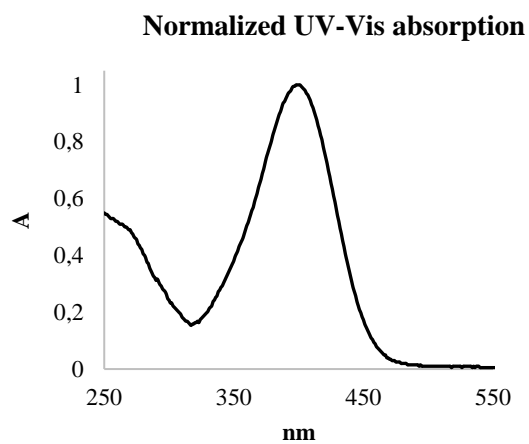
¹H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.65 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 6.76 – 6.64 (m, 2H), 6.50 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.42 (t, $J = 10.4$ Hz, 2H), 5.58 (s, 1H), 3.52 (dd, $J = 13.5, 9.9$ Hz, 1H), 3.37 (dd, $J = 13.8, 8.3$ Hz, 1H), 3.22 – 3.06 (m, 2H), 3.02 – 2.90 (m, 2H), 2.81 (d, $J = 35.8$ Hz, 6H), 2.78 – 2.63 (m, 2H), 2.39 (s, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 198.3 (C), 153.6 (C), 143.0 (C), 141.1 (CH), 139.5 (C), 138.2 (C), 135.6 (CH), 131.8 (CH), 131.2 (CH), 130.8 (CH), 129.6 (C), 129.3 (CH), 126.7 (C), 123.3 (CH), 122.1 (CH), 42.7 (2 CH_3), 36.6 (CH_2), 35.1 (CH_2), 33.5 (CH_2), 33.4 (CH_2), 27.7 (CH_3) ppm.

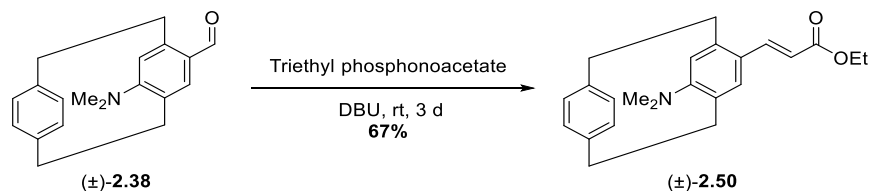
IR (neat): ν 2925, 1660, 1573, 1501, 1454, 1373, 1316, 1254, 1226, 1176, 1112, 1069, 979, 912, 797, 726 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[M+Na]^+$ calcd for $C_{22}H_{25}NO_2Na$: 342.1828; found: 342.1824.

UV-Vis : Absorbance max: 400 nm (10^{-5} M solution in DCM; $\epsilon \sim 20300 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 503 nm (10^{-5} M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm).



Ethyl (2E)-3-[15-(dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl]prop-2-enoate **2.50**



Aldehyde (±)-**2.38** (1 eq., 54 mg, 0.19 mmol), and triethyl phosphonoacetate (1.56 eq., 0.06 mL, 0.30 mmol) were placed in round-bottomed flask under an argon atmosphere. DBU (17 eq., 0.5 mL, 3.35 mmol) was added and the reaction was stirred at rt for 3 d. Water (10 mL) was then added and the aqueous phase was extracted with EtOAc (3 x 5 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (eluent = Cy/EtOAc 8:2) to afford the product (±)-**2.50** (45 mg, 0.13 mmol, 67%) as an amorphous white solid.

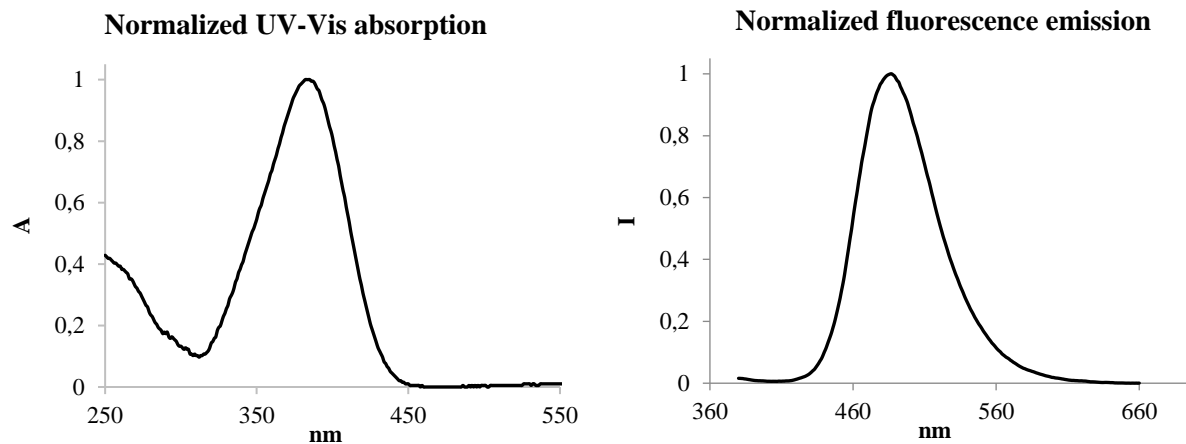
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 6.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.55 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.40 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.10 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 5.58 (s, 1H), 4.28 (qd, *J* = 6.9, 2.8 Hz, 2H), 3.58 – 3.45 (m, 1H), 3.37 (dd, *J* = 13.8, 8.6 Hz, 1H), 3.20 – 3.05 (m, 2H), 3.04 – 2.92 (m, 2H), 2.82 (s, 6H), 2.76 – 2.62 (m, 2H), 1.37 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 168.0 (C), 153.3 (C), 142.4 (C and CH), 139.5 (C), 138.4 (C), 135.5 (CH), 131.8 (CH), 131.2 (CH), 130.8 (CH), 129.7 (C), 129.2 (CH), 127.1 (C), 122.1 (CH), 113.4 (CH), 60.1 (CH₂), 42.7 (2CH₃), 36.5 (CH₂), 35.0 (CH₂), 33.5 (CH₂), 33.3 (CH₂), 14.4 (CH₃) ppm.

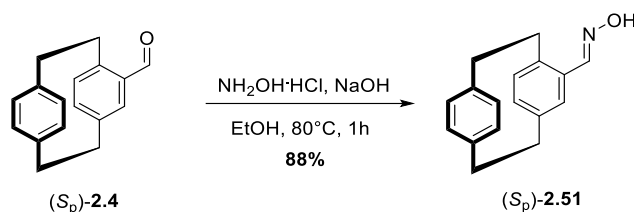
IR (neat): ν 2953, 1703, 1621, 1581, 1502, 1314, 1261, 1225, 1172, 1067, 978, 912, 801, 741, 725 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₈NO₂: 350.2115; found: 350.2110.

UV-vis : Absorbance max: 383 nm (10^{-5} M solution in DCM; $\epsilon \sim 18200 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Emission max: 486 nm (10^{-5} M solution in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm). QY in DCM = 2%⁶



⁶ Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

(S_p)-[2.2]Paracyclophane-4-carbaldehyde oxime 2.51

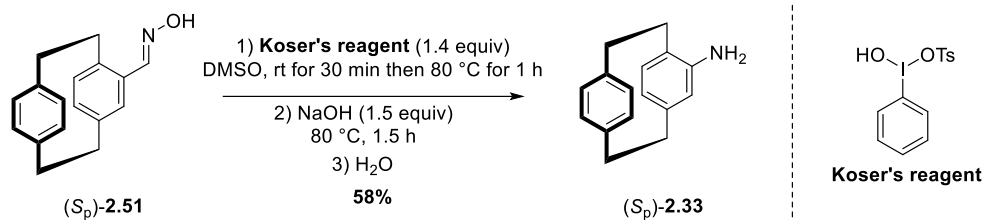
A mixture of hydroxylamine hydrochloride (3 eq., 185 mg, 2.67 mmol) and NaOH (3 eq., 107 mg, 2.67 mmol) in EtOH (5 mL) was heated to reflux. A solution of (*S_p*)-4-formyl[2.2]paracyclophane **2.4** (1 eq., 210 mg, 0.89 mmol in EtOH (5 mL)) was added. The resulting mixture stirred at reflux overnight. The suspension was cooled to rt and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in EtOAc (10 mL). The resulting mixture was washed with H₂O (3x 10 mL), and brine (10 mL), then dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent: EtOAc/Cy 1:9) to give compound (*S_p*)-**2.51** (197 mg, 0.78 mmol, 88 %) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.62 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.55 – 6.48 (m, 3H), 6.46 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.64 – 3.55 (m, 1H), 3.23 – 3.07 (m, 3H), 3.09 – 2.93 (m, 3H), 2.93 – 2.84 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 149.7 (CH), 140.2 (C), 139.4 (C), 139.3 (C), 139.2 (C), 135.3 (CH), 134.0 (CH), 133.1 (CH), 132.9 (CH), 132.1 (CH), 131.8 (C), 131.7 (CH), 131.0 (CH), 35.4 (CH₂), 35.1 (CH₂), 34.9 (CH₂), 33.9 (CH₂) ppm.

[α]_D + 318 (c 0.5, CHCl₃)

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.²²³

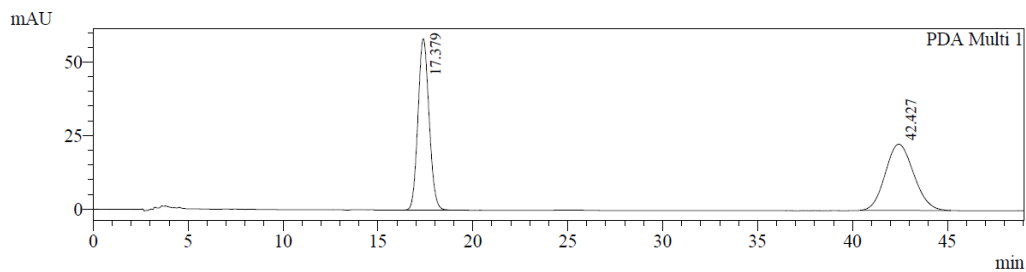
(S_p)-4-Amino[2.2]paracyclophane **2.33**

A mixture of finely ground (*S_p*)-**2.51** (1eq., 180 mg, 0.72 mmol) and finely ground Koser's reagent²²² (1.4 eq., 393 mg, 1.00 mmol) in DMSO (1 mL) was stirred at rt for 30 min and then heated to 80 °C for 1 h. Finely ground NaOH (1.5 eq., 43 mg, 1.07 mmol) was added and the heating continued for 1.5 h. The mixture was then cooled to rt and H₂O (10 ml) added. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic layers were washed with H₂O (2x10 mL), and brine (15 mL) then dried over MgSO₄. The solvent was removed under reduced pressure, and the resulting crude residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 1:9) to isolate the desired product (*S_p*)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.33** as a colorless solid (92 mg, 0.41 mmol, 58% yield). Spectroscopic data were in agreement with those reported above.

[α]_D + 76 (c 0.6, CHCl₃); lit. **[α]_D** +85 (c 1, CHCl₃)⁴¹⁹

HPLC Conditions: *Chiral HPLC analysis* : $t_{R_{Sp}} = 17.4$ min, $t_{R_{Rp}} = 42.4$ min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (4:6); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm.]

Racemic compound (\pm)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.34**

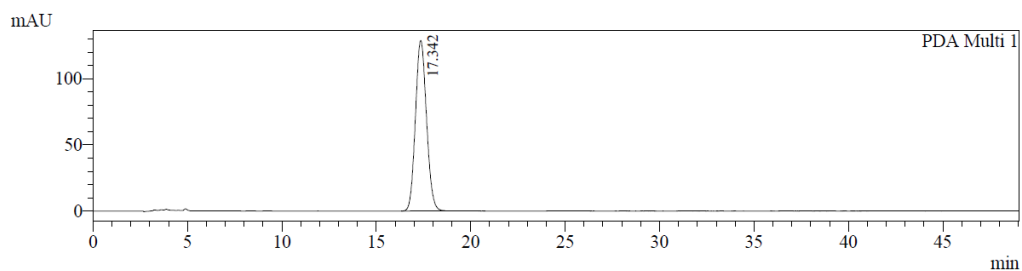


1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm			
Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	17.379	2363890	50.251
2	42.427	2340257	49.749
Total		4704148	100.000

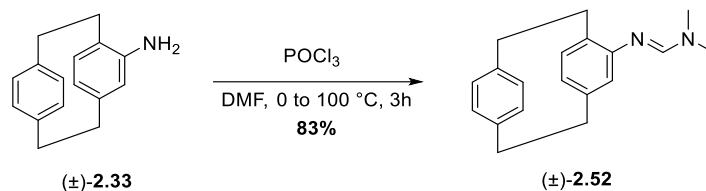
Product (S_p)-4-amino[2.2]paracyclophane **2.34** ($t_{R_{Sp1}} = 17.3$ min)



1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm			
Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	17.342	5245972	100.000
Total		5245972	100.000

(±)-4-dimethylformamidine[2.2]paracyclophane **2.52**

In a 25 mL flame and vacuum dried-round bottomed flask, POCl_3 (1 eq., 34 mg, 0.02 mL, 0.22 mmol) was added dropwise to vigorously stirred DMF (0.5 mL) at 0 °C, under argon atmosphere. After 15 min, a solution of compound (\pm)-**2.33** (1 eq., 50 mg, 0.22 mmol) in DMF (1.5 mL) was added dropwise. After another 15 min, the resulting green solution was allowed to warm back to rt and stirred for 1h. The reaction was then heated to 100 °C, and stirred for an additional 2h. The mixture was then poured into ice and water under vigorous stirring. Sat'd aq. NaOAc solution was added until a basic solution was obtained (pH~8). DCM was added and the immiscible phases were separated. The aqueous phase was extracted several times with DCM, until yellow colour faded. The organic phases were then combined, washed with water and brine, dried over MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The crude product (\pm)-**2.52** (52 mg, 0.19 mmol, 83%) was used as such without further purification.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.92 (dd, $J = 1.0, 7.7$ Hz, 1H), 6.53 (dd, $J = 1.3, 7.7$ Hz, 1H), 6.63 (m, 2H), 6.26 (dd, $J = 0.9, 7.6$ Hz, 1H), 5.61 (s, 1H), 3.61 – 3.53 (m, 1H), 3.21-2.11 (m, 1H), 3.10 – 2.95 (m, 9H), 2.95 – 2.79 (m, 1H), 2.62 – 2.50 (m, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 151.3 (C), 149.9 (C), 140.5 (C), 140.3 (C), 138.7 (C), 134.4 (CH), 133.3 (CH), 132.5 (CH), 131.6 (CH), 128.7 (C), 126.5 (CH), 125.9 (CH), 35.4 (2CH_3), 35.1 (CH_2), 34.2 (CH_2), 32.9 (CH_2) ppm.

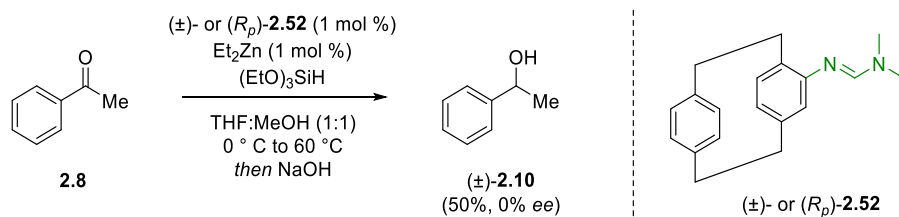
IR (neat): ν 2923, 1723, 1582, 1557, 1394, 1363, 1096, 1086, 1172, 1067, 929, 893, 870, 797, 717 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ON}_2$: 279.1791; found: 279.1845.

(R_p)-4-dimethylformamidine[2.2]paracyclophane **2.52**

This compound was prepared following the procedure described for the synthesis of product (\pm)-**2.52** : (*R_p*)-**2.33** (40 mg, 0.18 mmol, 1 equiv.), POCl₃ (17 μ L, 0.18 mmol, 1 equiv.) in DMF (1.6 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 3:7 + 1% NH₄OH) to afford compound (*R_p*)-**2.52** (45.7 mg, 0.16 mmol, 92% yield) as an amorphous white solid.

Spectroscopic data were in accordance with that of compound (\pm)-**2.52**.

1-Phenylethan-1-ol **2.10**

According to a procedure previously reported.

Compound (±)- or (*R_p*)-**2.52** (8.35 mg, 30 μmol, 0,01 équiv.) and Et₂Zn (30 μL, 1 M in hexane, 30 μmol, 0,01 équiv.) were suspended together in THF (1.25 mL) for 10 min before addition of **2.8** (0.35 mL, 3 mmol, 1 equiv.) and (EtO)₃SiH (0.83 mL, 4.5 mmol, 1.5 equiv.). The resulting mixture was heated to 60 °C for 1 h before cooling to 0 °C for basic treatment. Aqueous NaOH (1.25 mL, 1.25 M, 0.4 equiv.) and MeOH (1.25 mL) were added and the solution was stirred an additional hour at 0 °C. The reaction was then diluted with water and EtOAc. The immiscible phases were separated and the aqueous phases extracted twice with EtOAc. The organic phases were washed with brine, dried over MgSO₄, and evaporated under reduced pressure. The resulting oil was purified by silica gel chromatography using 8:2 Cy:EtOAc as the eluent to afford product **2.10** (180 mg, 1.47 mmol, 49 %) as a racemic compound.

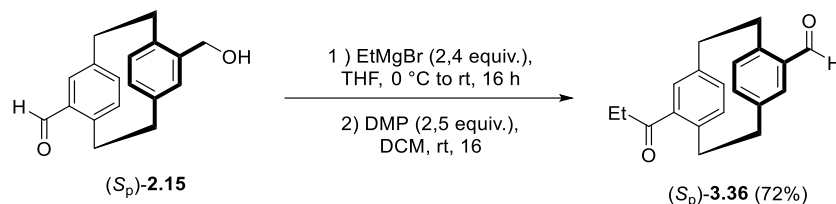
All spectroscopic data in accordance with reported literature.²²⁶

III – Experimental procedures for chapter III

III.1 PRODAN analogues

(*S_p*)-11-Propanoyltricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaene-5-carbaldehyde

3.36.



A round-bottomed flask was charged compound (*S_p*)-**2.15** (300 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.) in THF (22 mL) under an argon atmosphere. The resulting solution was cooled to 0 °C, and EtMgBr (3 M in Et₂O, 1.5 mL, 4.50 mmol, 4 equiv.) was added dropwise by syringe. The resulting mixture was allowed to warm to rt. After stirring at rt for 16 h, the solution was quenched by the addition of H₂O (20 mL). The resulting solution was concentrated under reduced pressure to remove THF. The aqueous phase was then extracted with EtOAc (3x20 mL). The combined organic layers were washed by brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduce pressure. The crude material was then dissolved in dry DCM (20 mL), and DMP (1.179 g, 2.78 mmol, 2.5 equiv.) was added. The mixture was stirred at rt overnight. The reaction was quenched by the addition of a saturated NaHCO₃ solution (15 mL). The two phases were separated and the aqueous solution was extracted with DCM (3x20 mL). The combined organic layers were washed by brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel column chromatography using Cy/EtOAc (9:1) as the eluent to afford compound (*S_p*)-**3.36** (237 mg, 0.81 mmol, 72% yield) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.94 (s, 1H), 7.04 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.78 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 6.55 (dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.44 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 4.12 (ddd, J = 13.0, 10.1, 2.8 Hz, 1H), 3.80 (ddd, J = 12.6, 10.6, 2.0 Hz, 1H), 3.33 (ddd, J = 12.8, 10.5, 5.6 Hz, 1H), 3.25 – 3.09 (m, 3H), 3.04 – 2.78 (m, 3H), 2.64 (dq, J = 17.2, 7.3 Hz, 1H), 1.18 (t, J = 7.3 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 204.1 (CH), 192.2 (C), 142.6 (C), 141.2 (C), 140.6 (C), 139.7 (C), 138.2 (C), 136.6 (CH et C), 136.1 (CH), 135.3 (CH), 135.2 (CH), 135.0 (CH), 132.5 (CH), 34.9 (CH₂), 34.5 (CH₂), 34.4 (CH₂), 34.1 (CH₂), 32.7 (CH₂), 8.6 (CH₃) ppm.

IR (neat): ν 3726, 2933, 2853, 2726, 2300, 1681, 1591, 1553, 1460, 1343, 1276, 1251, 1231, 1144, 1009, 968, 901, 879, 846, 764, 749 cm^{-1} .

HRMS (ESI-Orbitrap) m/z : $[M+H]^+$ Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_2$ 293.1536; Found 293.1532.

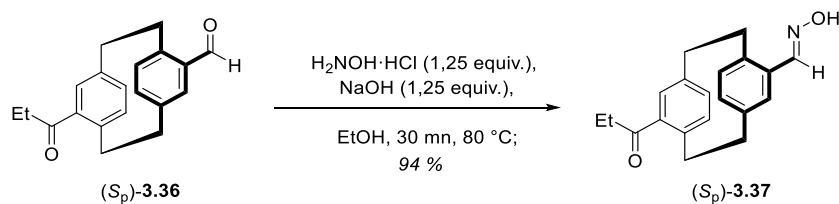
$[\alpha]_{\text{D}}$ -56 (c 0.1 CHCl_3).

(R_p)-11-Propanoyltricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaene-5-carbaldehyde **3.36**.

This compound was prepared following the procedure described for the synthesis of product (*S_p*)-**3.36**: (*R_p*)-**2.15** (250 mg, 0.94 mmol, 1 equiv.), EtMgBr (3 M in Et₂O, 1.25 mL, 3.75 mmol, 4 equiv.) in THF (18 mL), then DMP (903 mg, 2.13 mmol, 2.5 equiv.) in DCM (25 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 1:9) to afford the compound (*R_p*)-**3.36** (200 mg, 0.68 mmol, 81% yield) as an amorphous white solid.

$[\alpha]_{\text{D}}$ $+66$ (c 0.1 CHCl_3).

(*S_p*)-1-{14-[(1*E*)-(hydroxyimino)methyl]tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl}propan-1-one **3.37**.



To a mixture of hydroxylamine hydrochloride (0.072 g, 1.03 mmol, 1.3 equiv.) and NaOH (0.042 g, 1.05 mmol, 1.3 equiv.) in EtOH (5 mL) at reflux was added a solution (*S_p*)-**3.36** (0.230 g, 0.79 mmol, 1.0 equiv.) in EtOH (10 mL). The resulting mixture was heated at reflux in an oil bath for 30 min. The reaction was then cooled to rt, and the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was taken up with EtOAc (20 mL). The organic layer was washed with H₂O (2x15 mL), and brine (20 mL), then dried over MgSO₄. Evaporation of the solvent afforded the desired product (*S_p*)-**3.37** as a colourless solid (227 mg, 0.74 mmol, 94% yield).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.17 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.76 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.35 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.84 (t, J = 11.5 Hz, 1H), 3.58 (ddd, J = 13.0, 10.2, 2.6 Hz, 1H), 3.28 – 3.19 (m, 1H), 3.10 (ddd, J = 9.5, 7.2, 4.2 Hz, 3H), 2.96 – 2.81 (m, 3H), 2.72 – 2.62 (m, 1H), 1.19 (t, J = 7.3 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 203.8 (C), 149.7 (CH), 141.0 (C), 140.8 (C), 139.3 (C), 138.8 (C), 138.1 (C), 135.2 (CH), 134.3 (CH), 134.0 (CH), 132.9 (CH), 132.4 (CH), 131.9 (C), 131.6 (CH), 35.2 (CH₂), 34.5 (CH₂), 34.4 (CH₂), 33.9 (CH₂), 33.0 (CH₂), 8.6 (CH₃) ppm.

IR (neat): ν 3378, 2969, 1738, 1455, 1365, 1216, 1016, 872, 748 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) m/z: [M+H]⁺ Calcd for C₂₀H₂₂NO₂ 308.1645; Found 308.1636.

[α]_D -193 (c 0.17 CHCl₃).

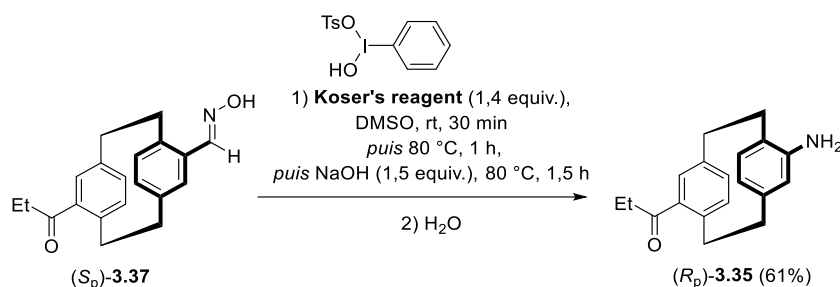
(*R_p*)-1-{14-[(1*E*)-(hydroxyimino)methyl]tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl}propan-1-one **3.37**.

This compound was prepared following the procedure described for the synthesis of product (*S_p*)-**3.37**: (*R_p*)-**3.36** (185 mg, 0.63 mmol, 1 equiv.), hydroxylamine hydrochloride (0.055 g, 0.80 mmol, 1.25 equiv.), and NaOH (0.032 g, 0.79 mmol, 1.25 equiv.) in EtOH (10 mL). The crude product was

purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 1:9) to afford compound (*R_f*)-**3.37** (158 mg, 0.51 mmol, 81% yield) as an amorphous white solid.

$[\alpha]_{\text{D}} + 195$ (c 0.09 CHCl₃).

(*R_p*)-1-{14-aminotricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl}propan-1-one **3.35**.



A mixture of finely ground (*S_p*)-**3.37** (52 mg, 0.17 mmol, 1.0 equiv.) and finely ground Koser's reagent (96 mg, 0.24 mmol, 1.45 equiv.) in DMSO (2 mL) was stirred at rt for 30 min and then heated to 80 °C in an oil bath for 1 h. Finely ground NaOH (10 mg, 0.25 mmol, 1.5 equiv.) was added and the heating continued for 1.5 h. The mixture was then cooled to rt and H₂O (10 ml) added. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic layers were washed with H₂O (2x10 mL), and brine (15 mL) then dried over MgSO₄. The solvent was removed under reduced pressure, and the resulting crude residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 1:9) to isolate the desired product (*R_p*)-**3.35** as a colorless solid (29 mg, 0.10 mmol, 61% yield).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.35 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.41 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.16 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.03 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.39 (s, 1H), 3.98 (t, *J* = 11.2 Hz, 1H), 3.48 (br s, 2H), 3.22 – 3.00 (m, 4H), 3.00 – 2.82 (m, 2H), 2.79 – 2.65 (m, 3H), 1.20 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 203.0 (C), 144.8 (C), 141.5 (C), 141.2 (C), 138.6 (C), 137.3 (C), 134.7 (CH), 134.2 (CH), 133.9 (CH), 130.3 (CH), 124.1 (C), 122.0 (CH), 121.5 (CH), 35.8 (CH₂), 34.2 (CH₂), 33.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 31.4 (CH₂), 8.6 (CH₃) ppm.

IR (neat): ν 3672, 3376, 2972, 2924, 2902, 1674, 1629, 1435, 1260, 1066, 1057, 900, 872, 766, 748 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) *m/z*: [M+H]⁺ Calcd for C₁₉H₂₂ON 280.1696; Found 280.1697.

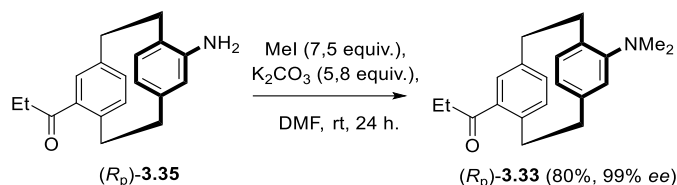
[α]_D –61 (c 0.1 CHCl₃).

(S_p)-1-{14-aminotricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl}propan-1-one **3.35**.

This compound was prepared following the procedure described for the synthesis of product (*R_p*)-**3.35**: (*R_p*)-**3.37** (50 mg, 0.16 mmol, 1 equiv.), Koser's reagent (89 mg, 0.23 mmol, 1.4 equiv.), and NaOH (10 mg, 0.24 mmol, 1.5 equiv.) in DMSO (2 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 1:9) to afford compound (*S_p*)-**3.38** (30 mg, 0.11 mmol, 67% yield) as an amorphous white solid.

[α]_D + 60 (c 0.04 CHCl₃).

(*R_p*)-1-[14-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2[^]{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl]propan-1-one **3.33**.



A round-bottomed flask was charged with compound (*R_p*)-**3.35** (21 mg, 0.08 mmol, 1 equiv.) and K₂CO₃ (60 mg, 0.43 mmol, 5.8 equiv.) in DMF (1.8 mL) under an argon atmosphere. MeI (80 mg, 0.035 mL, 7.5 equiv.) was added, and the resulting mixture was stirred at rt for 24 h before addition of water. The immiscible phases were then separated, and the aqueous phase was extracted with DCM (3x10 mL). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel column chromatography using Cy/EtOAc (12:1) as eluent to afford (*R_p*)-**3.33** (18 mg, 0.06 mmol, 80 %, 99 % *ee*) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 6.91 – 6.86 (m, 2H), 6.43 – 6.36 (m, 1H), 6.27 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.14 (dd, *J* = 7.6, 1.7 Hz, 1H), 5.71 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 4.00 – 3.89 (m, 1H), 3.44 (ddd, *J* = 13.3, 9.6, 3.3 Hz, 1H), 3.18 (ddd, *J* = 13.1, 9.6, 5.7 Hz, 1H), 3.14 – 2.84 (m, 4H), 2.84 – 2.64 (m, 10H), 1.19 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 203.1 (C), 151.7 (C), 141.2 (C), 140.8 (C), 139.8 (C), 137.6 (C), 135.1 (CH), 134.6 (CH), 133.5 (CH), 131.9 (CH), 130.5 (C), 124.7 (CH), 120.4 (CH), 43.7 (2CH₃), 35.6 (CH₂), 34.5 (CH₂), 34.2 (CH₂), 33.7 (CH₂), 33.5 (CH₂), 8.6 (CH₃) ppm.

IR (neat): ν 2937, 2853, 1675, 1586, 1489, 1455, 1411, 1340, 1265, 1234, 996, 907, 860, 764, 739 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) *m/z*: [M+H]⁺ Calcd for C₂₁H₂₆NO 308.2009; Found 308.2007.

[α]_D –136 (c 0.06 CHCl₃).

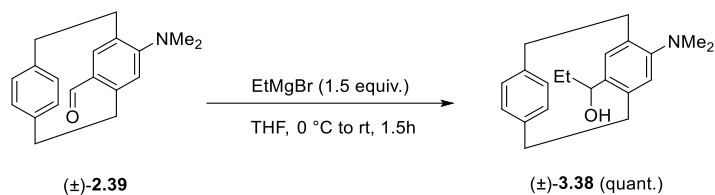
(*S_p*)-1-[14-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2[^]{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl]propan-1-one **3.33**.

This compound was prepared following the procedure described above for the synthesis of product (*R_p*)-**3.33**: (*S_p*)-**3.35** (21 mg, 0.08 mmol, 1 equiv.), MeI (68 mg, 0.03 mL, 6.4 equiv.), and K₂CO₃ (55 mg, 0.40 mmol, 5.3 equiv.) in DMF (2 mL) under an argon atmosphere. The crude product was

purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 1:19 to 1:9) to afford compound (*S_p*)-**3.33** (19 mg, 0.06 mmol, 81% yield, 97% ee) as an amorphous white solid.

[α]_D + 120 (c 0.05 CHCl₃).

(±)-1- $\{14$ -aminotricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl $\}$ propan-1-one **3.38**.

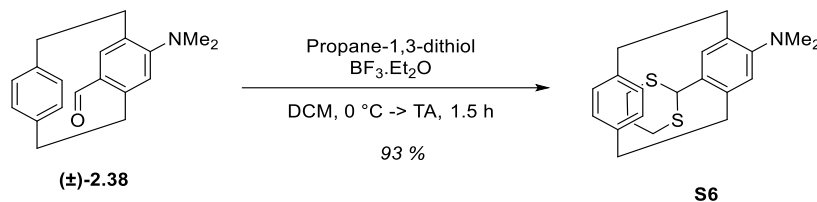


This compound was prepared following the procedure described for the synthesis of product (*R_p*)-**2.49**: (\pm)-**2.39** (35 mg, 0.19 mmol, 1 equiv.) and EtMgBr (3 M in Et₂O, 63 μ L, 0.19 mmol, 1.5 equiv.) in THF (4 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Cy 2:8) to afford compound (\pm)-**3.38** (38.5 mg, 0.12 mmol, 99% yield) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 6.70-6.67 (m, 2H), 6.43 (s, 1H), 6.38-6.32 (m, 2 H), 5.79-5.76 (m, 1H), 5.50 (s, 1H), 4.62 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 3.36-3.29 (m, 3H), 3.21-3.16 (m, 1H), 3.05-2.85 (m, 3H), 2.73-2.55 (m, 8H), 0.80 (t, *J* = 7.1 Hz) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 149.6 (C), 139.0 (C), 137.6 (C), 136.6 (C), 135.4 (C), 133.0 (CH), 131.1(C), 131.0 (C), 130.1 (CH), 129.8 (CH), 129.6 (CH), 129.2 (CH), 128.3 (CH), 71.6 (CH), 42.4 (CH₃), 35.7 (CH₂), 34.6 (CH₂), 33.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 32.0 (CH₂), 10.1 (CH₃) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* [M]⁺ calcd for C₂₁H₂₇NO: 310.0001; found: 310.1284.

15-(1,3-dithian-2-yl)-*N,N*-dimethyl-1,4(1,4)-dibenzocyclohexaphan-12-amine **S6**

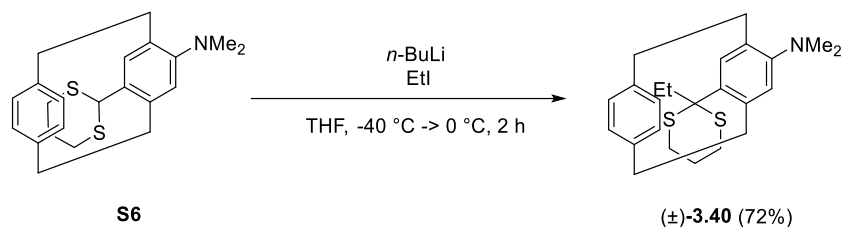
To a mixture of **2.38** (100 mg, 0.36 mmol, 1 equiv.) and propane-1,3-dithiol (40 μL , 0.4 mmol, 1.1 equiv.) in DCM (1 mL) at 0 $^\circ\text{C}$ was added a $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (62 μL , 0.49 mmol, 1.4 equiv.) dropwise turning the mixture orange. The reaction was allowed to warm back to rt for 1h. The solution was then treated with aq. NaOH (10 %) and diluted with DCM (10 mL). The immiscible phases were separated and the aqueous layer was extracted twice with DCM. The organic layers were combined and washed with brine (20 mL), then dried over MgSO_4 and evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using 9:1 Cy:EtOAc as the eluent to afford the desired product **S6** (122.4 mg, 0.33 mmol, 93% yield) as an amorphous white solid.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 6.84 (d, $J = 7.58$ Hz, 1H), 6.7 (s, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 8.1 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.24 (s, 1H), 3.40-3.33 (m, 2H), 3.16-3.00 (m, 8H), 2.82-2.67 (m, 9H), 2.15 (d, $J = 14$ Hz, 1H), 1.90 (q, $J = 13.6$ Hz, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 151.2 (C), 139.8 (C), 138.0 (C), 137.3 (C), 134.8 (CH), 133.0 (CH), 132.1(CH), 130.2 (CH), 130.0 (C), 129.7 (C), 128.7 (CH), 122.5 (CH), 48.5 (CH), 42.9 (CH_3), 34.8 (CH_2), 33.1 (CH_2), 32.9 (CH_2), 32.6 (CH_2), 32.0 (CH_2), 25.6 (CH_2) ppm.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NS}_2$: 370.1593; found: 370.1628.

(±)-1⁵-(2-ethyl-1,3-dithian-2-yl)-N,N-dimethyl-1,4(1,4)-dibenzazacyclohexaphan-1²-amine **3.40**.



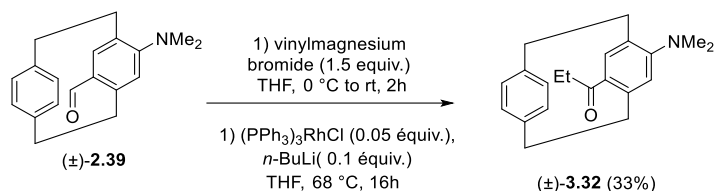
To a flame-dried tube was added compound (±)-**S6** (1 eq., 60 mg, 0.16 mmol) and dry THF (0.5 mL). The solution was cooled to -40 °C in a dry ice/MeCN bath and *n*-BuLi (1.5 eq., 1.25 M solution in hexane, 0.13 mL, 0.16 mmol) was added dropwise via syringe turning the mixture yellow. The reddish reaction was stirred for 1.5 h at maximum -5 °C, and then EtI (1.1 eq., 14 μL, 0.18 mmol) was added dropwise via syringe turning the mixture off-yellow. The solution was allowed to warm to rt and stirred 30 min. The mixture was then quenched with a saturated aqueous NH₄Cl solution (1 mL), and the resulting aqueous phase was extracted with DCM (3 x 5 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified via silica gel column chromatography (eluent: *n*-Pent/DCM 8:2 to 7:3) to give compound (±)-**3.40** (50 mg, 0.13 mmol, 77 %) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 6.82 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.48 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.32 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.16 (td, *J* = 2.7, 11.6 Hz, 1H), 3.36 (dd, *J* = 8.3, 14 Hz, 1H), 3.25 (td, *J* = 4.7, 11.4 Hz, 1H), 3.11-2.82 (m, 6H), 2.74 (s, 5H), 2.68-2.40 (m, 6H), 2.05-1.82 (m, 2H), 0.96 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 149.9 (C), 139.9 (C), 139.8 (C), 139.4 (C), 138.5 (C), 135.4 (CH), 132.0 (CH), 131.6 (CH), 130.6 (C), 129.5 (CH), 128.3 (CH), 127.3 (C), 124.1 (CH), 36.8 (CH₂), 35.8 (CH₂), 35.2 (CH₂), 35.1 (CH₂), 32.8 (CH₂), 24.8 (CH₂), 32.4 (CH₂), 23.0 (CH₂), 10.4 (CH₃) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₁NS₂: 398.1907; found: 398.2201.

(±)-1-[15-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^{2,4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaen-5-yl]propan-1-one **3.32**



Aldehyde (±)-**2.39** (100 mg, 0.36 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry THF (12 mL) under an argon atmosphere. The solution was cooled to 0 °C, then vinylmagnesium bromide (1 M in THF, 0.54 mL, 0.54 mmol, 1.5 equiv.) was added. The mixture was allowed to warm back to rt and stirred for 2 h. The reaction was then quenched by the addition of a saturated NH₄Cl aqueous solution (20 mL). The mixture was extracted with EtOAc (3 x 15 mL). The combined organic layers were washed with brine (20 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product (90 mg, 0.29 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry THF (2 mL). The resulting solution was added to a previously prepared mixture of (PPh₃)₃RuCl₂ (15 mg, 0.015 mmol, 0.05 equiv.) and *n*-BuLi (1.6 M solution in hexane, 24 μL, 0.029 mmol, 0.1 equiv.) in dry THF (0.5 mL), at room temperature, and under an argon atmosphere. The reaction was heated at reflux in an oil bath and stirred overnight. The mixture was then cooled back to rt and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent = pentane/Et₂O 9:1) to isolate product (±)-**3.32** (36 mg, 0.12 mmol, 33% overall yield) as a yellow amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 6.90 (s, 1H), 6.67 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.36 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.56 (s, 1H), 4.11 – 3.96 (m, 1H), 3.40 (dd, *J* = 14.0, 8.4 Hz, 1H), 3.19 – 3.09 (m, 3H), 2.98 – 2.78 (m, 8H), 2.77 – 2.54 (m, 3H), 1.19 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 201.5 (C), 154.0 (C), 144.1 (C), 139.7 (C), 139.2 (C), 138.8 (CH), 131.8 (CH), 131.3 (CH), 130.5 (CH), 130.2 (C), 129.0 (CH), 127.0 (C), 123.3 (CH), 42.5 (2CH₃), 37.1 (CH₂), 36.2 (CH₂), 34.7 (CH₂), 33.3 (CH₂), 33.0 (CH₂), 9.0 (CH₃) ppm.

IR (neat): ν 2932, 2850, 2792, 1659, 1582, 1528, 1355, 1234, 1098, 1060, 913, 865, 789, 730 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) *m/z*: [M+H]⁺ Calcd for C₂₁H₂₆NO 308.2009; Found 308.2004.

(S_p)-1-[15-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaen-5-yl]propan-1-one **3.32**.

Following the procedure described for the synthesis of compound (\pm)-**3.32**: (*S_p*)-**2.39** (55 mg, 0.20 mmol, 1 equiv.), vinylmagnesium bromide (1 M in THF, 0.30 mL, 0.30 mmol, 1.5 equiv.), and dry THF (7 mL). Then crude compound (60 mg, 0.20 mmol, 1 equiv.), (PPh₃)₃RuCl₂ (9 mg, 0.01 mmol, 0.05 equiv.), and *n*-BuLi (1.4 M solution in hexane, 14 μ L, 0.019 mmol, 0.1 equiv.) in dry THF (1.5 mL). The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent = pentane/Et₂O 9:1) to afford compound (*S_p*)- **3.32** (27 mg, 0.09 mmol, 45% overall yield) as an amorphous white solid.

$[\alpha]_{\text{D}} + 395$ (c 0.45 CHCl₃).

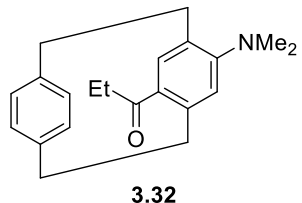
(R_p)-1-[15-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaen-5-yl]propan-1-one **3.32**.

Following the procedure described for the synthesis of compound (\pm)-**3.32**: (*R_p*)-**2.39** (110 mg, 0.39 mmol, 1 equiv.), vinylmagnesium bromide (1 M in THF, 0.59 mL, 0.59 mmol, 1.5 equiv.), and dry THF (14 mL). Then crude compound (83 mg, 0.27 mmol, 1 equiv.), (PPh₃)₃RuCl₂ (12 mg, 0.013 mmol, 0.05 equiv.), and *n*-BuLi (1.5 M solution in hexane, 18 μ L, 0.027 mmol, 0.1 equiv.) in dry THF (2 mL). The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent = pentane/Et₂O 9:1) to afford compound (*R_p*)-**3.32** (30 mg, 0.098 mmol, 36% overall yield) as an amorphous white solid.

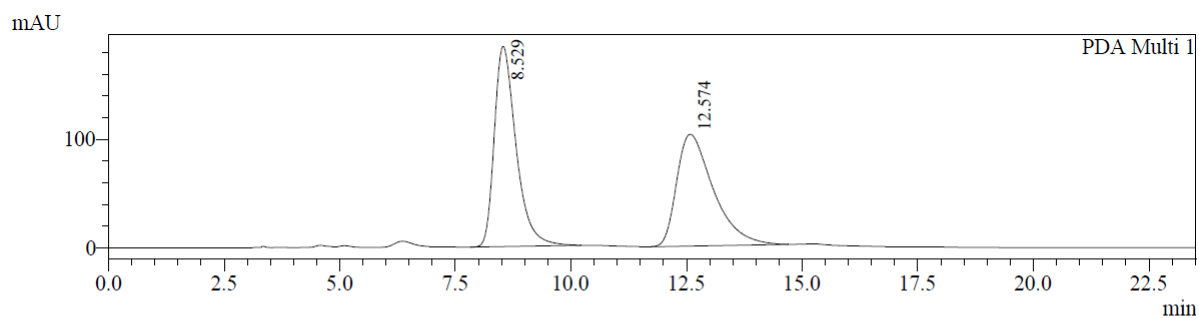
$[\alpha]_{\text{D}} + 383$ (c 0.6 CHCl₃).

HPLC chromatograms

1-[15-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaen-5-yl]propan-1-one **3.32**



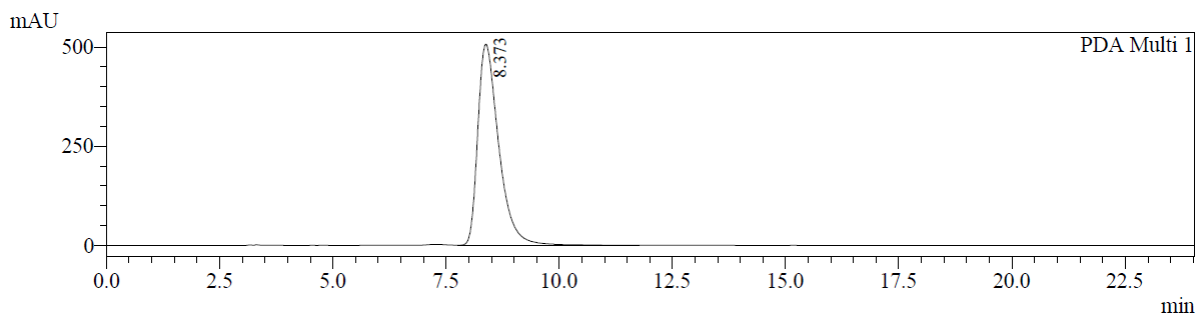
Chiral HPLC analysis of (\pm)-3.32**: $t_{R1} = 8.5$ min; $t_{R2} = 12.6$ min [Column = Chiralcel OJ (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (95:5); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm]**



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.529	6040012	184444	51.538	64.188
2	12.574	5679472	102904	48.462	35.812
Total		11719484	287348	100.000	100.000

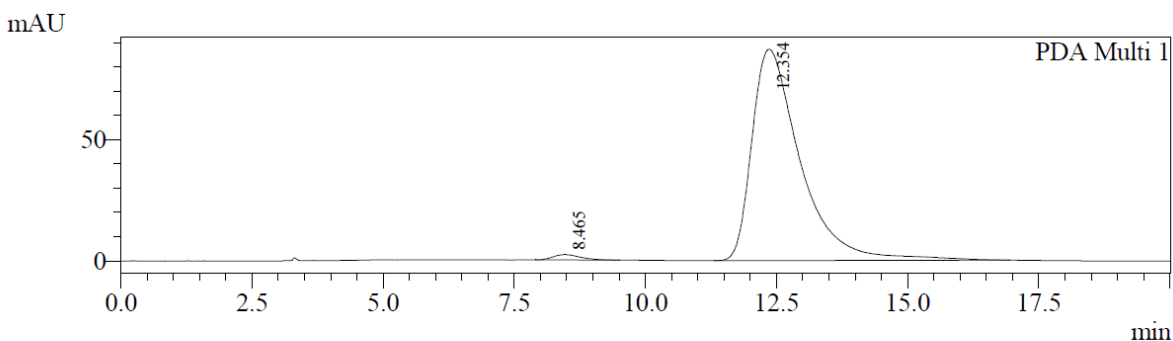
HPLC of pure product (*S_p*)-**3.32** : $t_R = 8.3$ min, > 99% *ee*



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.373	16332712	506661	100.000	100.000
Total		16332712	506661	100.000	100.000

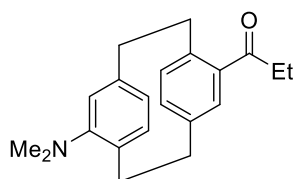
HPLC of pure product (R_p)-**3.32** : $t_{R1} = 8.5$ min; $t_{R2} = 12.4$ min, 95% *ee*



PDA Ch1 254nm 4nm

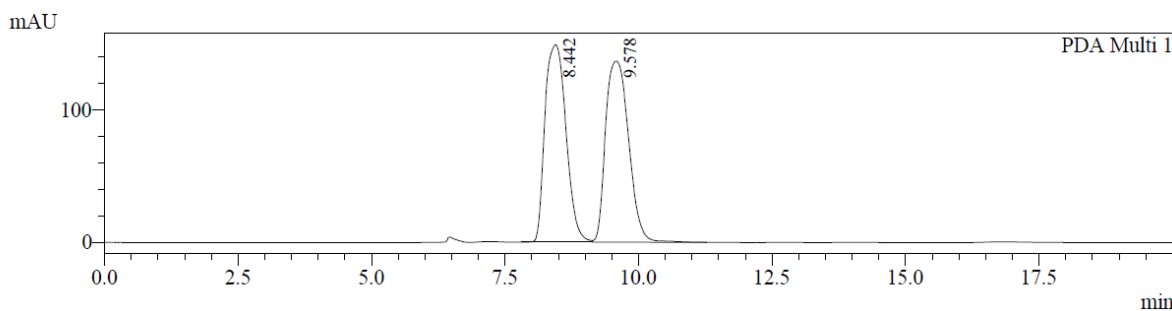
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.465	81485	2224	1.432	2.488
2	12.354	5608144	87182	98.568	97.512
Total		5689629	89406	100.000	100.000

1-[14-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2^t,⁷]hexadeca1(12),4,6,10,13, 15-hexaen-5-yl]pro-pan-1-one **3.33**



3.33

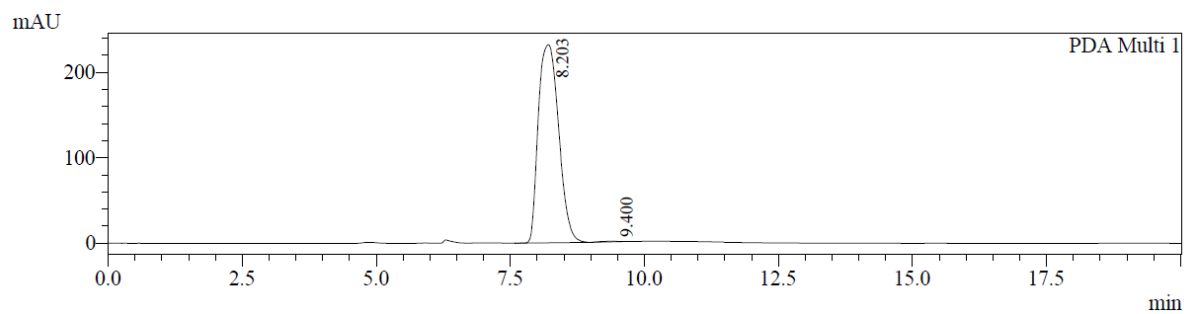
Chiral HPLC analysis of (\pm)-3.33**:** $t_{R1} = 8.4$ min; $t_{R2} = 9.6$ min [Column = Chiralcel AD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (95:5); flow = 0.5 mL/min; $\lambda = 254$ nm]



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.442	4090522	148889	49.873	52.173
2	9.578	4111422	136487	50.127	47.827
Total		8201944	285376	100.000	100.000

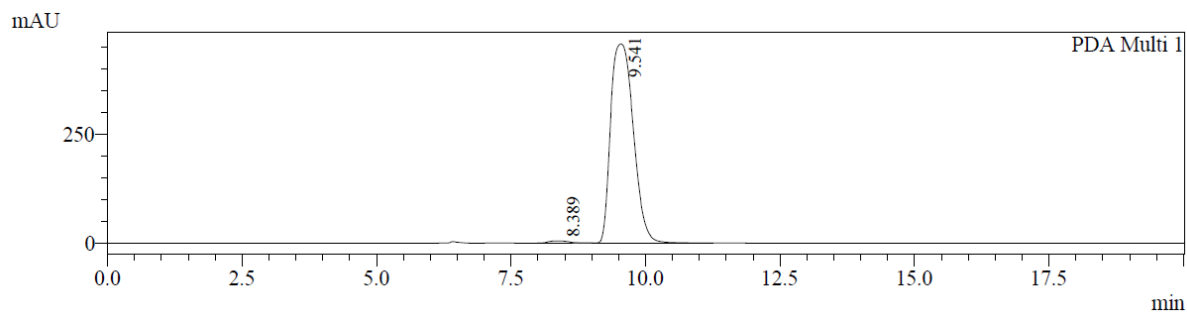
HPLC of pure (*R_p*)-**3.33**: $t_{R1} = 8.2$ min; $t_{R2} = 9.4$ min, 99% *ee*



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.203	6137528	232089	99.636	99.634
2	9.400	22446	853	0.364	0.366
Total		6159974	232943	100.000	100.000

HPLC of pure (*S_p*)-**3.33**: $t_{R1} = 8.4$ min; $t_{R2} = 9.5$ min, 97% *ee*



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.389	137533	5191	1.014	1.123
2	9.541	13428616	456881	98.986	98.877
Total		13566148	462072	100.000	100.000

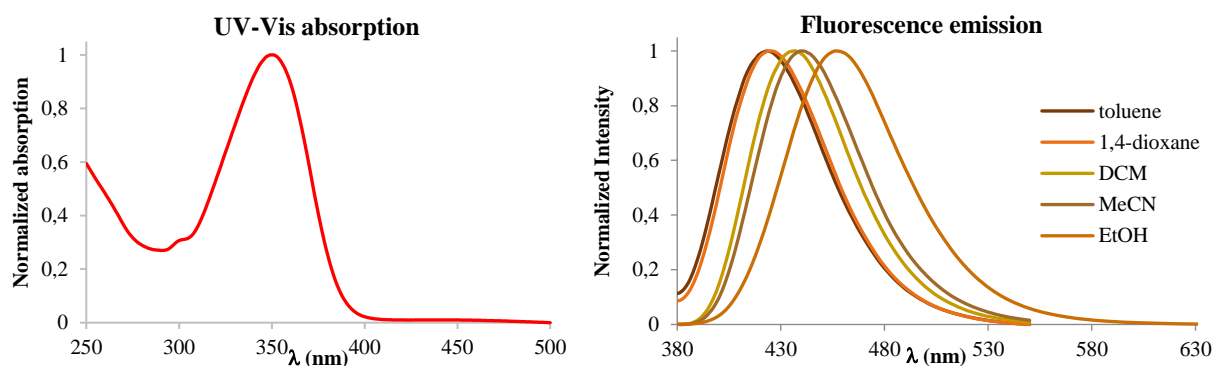
Unpolarised spectroscopic studies

Photophysical properties in solution of

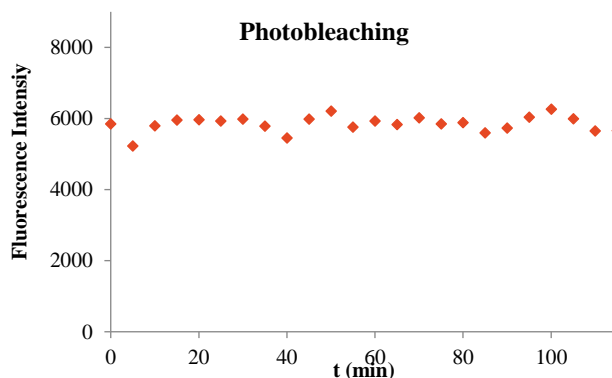
1-[15-(Dimethylamino)tricyclo[8.2.2.2⁴,7]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaen-5-yl]propan-1-one

3.32

UV-Vis : Absorbance max (10^{-4} M solution): 350 nm in DCM; Emission max (10^{-4} M solutions): 424 nm in toluene ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm), 425 nm in 1,4-dioxane ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm), 437 nm in DCM ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm); 440 nm in MeCN ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm); 458 nm in EtOH ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm). QY $\sim 1\%$ in DCM.⁷



Photobleaching study: A 10^{-4} M solution of product (\pm)-3.32 in DCM was used to perform the photobleaching study. The sample was continuously irradiated for 115 min at 20 °C ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm) and maximum emission intensity changes ($\lambda_{\text{max}} = 437$ nm) were measured at 5-minute time intervals.

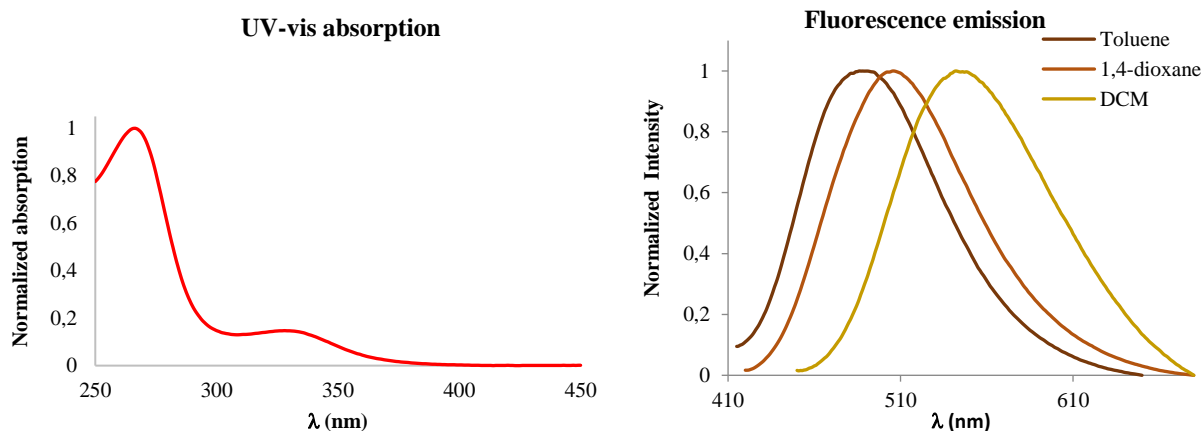


⁷ Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

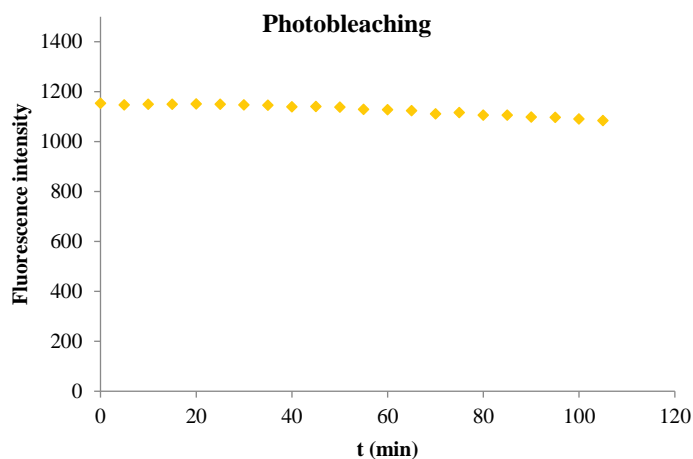
1-[14-(Dimethylamino)-tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaen-5-yl]-propan-1-one

3.33

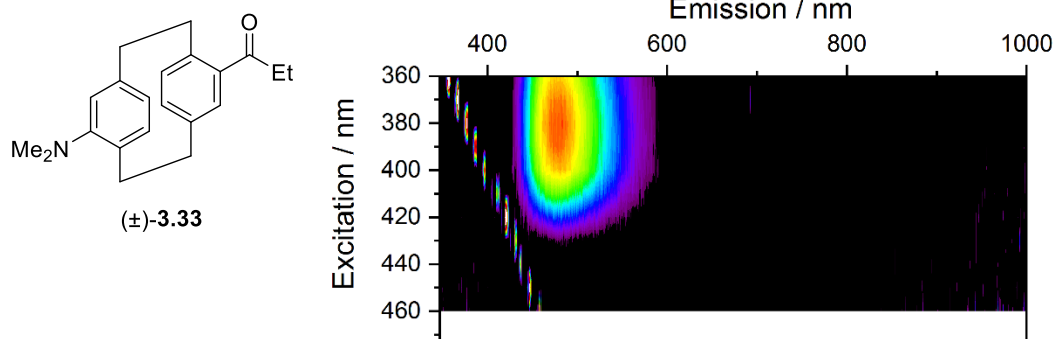
UV-Vis : Absorbance max (10^{-4} M solution): 266 and 328 nm in DCM; Emission max (10^{-4} M solutions): 486 nm in toluene ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm), 506 nm in 1,4-dioxane ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm), 542 nm in DCM ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm); 440 nm in MeCN ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm); 458 nm in EtOH ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm). QY < 0.1% in DCM.



Photobleaching study: A 10^{-4} M solution of product (\pm)-3.33 in DCM was used to perform the photobleaching study. The sample was continuously irradiated for 115 min at 20 °C ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm) and maximum emission intensity changes ($\lambda_{\text{max}} = 545$ nm) were measured at 5-minute time intervals.



Excitation-emission map at the solid state:



Pictures taken in the lab of compound **3.33** under a 320 nm irradiation.



Theoretical investigations

Computational details

DFT calculations are performed using Gaussian16 (a03p version),⁴²⁰ applying default procedures and algorithms. Geometric and energy convergences are obtained with a tight threshold and an ultrafine integration grid is used for ϵ_{xc} . Geometries are optimized with the 6-31+G(d) atomic basis-set and the absence of imaginary frequencies is controlled by analytical computation of the Hessian at the same level of theory. Time-Dependent DFT (TD-DFT) calculations use the 6-311+G(2d,p) atomic basis set. The condensed phase studies are performed using the Polarizable Continuum Model (PCM), an implicit solvation model that does not explicitly account for the specific interactions between the solvent and the solute molecules, the latter being placed inside a cavity modelling the polarization of the former. For the TD-DFT part, the present computational protocol also includes corrections linked to the two families of solvent polarization responses, i.e., the Linear Response (LR) and the corrected Linear Response (cLR) which both affect the computed electronic vertical transition, the LR correction providing dispersion-like corrections ($E^{LR} \propto \mu_{tr}$)⁴²¹ whereas cLR yields state-specific effects ($E^{cLR} \propto \Delta\mu(ES/GS)$)⁴²² that are crucial to model CT states. The corrections given by these methods can be added together following the equation below where ω_0 is the transition energy obtained through TD-DFT calculations where the solvent does not experience any changes in polarity during the transition.

$$E^{LR+cLR} = E^{LR} + E^{cLR} - \omega_0 \quad (\text{Eq. 1})$$

The IR, VCD and ECD spectrum are computed using the B3LYP functional⁴²³ whereas the ω B97-XD functional⁴²⁴ is chosen after a benchmark on the 2D-PRODAN probe (see details in the SI) for the excited states properties, the presence of CT states requiring a range-separated functional. CT parameters are computed using Le Bahers' metrics.⁴²⁵

Benchmark on the photophysical properties of 2D-PRODAN. Focusing on the main photophysical properties of the 2D PRODAN, three functionals are tested and their ability to reproduce both the solvatochromic and solvato-fluorochromic shift are evaluated. The PBE0 functional (with D3^{BJ} dispersion corrections) is dismissed due to (i) the large red-shift in the absorption

energies and (ii) the largest errors on the E_{00} values. M06-2X shows an inversion of the first two excited states between gas and condensed phase. ω B97X-D functional is selected as it yields to the closest theoretical solvatochromic shift between Tol and ACN compared to the experimental one. A second argument being that ω B97-XD is a range-separated functional well-suited to accurately describe charge-transfer transitions, which should be essential in our case (see Table S2).

Table S1 : Benchmark on transitions for 2D-PRODAN. The GS geometries were computed using the 6-31+G(d) basis-set using the same functionals, TD-DFT computations with the 6-311+G(2d,p) basis-set. Energies are given in eV, wavelength in nm. ^aVertical transitions energies of $S_0 \rightarrow S_1$ (abs) or $S_1 \rightarrow S_0$ (em). ^bWith empirical dispersion GD3BJ model. ^cConsidering $S_0 \rightarrow S_1$ in solvent (PCM) and $S_0 \rightarrow S_2$ in gas phase. ^dRMS calculated on the three solvent for the same functional.

Functional	Solvent	$\Delta E_{abs}^{th\ a}$	λ_{abs}^{th}	λ_{abs}^{expt}	$\Delta E_{em}^{th\ a}$	λ_{em}^{th}	λ_{em}^{expt}	E_{0-0}^{th}	E_{0-0}^{expt}
PBE1PBE ^b	ACN	3.224	385	350	2.691	461	455	2.835	3.134
	DCM	3.239	383	355	2.802	442	440	2.920	3.155
	Tol	3.332	372	346	3.062	405	405	3.123	3.282
	$\Delta E^{ACN-Tol}$	0.109		0.043	0.370		0.255	0.288	0.148
M06-2X ^c	ACN	3.348	370	350	2.949	420	450	3.155	3.134
	DCM	3.428	362	355	3.059	405	440	3.236	3.155
	Tol	3.682	337	346	3.314	374	405	3.430	3.282
	$\Delta E^{ACN-Tol}$	0.335		0.043	0.365		0.255	0.275	0.148
ω B97-XD	ACN	3.694	355	350	3.002	413	450	3.211	3.134
	DCM	3.705	347	355	3.102	399	440	3.285	3.155
	Tol	3.711	329	346	3.340	371	405	3.463	3.282
	$\Delta E^{ACN-Tol}$	0.077		0.043	0.339		0.255	0.252	0.148

Table S2: PCM(Toluene) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d) Vertical transitions characteristics of 2D-PRODAN in Toluene.

Absorption								Emission			
ES	ΔE_{abs}^{th}	f	λ_{abs}^{th}	$\Delta\mu$ (D)	D(Å)	QP(au)	MO contrib.	ES	ΔE_{em}^{th}	f	λ_{em}^{th}
S ₁	3.711	0.40	329	5.79	2.294	0.535	80% H → L	S ₁	3.340	0.47	371

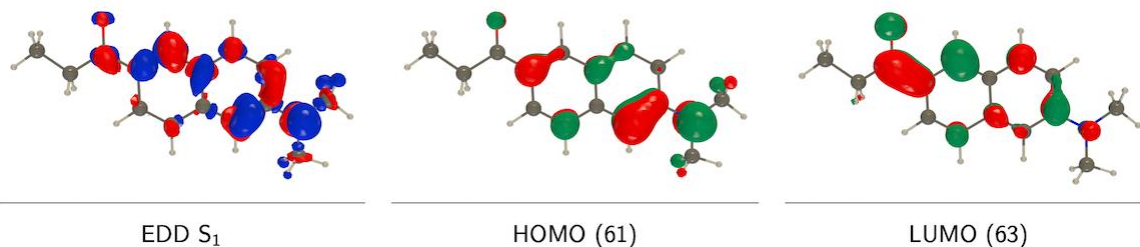


Figure S1: PCM (Toluene) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p)// ω B97X-D/6-31+G(d) HOMO, LUMO and EDD plots for 2D-PRODAN. MO isovalue: 0.05 au & EDD isovalue: 0.002 au. The red and blue lobes of the EDD indicate increase and decrease of the electron density upon absorption, respectively.

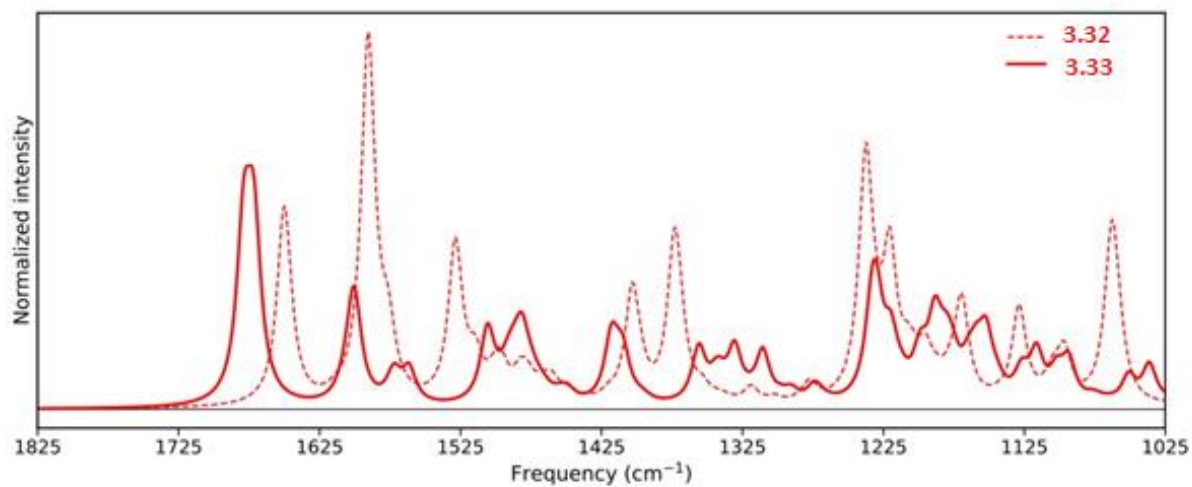
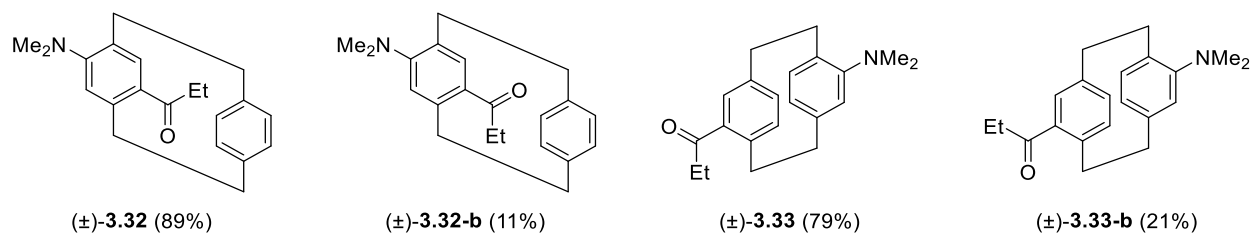


Figure S2: PCM(DCM) – B3LYP/6-31+G(d) simulated IR for compound **3.33** and **3.32** in DCM. Frequencies have been scaled by 0.98. Sticks have been broadened by Lorentzian functions with FWHM = 6 cm⁻¹. Each spectrum is weighted by the Boltzmann population of the two conformers at 298K.

Theoretical study on compound 3.32:

Table S3: PCM(1,4-dioxane) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). Principal excited states characteristics of **3.32** in 1,4-dioxane— Transition energies are calculated using Eq. 1

ES	%	MO	ΔE_{abs}^{th}	f	λ_{abs}^{th}	$\Delta\mu$ (D)	D(Å)	QP(au)	ΔE_{em}^{th}	f	λ_{em}^{th}
1	45% 32%	H→L H-3→L	4.029	0.159	308	0.22	0.122	0.590	/	/	/
2	48% 25%	H→L H-3→L	4.111	0.197	302	0.86	0.375	0.576	/	/	/
3	36% 25%	H→L+1 H-1 →L+1	4.239	0.002	293	1.31	0.903	0.343			

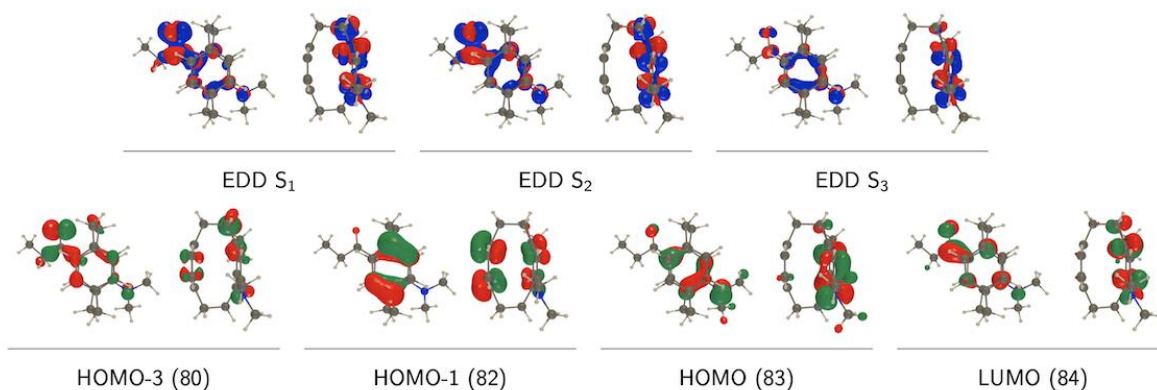


Figure S3: PCM (1,4-dioxane) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). HOMO, LUMO and EDD plots for compound **3.32** in 1,4-dioxane. MO isovalue: 0.05 au & EDD isovalue: 0.002 au. The red and blue lobes of the EDD indicate increase and decrease of the electron density upon absorption, respectively.

Table S4: PCM(Toluene) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). Principal excited states characteristics of **3.32** in Toluene– Transition energies are calculated using Eq. 1

ES	%	MO	ΔE_{abs}^{th}	f	λ_{abs}^{th}	$\Delta\mu$ (D)	D(Å)	QP(au)	ΔE_{em}^{th}	f	λ_{em}^{th}
1	53% 27%	H→L H-4→L	4.023	0.197	308	3.84	1.529	0.557	/	/	/
2	40% 30%	H→L H-3→L	4.105	0.173	302	-1.99	0.657	0.665	/	/	/
3	36% 25%	H→L+1 H-1 →L+1	4.236	0.002	293	1.43	0.927	0.359			

Table S5: PCM(DCM) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d) Principal excited states characteristics of **3.32** in DCM– Transition energies are calculated using Eq. 1

ES	%	MO	ΔE_{abs}^{th}	f	λ_{abs}^{th}	$\Delta\mu$ (D)	D(Å)	QP(au)	ΔE_{em}^{th}	f	λ_{em}^{th}
1	93%	H→L	3.912	0.366	317	4.92	1.888	0.562	3.189	0.431	389
2	47% 33%	H-3→L H-4→L	4.046	0.008	306	-3.47	1.012	0.775	/	/	/
3	35% 28%	H→L+1 H-1 →L+1	4.188	0.004	296						

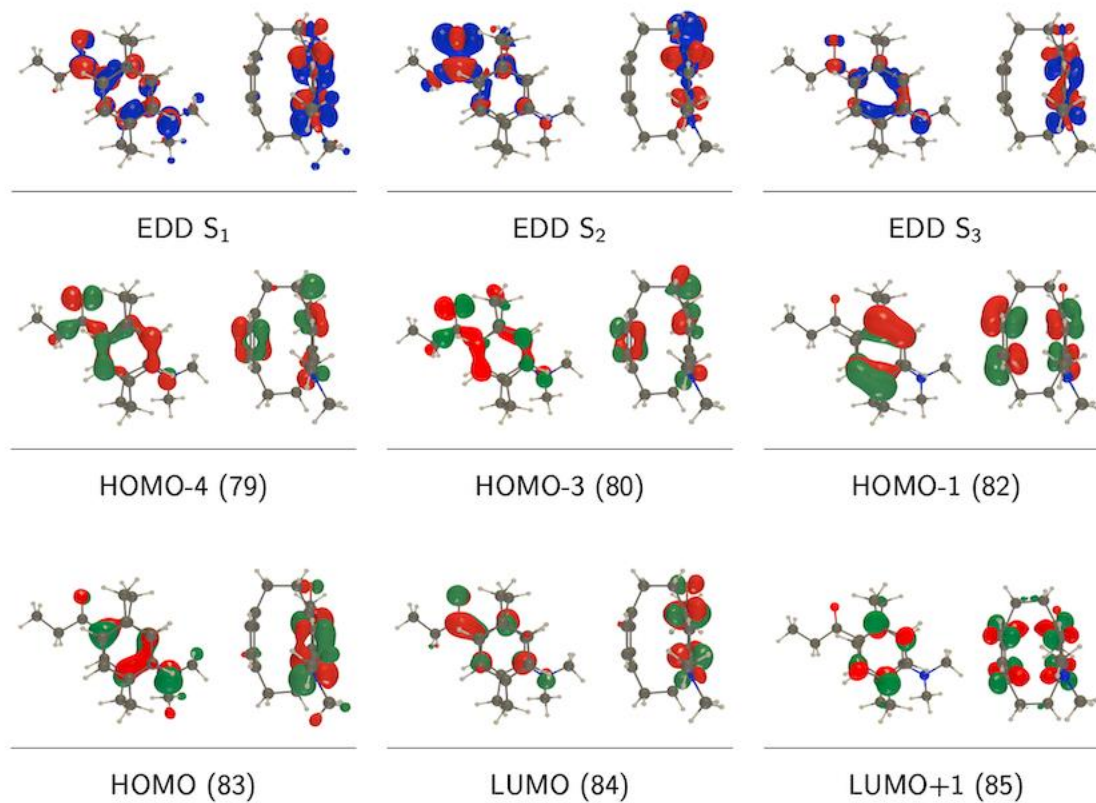


Figure S4: PCM (DCM) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). HOMO, LUMO and EDD plots for compound **3.32** in DCM. MO isovalue: 0.05 au & EDD isovalue: 0.002 au. The red and blue lobes of the EDD indicate increase and decrease of the electron density upon absorption, respectively.

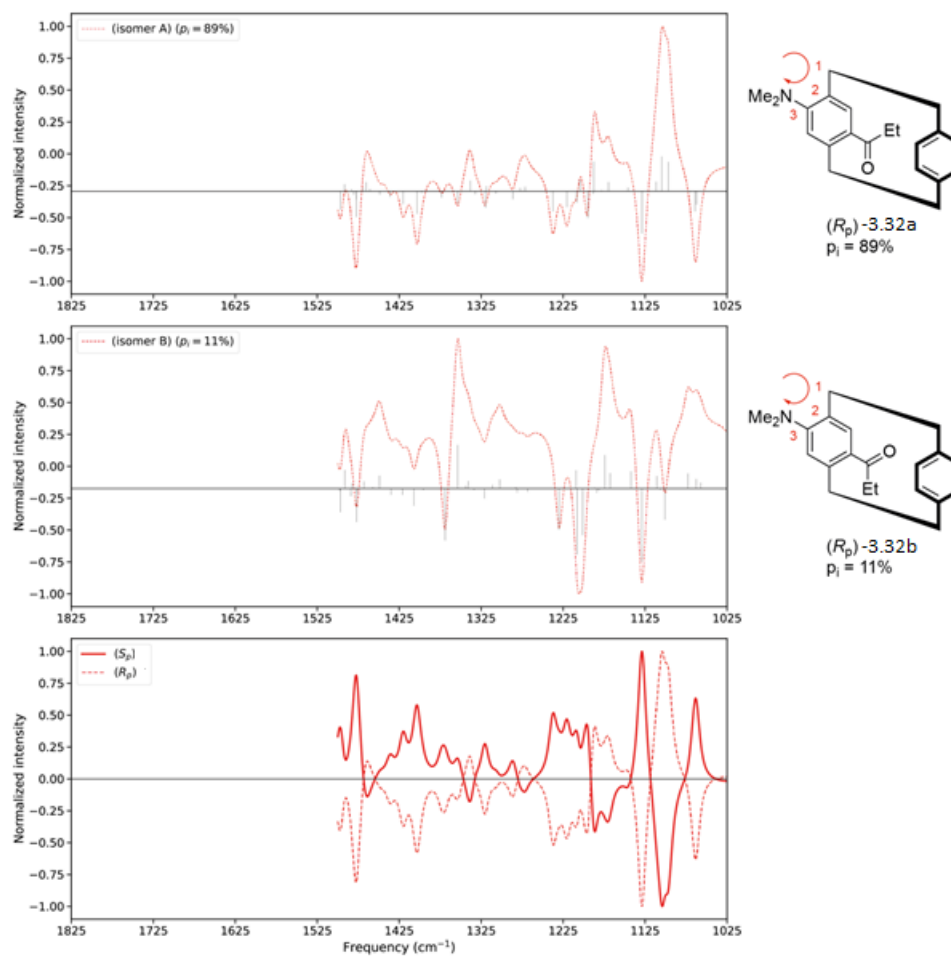


Figure S5: PCM(DCM) – B3LYP/6-31+G(d) simulated VCD for compound **3.32** in DCM. Frequencies have been scaled by 0.98. Sticks have been broadened by Lorentzian functions with $\text{FWHM} = 6 \text{ cm}^{-1}$. (R_p) -**3.32** spectrum on the bottom is weighted by the Boltzmann population of the two conformers at 298K displayed at the top, (S_p) -**3.32** spectrum is obtained mirroring (R_p) -**3.32**.

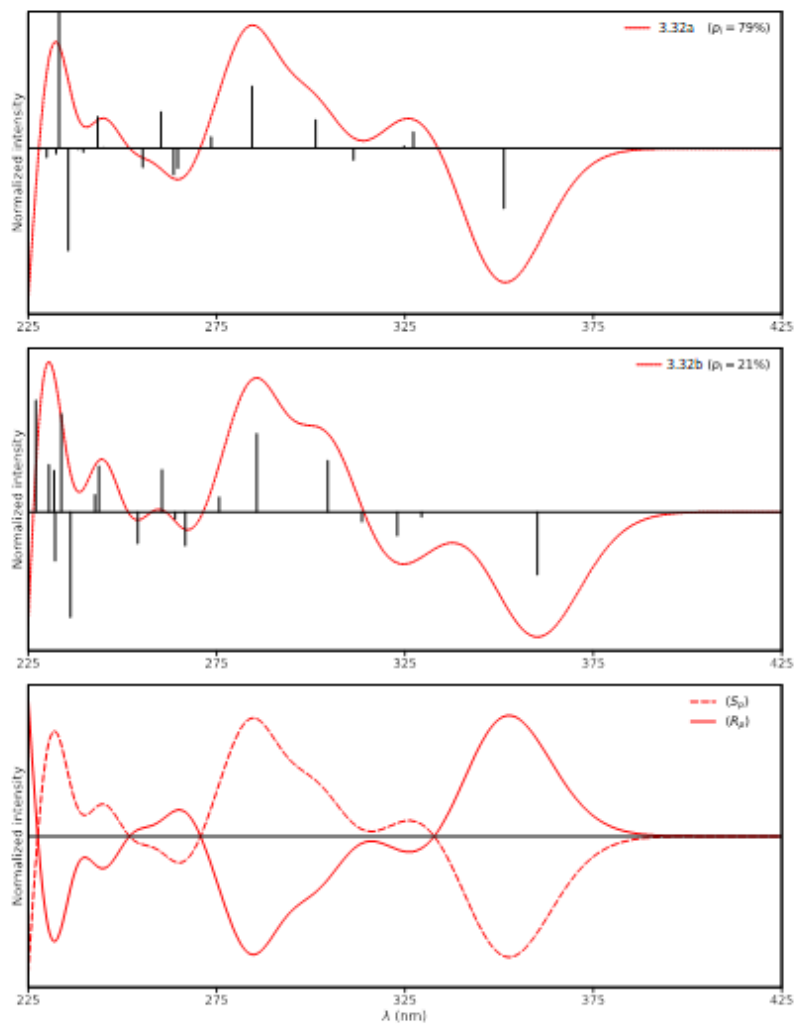


Figure S6: PCM(DCM) – B3LYP/6-311+G(2d,p) simulated ECD for compound **3.32** in DCM. Sticks have been broadened by Gaussian functions with FWHM = 0.15 eV. (R_p)–**3.32** spectrum on the bottom is weighted by the Boltzmann population of the two conformers (*vide supra*) at 298K, (S_p)–**3.32** spectrum is obtained mirroring (R_p)–**3.32**

Theoretical study on compound 3.33:

Table S6: PCM(1,4-dioxane) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). Principal excited states characteristics of **3.33** in 1,4-dioxane – Transition energies are calculated using Eq. 1.

ES	%	MO	ΔE_{abs}^{th}	f	λ_{abs}^{th}	$\Delta\mu$ (D)	D(Å)	QP(au)	ΔE_{em}^{th}	f	λ_{em}^{th}
1	77%	H-4→L	3.887	0.001	319	-2.20	0.751	0.744	3.236	0.001	383
2	52%	H→L	4.054	0.014	306	5.12	1.666	0.732	2.826	0.008	439
3	47%	H-1→L	4.167	0.030	298	5.03	1.814	0.640			
4	43%	H→L+1	4.475	0.012	277	2.35	1.192	0.455			
5	65%	H-2→L	4.768	0.141	260	4.45	1.734	0.607			
6	52%	H→L+2	4.975	0.158	249	3.86	1.585	0.600			

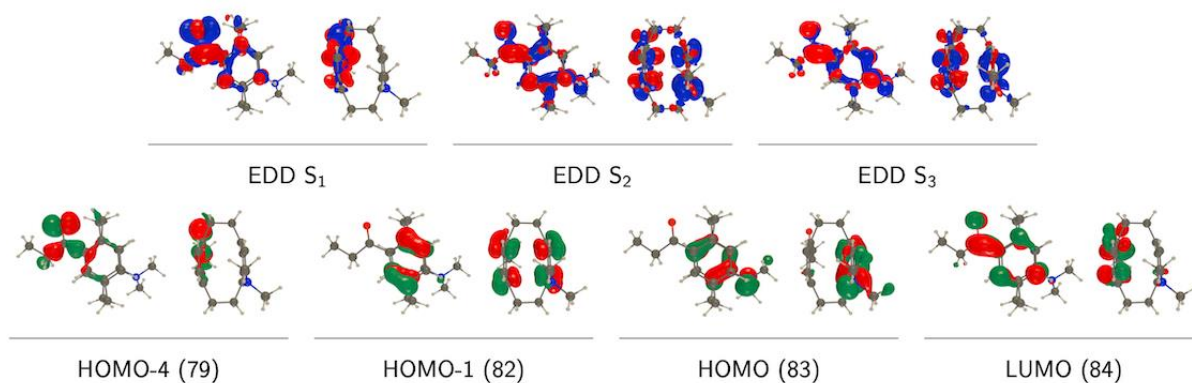


Figure S7: PCM (1,4-dioxane) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). HOMO, LUMO and EDD plots for compound **3.33** in 1,4-dioxane. MO isovalue: 0.05 au & EDD isovalue: 0.002 au. The red and blue lobes of the EDD indicate increase and decrease of the electron density upon absorption, respectively.

Table S7: PCM(Toluene) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). Principal excited states characteristics of **3.33** in Toluene– Transition energies are calculated using Eq. 1

ES	%	MO	ΔE_{abs}^{th}	f	λ_{abs}^{th}	$\Delta\mu$ (D)	D(Å)	QP(au)	ΔE_{em}^{th}	f	λ_{em}^{th}
1	77%	H-4→L	3.887	0.001	319	-2.21	0.756	0.743	3.238	0.001	383
2	53%	H→L	4.043	0.014	307	5.22	1.688	0.736	2.814	0.009	441
3	48%	H-1→L	4.158	0.031	298	5.04	1.823	0.638			
4	43%	H→L+1	4.471	0.013	277	2.38	1.198	0.457			
5	65%	H-2→L	4.758	0.150	261	4.47	1.748	0.604			
6	52%	H→L+2	4.965	0.161	250	3.97	1.607	0.604			

Table S8: PCM(DCM) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d) . Principal excited states characteristics of **3.33** in DCM– Transition energies are calculated using Eq. 1

ES	%	MO	ΔE_{abs}^{th}	f	λ_{abs}^{th}	$\Delta\mu$ (D)	D(Å)	QP(au)	ΔE_{em}^{th}	f	λ_{em}^{th}
1	76%	H-4→L	3.914	0.002	317	-2.29	0.804	0.728	3.219	0.002	385
2	61%	H→L	3.994	0.015	310	6.65	1.997	0.791	2.433	0.011	510
3	56%	H-1→L	4.126	0.028	300	5.03	1.904	0.609			
4	44%	H→L+1	4.451	0.013	279	2.81	1.385	0.468			
5	65%	H-2→L	4.725	0.146	262	5.17	2.002	0.607			
6	52%	H→L+2	4.938	0.163	251	4.58	1.848	0.602			

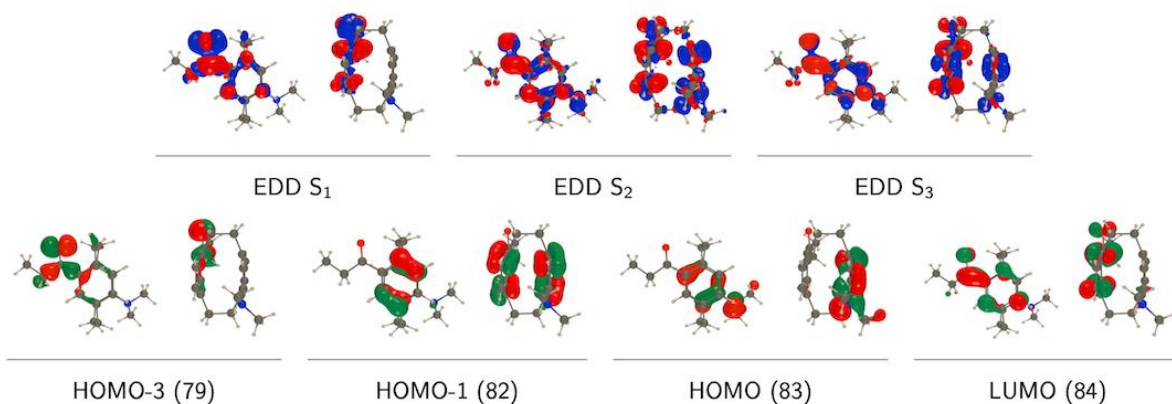


Figure S8: PCM (DCM) - ω B97X-D/ 6-311+G(2d,p) // ω B97X-D/6-31+G(d). HOMO, LUMO and EDD plots for compound **3.33** in DCM. MO isovalue: 0.0 au & EDD isovalue: 0.002 au. The red and blue lobes of the EDD indicate increase and decrease of the electron density upon absorption, respectively.

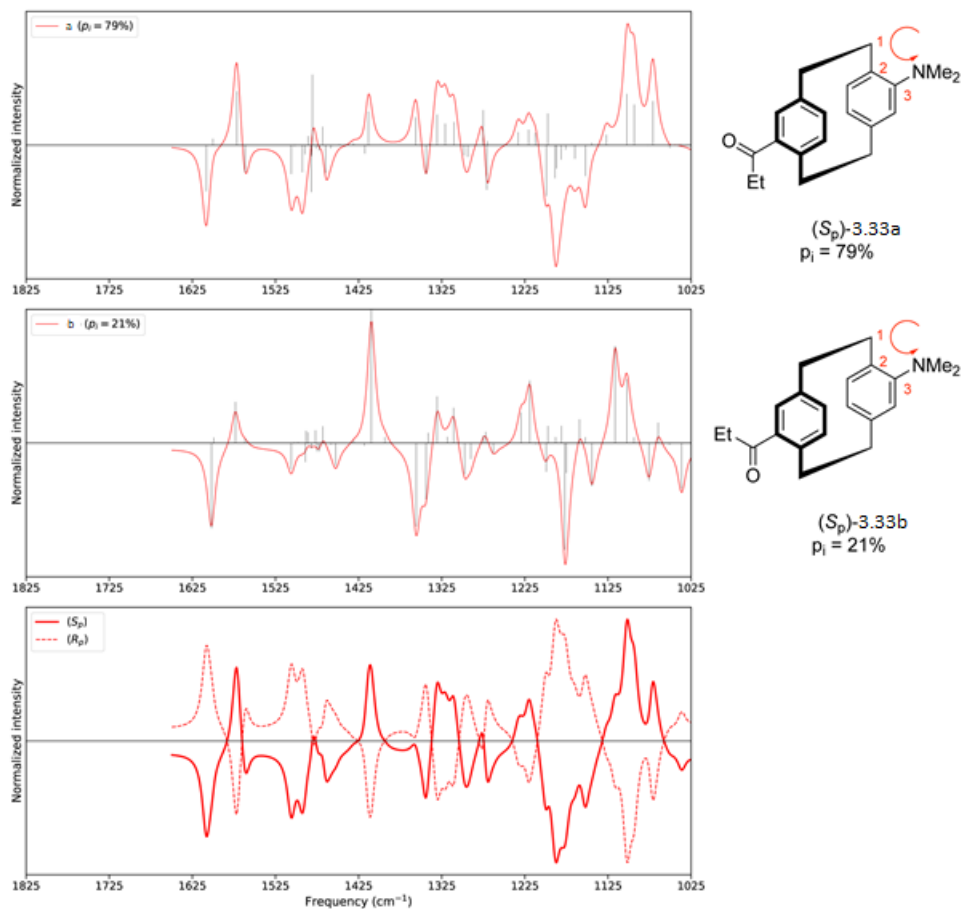


Figure S9: PCM(DCM) – B3LYP/6-31+G(d) simulated VCD for compound **3.33** in DCM/
 Frequencies have been scaled by 0.98. Sticks have been broadened by Lorentzian functions with $\text{FWHM} = 6 \text{ cm}^{-1}$. (S_p) -**3.33** spectrum on the bottom is weighted by the Boltzmann population of the two conformers showed in the two top panels at 298K, (R_p) -**3.33** spectrum is obtained mirroring (S_p) -**3.33**.

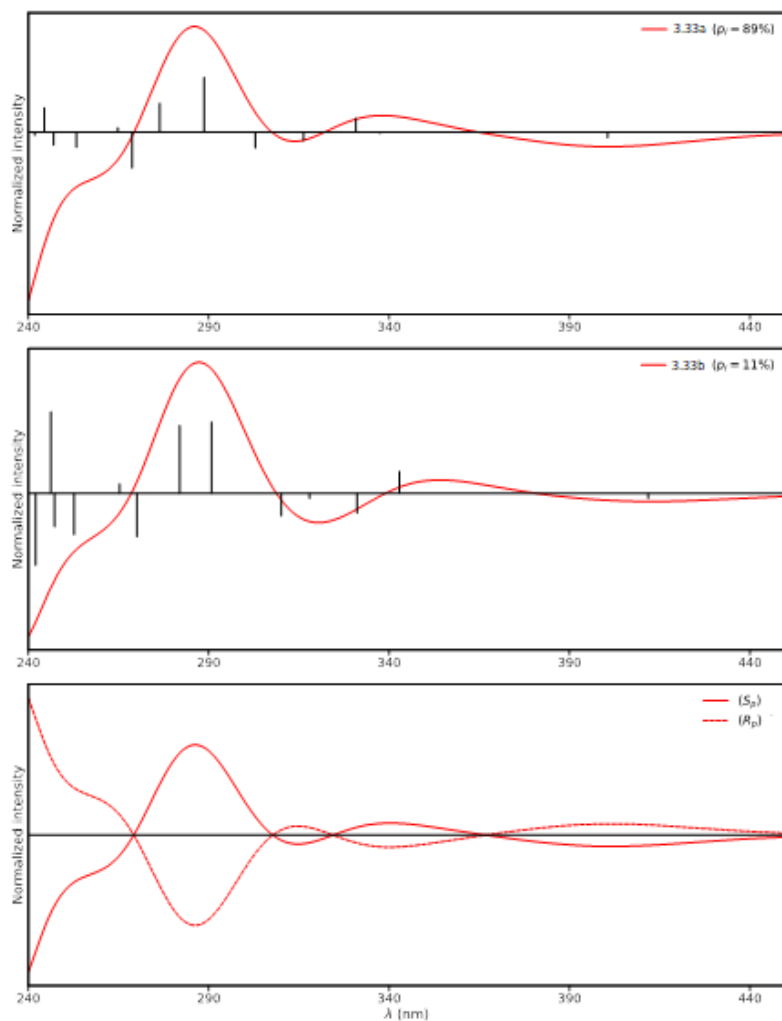


Figure S10: PCM(DCM) – B3LYP/6-311+G(2d,p) simulated ECD for compound **3.33** in DCM. Sticks have been broadened by Gaussian functions with FWHM = 0.25 eV. (S_p)-**3.33** spectrum on the bottom is weighted by the Boltzmann population of the two conformers (*vide supra*) at 298K, (R_p)-**3.33** spectrum is obtained mirroring (S_p)-**3.33**.

Chiroptical properties

IR and VCD spectra of enantiomeric pairs were recorded on a Jasco FSV-6000 spectrometer in CD_2Cl_2 in a 200 microns cell and at concentrations of 0.1 M. The half-sum of the two enantiomers has been used as the baseline for derivative **3.33**.

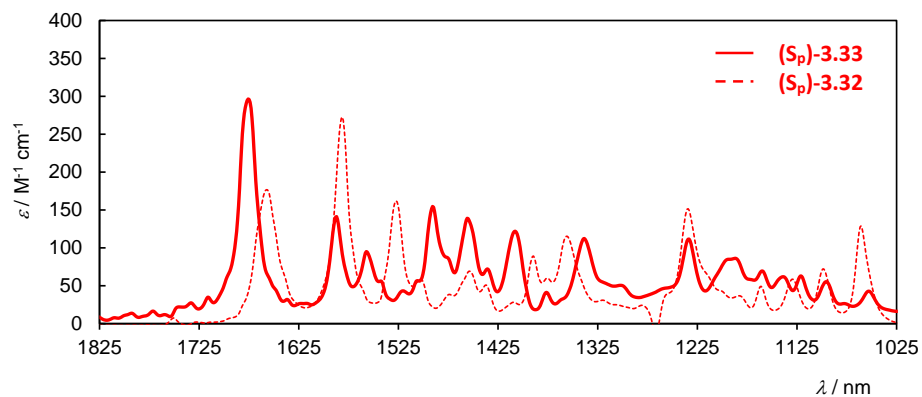


Figure S11. a) Comparison of IR spectra of (S_p)-3.32 and (S_p)-3.33 (CD_2Cl_2 , 10^{-1} M, 200 microns pathlength)

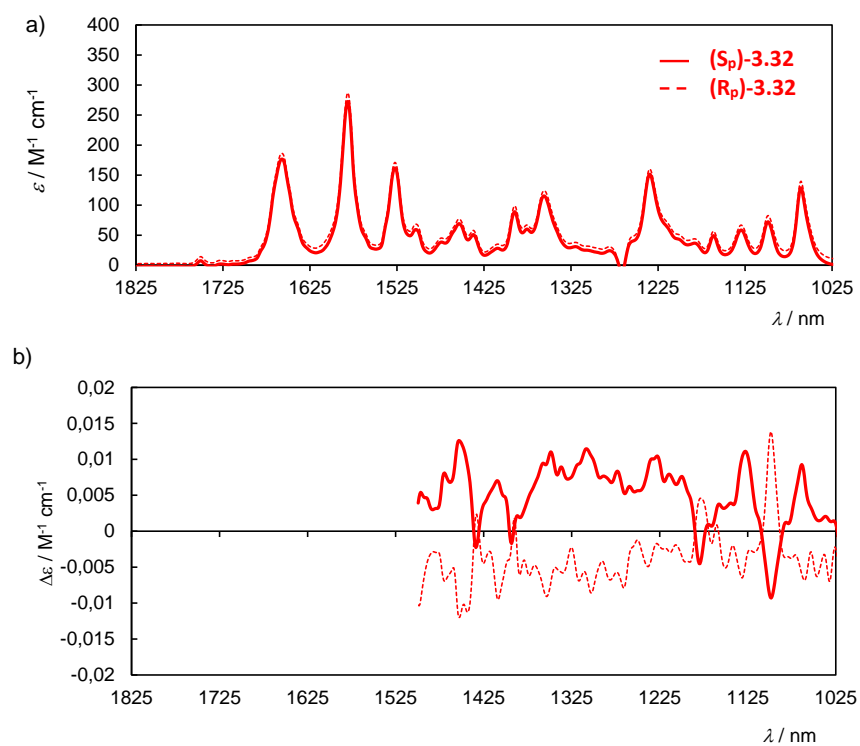
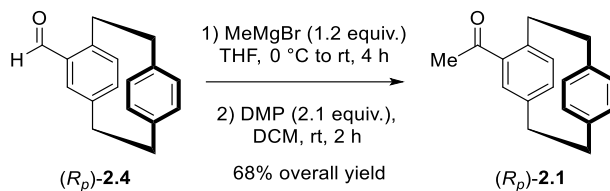


Figure S12. a) IR spectra and b) mirror-image VCD spectra of $(S_p)/(R_p)$ -3.32 (CD_2Cl_2 , 10^{-1} M, 200 microns pathlength).

III.2 Diketone ligands and bodipys

(R_p)-4-acetyl [2.2]paracyclophane 2.1

In a flame and vacuum-dried 100 mL round bottom flask, under argon, *(R_p)-2.4* (500 mg, 2.12 mmol, 1.0 equiv.) was dissolved in dry THF (30 mL) and cooled to 0 °C using an ice bath, MeMgBr (3 M in Et₂O, 0.85 mL, 2.54 mmol, 1.2 equiv.) was subsequently added dropwise using a syringe. The brown mixture was allowed to warm back to rt and was stirred for 4 h. After cooling back to 0 °C, the reaction was quenched by addition of NH₄Cl (15 mL), then diluted with water (30 mL) and EtOAc (30 mL). The resulting immiscible phases were separated and the aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 15 mL). The combined organic layers were washed with water (20 mL) and brine (20 mL), dried over MgSO₄, gravity filtered and evaporated under reduced pressure. The crude oily residue was dissolved in dry DCM (40 mL) and Dess-Martin periodinane (DMP, 1.75 g, 4.12 mmol, 2.1 equiv.) was added. The cloudy reaction mixture was stirred for 2 h at rt before addition of sat'd aq. NaHCO₃ (20 mL) and water (20 mL). The resulting immiscible phases were separated and the aqueous layer was extracted with DCM (2 x 15 mL). The combined organic layers were washed with brine (20 mL), dried over MgSO₄, gravity filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained solid residue was purified by column chromatography (SiO₂) using pentane:EtOAc (10:1) as the eluent to yield *(R_p)-2.1* (365 mg, 1.46 mmol, 68%) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.93 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.66 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 6.59 – 6.48 (m, 3H), 6.46 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 6.38 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 4.00-3.92 (m, 1H), 3.23 – 3.12 (m, 4H), 3.07 – 2.98 (m, 2H), 2.87 – 2.79 (m, 1H), 2.47 (s, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 200.3 (C), 141.6 (C), 140.3 (C), 139.7 (C), 139.1 (C), 137.8 (C), 136.4 (CH), 136.3 (CH), 134.2 (CH), 133.0 (CH), 132.8 (CH), 132.0 (CH), 131.1 (CH), 36.0 (CH₂), 35.1 (CH₂), 35.1 (CH₂), 34.8 (CH₂), 28.7 (CH₃) ppm.

IR ν 2930, 1737, 1672, 1552, 1434, 1353, 1265, 1237, 950, 899, 855, 794, 732 cm⁻¹.

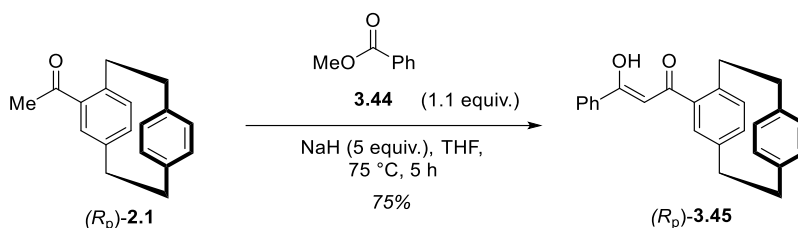
[α]₅₈₉ -17 (c 1.15, CHCl₃).

(S_p)-4-acetyl [2.2]paracyclophane 2.1

Compound (*S_p*)-**2.1** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**2.1**: (*S_p*)-**2.4** (700 mg, 2.96 mmol, 1.0 equiv.) and MeMgBr (3 M in Et₂O, 3.55 mmol, 1.2 equiv.) in dry THF (45 mL) for 4 h; this residue and DMP (1.75 g, 4.12 mmol, 1.5 equiv.) in dry DCM (45 mL). (*S_p*)-**2.1** (279 mg, 1.11 mmol, 38% over the two steps) was obtained as an amorphous white solid.

[α]₅₈₉ = + 32 (c 2, CHCl₃).

Spectroscopic data correspond to that of previously described (*R_p*)-**2.1**

(R_p)-(Z)-1-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-3-hydroxy-3-phenylprop-2-en-1-one **3.45**

In a flame and vacuum-dried vial, under an argon atmosphere, NaH (60% in mineral oil, 80 mg, 2.0 mmol, 5 equiv) was suspended in dry THF (1 mL). *(R_p)-2.4* (100 mg, 0.4 mmol, 1.0 equiv.) was dissolved in dry THF (1.5 mL) and slowly added dropwise at rt. The suspension was stirred for 1 h before addition of methyl benzoate **3.44** (55 μ L, 0.44 mmol, 1 mL). The vial was then sealed and heated to 75 $^\circ$ C in an oil bath. After 5 h, the orange solution was cooled to 0 $^\circ$ C, and a diluted HCl aq. solution (2 N, 5 mL) was slowly added. Water (5 mL) and EtOAc (10 mL) were then added and the resulting immiscible phases were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 5 mL). The combined organic layers were washed with water (10 mL) and brine (10 mL), dried over MgSO₄, gravity filtered and evaporated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography (SiO₂) using Cy:EtOAc (20:1) as the eluent to yield *(R_p)-2.1* (107 mg, 0.3 mmol, 75 %) as an orange sticky solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.03 – 7.91 (m, 2H), 7.54 (dd, J = 5.0, 3.7 Hz, 1H), 7.53 – 7.42 (m, 2H), 6.92 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.72 – 6.62 (m, 2H), 6.63 – 6.51 (m, 3H), 6.49 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 3.94 – 3.86 (m, 1H), 3.24 – 3.11 (m, 3H), 3.05 (ddd, J = 15.1, 6.9, 3.4 Hz, 2H), 2.96 (ddd, J = 13.1, 9.4, 6.9 Hz, 2H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 189.7 (C), 183.9 (C), 140.4 (C), 140.1 (C), 139.9 (C), 139.3 (C), 136.7 (C), 136.4 (CH), 136.0 (CH), 135.5 (C), 132.8 (CH), 132.7 (CH), 132.6 (CH), 132.4 (CH), 132.3 (CH), 131.7 (CH), 128.7 (2CH), 127.0 (2CH), 96.8 (CH), 35.7 (CH₂), 35.5 (CH₂), 35.3 (CH₂), 35.2 (CH₂) ppm.

IR ν 2927, 1738, 1599, 1566, 1456, 1365, 1228, 1217, 913, 775, 744 cm⁻¹.

$[\alpha]_{589}$ = -124 (c 0.4, CHCl₃).

Spectroscopic data are in agreement with the literature.³¹⁹

(S_p)-(Z)-1-(1,4(1,4)-dibenzencyclohexaphane-12-yl)-3-hydroxy-3-phenylprop-2-en-1-one **3.45**

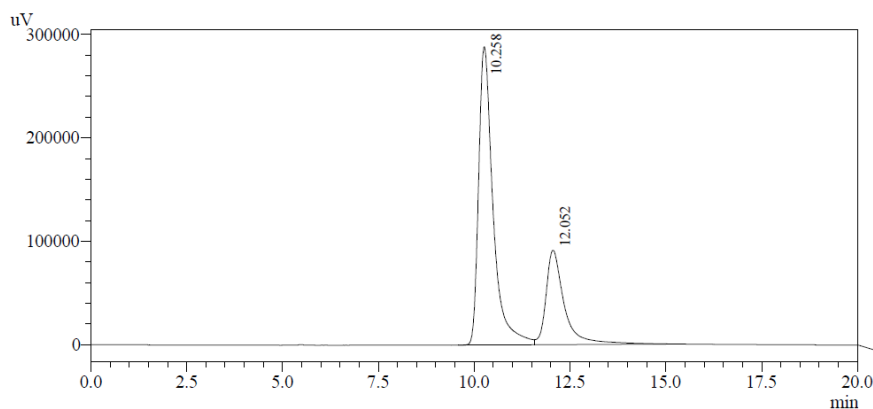
Compound (*S_p*)-**3.45** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.45**: NaH (60% in mineral oil, 144 mg, 3.6 mmol, 5 equiv.), (*S_p*)-**2.1** (180 mg, 0.72 mmol, 1.0 equiv.), methyl benzoate **3.44** (100 μ L, 0.79 mmol, 1.1 equiv.) in dry THF (4.5 mL). (*S_p*)-**3.45** (189 mg, 0.53 mmol, 74 % yield) was isolated as an orange sticky solid.

Spectroscopic data correspond to that of previously described for compound (*R_p*)-**3.45**.

$[\alpha]_{589} = +119$ (c 0.36, CHCl₃).

HPLC analysis : $t_{R1} = 10.3$ min; $t_{R2} = 12.1$ min. [Column = Chiralcel OD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); T = 20 °C; flow = 1 mL/min; $\lambda = 350$ nm).]

Co-injection of (*R_p*)-**3.45** and (*S_p*)-**3.45**.

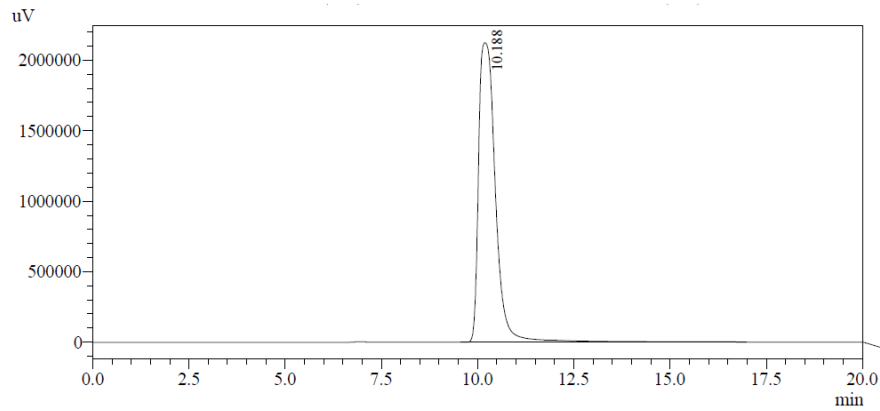


1 PDA Multi 1 / 350nm 4nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.258	7569580	288502	71.160	75.948
2	12.052	3067774	91368	28.840	24.052
Total		10637354	379870	100.000	100.000

Injection of pure (*R_p*)-**3.45**: $t_R = 10.2$ min.

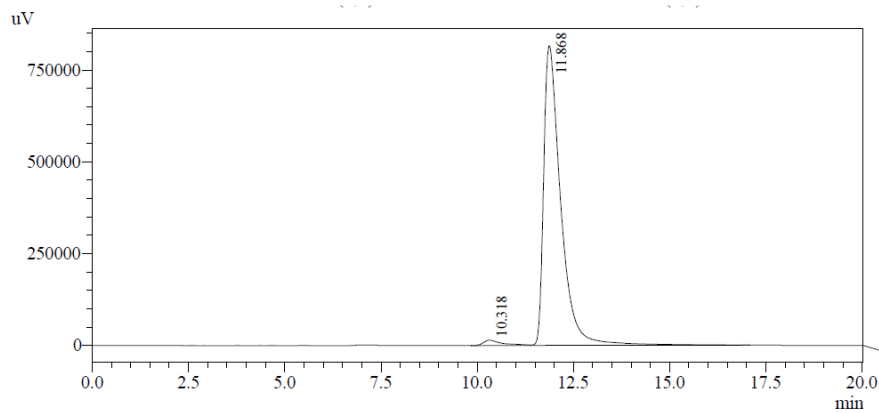


1 PDA Multi 1 / 350nm 4mm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.188	64878899	2122890	100.000	100.000
Total		64878899	2122890	100.000	100.000

Injection of pure (*S_p*)-**3.45**: $t_R = 11.9$ min.

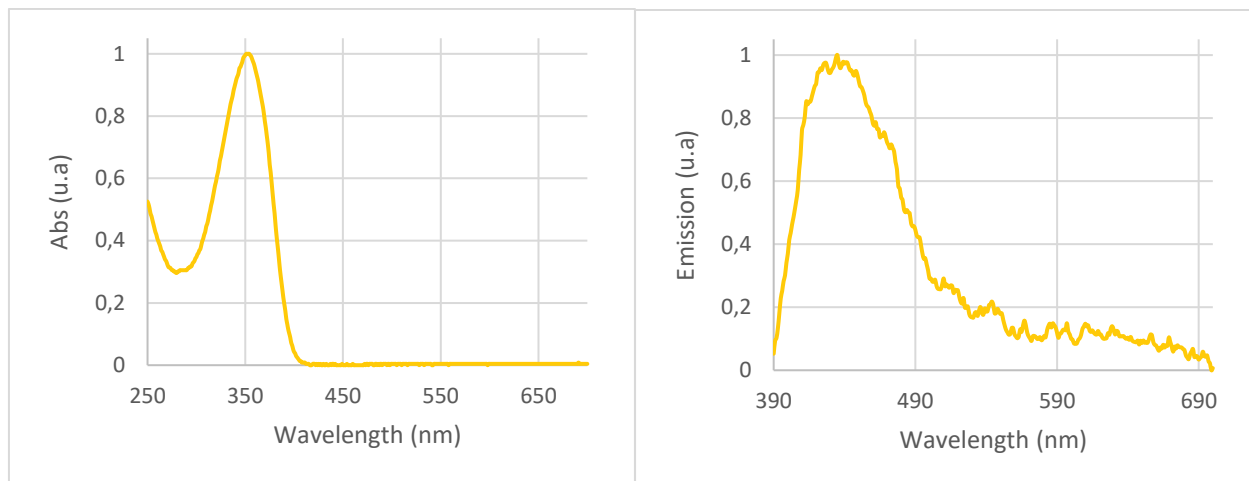


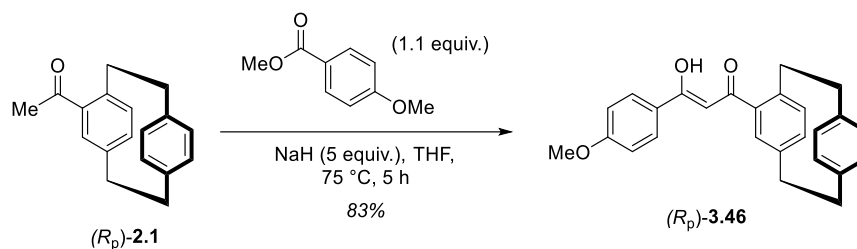
1 PDA Multi 1 / 350nm 4mm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.318	495498	14408	1.927	1.735
2	11.868	25214739	816198	98.073	98.265
Total		25710237	830606	100.000	100.000

UV-vis : Absorbance max: 354 nm (10^{-5} M solution in DCM); Emission max: 435 nm (10^{-5} M solution in CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm).



(R_p)-(Z)-1-(1,4(1,4)-dibenzeneacyclobexaphane-12-yl)-3-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one **3.46**

Compound *(R_p)-3.46* was prepared following the procedure employed to synthesize product *(R_p)-3.45*: NaH (60% in mineral oil, 32 mg, 0.8 mmol, 5 equiv.), *(R_p)-2.1* (40 mg, 0.16 mmol, 1.0 equiv.), methyl *p*-anisate (29 mg, 0.18 mmol, 1.1 equiv.) in dry THF (1 mL). Column eluent = Cy:EtOAc 10:1. *(R_p)-3.46* (51 mg, 0.13 mmol, 83 %) was obtained as a yellow amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.96-7.91 (m, 2H), 7.00-6.96 (m, 2H), 6.91-6.88 (m, 1H), 6.67 (dd, *J* = 1.4, 9 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 1.7, 8.5 Hz, 1H), 6.59-6.52 (m, 3H), 6.46 (dd, *J* = 1.3, 8 Hz, 1H), 6.4 (s, 1H), 3.95-3.82 (m, 5H), 3.22-3.09 (m, 4H), 3.09-3.00 (m, 2H), 3.00-2.88 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) 187.8 (C), 184.7 (C), 163.1 (C), 140.1 (C), 139.9 (C), 139.9 (C), 139.3 (C), 136.8 (C), 136.3 (CH), 135.7 (CH), 132.8 (CH), 132.6 (CH), 132.4 (CH), 131.8 (CH), 129.2 (CH), 128.2 (CH), 114.0 (CH), 113.9 (CH), 113.6 (CH), 96.0 (CH), 55.5 (CH₃), 35.6 (CH₂), 35.5 (CH₂), 35.3 (CH₂), 35.2 (CH₂) δ ppm.

IR ν 2929, 1715, 1603, 1508, 1456, 1438, 1306 1259, 1231, 1173, 1029, 844, 803 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) *m/z*: [M+H]⁺ Calcd for C₂₆H₂₅O₃ 385.1798; Found 385.1787

[α]₅₈₉ = - 166 (c 0.6, CHCl₃).

(S_p)-(Z)-1-(1,4(1,4)-dibenzeneacyclobexaphane-12-yl)-3-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one **3.46**

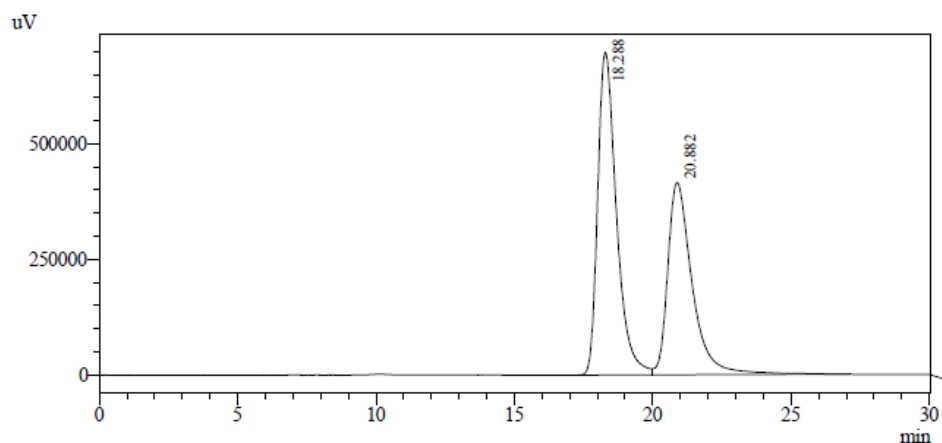
Compound *(S_p)-3.46* was prepared following the procedure employed to synthesize product *(R_p)-3.45*: NaH (60% in mineral oil, 40 mg, 1 mmol, 5 equiv.), *(S_p)-2.1* (50 mg, 0.2 mmol, 1.0 equiv.), methyl *p*-anisate (36.5 mg, 0.22 mmol, 1.1 equiv.) in dry THF (1.25 mL). Column eluent = Cy:EtOAc 10:1. *(R_p)-3.46* (51 mg, 0.13 mmol, 76 %) was obtained as a yellow amorphous solid.

[α]₅₈₉ = +159 (c 0.8, CHCl₃).

Spectroscopic data correspond to that previously described for compound (*R_p*)-**3.46**

HPLC analysis : t_{R1} = 18.3 min; t_{R2} = 20.9 min. [Column = Chiralcel OD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); T = 20 °C; flow = 1 mL/min; λ = 350 nm).]

Co-injection of (*R_p*)-**3.46** and (*S_p*)-**3.46**.



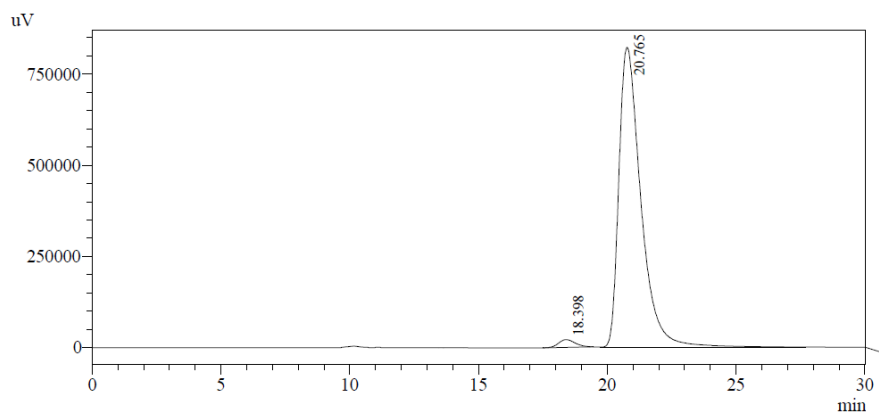
1 PDA Multi 1 / 350nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 350nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	18.288	32849475	698220	56.172	62.673
2	20.882	25630714	415847	43.828	37.327
Total		58480189	1114067	100.000	100.000

Injection of pure (*R_p*)-**3.46**: t_{R1} = 18.4 min; t_{R2} = 20.8 min



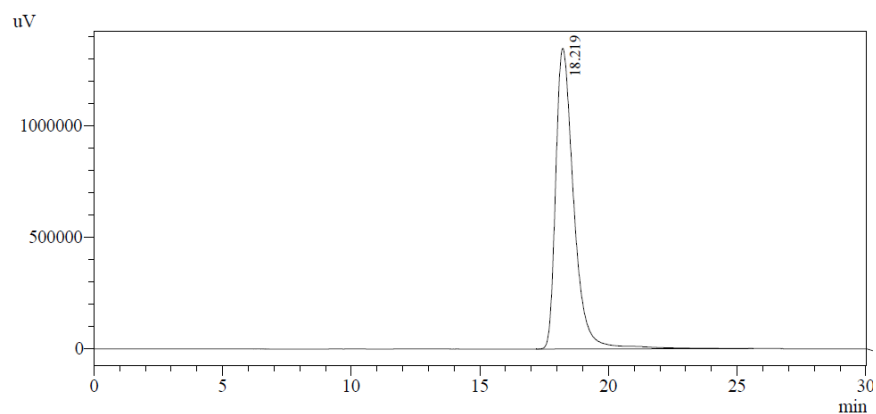
1 PDA Multi 1 / 350nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 350nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	18.398	962236	21405	1.926	2.535
2	20.765	48998629	822865	98.074	97.465
Total		49960865	844270	100.000	100.000

Injection of pure (*S_p*)-**3.46**: $t_{R1} = 18.2$ min



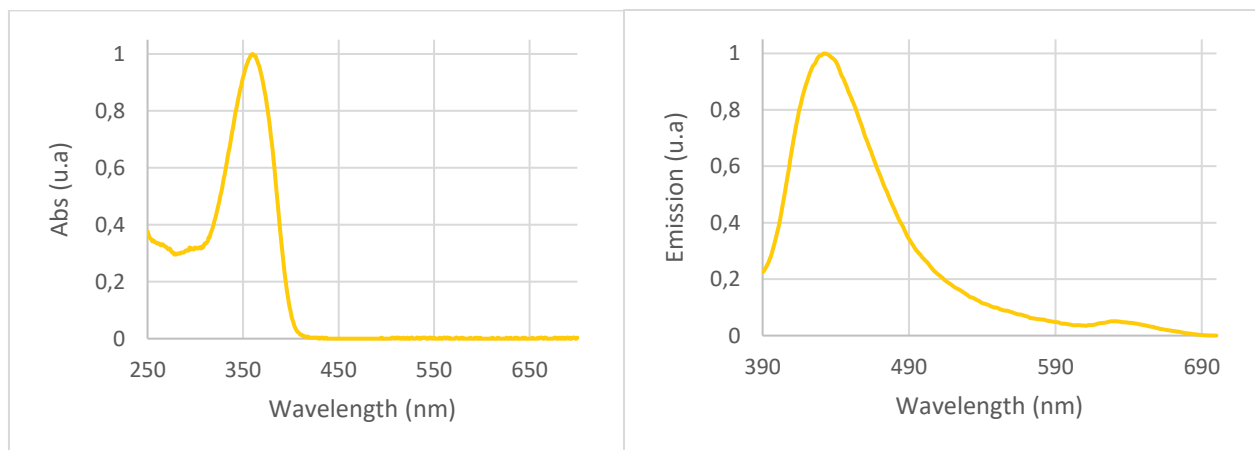
1 PDA Multi 1 / 350nm 4nm

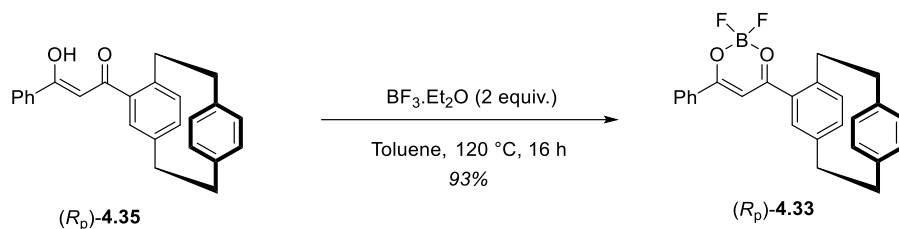
PeakTable

PDA Ch1 350nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	18.219	65888016	1347037	100.000	100.000
Total		65888016	1347037	100.000	100.000

UV-vis: Absorbance max: 360 nm (10^{-5} M solution in CHCl_3); Emission max: 435 nm (10^{-6} M solution in CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}} = 360$ nm).



(R_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclohexaphane-12-yl)-2,2-difluoro-6-phenyl-2H-1,3B,2H-dioxaborinine 3.43

In a flame and vacuum-dried vial, under argon atmosphere, (*R_p*)-**3.45** (44 mg, 0.12 mmol, 1.0 equiv.) was dissolved in dry toluene (1 mL). $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (30 μL , 0.24 mmol, 2.0 equiv.) was slowly added dropwise at rt, turning the orange solution brown. The vial was sealed and the reaction mixture was heated at 120 °C for 16 h. The solution was then cooled back to rt and evaporated under reduced pressure. The resulting crude residue was purified by column chromatography (SiO_2) using pentane:EtOAc (8:2) as the eluent to yield (*R_p*)-**3.43** (45 mg, 0.11 mmol, 93 %) as a bright yellow solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.19 – 8.06 (m, 2H), 7.73 – 7.62 (m, 1H), 7.56 (dd, $J = 10.7, 5.0$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.78 (dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.64 – 6.58 (m, 2H), 6.58 – 6.54 (m, 1H), 6.49 – 6.45 (m, 1H), 4.00 (ddd, $J = 13.1, 9.0, 2.9$ Hz, 1H), 3.30 – 3.12 (m, 4H), 3.12 – 2.97 (m, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl_3) 185.8 (C), 181.9 (C), 143.4 (C), 140.8 (C), 139.7 (C), 139.2 (C), 138.6 (CH), 137.3 (CH), 134.9 (CH), 134.2 (CH), 133.1 (C), 132.8 (CH), 132.7 (CH), 132.3 (CH), 132.2 (C), 132.1 (CH), 129.2 (2CH), 128.8 (2CH), 96.6 (CH), 36.7 (CH_2), 35.6 (CH_2), 35.2 (CH_2), 35.0 (CH_2) ppm.

¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl_3) δ 139.96 (qd, $J = 74.8, 29.1$ Hz, 2F) ppm.

IR ν 2927, 2855, 1733, 1593, 1533, 1491, 1364, 1235, 1173, 1071, 1041, 908, 780, 719 cm^{-1} .

$[\alpha]_{589}$ = -82 (c 1, CHCl_3).

Spectroscopic data are in agreement with the literature.³¹⁹

(S_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzencyclohexaphane-12-yl)-2,2-difluoro-6-phenyl-2H-1,3l3,2l4-dioxaborinine 3.43

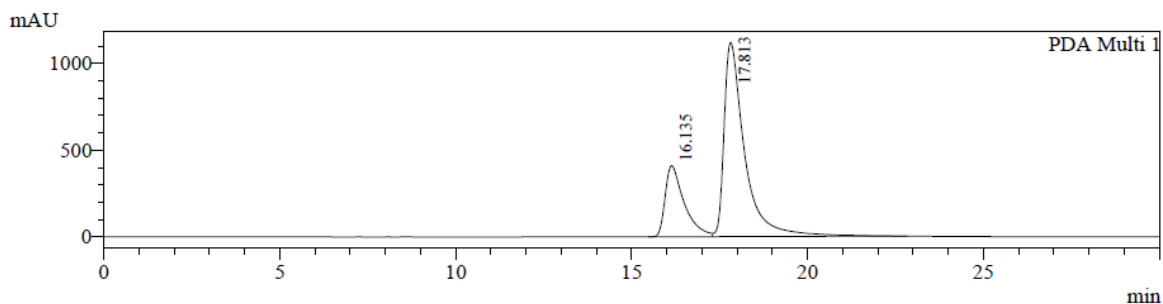
Compound (*S_p*)-**3.43** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.43** : (*S_p*)-**3.45** (49 mg, 0.14 mmol, 1.0 equiv.), BF₃·Et₂O (33 μL, 0.26 mmol, 2.0 equiv.) in dry toluene (1 mL). (*S_p*)-**3.43** was obtained (54 mg, 0.14 mmol, 99 %) as a yellow amorphous solid.

[α]₅₈₉ = +71 (c 1.1, CHCl₃).

Spectroscopic data correspond to that previously described for compound (*R_p*)-**3.43**.

HPLC analysis : t_{R1} = 16.1 min; t_{R2} = 17.8 min. [Column = Chiralcel OD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (9:1); T = 20 °C; flow = 1 mL/min; λ = 350 nm).]

Co-injection of (*R_p*)-**3.43** and (*S_p*)-**3.43**.



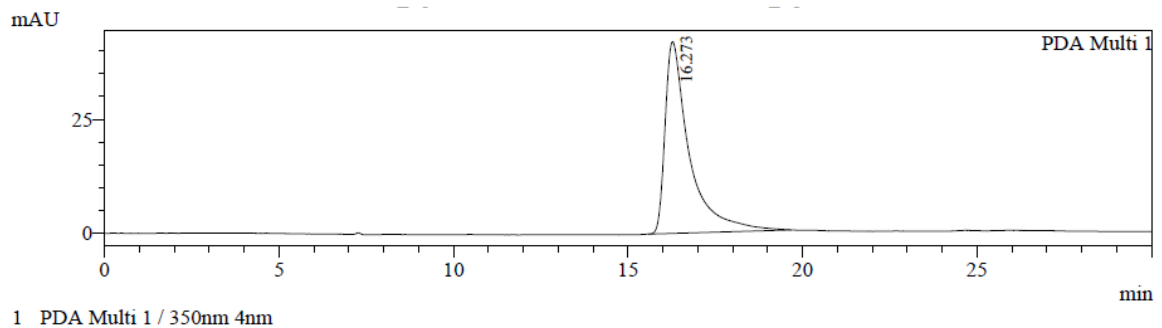
1 PDA Multi 1 / 350nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 350nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	16.135	15440860	410692	25.236	26.824
2	17.813	45743845	1120344	74.764	73.176
Total		61184705	1531037	100.000	100.000

Injection of (*R_p*)-**3.43**: $t_{R1} = 16.3$ min

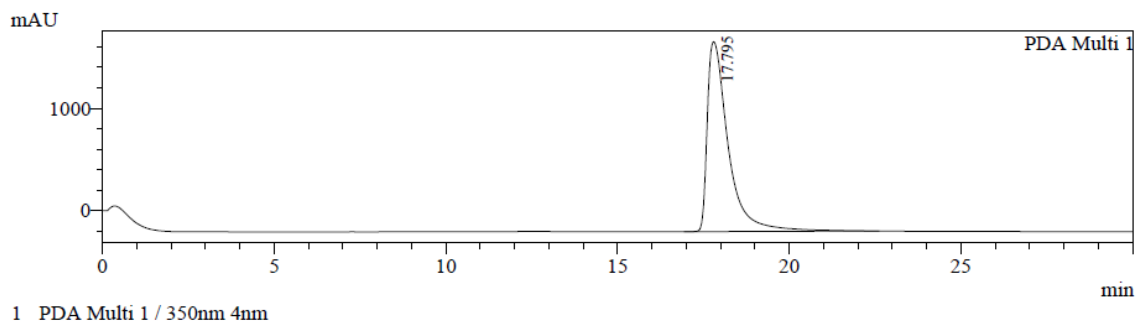


PeakTable

PDA Ch1 350nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	16.273	2036788	42046	100.000	100.000
Total		2036788	42046	100.000	100.000

Injection of (*S_p*)-**3.43**: $t_{R2} = 17.8$ min.

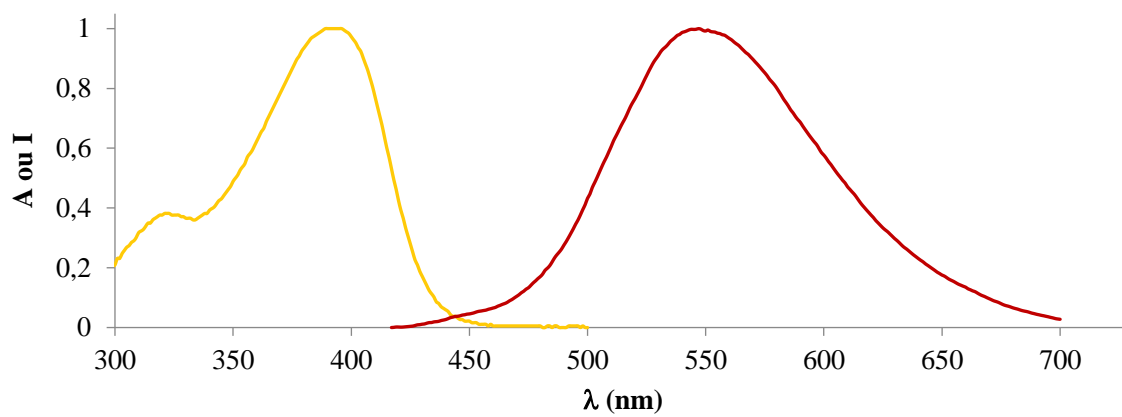


PeakTable

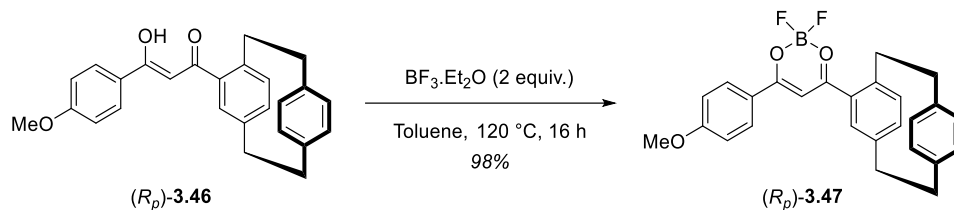
PDA Ch1 350nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	17.795	78878294	1853850	100.000	100.000
Total		78878294	1853850	100.000	100.000

UV-vis: Absorbance max: 390 nm (10^{-5} M solution in CHCl_3); Emission max: 505 nm (10^{-6} M solution in CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}} = 360$ nm).



(R_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-2,2-difluoro-6-(4-methoxyphenyl)-2H-1,3B,2H-dioxaborinine 3.47



Compound (*R_p*)-**3.47** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.43**: (*R_p*)-**3.46** (15 mg, 0.04 mmol, 1.0 equiv.), $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (10 μL , 0.08 mmol, 2.0 equiv.) in dry toluene (0.5 mL). Cy:DCM (2:1). (*R_p*)-**3.47** was obtained (16.5 mg, 0.04 mmol, 98 %) as a yellow amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.10-8.02 (m, 2H), 7.00 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.00-6.93 (m, 2H), 6.71-6.65 (m, 2H), 6.60-6.54 (m, 2H), 6.51 (qd, $J = 1.8, 8$ Hz, 2H), 6.48 (dd, $J = 1.7, 8$ Hz, 2H), 3.91 (td, $J = 3, 11.1$ Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.19-3.06 (m, 4H), 3.04-2.88 (m, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 184.2 (C), 181.1 (C), 165.5 (C), 142.8 (C), 140.7 (C), 139.8 (C), 138.1 (CH), 138.1 (CH), 137.1 (CH), 134.0 (CH), 133.4 (C), 132.8 (CH), 132.7 (CH), 132.3 (CH), 132.1 (CH), 131.4 (CH), 114.7 (CH), 95.8 (CH), 55.8 (CH_3), 36.6 (CH_2), 35.6 (CH_2), 35.2 (CH_2), 35.1 (CH_2) ppm.

IR ν 2930, 1738, 1541, 1506, 1364, 1239, 1178, 1040, 911, 813, 734 cm^{-1} .

HRMS (ESI-Orbitrap) m/z : $[\text{M}+\text{Na}]$ Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{BF}_2\text{O}_3\text{Na}$ 455.1601; Found 455.1584.

$[\alpha]_{589}$ = -438 (c 0.34, CHCl_3).

(S_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-2,2-difluoro-6-(4-methoxyphenyl)-2H-1,3B,2H-dioxaborinine 3.47

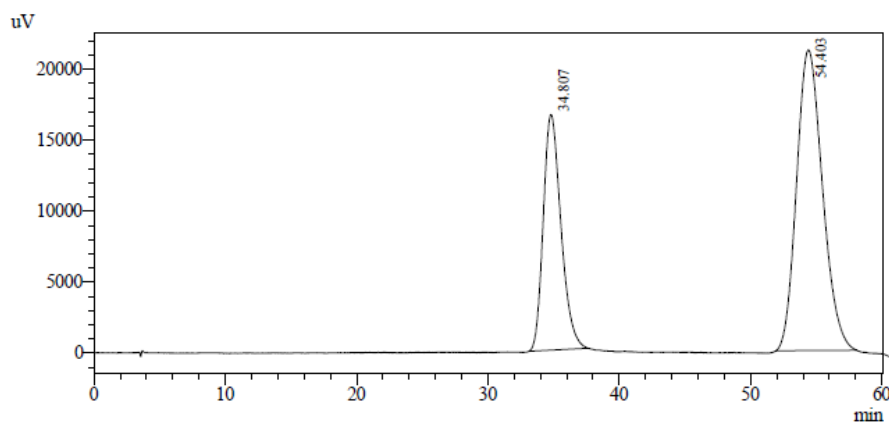
Compound (*S_p*)-**3.47** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.47**: (*S_p*)-**3.46** (20 mg, 0.05 mmol, 1.0 equiv.), $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (13 μL , 0.10 mmol, 2.0 equiv.) in dry toluene (0.5 mL). Cy:DCM (2:1). (*S_p*)-**3.47** was obtained (20.2 mg, 0.05 mmol, 90 %) as a yellow amorphous solid.

Spectroscopic data correspond to that previously described for compound (*R_p*)-**3.47**.

$[\alpha]_{589} = +444$ (c 0.43, CHCl₃).

HPLC analysis : $t_{R1} = 34.8$ min; $t_{R2} = 54.4$ min. [Column = Chiralcel OD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); T = 20 °C; flow = 1 mL/min; $\lambda = 400$ nm).]

Co-injection of (*R_p*)-**3.47** and (*S_p*)-**3.47**.



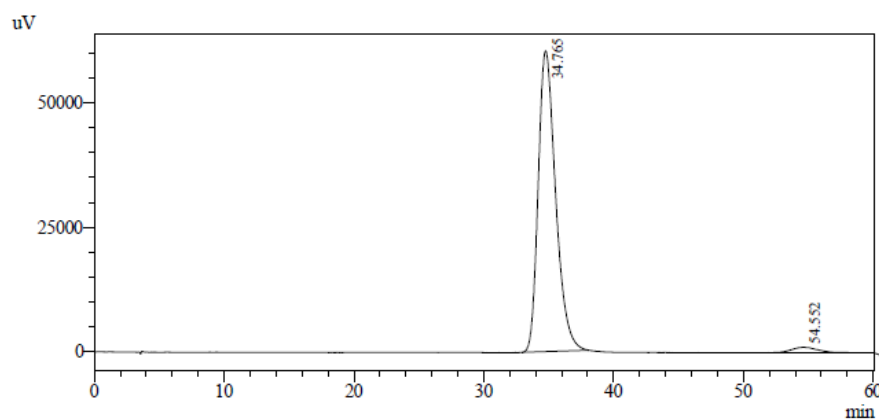
1 PDA Multi 1 / 400nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 400nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	34.807	1554374	16597	34.806	43.935
2	54.403	2911448	21179	65.194	56.065
Total		4465822	37776	100.000	100.000

Injection of (*R_p*)-**3.47**: $t_{R1} = 34.8$ min; $t_{R2} = 54.6$ min



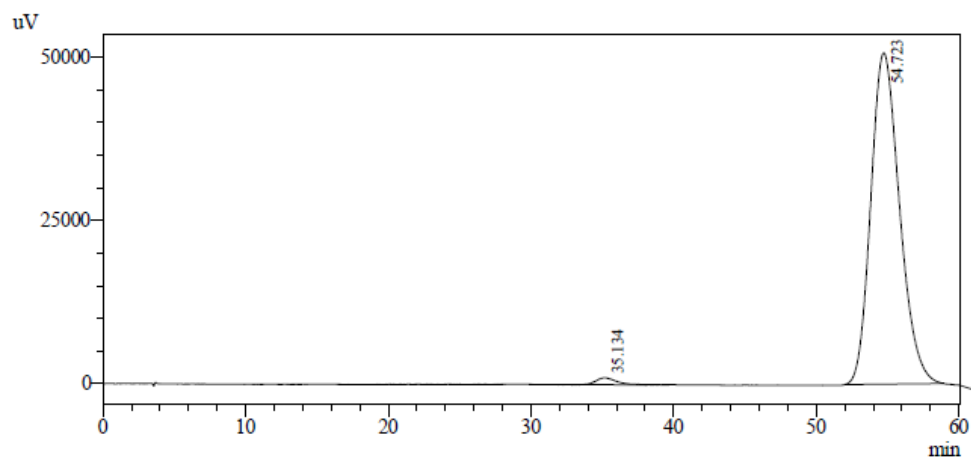
1 PDA Multi 1 / 400nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 400nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	34.765	5630465	60387	97.338	98.202
2	54.552	153977	1105	2.662	1.798
Total		5784442	61493	100.000	100.000

Injection of (*S_p*)-**3.47**: $t_{R1} = 35.1$ min; $t_{R2} = 54.7$ min



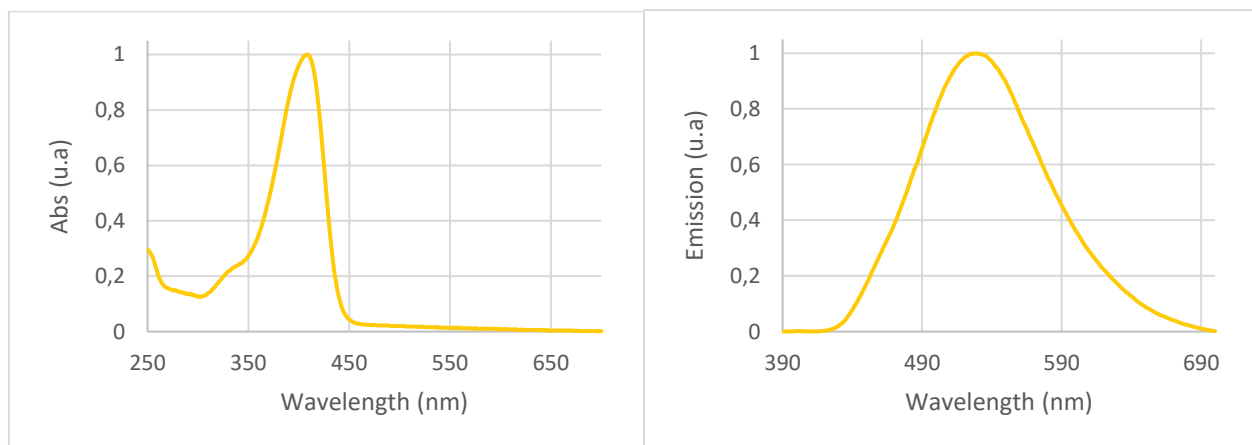
1 PDA Multi 1 / 400nm 4nm

PeakTable

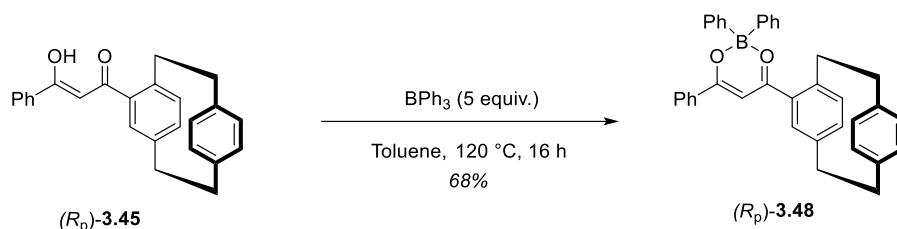
PDA Ch1 400nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	35.134	105727	1053	1.468	2.035
2	54.723	7098795	50706	98.532	97.965
Total		7204522	51759	100.000	100.000

UV-vis: Absorbance max: 408 nm (10^{-5} M solution in CHCl_3); Emission max: 535 nm (10^{-6} M solution in CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}} = 360$ nm). QY = 2,6 %⁸



⁸ Relative quantum yield (QY) was calculated using anthracene in cyclohexane as fluorescence standard (QY = 36%). The excitation wavelength was fixed at 340 nm for both the sample and the standard.

(R_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-2,2,6-triphenyl-2H-1,3B,2H-dioxaborinine 3.48

Compound (*R_p*)-**3.48** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.43**: (*R_p*)-**3.45** (50 mg, 0.14 mmol, 1.0 equiv.), BPh₃ (171 mg, 0.71 mmol, 5.0 equiv.) in dry toluene (1 mL). Column eluent = Cy:DCM (2:1). (*R_p*)-**3.48** was obtained (50 mg, 0.1 mmol, 68 %) as a yellow amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.71-7.63 (m, 4H), 7.56 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.35-7.29 (m, 4H), 7.25-7.20 (m, 2H), 7.16 (d, *J* = 2 Hz, 1H), 6.71 (dd, *J* = 1.7, 8 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.61 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 6.57-6.53 (m, 2H), 6.48-6.42 (m, 2H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.25-3.14 (m, 2H), 3.12-2.96 (m, 4H), 2.96-2.88 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 185.0 (C), 181.4 (C), 142.3 (C), 140.4 (C), 139.6 (C), 139.3 (C), 137.3 (CH), 136.8 (CH), 137.1 (CH), 134.0 (CH), 133.4 (C), 132.8 (CH), 132.7 (CH), 132.3 (CH), 132.1 (CH), 131.4 (CH), 114.7 (CH), 95.8 (CH), 55.8 (CH₃), 36.6 (CH₂), 35.6 (CH₂), 35.2 (CH₂), 35.1 (CH₂) ppm.

IR ν 3016, 2970, 1738, 1529, 1365, 1228, 1216, 993, 911, 882, 744 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) *m/z*: [M+H]⁺ Calcd for C₃₇H₃₁BO₂ 519.2417; Found 519.3855

[α]₅₈₉ = -125 (c 0.40, CHCl₃)

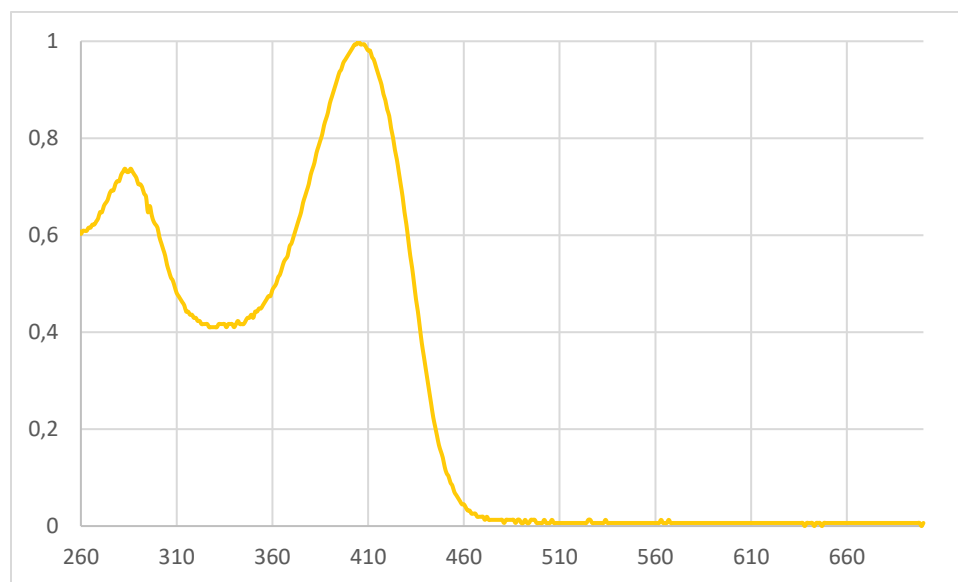
(S_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-2,2,6-triphenyl-2H-1,3B,2H-dioxaborinine 3.48

Compound (*S_p*)-**3.48** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.48**: (*S_p*)-**3.45** (50 mg, 0.14 mmol, 1.0 equiv.), BPh₃ (171 mg, 0.71 mmol, 5.0 equiv.) in dry toluene (1 mL). Column eluent = Cy:DCM (2:1). (*S_p*)-**3.48** was obtained (46 mg, 0.09 mmol, 62 %) as a yellow amorphous solid.

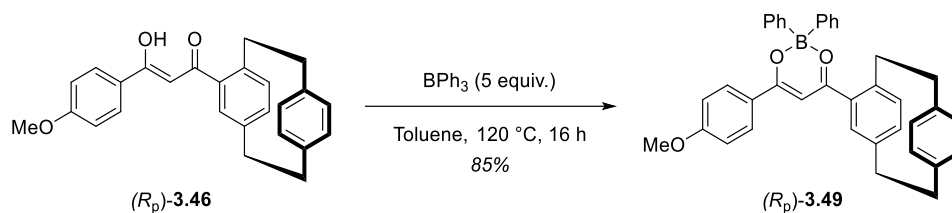
Spectroscopic data correspond to that previously described for compound (*R_p*)-**3.48**.

[α]₅₈₉ = +138 (c 0.50, CHCl₃).

UV-vis: Absorbance max: 405 nm (10^{-5} M solution in CHCl_3); only very weak emission detected.



(R_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-2,2-diphenyl-2H-1,3B,2H-dioxaborinine 3.49



Compound (*R_p*)-**3.49** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.43**: (*R_p*)-**3.46** (15 mg, 0.04 mmol, 1.0 equiv.), BPh₃ (47 mg, 0.2 mmol, 5.0 equiv.) in dry toluene (0.5 mL). Column eluent = Cy:DCM (2:1). (*R_p*)-**3.49** was obtained (18 mg, 0.03 mmol, 85 %) as a yellow amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.11-8.05 (m, 2H), 7.61 (td, *J* = 1.0, 8.7 Hz, 4H), 7.24 (td, *J* = 1.4, 8.0 Hz, 4H) 7.18-7.13 (m, 2H), 7.07 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.99-6.94 (m, 2H), 6.61 (dd, *J* = 1.7, 8.1 Hz, 1H), 6.52 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.50-6.48 (m, 3H), 6.39 (s, 2H), 3.94-3.87 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.19-3.06 (m, 2H), 3.04-2.80 (m, 5H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 183.7 (C), 180.8 (C), 164.7 (C), 141.9 (C), 140.3 (C), 139.6 (C), 137.3 (CH), 136.8 (CH), 135.0 (C), 133.7 (CH), 132.7 (CH), 132.5 (CH), 132.5 (CH), 132.3 (CH), 131.7 (2CH), 131.6 (2CH), 130.9 (2CH), 127.2 (4CH), 126.5 (2CH), 126.4 (2CH), 125.7 (C), 114.4 (2CH), 96.9 (CH), 55.7 (CH₃) 36.3 (CH₂), 35.5 (CH₂), 35.2 (CH₂), 35.1 (CH₂) ppm.

IR ν 2930, 1604, 1534, 1517, 1501, 1355, 1266, 1174, 1026, 992, 881, 738 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) *m/z*: [M+H]⁺ Calcd for C₃₈H₃₄BO₃ 549.2523; Found 549.2586.

[α]₅₈₉ = -91 (c 0.55, CHCl₃)

(S_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-2,2-diphenyl-2H-1,3B,2H-dioxaborinine 3.49

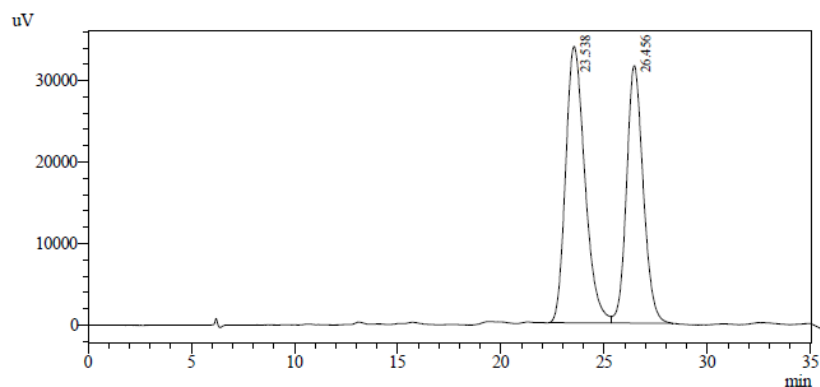
Compound (*S_p*)-**3.49** was prepared following the procedure employed to synthesize product (*R_p*)-**3.49** (page 15): (*S_p*)-**3.46** (20 mg, 0.05 mmol, 1.0 equiv.), BPh₃ (63 mg, 0.26 mmol, 5.0 equiv.) in dry toluene (0.5 mL). Column eluent = Cy:DCM (2:1). (*S_p*)-**3.46** was obtained (18 mg, 0.03 mmol, 64 %) as a yellow amorphous solid.

Spectroscopic data correspond to that previously described for compound (*R_p*)-**3.49**.

$[\alpha]_{589} = +93$ (c 0.57, CHCl₃).

HPLC analysis : $t_{R1} = 23.6$ min; $t_{R2} = 26.5$ min. [Column = Chiralcel AD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (93:7); T = 20 °C; flow = 1 mL/min; $\lambda = 400$ nm.)]

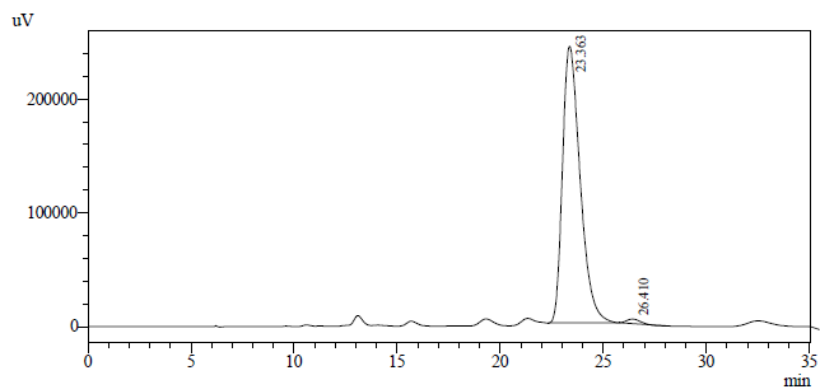
Co-injection of (*R_p*)-**3.49** and (*S_p*)-**3.49**.



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	23.538	2197621	33915	55.291	51.767
2	26.456	1777057	31600	44.709	48.233
Total		3974679	65515	100.000	100.000

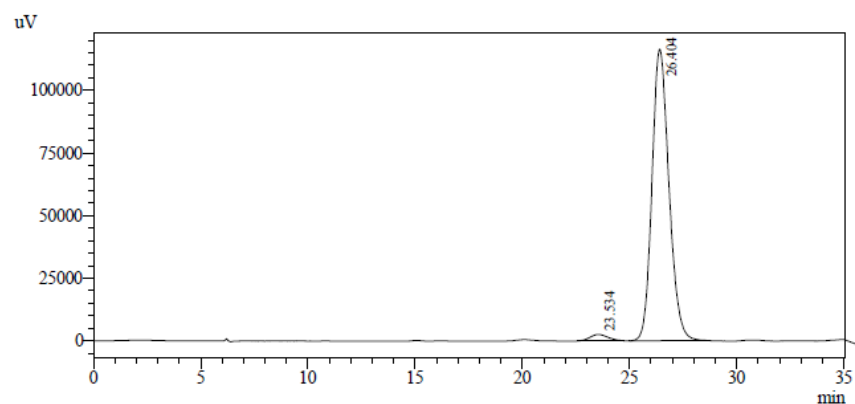
Injection of (*R_p*)-**3.49**: $t_{R1} = 23.4$ min; $t_{R2} = 26.4$ min



PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	23.363	14467476	242931	98.799	98.363
2	26.410	175865	4044	1.201	1.637
Total		14643342	246975	100.000	100.000

Injection of (*S_p*)-**3.49**: $t_{R1} = 23.5$ min; $t_{R2} = 26.4$ min



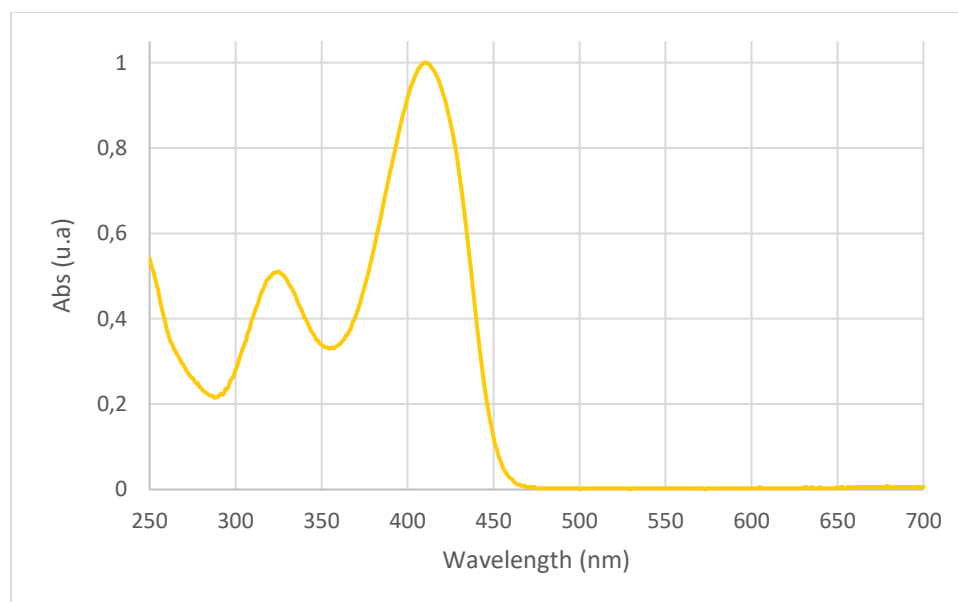
1 PDA Multi 1 / 410nm 4nm

PeakTable

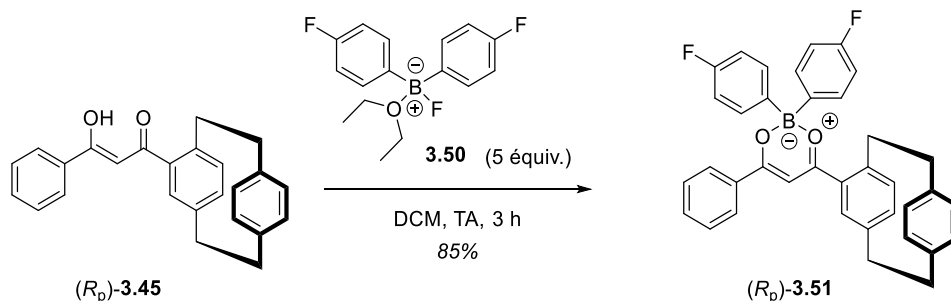
PDA Ch1 410nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	23.534	144068	2508	2.197	2.109
2	26.404	6412492	116422	97.803	97.891
Total		6556560	118930	100.000	100.000

UV-vis: Absorbance max: 411 nm (10^{-5} M solution in CHCl_3); only very weak emission detected.



(R_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)-2,2-bis(4-fluorophenyl)-6-phenyl-2H-1,3B,2H-dioxaborinine **3.51**



Compound (R_p) -**3.50** was prepared following a procedure previously reported and used as such immediately.³²¹

Compound (R_p) -**3.51** was prepared following a modified procedure previously employed to synthesize product (R_p) -**3.43** : (R_p) -**3.45** (50 mg, 0.14 mmol, 1.0 equiv.), **3.50** (207 mg, 0.71 mmol, 5.0 equiv.) in dry DCM (1.5 mL) for 3h. Column eluent = Cy:DCM (2:1 to 1:2). (R_p) -**3.51** was obtained (11 mg, 0.019 mmol, 14 %) as a yellow amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (dd, $J = 3.1, 9.2$ Hz, 2H), 7.61 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.54-7.47 (m, 6H), 7.06 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.93 (q, $J = 9.7$ Hz, 2H), 6.65 (dd, $J = 3.1, 7.9$ Hz, 1H), 6.55 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.5 (s, 2H), 6.36 (q, $J = 11$ Hz, 2H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.25-3.14 (m, 2H), 3.12-2.96 (m, 1H), 2.95-2.88 (m, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 185.0 (C), 181.4 (C), 164.3 (C), 161.4 (C), 142.4 (C), 140.5 (C), 139.5 (C), 139.3 (C), 138.0, (CH), 137.1 (CH), 134.4 (C), 134.4 (CH), 133.9 (CH), 133.3 (CH), 133.3 (CH), 133.2 (C), 133.1 (CH), 133.1 (CH), 132.7 (CH), 132.7 (CH), 132.3 (CH), 132.2 (CH), 129.1 (2CH), 128.4 (2CH), 114.2 (CH), 114.1 (CH), 97.4 (CH), 36.5 (CH₂), 35.5 (CH₂), 35.2 (CH₂), 35.1 (CH₂) ppm.

IR ν 2926, 1738, 1593, 1530, 1490, 1355, 1263, 1203, 1089, 994, 910 892, 828, 734 cm⁻¹.

HRMS (ESI-Orbitrap) m/z : [M]⁻ Calcd for C₃₇H₂₉BF₂O₂ 554.2229; Found 554.2580.

$[\alpha]_{589}$ = -96 (c 0.45, CHCl₃)

(S_p)-4-(1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-1₂-yl)-2,2-bis(4-fluorophenyl)-6-phenyl-2H-1,3λ³,2λ⁴-dioxaborinine 3.51

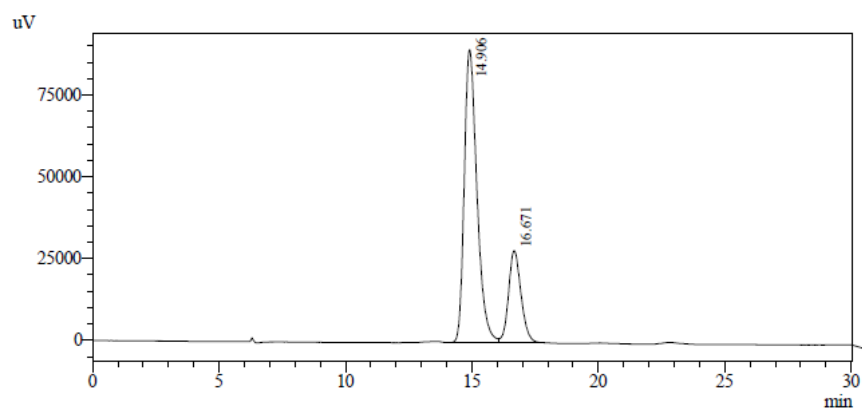
Compound (*S_p*)-**3.51** was prepared following the procedure previously employed to synthesize product (*R_p*)-**3.51** : (*R_p*)-**3.45** (50 mg, 0.14 mmol, 1.0 equiv.), **3.50** (207 mg, 0.71 mmol, 5.0 equiv.) in dry DCM (1.5 mL) for 3h. Column eluent = Cy:DCM (2:1 to 1:2). (*R_p*)-**3.51** was obtained (19.7 mg, 0.019 mmol, 25 %) as a yellow amorphous solid.

Spectroscopic data correspond to that previously described for compound (*R_p*)-**3.51**.

$[\alpha]_{589} = +104$ (c 0.56, CHCl₃).

HPLC analysis : $t_{R1} = 14.9$ min; $t_{R2} = 16.7$ min. [Column = Chiralcel AD (250 x 4.6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (95:5); T = 20 °C; flow = 0.5 mL/min; $\lambda = 400$ nm).]

Co-injection of (*R_p*)-**3.51** and (*S_p*)-**3.51**.



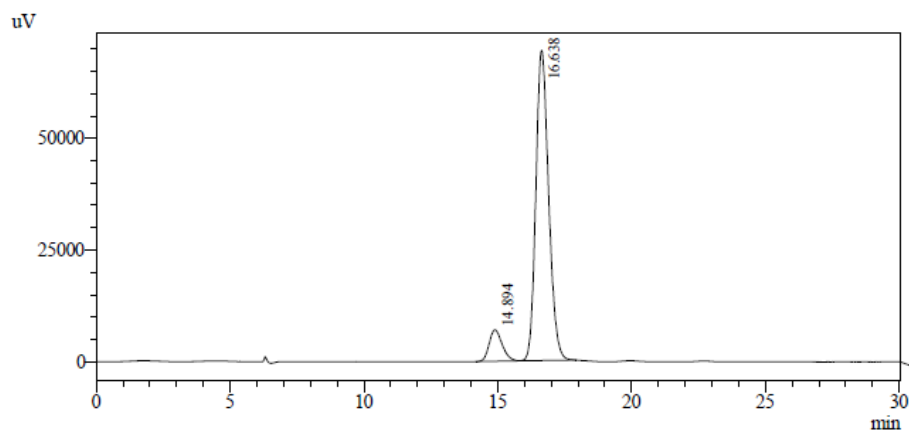
1 PDA Multi 1 / 410nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 410nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	14.906	3131158	89488	76.412	76.069
2	16.671	966590	28153	23.588	23.931
Total		4097748	117641	100.000	100.000

Injection of (*R_p*)-**3.51**: $t_{R1} = 14.9$ min; $t_{R2} = 16.6$ min



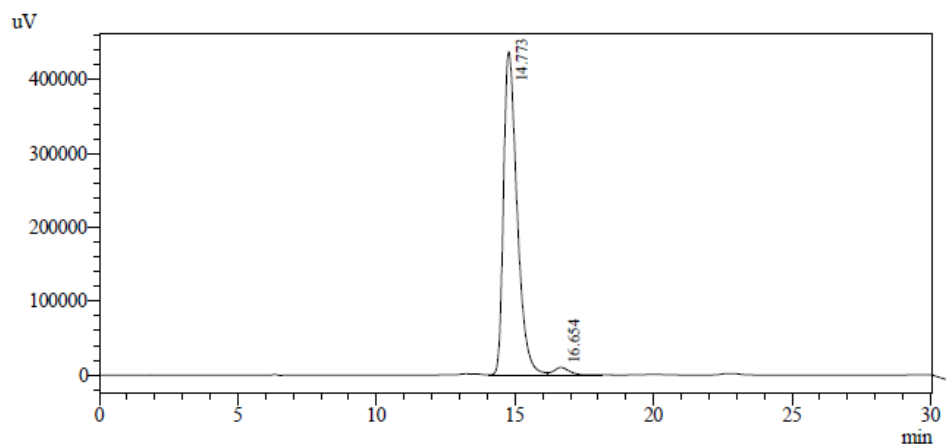
1 PDA Multi 1 / 410nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 410nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	14.894	237425	7036	9.308	9.203
2	16.638	2313458	69418	90.692	90.797
Total		2550883	76454	100.000	100.000

Injection of (*S_p*)-**3.51**: $t_{R1} = 14.8$ min; $t_{R2} = 16.7$ min



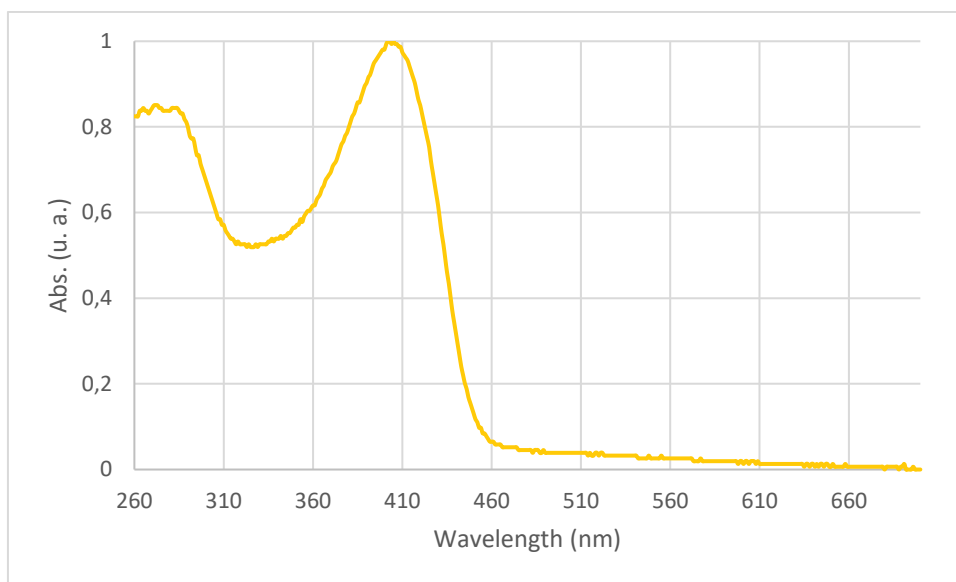
1 PDA Multi 1 / 410nm 4nm

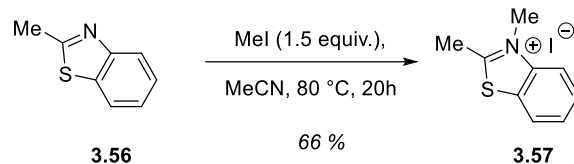
PeakTable

PDA Ch1 410nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	14.773	14886095	437575	97.454	97.749
2	16.654	388855	10075	2.546	2.251
Total		15274950	447649	100.000	100.000

UV-vis: Absorbance max: 405 nm (10^{-5} M solution in CHCl_3); only very weak emission detected.



III.3 Synthesis and characterization of cyanines **3.54** and **3.55**2,3-dimethylbenzo[d]thiazol-3-ium iodide **3.57**

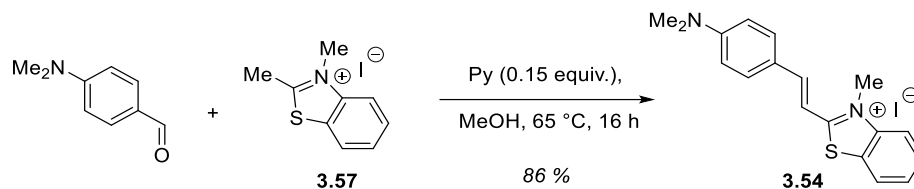
In a 25 mL round bottom flask, 2-methylbenzothiazole **3.56** (0.85 mL, 6.7 mmol, 1.0 equiv.) was dissolved in MeCN (10 mL), under an argon atmosphere, and MeI (0.63 mL, 10.0 mmol, 1.5 equiv.) was added. The flask was then equipped with a reflux condenser. The reaction was heated to 80 °C using an oil bath and stirred for 20 h. The mixture was then cooled back to rt and **3.57** (1.29 g, 4.42 mmol, 66 %) was collected as a light white precipitate after filtration on a sintered glass funnel.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.45 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.91 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.82 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 4.22 (s, 3H), 3.19 (s, 3H) ppm.

¹³C NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 176.8 (C), 141.2 (C), 128.9 (CH), 128.3 (C), 127.7 (CH), 124.1 (CH), 116.3 (CH), 35.8 (CH₃), 16.7 (CH₃) ppm.

Spectroscopic data are in agreement with the literature.⁹

⁹ a) Zhang, X. H.; Liu, Q.; Shi, H. J.; Wang, L. Y.; Fu, Y. L.; Wei, X. C.; Yang, L. F *Dyes and Pigments* **2014**, *100*, 232–240. b) Winstead, A. J.; Fleming, N.; Hart, K.; Toney, D. *Molecules* **2008**, *13*, 2107–2113.

(E)-2-(4-(dimethylamino)styryl)-3-methylbenzo[d]thiazol-3-ium iodide **3.54**

In a 10 mL round bottom flask, 4-dimethylaminobenzaldehyde (300 mg, 2 mmol, 1.0 equiv.), and compound **3.57** (582 mg, 2 mmol, 1.0 equiv.) were dissolved in MeOH (5 mL). Pyridine (24 μ L, 0.3 mmol, 0.15 equiv.) was added under stirring. The flask was then equipped with a reflux condenser and the reaction was heated to 65 °C using an oil bath. After 16 h, the reaction was cooled back to rt. A dark red precipitate formed, which was collected by filtration on a sintered glass funnel. The solid was recrystallized twice in MeOH to yield product **3.54** (730 mg, 1.73 mmol, 86 %) as a fine and shiny dark powder.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.31 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.09 (t, *J* = 12.5 Hz, 2H), 7.92 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.80 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.69 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 4.24 (s, 3H), 3.13 (s, 6H) ppm.

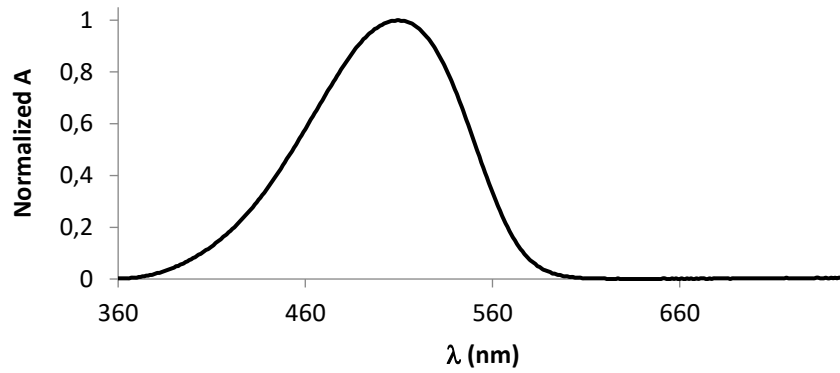
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 171.8 (C), 153.9 (C), 150.5 (CH), 142.4 (C), 133.2 (CH), 129.3 (CH), 127.8 (2CH), 127.2 (C), 124.2 (CH), 121.9 (C), 116.4 (2CH), 112.4 (CH), 106.7 (CH), 40.2 (CH₃), 35.9 (2CH₃) ppm.

HRMS (ESI): *m/z* [M]⁺ calcd for C₁₈H₁₉N₂S: 295.1263; found: 295.1254.

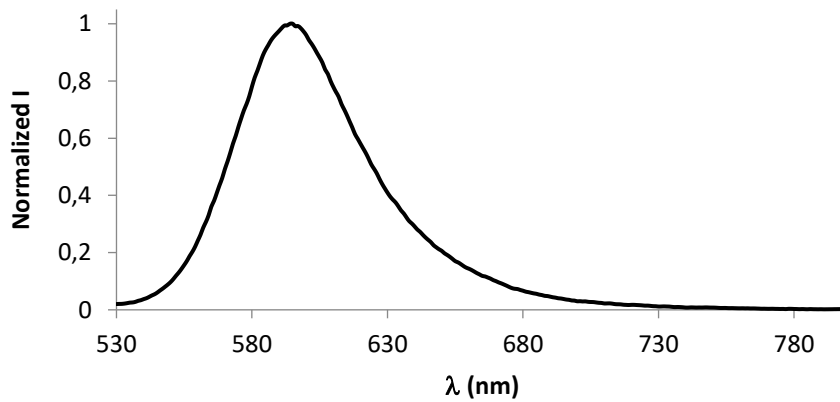
Spectroscopic data are in agreement with the literature.¹⁰

¹⁰ Sigmundová, I.; Zahradník, P.; Loos, D. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2007**, *72*, 1069–1093.

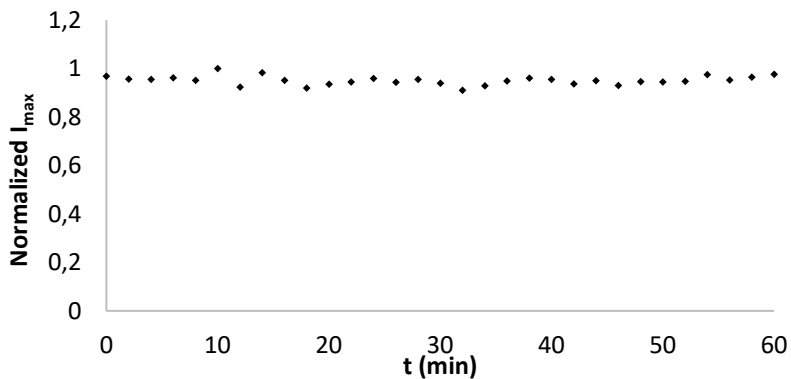
UV-Vis absorption spectrum in a TE buffer: 10^{-5} M solution of dye **3.54** ($\lambda_{\text{abs max}} = 510$ nm, $\epsilon_{\text{max}} \sim 37600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)



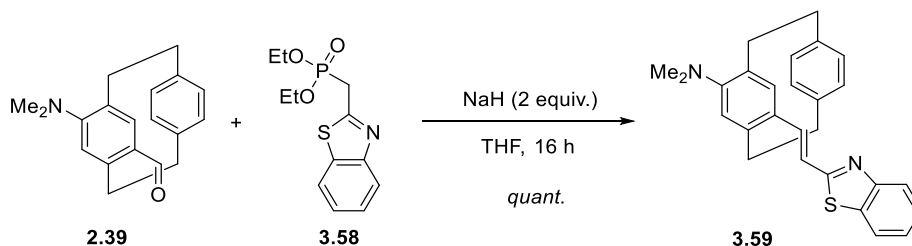
Fluorescence emission spectrum in a TE buffer: 10^{-5} M solution of dye **3.54** ($\lambda_{\text{ex}} = 500$ nm, $\lambda_{\text{em max}} = 595$ nm, QY < 1%)



Photobleaching



A 10^{-6} M solution of dye **3.54** in a TE buffer was continuously irradiated for 1 h at 20 °C ($\lambda_{\text{ex}} = 500$ nm) and maximum emission intensity changes ($\lambda_{\text{max}} = 600$ nm) were measured at 2-minute time intervals.

(E)-1⁵-(2-(benzo[d]thiazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethyl-1,4(1,4)-dibenz[*a*,*c*]cyclohexaphan-1²-amine **3.59**

To a vigorously stirred solution of freshly synthesized diethyl[(1,3-benzothiazol-2-yl)methyl]phosphonate¹¹ **3.58** (850 mg, 2.98 mmol, 2.1 equiv.) in dry THF (9 mL), NaH (60 % in mineral oil, 115 mg, 2.86 mmol, 2.0 equiv.) was added in one portion at 0 °C, under an argon atmosphere. After 15 minutes, a solution of aldehyde **2.39** (400 mg, 1.43 mmol, 1.0 equiv.) in dry THF (3 mL) was added dropwise to the reaction mixture. The ice bath was then removed and the flask was wrapped in aluminium foil. The reaction was stirred for 16 h at rt, then quenched by addition of water (5 mL) and EtOAc (5 mL). The immiscible phases were separated and the aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 10 mL). The combined organic phases were washed with brine (15 mL), dried over MgSO₄, gravity filtered and concentrated under reduced pressure in the dark. The crude residue was purified by column chromatography (SiO₂) using Cy:EtOAc (9:1 → 8:2). The glassware was wrapped in aluminium foil throughout the purification process to avoid E-Z isomerization that occurs in solution under light irradiation. The desired product **4.59** (620 mg, 1.5 mmol, quant.) was isolated as an orange solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 1H), 7.41 – 7.31 (m, 1H), 7.10 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 6.73 (dd, *J* = 6.9, 2.6 Hz, 2H), 6.63 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 6.50 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 6.45 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 5.62 (s, 1H), 3.61 – 3.51 (m, 1H), 3.41 (ddd, *J* = 13.6, 8.4, 1.0 Hz, 1H), 3.24 – 3.16 (m, 1H), 3.16 – 3.08 (m, 1H), 3.09 – 2.94 (m, 2H), 2.82 (d, *J* = 17.3 Hz, 6H), 2.80 – 2.65 (m, 2H) ppm.

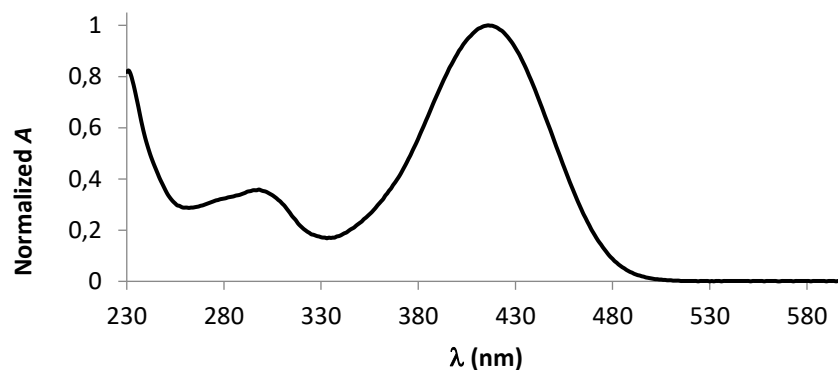
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 168.5 (C), 154.1 (C), 152.7 (C), 141.3 (C), 139.6 (C), 138.2 (C), 135.8 (CH), 134.8 (CH), 134.0 (C), 131.8 (CH), 131.0 (CH), 130.8 (CH), 130.1 (C), 129.3 (CH), 128.0 (C), 126.2 (CH), 124.9 (CH), 122.5 (CH), 122.3 (CH), 121.4 (CH), 118.7 (CH), 42.9 (2CH₃), 36.5 (CH₂), 35.1 (CH₂), 33.6 (CH₂), 33.5 (CH₂) ppm.

¹¹ Jiang, L.; Zhang, M.; Tang, L.; Weng, Q.; Shen, Y.; Hu, Y.; Sheng, R. *RSC Adv.* **2016**, *6* (21), 17318–17327.

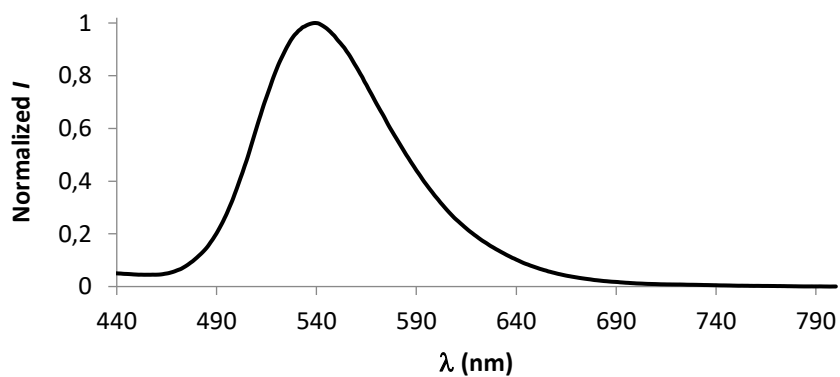
IR ν 2945, 1616, 1578, 1503, 1474, 1454, 1434, 1352, 1314, 1259, 1201, 1157, 1137, 1110, 1065, 1014, 951, 908, 814, 759, 729 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{S}$: 411.1889; found: 411.1901.

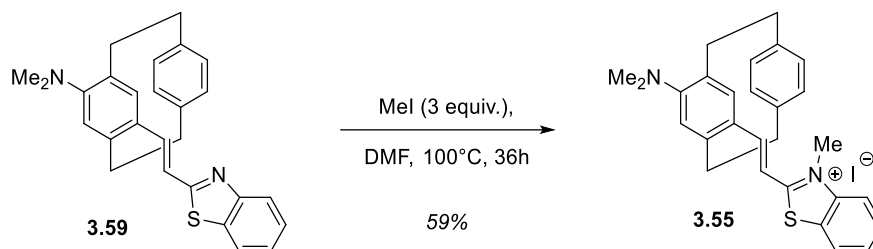
UV-Vis absorption spectrum (10^{-5} M solution of compound **4.59** in DCM, $\lambda_{\text{abs max}} = 416$ nm)



Fluorescence emission spectrum (10^{-6} M solution of compound **4.59** in DCM, $\lambda_{\text{ex}} = 415$ nm, $\lambda_{\text{em max}} = 535$ nm)



(*E*)-2-(2-(1⁵-(dimethylamino)-1,4(1,4)-dibenzencyclohexaphane-1²-yl)vinyl)-3-methylbenzo[d]thiazol-3-ium iodide **3.55**



In a 10 mL round bottom flask, compound **4.59** (100 mg, 0.24 mmol, 1.0 equiv.) was dissolved in DMF (4 mL), under an argon atmosphere, and MeI (45 μ L, 0.73 mmol, 3.0 equiv) was added. The flask was then equipped with a reflux condenser and the reaction was heated to 100 °C using an oil bath. After 36 h, the mixture was cooled back to rt and poured in *n*-pentane (50 mL). The yellow liquid phase was removed, and the residual tar was triturated with pentane (3 x 50 mL). The resulting black oily residue was dissolved in DCM and purified by column chromatography (SiO₂) using DCM:MeOH (98:2→93:7) as the eluent to yield dye **4.55** (80 mg, 0.14 mmol, 59%) as a dark violet solid.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.27 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 7.84 – 7.73 (m, 1H), 7.68 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.71 (dd, *J* = 17.8, 7.8 Hz, 2H), 6.50 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.47 – 6.37 (m, 1H), 5.73 (s, 1H), 4.22 (s, 3H), 3.65 – 3.54 (m, 1H), 3.19 (dt, *J* = 12.6, 7.8 Hz, 2H), 3.03 (s, 6H), 2.86 (qd, *J* = 14.9, 7.7 Hz, 3H), 2.81 – 2.65 (m, 2H) ppm.

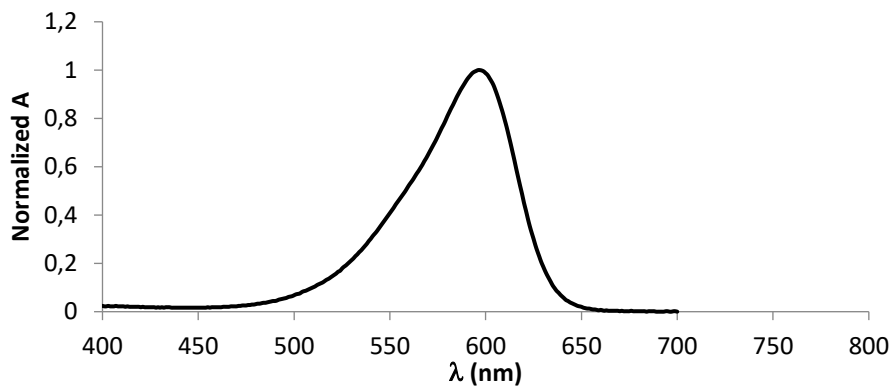
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 171.2 (C), 155.9 (C), 146.9 (C), 146.4 (CH), 142.4 (C), 139.3 (C), 139.1 (CH), 138.0 (C), 132.1 (CH), 131.4 (CH), 131.2 (CH), 130.0 (CH), 129.2 (CH), 127.6 (CH), 127.2 (C), 126.9 (C), 125.1 (C), 124.0 (CH), 121.2 (CH), 116.1 (CH), 105.6 (CH), 42.4 (2CH₃), 37.5 (CH₂), 35.8 (CH₂), 35.7 (CH₃), 34.0 (CH₂), 33.1 (CH₂) ppm.

IR ν 2923, 1556, 1509, 1460, 1418, 1373, 1351, 1331, 1259, 1263, 1230, 1184, 1157, 1119, 1076, 1021, 994, 941, 920, 837, 806, 756, 727 cm⁻¹.

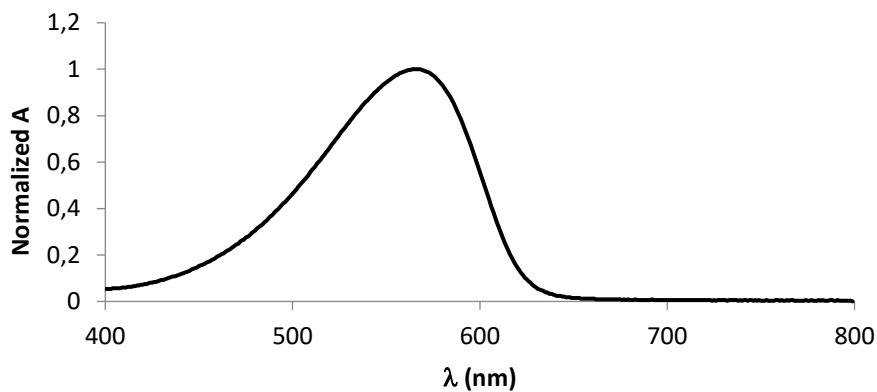
HRMS (ESI): *m/z* [M]⁺ calcd for C₂₈H₂₉N₂S: 425.2046; found: 425.2059.

UV-Vis absorption spectra

in DCM: 10^{-5} M solution of dye **3.55** ($\lambda_{\text{abs max}} = 596 \text{ nm}$, $\epsilon_{\text{max}} \sim 54400 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)

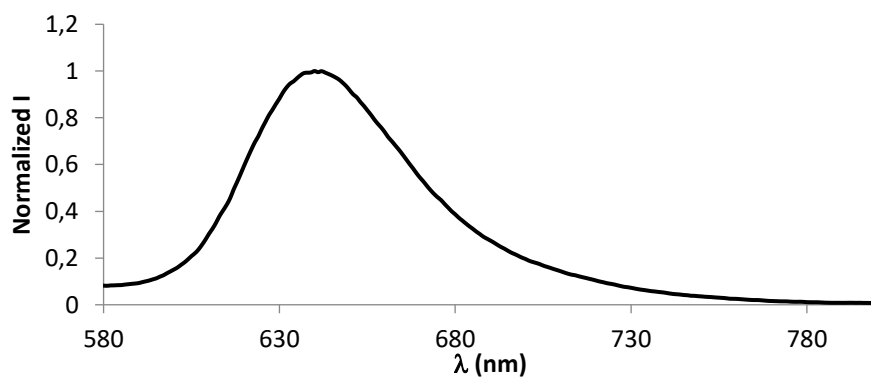


in TE buffer: 10^{-5} M solution of dye **3.55** ($\lambda_{\text{abs max}} = 565 \text{ nm}$, $\epsilon_{\text{max}} \sim 33800 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)

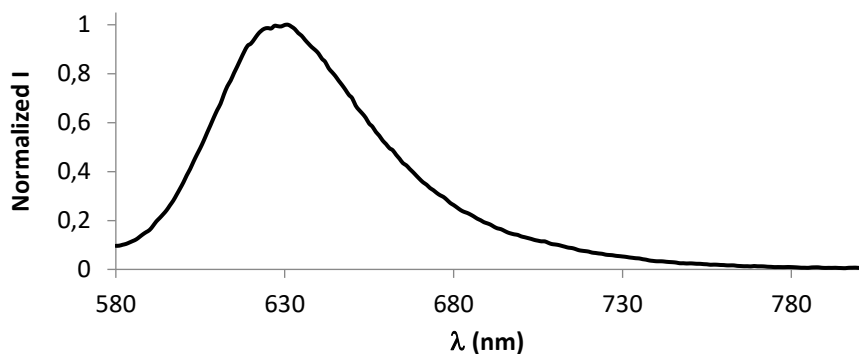


Fluorescence emission spectrum

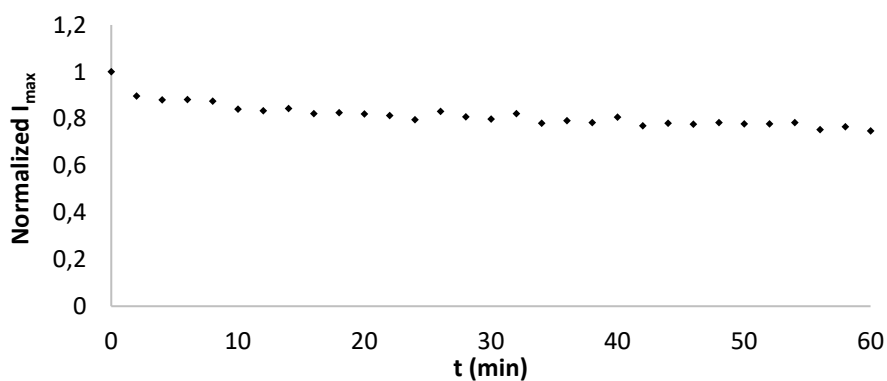
in DCM: 10^{-5} M solution of dye **3.55** ($\lambda_{\text{ex}} = 550 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em max}} = 645 \text{ nm}$, $\text{QY} = 2.3 \%$)



in TE buffer: 10^{-5} M solution of dye **3.55** ($\lambda_{\text{ex}} = 550$ nm, $\lambda_{\text{em max}} = 630$ nm, QY < 1%)



Photobleaching



A 10^{-6} M solution of dye **3.55** in a TE buffer was continuously irradiated for 1 h at 20 °C ($\lambda_{\text{ex}} = 500$ nm) and maximum emission intensity changes ($\lambda_{\text{max}} = 625$ nm) were measured at 2-minute time intervals.

IV. Experimental procedures for chapter IV

IV.1 Fluorimetric and in cellulo assays on **3.54** and **3.55**

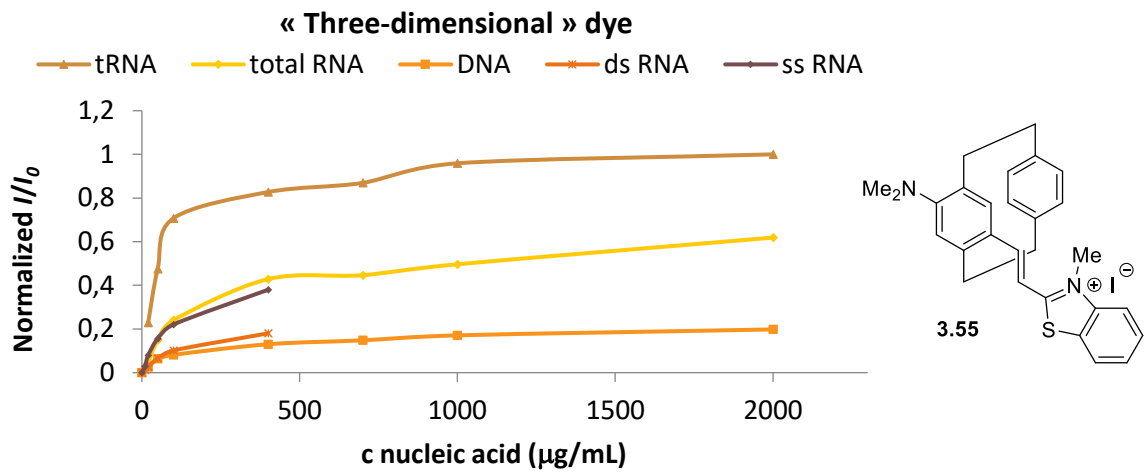
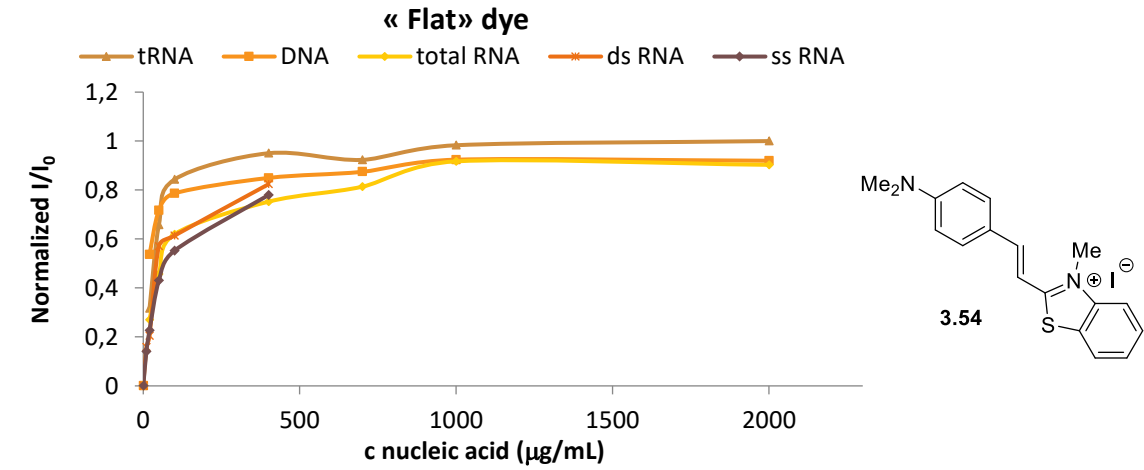
Fluorescence enhancement studies

For convenience, probes **3.54** and **3.55** are sometimes referred to as **A** and **B**, respectively, throughout this part

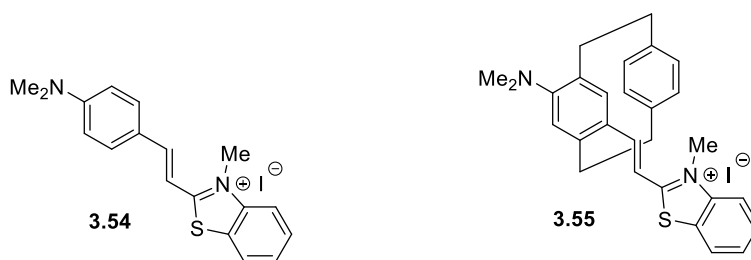
Fluorescence spectra were recorded on a F-7000 fluorescence spectrometer (Hitachi). The photophysical measurements were performed at 20 °C on air-equilibrated solutions, using quartz cuvettes with 1 cm optical path length. 10^{-6} M solutions of cyanine dyes **3.54** or **3.55** in TE buffer were used to perform the study ($\lambda_{\text{ex}}(\mathbf{3.54}) = 500$ nm; $\lambda_{\text{ex}}(\mathbf{3.55}) = 550$ nm). Dyes concentration was kept constant during the titration studies. tRNA (Roche, from baker's yeast, *S. cerevisiae*), DNA (from calf thymus), and total RNA (from baker's yeast, *S. cerevisiae*) were purchased from Sigma-Aldrich. ssRNA (5'-3': UUGUCAUACACAAAAGUACUG), and ds RNA (5'-3': CCAGUUCGUAGUAACCC) were purchased from Eurogentec. All nucleic acids were dissolved in an appropriate amount of TE buffer and left to fully hydrate over night at 4 °C. Concentrations of all nucleic acids were calculated from measured A_{260} of diluted stock solutions based on the assumption that $A_{260} = 1$ corresponds to a concentration of 40 or 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of RNAs or DNA respectively.

Sequence-selective binding assays

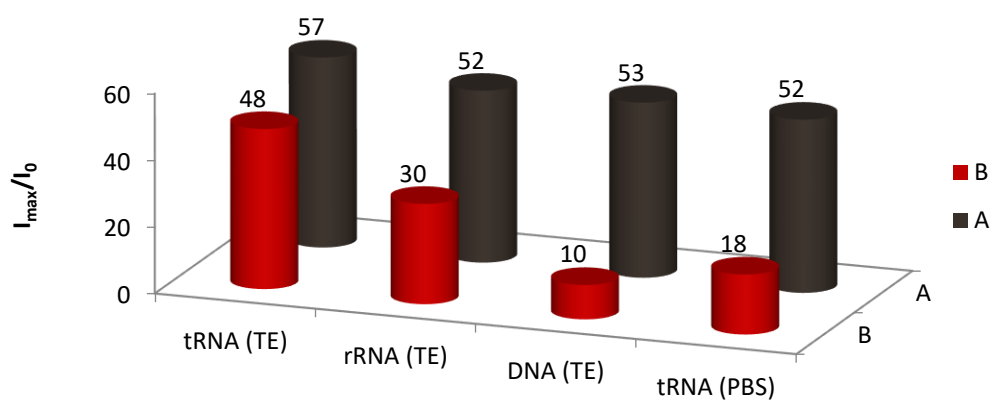
Fluorescence intensity enhancement



Selectivity plots



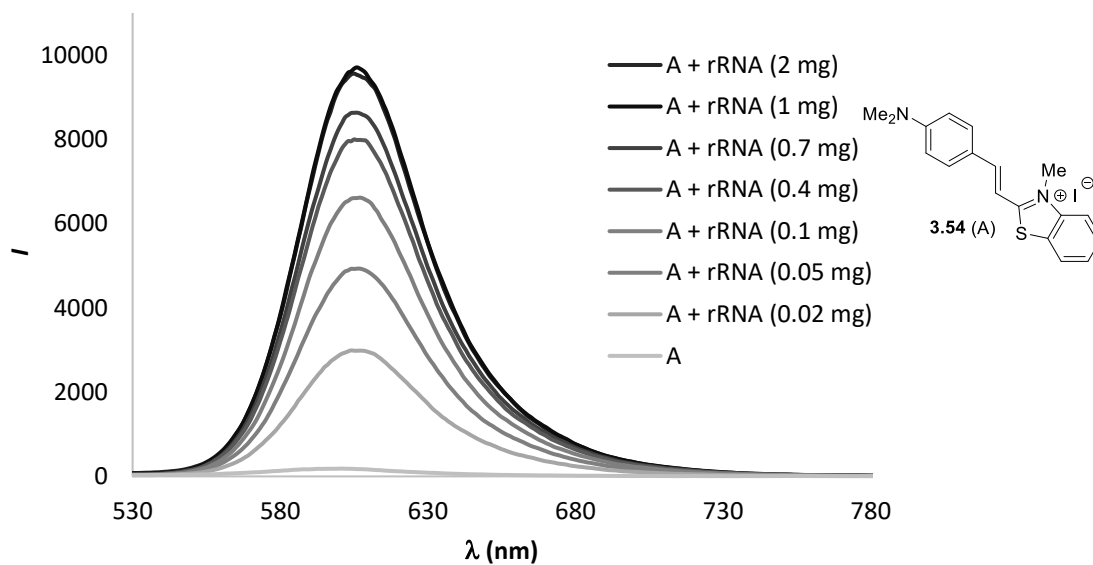
Selectivity of cyanines **3.54** (**A**) or **3.55** (**B**) (10^{-6} M) versus different species of nucleic acids (2 mg/mL) in a TE or PBS buffer at 20 °C



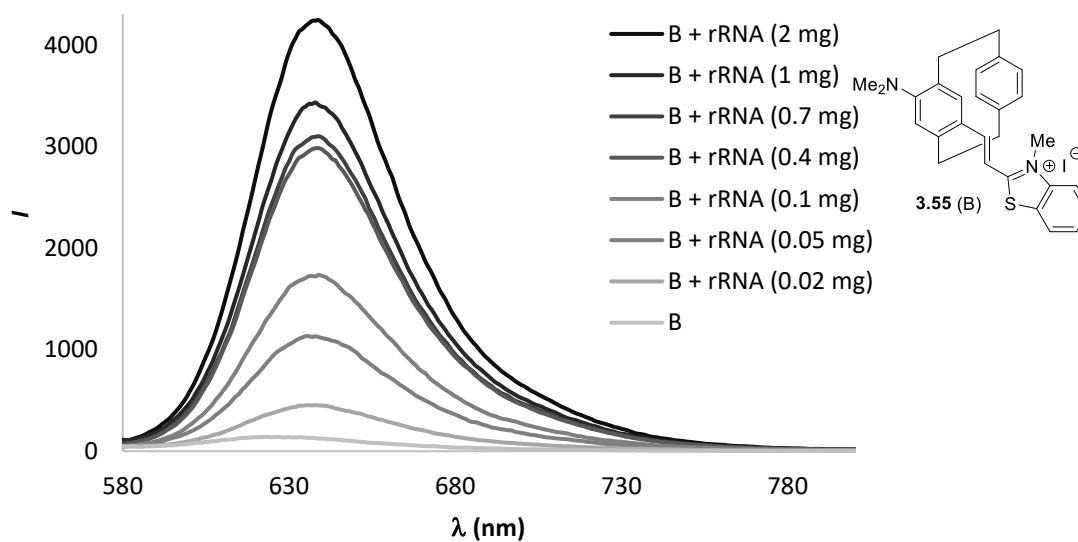
Fluorescence titration assays

• **rRNA**

« Flat » dye

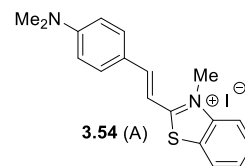
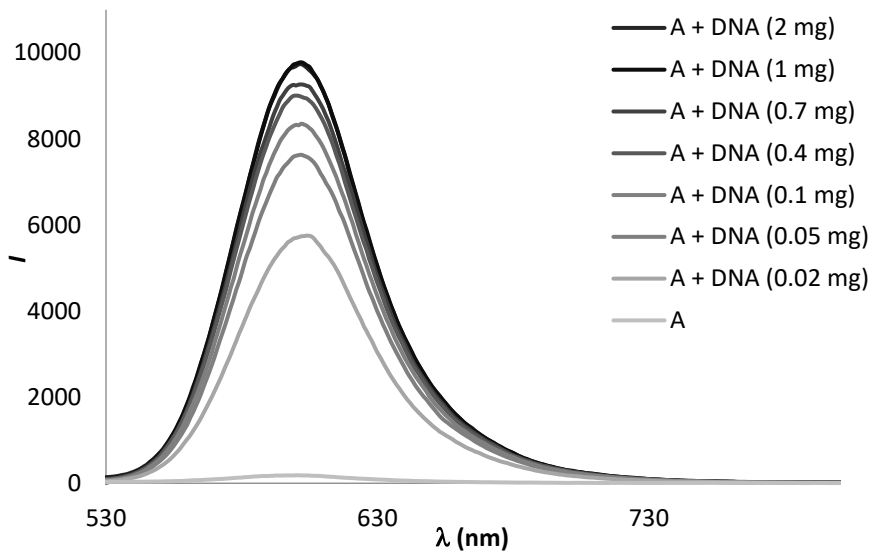


« Three-dimensional » dye

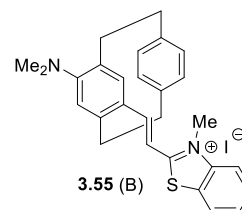
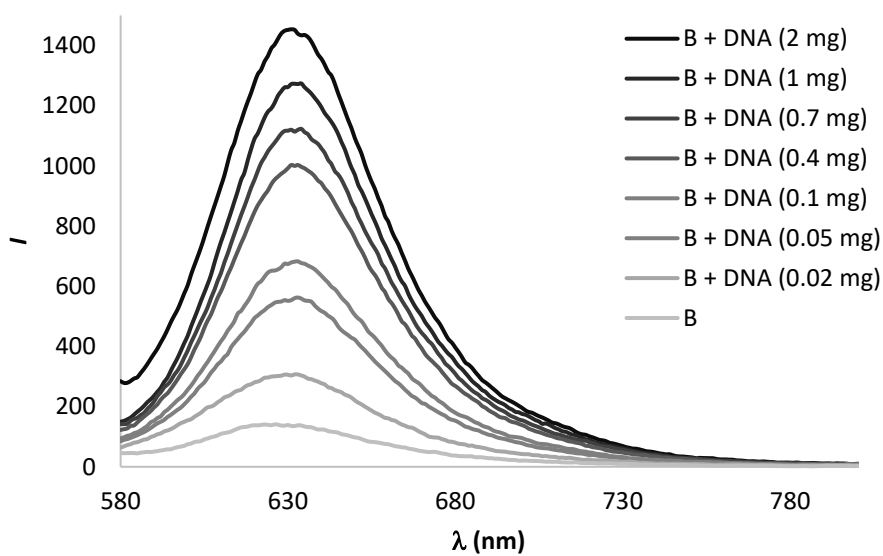


• DNA

« Flat » dye

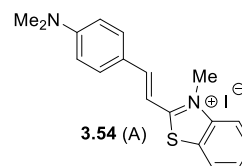
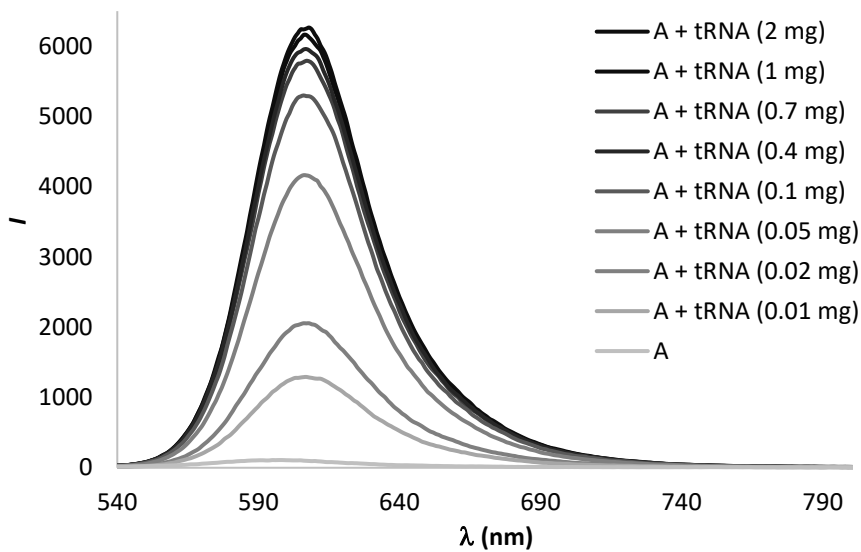


« Three-dimensional » dye

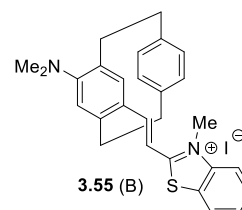
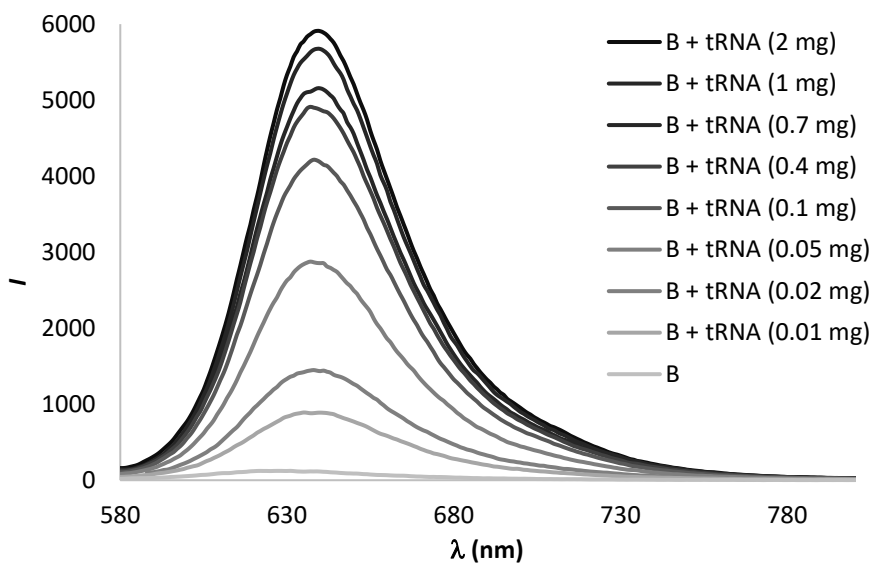


• tRNA

« Flat » dye

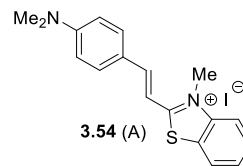
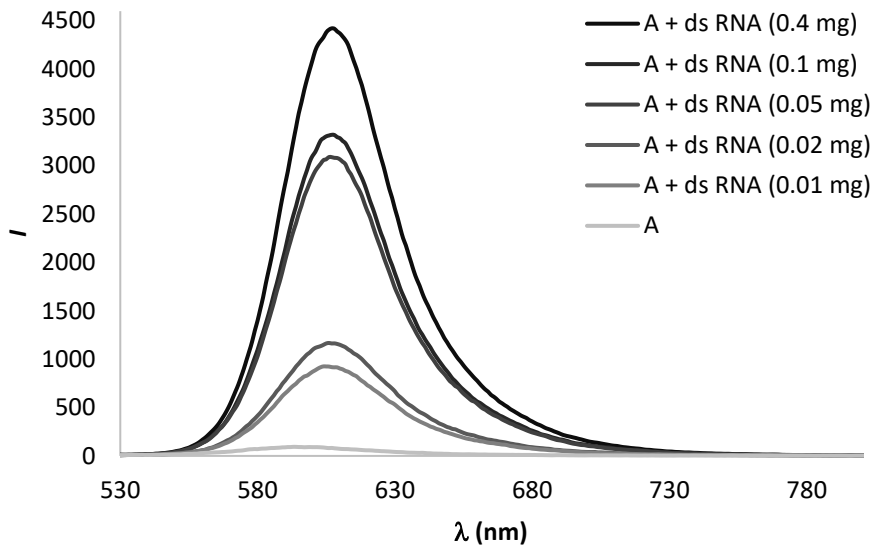


« Three-dimensional » dye

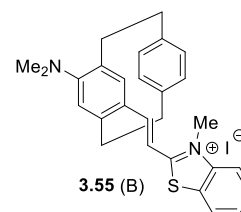
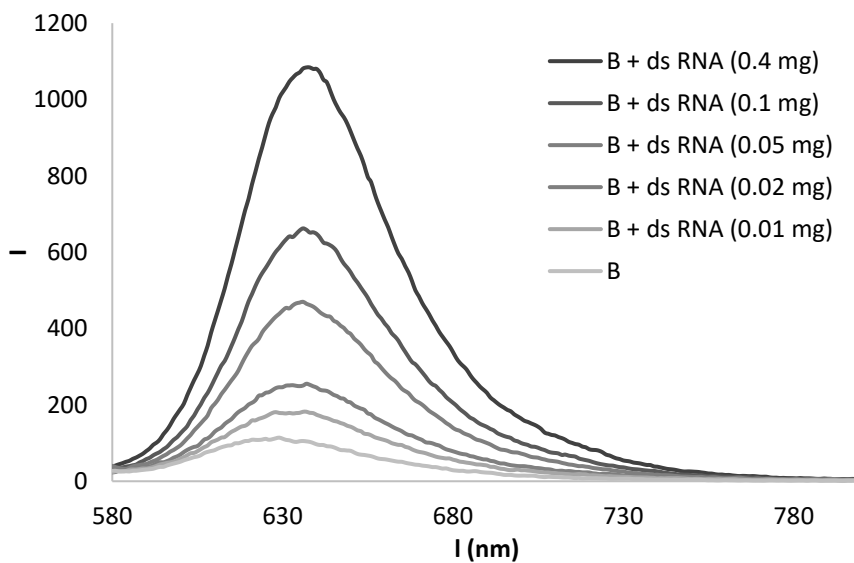


• ds RNA

« Flat » dye

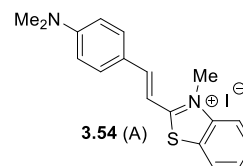
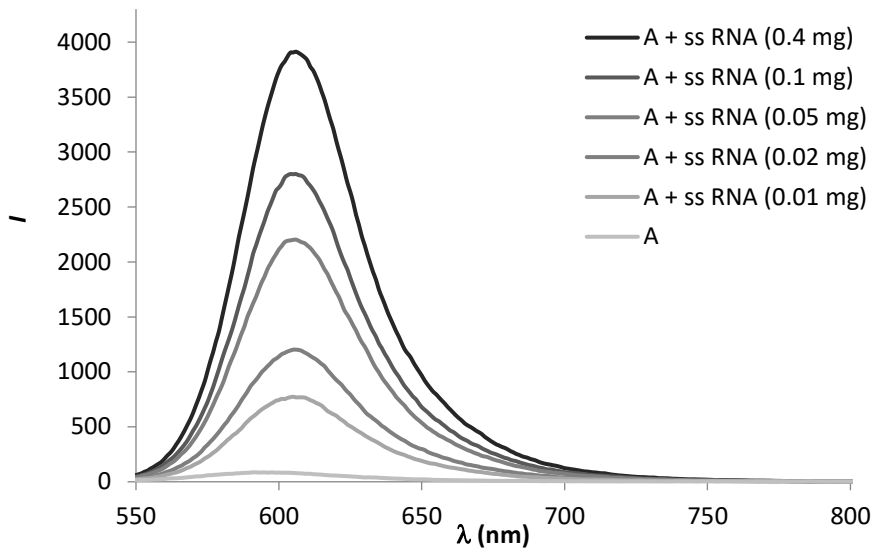


« Three-dimensional » dye

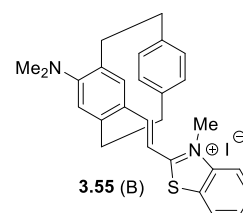
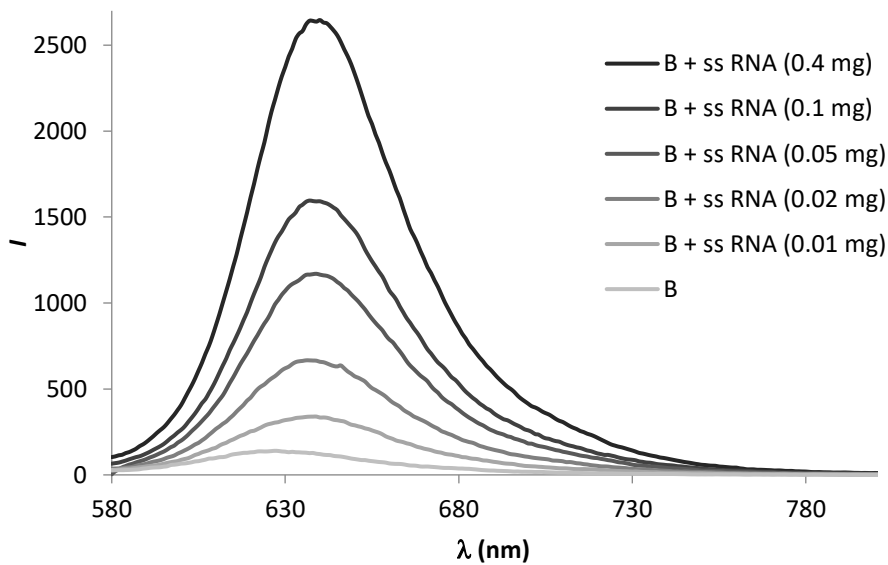


• ss RNA

« Flat » dye

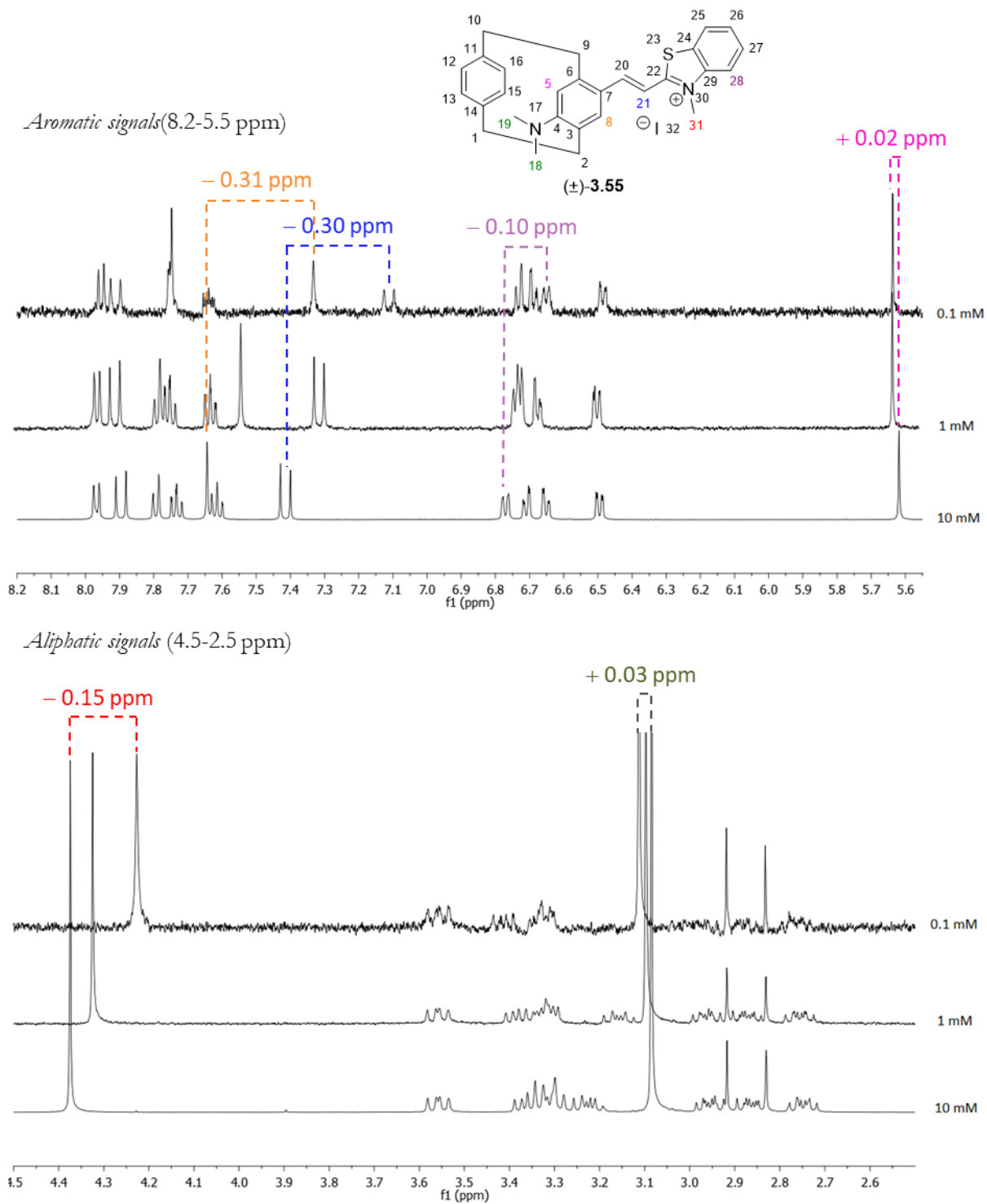


« Three-dimensional » dye



Evidence of aggregates formation

^1H NMR experiments (CD_2Cl_2 , 300 K, 500 MHz)



X-ray crystallography

A single crystal of the compound was selected, mounted onto a cryoloop, and transferred in the cold nitrogen gas stream of an Oxford Cryostream. Intensity data were collected with a BRUKER Kappa-APEXII diffractometer with micro-focused Cu-K α radiation ($\lambda=1.54178$ Å) at 200K. APEX 3 suite and SAINT program (BRUKER) were used to carry out data collection, unit-cell parameters refinement, integration and data reduction. SADABS (BRUKER) was used for scaling and multi-scan absorption corrections. In the Olex2 suite¹², the structure was solved with SHELXT-14¹³ program and refined by full-matrix least-squares methods using SHELXL-14¹⁴. All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Hydrogen atoms were placed at calculated positions and refined with a riding model.

CCDC 2123610 contains the supplementary crystallographic data for this paper. The data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/structures.

Crystal data and structure refinement for probe 3.55 (fs469_0m)

Identification code	fs469_0m
Empirical formula	C ₂₉ H ₃₁ Cl ₂ IN ₂ S
Formula weight	637.42
Temperature/K	200.0
Crystal system	triclinic
Space group	P-1
a/Å	10.0527(5)
b/Å	10.2985(4)

¹² O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Cryst.* **2009**, *42*, 339–341..

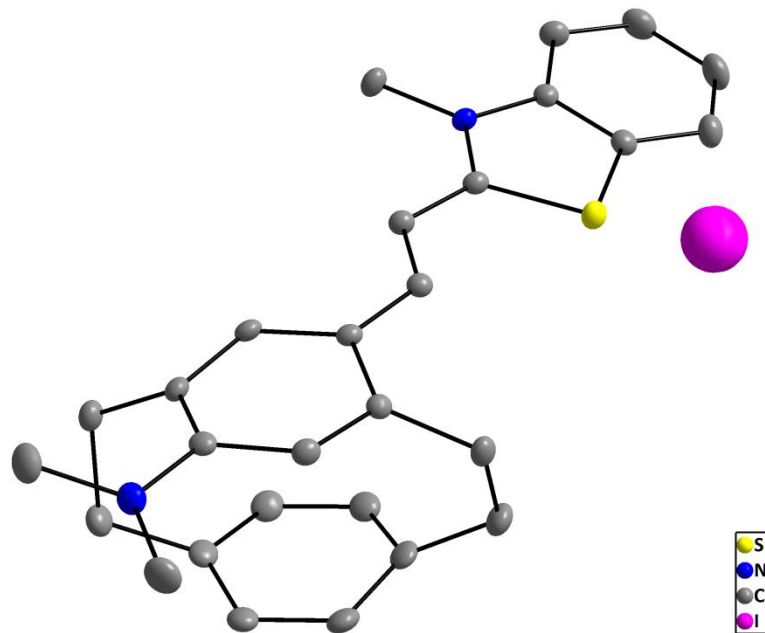
¹³ G. M. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A* **2015**, *71*, 3–8.

¹⁴ G. M. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section C* **2015**, *71*, 3–8.

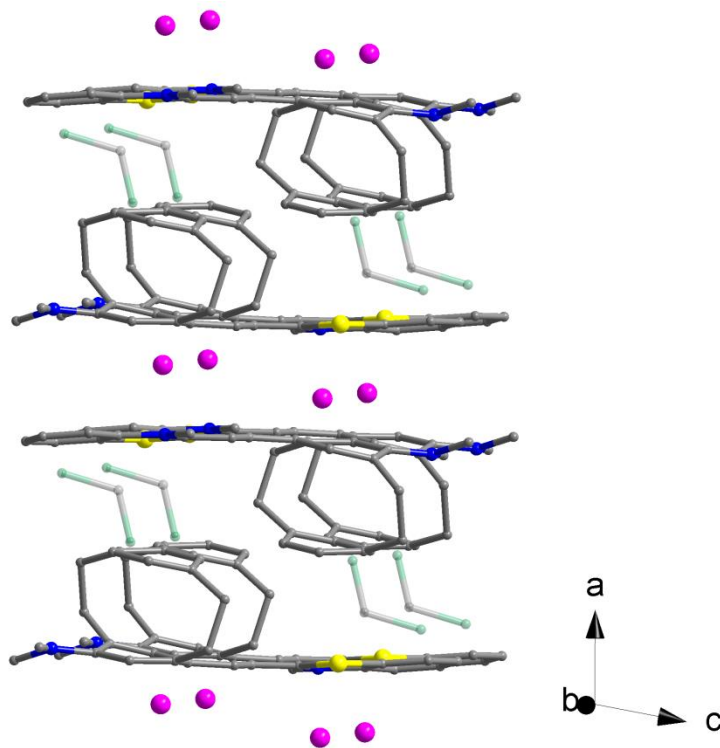
Experimental part

$c/\text{\AA}$	13.7453(6)
$\alpha/^\circ$	90.995(2)
$\beta/^\circ$	100.752(2)
$\gamma/^\circ$	93.936(2)
Volume/ \AA^3	1394.08(11)
Z	2
$\rho_{\text{calc}}/\text{cm}^3$	1.519
μ/mm^{-1}	11.638
F(000)	644.0
Crystal size/ mm^3	$0.24 \times 0.19 \times 0.16$
Radiation	CuK α ($\lambda = 1.54178$)
2Θ range for data collection/ $^\circ$	8.61 to 135.216
Index ranges	$-12 \leq h \leq 12, -10 \leq k \leq 12, -16 \leq l \leq 16$
Reflections collected	28190
Independent reflections	5014 [$R_{\text{int}} = 0.0256, R_{\text{sigma}} = 0.0201$]
Data/restraints/parameters	5014/0/319
Goodness-of-fit on F^2	1.030
Final R indexes [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0266, wR_2 = 0.0722$
Final R indexes [all data]	$R_1 = 0.0272, wR_2 = 0.0727$
Largest diff. peak/hole / $e \text{\AA}^{-3}$	0.90/-0.45

Molecule:



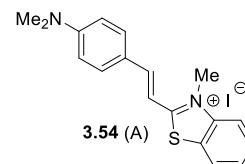
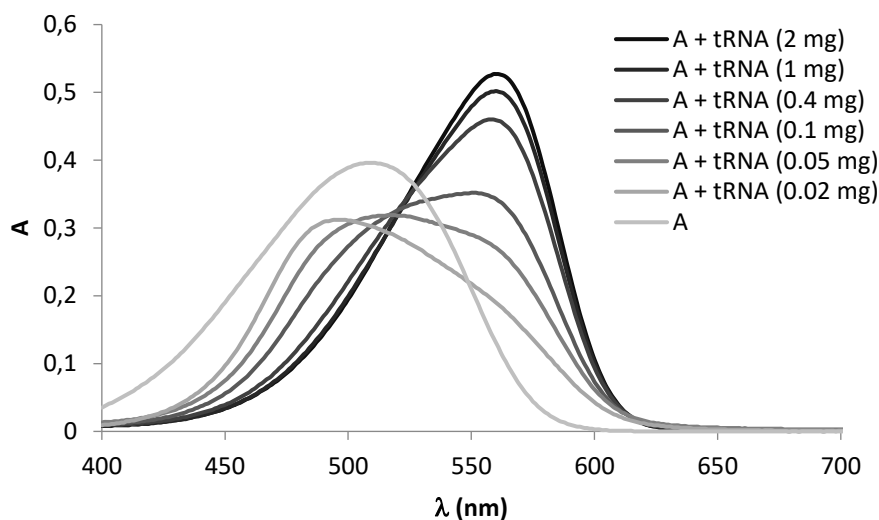
Crystal packing:



UV-Vis absorption in the presence of tRNA

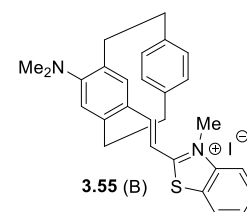
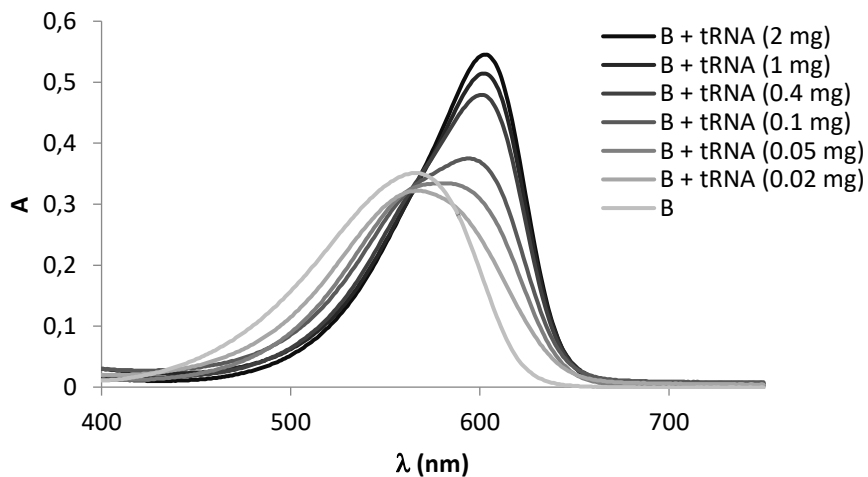
« Flat » dye

A 10^{-5} M solution of cyanine dyes **3.54** and increasing quantities of tRNA (0.02-2 mg/mL) in TE buffer were employed to perform the UV-Vis absorption study.



« Three-dimensional » dye

A 10^{-5} M solution of cyanine dyes **3.55** and increasing quantities of tRNA (0.02-2 mg/mL) in a TE buffer were employed to perform the UV-vis absorption study.



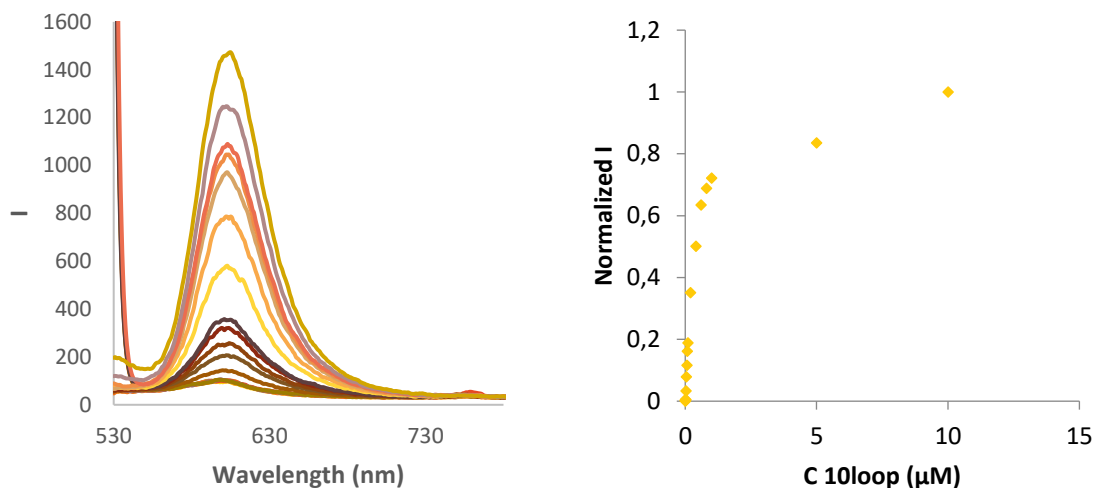
Determination of the dissociation constants

10-loop (5'-3': CGCGCAGUCGUAGUAGCGCG), 8-loop (5'-3': CGCGCAGUCAGUAGCGCG), 6-loop (5'-3': CGCGCAGUGUAGCGCG), 4-loop (5'-3': CGCGCGUGAGCGCG), ssRNA (5'-3': UUGUCA UACACAAAAGUACUG) were purchased from Eurogentec. All assays were performed at 20 °C, by incremental addition of appropriately diluted nucleic acid solutions with 2 min equilibration time in between each measurement. Dye solutions were obtained by dilution from a 250 μM stock solution in TE buffer. Nucleic acids were dissolved in 1 mL of TE buffer – concentrations are in the range of 0.5 mM to 1 mM depending on exact amounts provided by manufacturers – and kept at 4 °C overnight for complete hydration, then heat denatured (2 min at 95 °C, immediately placed in ice for 15 min, back to rt over 15 min) prior to use and conserved frozen after. All dilutions for all independent experiments were performed from these stock solutions. The volume of the increments was kept minimal to avoid excessive dilutions. All K_d calculations were performed using the bindfit program from supramolecular.org, including dilution correction, in a 1:1 hypothetical binding model (<http://supramolecular.org>; D. B. Hibbert, P. Thordarson, *Chem. Commun.*, 2016, 52, 12792-12805; P. Thordarson, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, 40, 1305-1323). Dissociation constants provided are the average of two independent experiments.

Representative examples of the titration assays for each sequence and dye, and the URL's of all the fits are reported hereafter.

10-loop

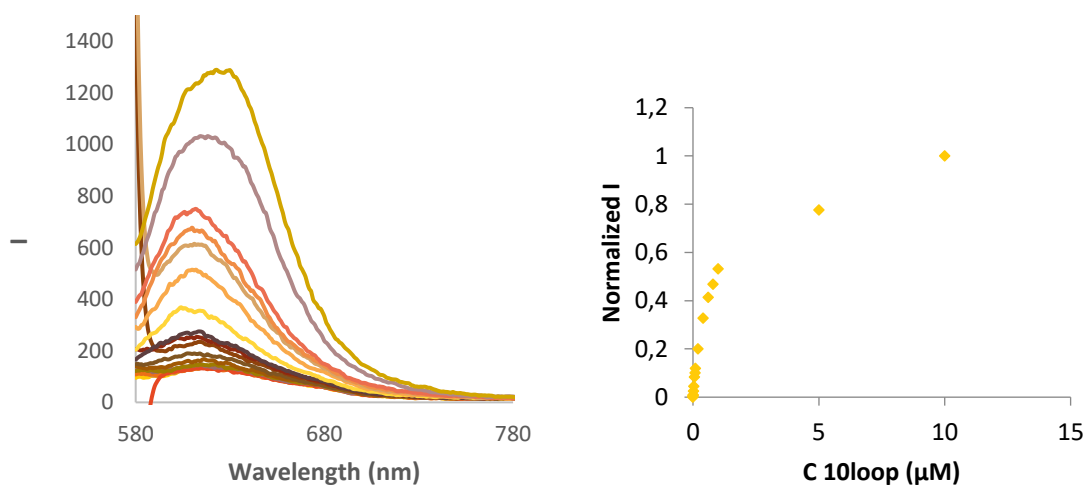
- “flat” cyanine **3.54** (10^{-7} M solution in TE)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/cc3ab355-f724-4623-bfa4-47a19f84f0c4>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/8465dc04-9984-4ef0-922b-991f34f3e9eb>

- pCp-based cyanine **3.55** (10^{-7} M solution in TE)

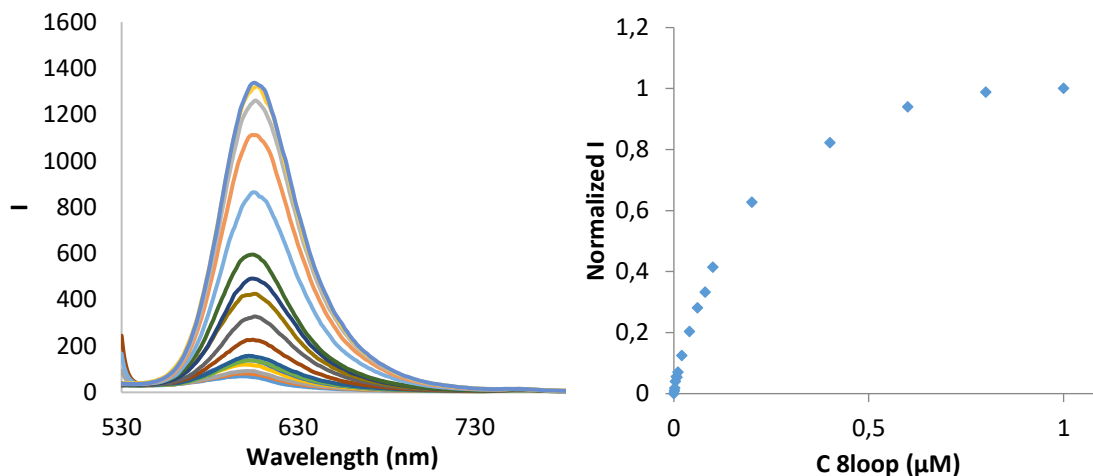


<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/06a867ce-e0ed-44d3-9a0b-fa51d70972f7>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/8cc17ee3-724a-4a1f-99fa-f4bf48ab684e>

8-loop

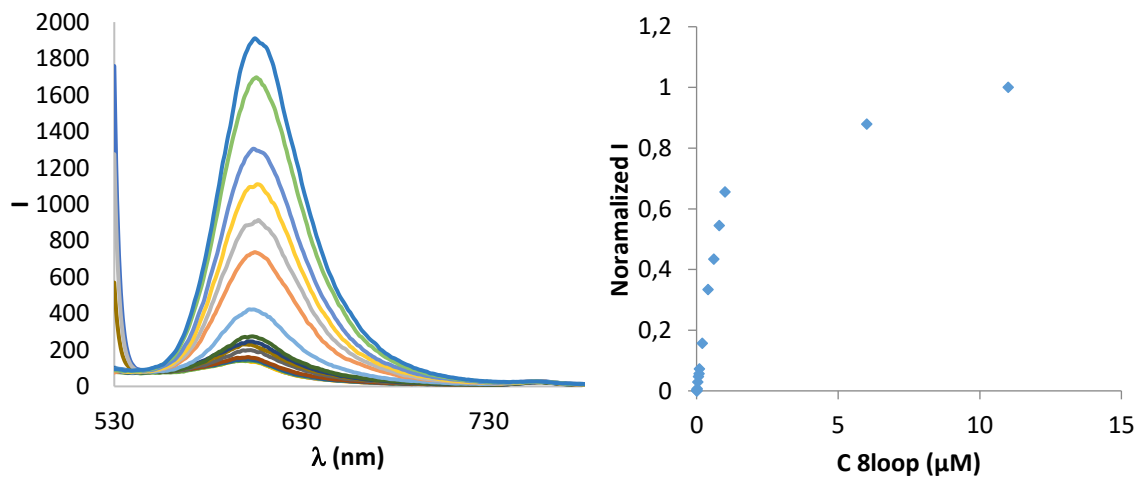
- “flat” cyanine 3.54 (10^{-7} M solution in TE)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/190686c5-4b41-4562-890c-00c2a1843e32>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/53ce4204-c58f-46ca-b7d3-ce7e8fb2b3f6>

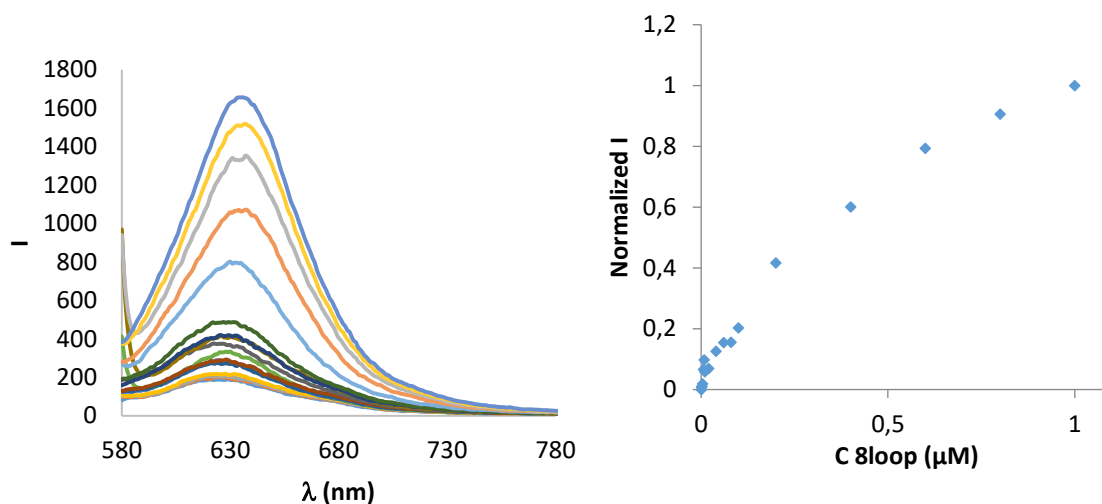
- “flat” cyanine 3.54 (10^{-7} M solution in TEKMg)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/4904efab-bb00-430f-8c46-ae1276d06cc4>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/9d8d6b52-4586-4517-82e7-4cae8565f42a>

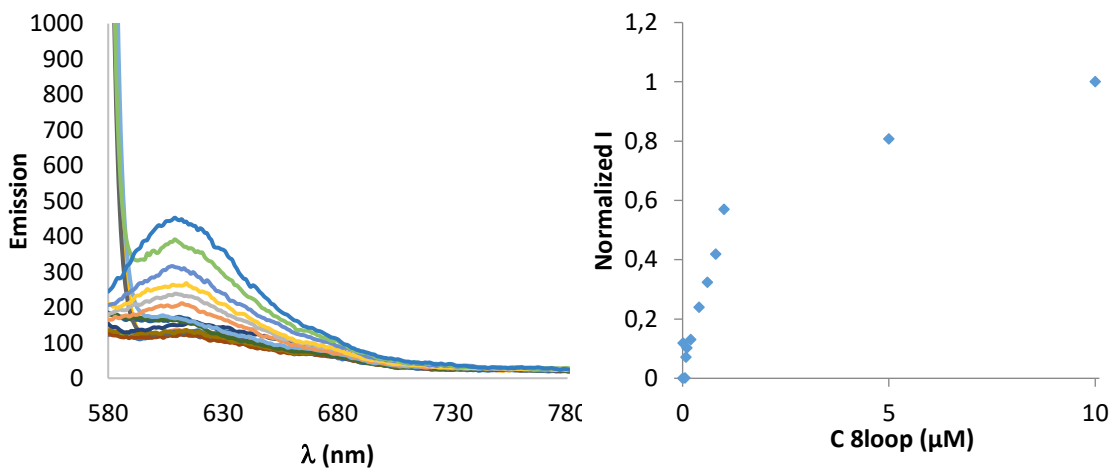
- pCp-based cyanine 3.55 (10^{-7} M solution in TE)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/9483f6ca-c9fb-49de-8156-11723c4b1a7d>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/b8f554a7-25ef-4421-9f65-6eaceeb051df>

- pCp-based cyanine 3.55 (10^{-7} M solution in TEKMg)

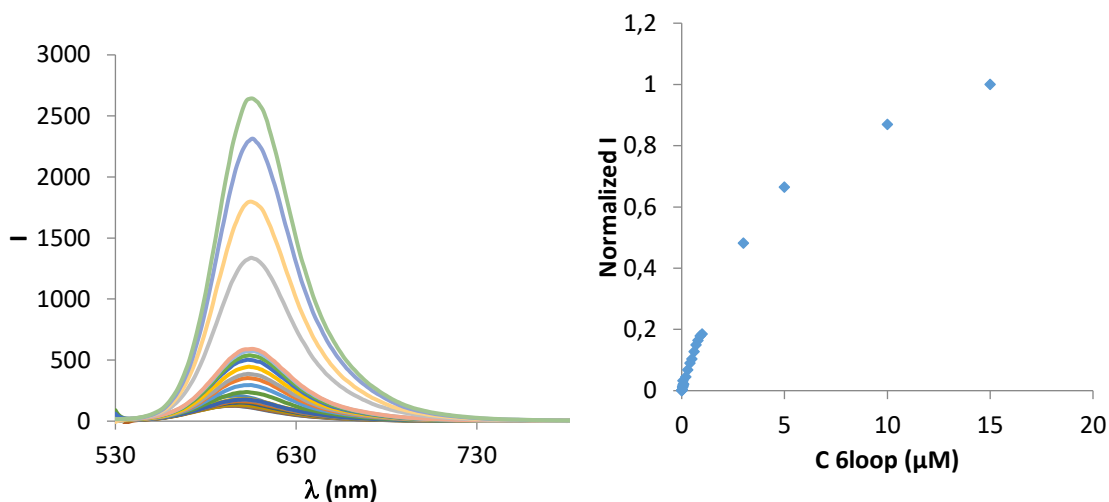


<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/7afc136e-75a5-4058-8ff9-77c934bfc39c>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/b8562191-a1ac-4006-a09a-91753bfce1f9>

6-loop

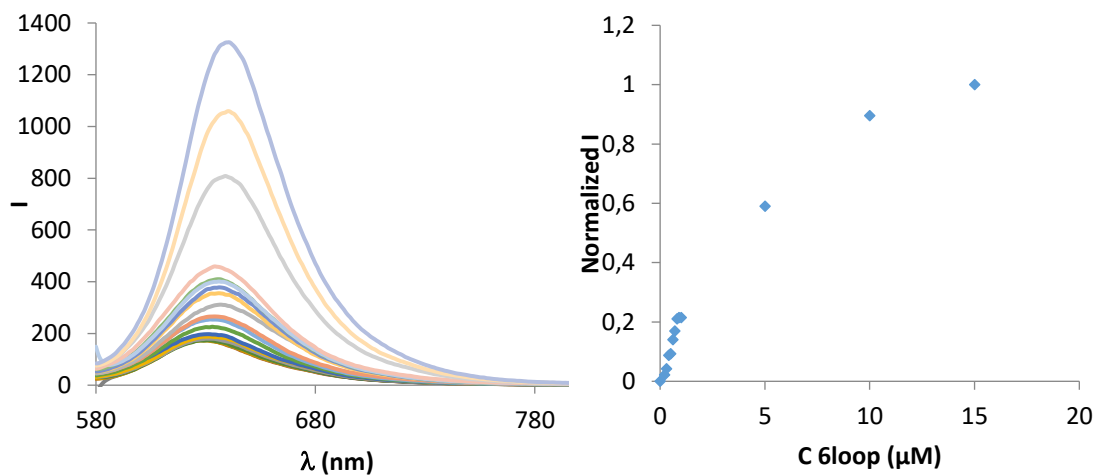
- “flat” cyanine **3.54** (10^{-6} M solution in TE)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/e9ecf592-9af5-4711-9e34-1f41928ee980>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/377d02bf-918a-47bf-b7f9-5b4c52773a45>

- pCp-based cyanine **3.55** (10^{-6} M solution in TE)

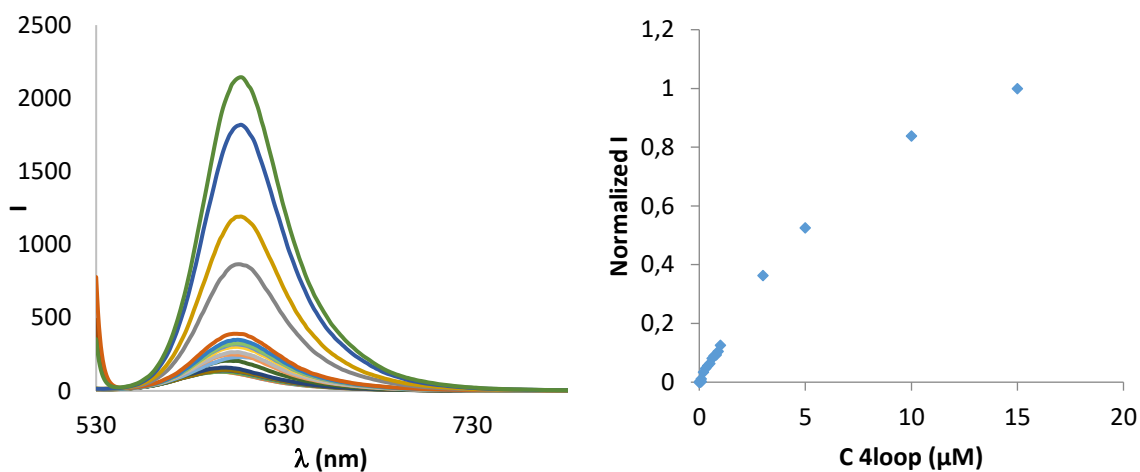


<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/238c1a6b-83ce-453f-94b8-8bb6190390e6>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/c84ca512-7d48-4b67-a359-b81a15219814>

4-loop

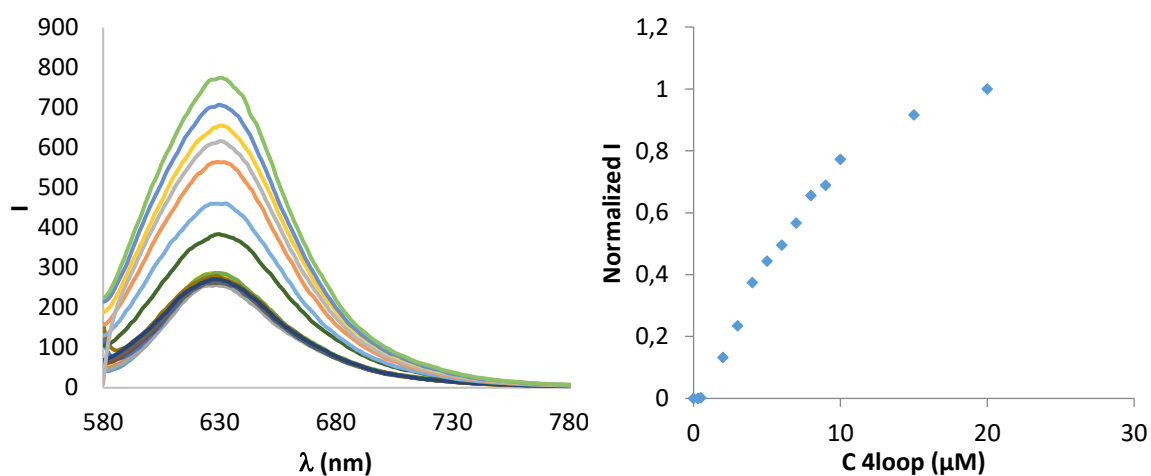
- “flat” cyanine **3.54** (10^{-6} M solution in TE)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/44f77351-6053-42d2-8ab1-d024636bfa73>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/c52c06af-8e7f-484c-9585-1939ec8919ae>

- pCp-based cyanine **3.55** (10^{-6} M solution in TE)

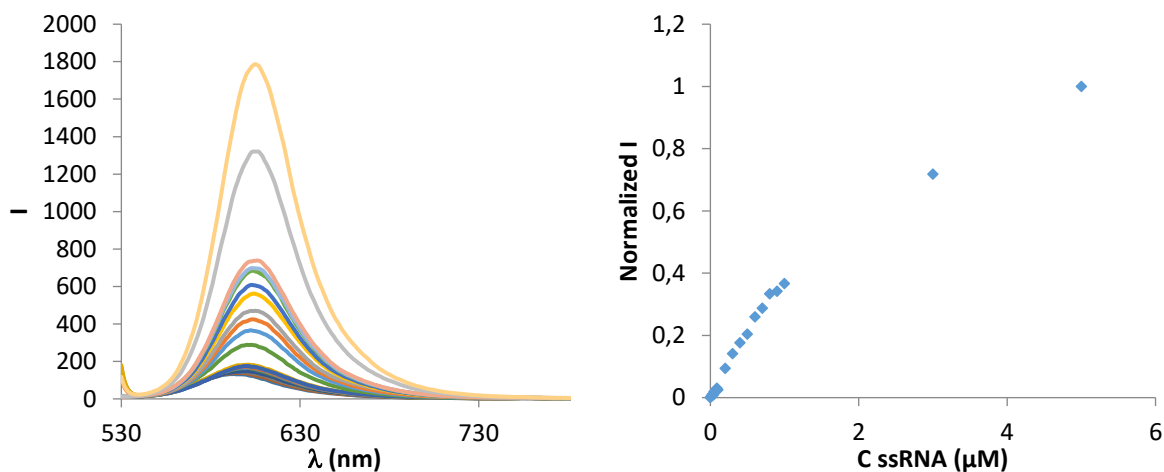


<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/2fd0ce0f-ec04-4087-94ad-a6c3fdc53fe3>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/c6d2b3a9-465c-426b-b91d-6a8445470e3d>

ssRNA

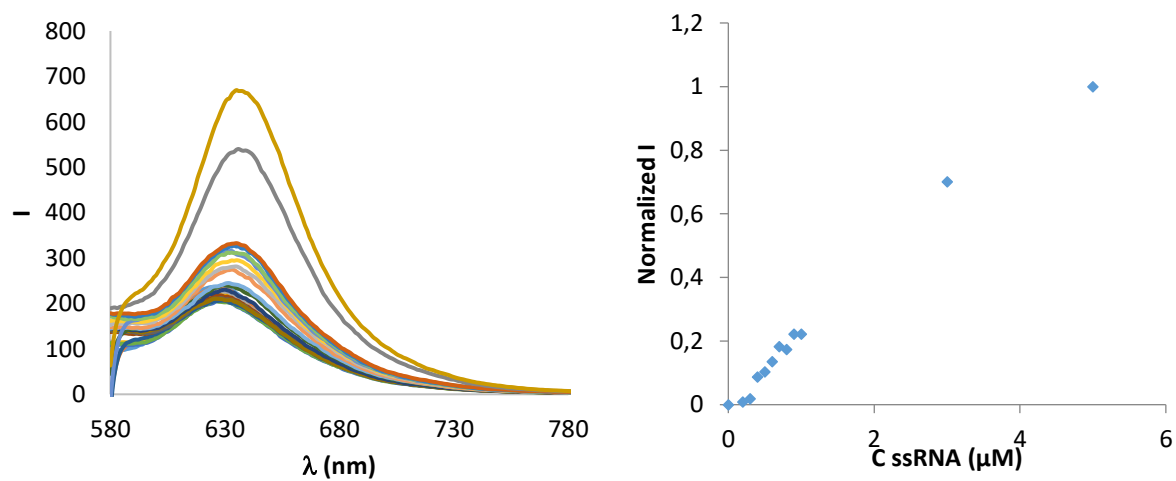
- “flat” cyanine **3.54** (10^{-6} M solution in TE)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/c1ca27ba-c83c-4dae-a224-23753a7b4e9e>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/75943b34-db26-450e-b257-c41ecc8fa57b>

- pCp-based cyanine **3.55** (10^{-6} M solution in TE)



<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/f9a375d4-33d4-40c1-a24b-48c683a6eb9d>

<http://app.supramolecular.org/bindfit/view/3b01fee7-6436-405a-98a9-7700b7a57eab>

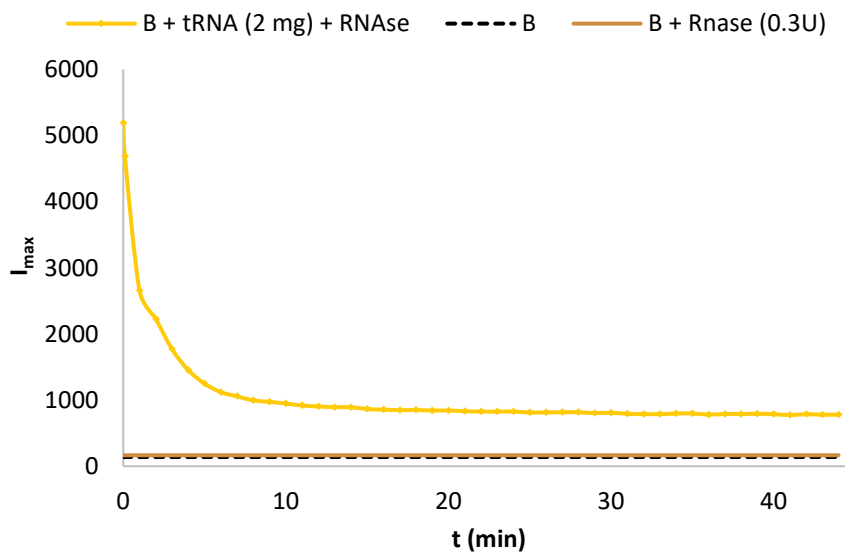
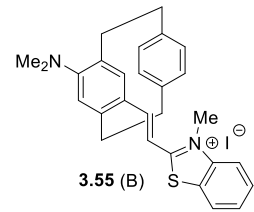
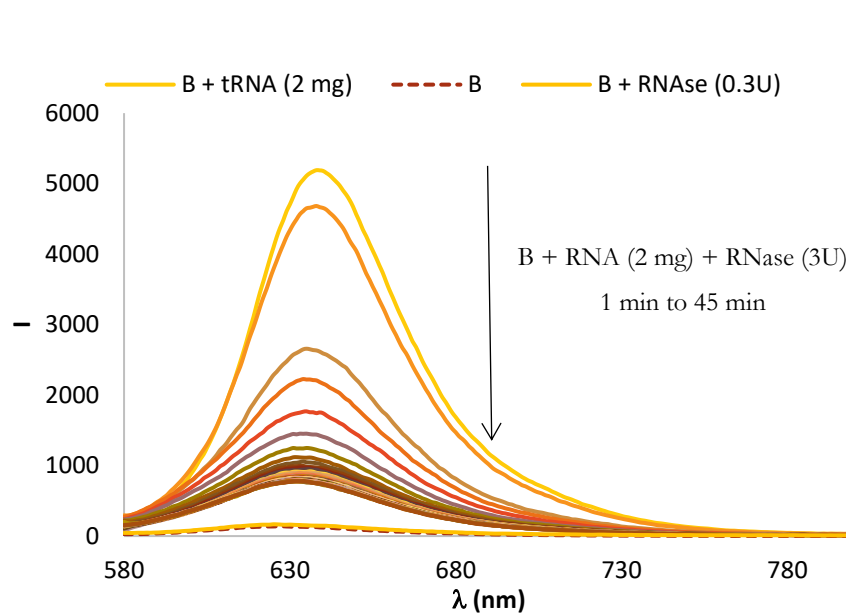
(Fitted without initial value)

Digestion experiments

« Three-dimensional » dye

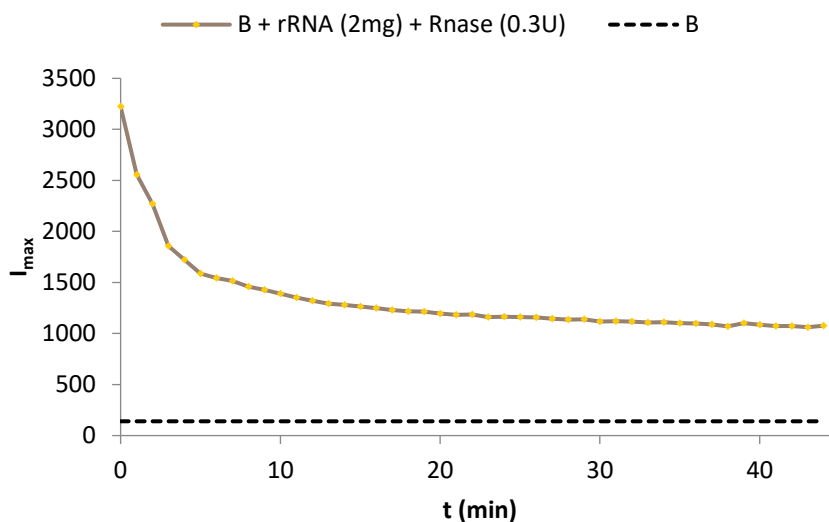
- tRNA

A 10^{-6} M solution of cyanine dyes **3.55 (B)** and tRNA (2 mg/mL) in TE buffer was treated with RNase A (0.3U). Fluorescence emission changes ($\lambda_{\text{ex}} = 550$ nm, $\lambda_{\text{max}} = 625$ nm) were measured at 1-minute time intervals for 45 minutes at 20 °C.



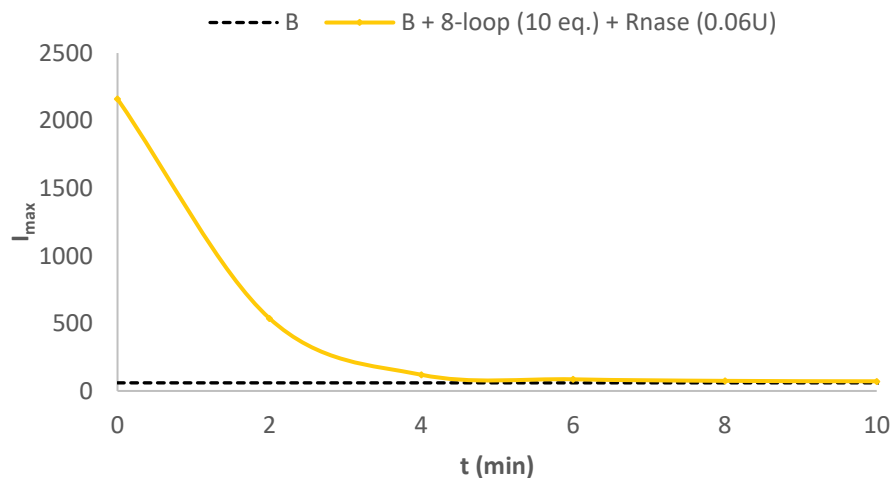
- rRNA

A 10^{-6} M solution of cyanine dyes **3.55** and rRNA (2 mg/mL) in TE buffer was treated with RNase A (0.3U). Fluorescence emission changes ($\lambda_{\text{ex}} = 550$ nm, $\lambda_{\text{max}} = 625$ nm) were measured at 1-minute time intervals for 45 minutes at 20 °C.



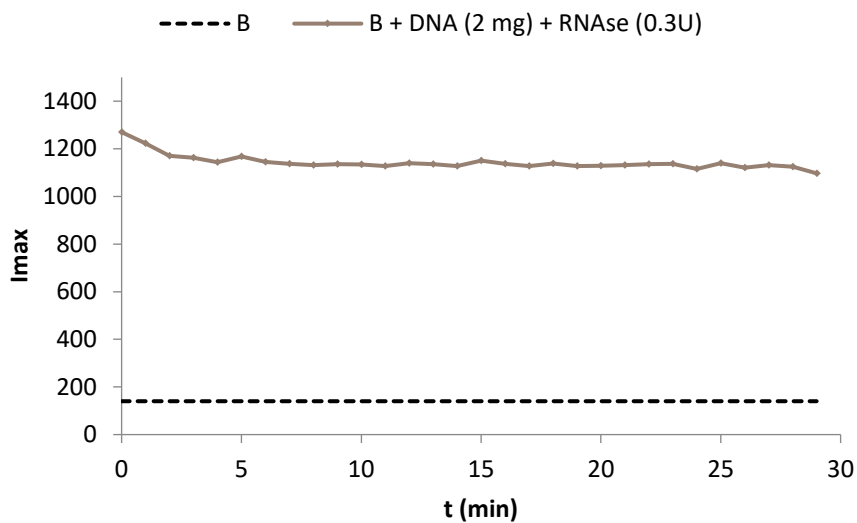
- 8-loop

A 10^{-6} M solution of cyanine dyes **3.55** and 8-loop (5^{\prime} - 3^{\prime} : CGCGCAGUCAGUAGCGCG, 10 μ M) in TE buffer was treated with RNase A (0.06U). Fluorescence emission changes ($\lambda_{\text{ex}} = 550$ nm, $\lambda_{\text{max}} = 625$ nm) were measured at 2-minute time intervals for 10 minutes at 20 °C.



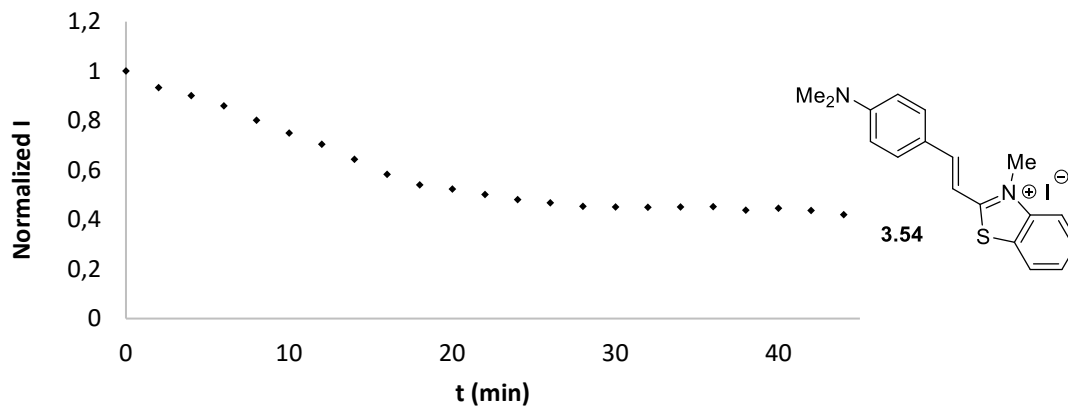
- DNA

A 10^{-6} M solution of cyanine dyes **3.55 (B)** and DNA (2 mg/mL) in TE buffer was treated with RNase A (0.3U). Fluorescence emission changes ($\lambda_{\text{ex}} = 550$ nm, $\lambda_{\text{max}} = 625$ nm) were measured at 1-minute time intervals for 45 minutes at 20 °C.



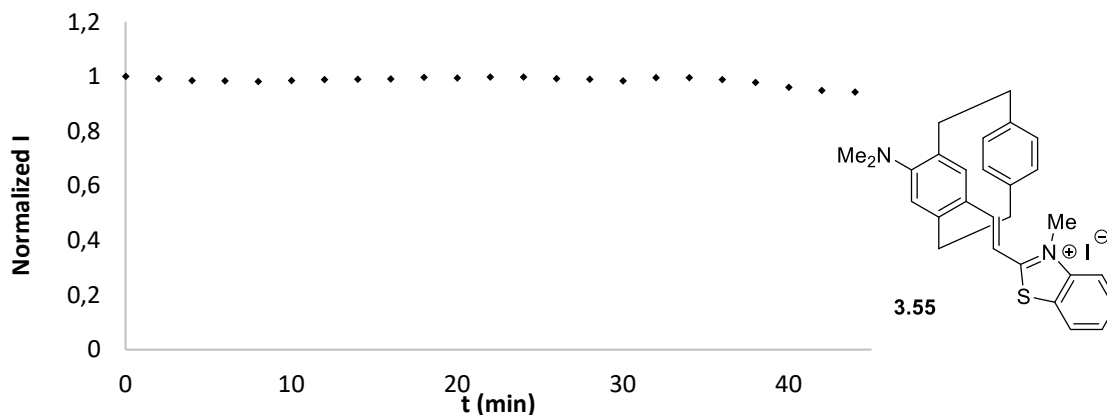
Photobleaching studies

« Flat » dye



A 10^{-6} M solution of cyanine dyes **3.54** and tRNA (2 mg/mL) in TE buffer was used to perform the photodegradation study. The sample was continuously irradiated for 45 min at 20 °C ($\lambda_{\text{ex}} = 500$ nm) and maximum emission intensity changes ($\lambda_{\text{max}} = 600$ nm) were measured at 2-minute time intervals.

« Three-dimensional » dye

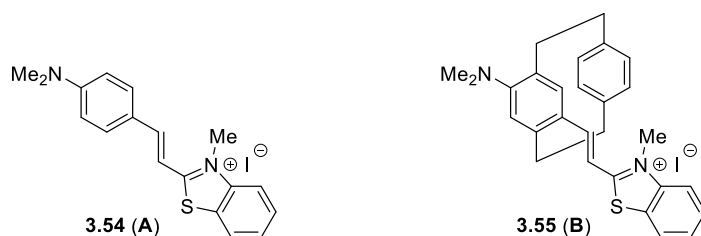


A 10^{-6} M solution of cyanine dyes **3.55** and tRNA (2 mg/mL) in TE buffer was used to perform the photodegradation study. The sample was continuously irradiated for 45 min at 20 °C ($\lambda_{\text{ex}} = 550$ nm) and maximum emission intensity changes ($\lambda_{\text{max}} = 625$ nm) were measured at 2-minute time intervals.

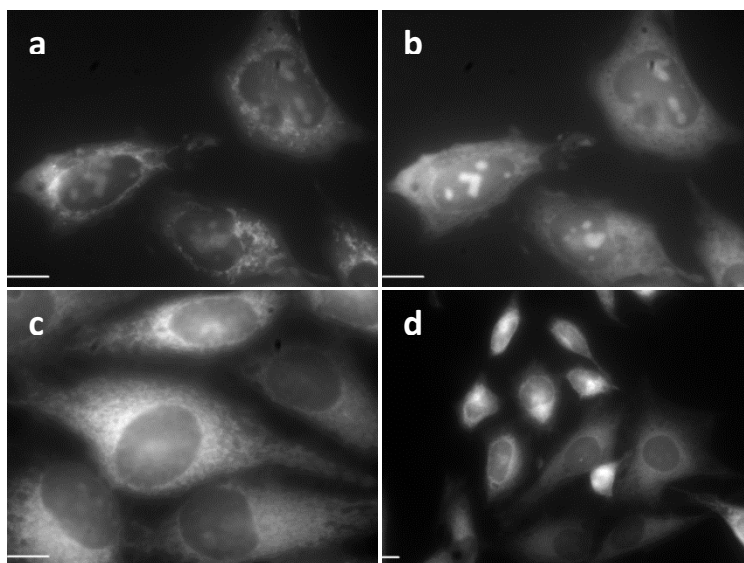
***In cellulo* imaging**

HeLa cells were cultured in EMEM medium supplemented with 1% non-essential amino acids, 10% FBS, 50U.mL⁻¹ penicillin, and 50µg.mL⁻¹ streptomycin at 37 °C and 5% CO₂. Twenty-four hours before experiments, 50000 cells per well were plated onto glass coverslips in 24-well plates. Cells were briefly washed two times with PBS supplemented with 0.1mM CaCl₂ and either labelled directly with RNA probes for "live cells", or treated for 30 min at room temperature with 4% PFA in PBS and permeabilized during 5 min with 0.1% Triton X-100 for "fixed cells". Cells were incubated for 20 min with solutions of either dye **3.54 (A)**, 1 or 5 µM) or **3.55 (B)**, 5 or 10 µM) in TE buffer alone for "fixed cells", or supplemented with 140mM NaCl, 4mM KCl, 2.5mM CaCl₂, 1mM MgCl₂ for "live cells". For RNase treatment, labeled fixed cells were incubated for 2h in 500 µL of buffer supplemented or not with 150 µg.mL⁻¹ of RNase A.

In all cases, labeled cells were imaged immediately with a Nikon Eclipse TE-2000 microscope equipped with a CCD camera (Coolsnap).

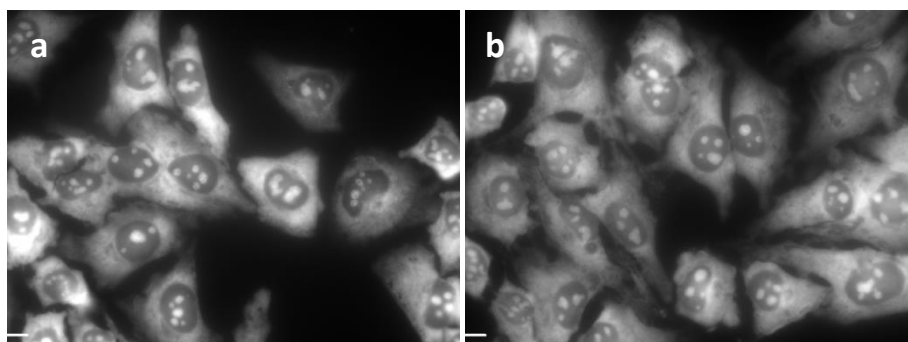


Live cells

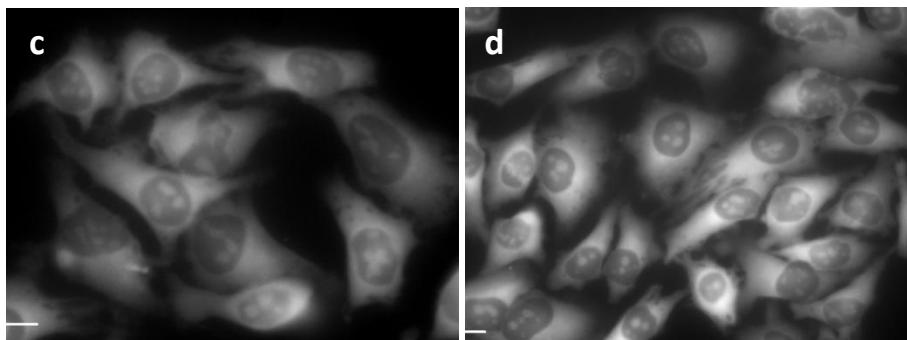


Live HeLa cells incubated for 20 min in a 1 μM solution of flat cyanine **3.54**, at the beginning of exposition to microscope light (image a), and after 10s of exposition (image b); or in a 5 μM solution of 3D cyanine **3.55** (images c and d). Scale bar = 10 μm .

Fixed cells

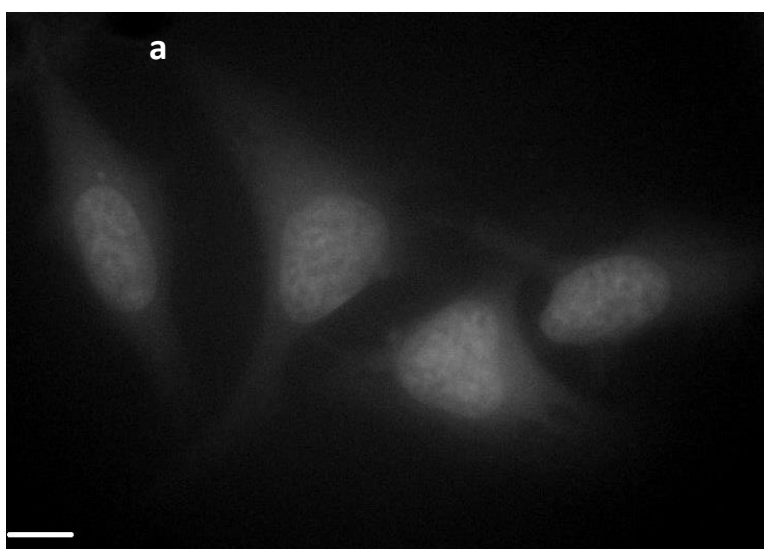


Fixed HeLa cells incubated for 20 min with a 1 μM (image a) or 5 μM (Image b) solution of flat cyanine **3.54**. Scale bar = 10 μm .

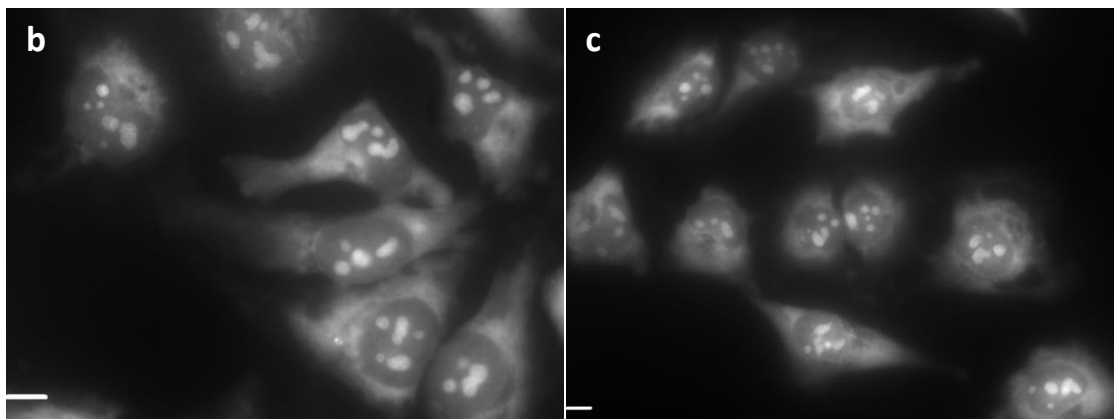


Fixed HeLa cells incubated for 20 min with a 5 μ M (image c) or 10 μ M (Image d) solution of 3D cyanine **3.55**. Scale bar = 10 μ m.

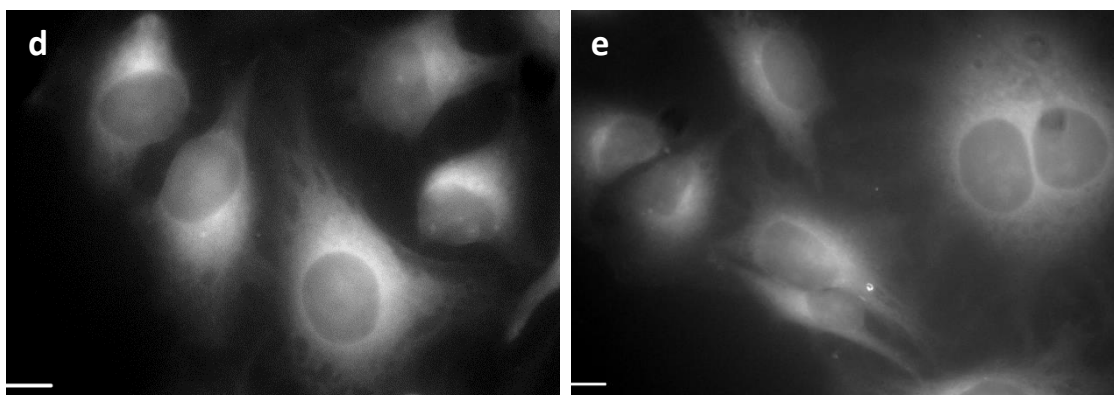
Fixed cells – RNase digestion experiments



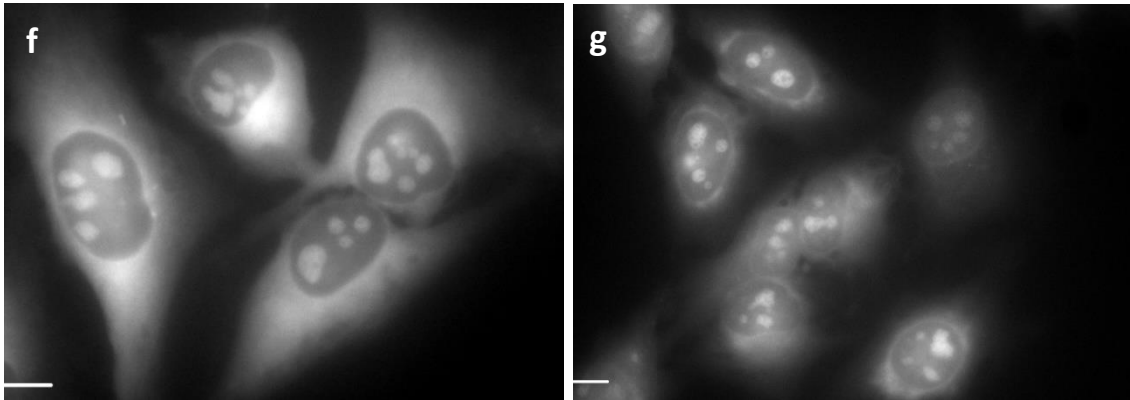
RNase digestion experiment: Fixed HeLa cells incubated for 20 min with a 5 μ M solution of flat cyanine **3.54**, then treated with RNase (75 μ g) for 2 h at 37 °C before imaging (image a). Scale bar = 10 μ m.



Negative controls: Fixed HeLa cells incubated for 20 min with a 1 μM (image **b**) or 5 μM (Image **c**) solution of flat cyanine **3.54**, then treated with TE buffer for 2 h at 37 °C before imaging. Scale bar = 10 μm.



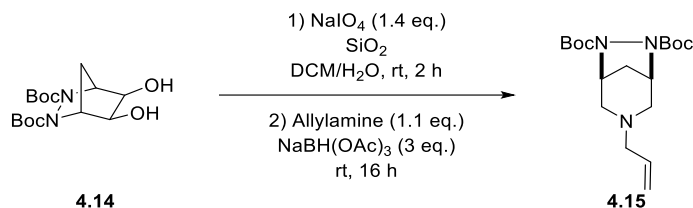
RNase digestion experiment: Fixed HeLa cells incubated for 20 min with a 5 μM (image **d**) or 10 μM (Image **e**) solution of 3D cyanine **3.55**, then treated with RNase (75 μg) for 2 h at 37 °C before imaging. Scale bar = 10 μm.



Negative controls: Fixed HeLa cells incubated for 20 min with a 5 μM (image f) or 10 μM (Image g) solution of 3D cyanine **3.55**, then treated TE buffer for 2 h at 37 $^{\circ}\text{C}$ before imaging. Scale bar = 10 μm .

IV.2 Synthesis and SELEX experiments of ligands 4.28 and 4.29

6,7-Dibenzyl 3-[(4-methoxyphenyl)methyl]-3,6,7-triazabicyclo[3.2.1]octane-6,7-dicarboxylate 4.15



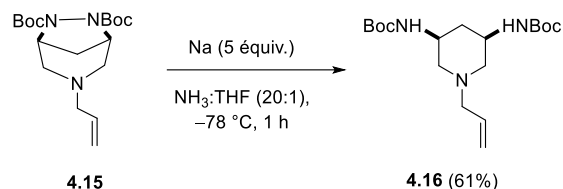
To a vigorously stirred solution of silica (32 g) in DCM (275 mL), NaIO₄ (0.65 M, 21.2 mmol, 1.4 eq.) in H₂O (32.6 mL) was added dropwise until formation of a flaky suspension. A solution of compound **4.14** (5 g, 15.13 mmol, 1 eq.) in DCM (50 mL) was then added. The mixture was stirred at rt until complete disappearance of the starting material. The solution was then filtered through a plug of Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The obtained white solid was dissolved in dry DCM (290 mL) under Ar atmosphere. allylamine (1.31 mL, 17.5 mmol, 1.1 eq.) and sodium triacetoxyborohydride (9.3 g, 43.7 mmol, 3 eq.) were added. After stirring 16 h at rt, a saturated NaHCO₃ aqueous solution (50 mL) was added, the immiscible phases were separated, and the aqueous phase was extracted with DCM (3x 50 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, gravity filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography (Cy:EtOAc 8:2). Compound **4.15** (4.79 g, 13.57 mmol, 90 %)

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 5.81-5.73 (m, 1H), 5.16-5.06 (m, 2H), 4.43 (s br, 1H), 4.22-4.21 (m, 1H), 3.26-3.08 (m, 2H), 3.02-3.00 (m, 1H), 2.15-2.13 (d, 1H, *J* = 11 Hz), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.67-1.65 (d, 1H, *J* = 10 Hz), 1.46 (s, 18H) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 157.4 (C), 157.1 (C), 135.2 (CH₂), 135.1 (CH₂), 117.4 (CH₂), 117.1 (CH₂), 81.04 (C), 80.35 (C), 60.1 (CH₂), 59.7 (CH₂), 55.99 (CH), 55.91 (CH), 55.7 (CH), 53.4 (CH₂), 53.1 (CH₂), 36.2 (CH₂), 36.0 (CH₂), 28.2 (CH₃), 28.1 (CH₃) ppm.

IR neat ν 3126, 2976, 2932, 2860, 1689, 1586 cm⁻¹.

HRMS (ESI): [M+Na]⁺ C₂₁H₃₃N₂O₄Na : calcd. 377.2435, found 377.2424.

Di-tert-butyl (1-allylpiperidine-3,5-diyl)dicarbamate **4.16**

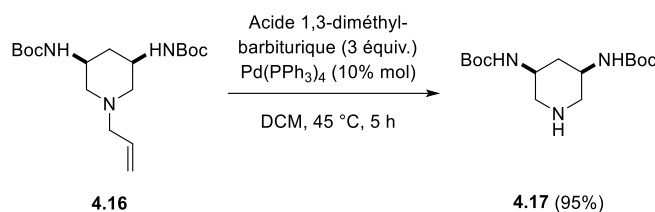
In a flame-and-vacuum dried three-necked round bottom flask equipped with a cold finger type condenser and an inlet for NH_3 under Ar atmosphere at -78°C . Around 250 mL of $\text{NH}_3(l)$ was condensed till and the inlet was removed. Na metal (980 mg, 42.6 mmol, 5.0 eq.) was introduced carefully in small pieces to the liquid NH_3 at -78°C , then allyl piperidine **15** (3.0 g, 8.4 mmol, 1.0 eq.) in dry THF 15 mL was added at the same temperature. The reaction mixture was stirred for 1 h at -78°C . The excess Na was destroyed by adding solid ammonium chloride carefully and the ammonia was allowed to evaporate at room temperature (about 30 min). The residue was diluted with saturated solution of NH_4Cl and water and then was extracted with EtOAc three times. The combined organic layers were dried over Na_2SO_4 , filtered evaporated under reduced pressure. The crude product **4.16** (1.85 g, 61%) as a white solid was used directly in the next step without further purifications.

IR (ATR) ν 3120, 2940, 2830, 2544, 1683, 1530 cm^{-1} .

^1H NMR (MeOH, 500 MHz): δ 5.79-5.74 (m, 1H), 5.12-5.06 (m, 2H), 3.49 (m, 2H), 2.95-2.87 (m, 4H), 1.91-1.84 (m, 1H), 1.59 (t, 2H, $J = 10$ Hz), 1.38-1.33 (d, 18H) ppm.

^{13}C NMR (MeOH, 125 MHz): δ 156.1 (C), 134.0 (CH), 117.5 (CH_2), 78.6 (C), 60.6 (CH), 57.3 (CH_2), 46.1 (CH_2), 36.5 (CH_2), 27.2 (CH_3) ppm.

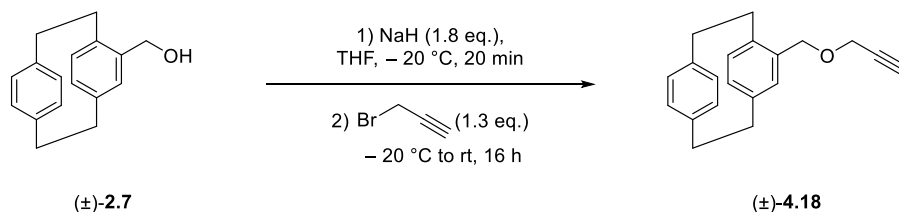
HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_4$: calcd. 356.2471, found 356.2541.

di-tert-Butyl ((3R,5S)-piperidine-3,5-diyl)dicarbamate 4.17

A solution of **4.16** (1 g, 2.81 mmol, 1.0 équiv.) in dry DCM (7.5 mL) was added to a mixture of N,N-dimethylbarbituric acid (1.37 g, 8.44 mmol, 3.0 équiv.) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium (32.5 mg, 28 μ mol, 0.01 équiv.) under argon. The reaction mixture was stirred for 5 hours at 35 °C in the dark. The reaction was quenched with saturated aqueous NaHCO₃ (3 mL), and extracted with CH₂Cl₂. The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Flash chromatography on silica gel (DCM:MeOH 97:3) afforded the product (842 mg, 2.67 mol, 95 %) as a yellow oil.

¹H NMR (250 MHz, CD₃OD): δ 3.53-3.45 (m, 2H), 3.07 (dd, $J = 12.5, 3.5$ Hz, 2H), 2.24-2.10 (m, 3H), 1.43 (s, 18H), 1.28-1.14 (m, 1H) ppm.

Spectroscopic data for this compound were consistent with the literature.⁹⁰

13-[(Prop-2-yn-1-yloxy)methyl]tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaene **4.18**

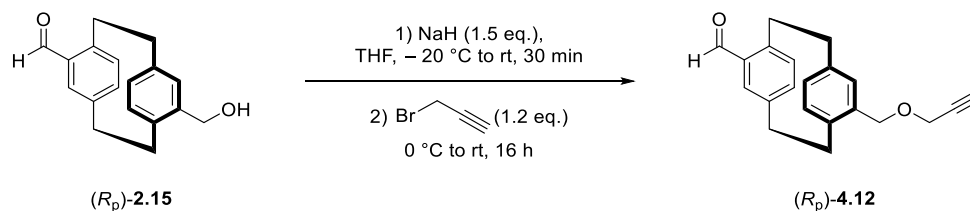
A flame-dried vial was charged with compound (\pm)-**2.7** (20 mg, 0.0839 mmol, 1 eq.), and dry THF (0.3 mL) under an argon atmosphere. The resulting solution was cooled to $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, and NaH (6 mg, 0.15 mmol, 1.8 eq.) was added. The resulting solution was stirred at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 min, then 3-bromopropyne (0.012 mL, 0.111 mmol, 1.3 eq.) was added. The mixture was slowly allowed to warm back to rt, and stirred overnight ($\sim 16\text{ h}$). The reaction was then quenched by the addition of water (2 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (4 x 25mL). The combined organic layers were washed with brine (30 mL), dried over MgSO_4 , filtered and evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography (eluent = gradient of Cy to Cy/EtOAc 6:4) to afford compound (\pm)-**4.18** (14.8 mg, 0.0536 mmol, 64 % yield) as a colorless amorphous solid.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 6.63 (dd, $J = 9.3, 1.7\text{ Hz}$, 1H), 6.44-6.55 (m, 5H), 6.37-6.40 (m, 1H), 4.62 (d, $J = 11.8\text{ Hz}$, 1H), 4.31 (d, $J = 11.8\text{ Hz}$, 1H), 4.12 (qd, $J = 15.8, 2.4\text{ Hz}$, 2H), 3.40-3.46 (m, 1H), 2.96-3.17 (m, 6H), 2.83-2.90 (m, 1H), 2.48 (t, $J = 2.4\text{ Hz}$, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 140.0 (C), 139.7 (C), 139.4 (C), 138.5 (C), 136.2 (C), 135.1 (CH), 133.7 (CH), 133.4 (CH), 133.3 (CH), 132.6 (CH), 132.4 (CH), 129.4 (CH), 80.1 (C), 74.5 (CH), 71.1 (CH_2), 57.4 (CH_2), 35.4 (CH_2), 35.1 (CH_2), 34.6 (CH_2), 33.1 (CH_2) ppm.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ONa}$: 299.1406; found: 299.1409.

(*R_p*)-14-[(*Prop-2-yn-1-yloxy*)methyl]tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaene-5-carbaldehyde **4.12**



In a flame-dried round-bottomed flask, compound (*R_p*)-**2.15** (300 mg, 1.13 mmol, 1 eq.) was dissolved in dry THF (10 mL), under an argon atmosphere. The solution was cooled to -20 °C and NaH (66 mg, 1.65 mmol, 1.5 eq.) was added. The resulting solution was allowed to warm up to rt and stirred for 30 min, then cooled back to 0 °C. 3-Bromoprop-1-yne (0.15 mL, 1.36 mmol, 1.2 eq.) was added dropwise. The mixture was warmed to rt and stirred overnight. The reaction was then quenched by the addition of water (10 mL). The resulting immiscible phases were separated and the aqueous phase was extracted with DCM (3 x 15 mL). The combined organic layers were washed with water (20 mL) and brine (20 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography using EtOAc/Cy (1:10 to 4:6) as the eluent to afford compound (*R_p*)-**4.12** (110 mg, 0.36 mmol, 32 % yield, 99 % *ee*) as a colorless amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.96 (s, 1H), 7.00 (d, *J* = 1.81 Hz, 1H), 6.90 (dd, *J* = 9.7, 5.9 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.39 (s, 2H), 4.56 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.32 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.18-4.06 (m, 3H), 3.45-3.39 (m, 1H), 3.21-3.05 (m, 4H), 2.97-2.90 (m, 2H), 2.51 (t, *J* = 4.6 Hz, 1H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 192.0 (CH), 143.2 (C), 140.3 (C), 139.7 (C), 138.2 (C), 136.8 (C), 136.6 (CH), 136.3 (C), 135.3 (CH), 134.6 (CH), 133.9 (CH), 133.2 (CH), 131.8 (CH), 79.8 (C), 74.6 (CH), 70.7 (CH₂), 57.4 (CH₂), 34.5 (CH₂), 33.9 (CH₂), 33.0 (CH₂), 32.1 (CH₂) ppm.

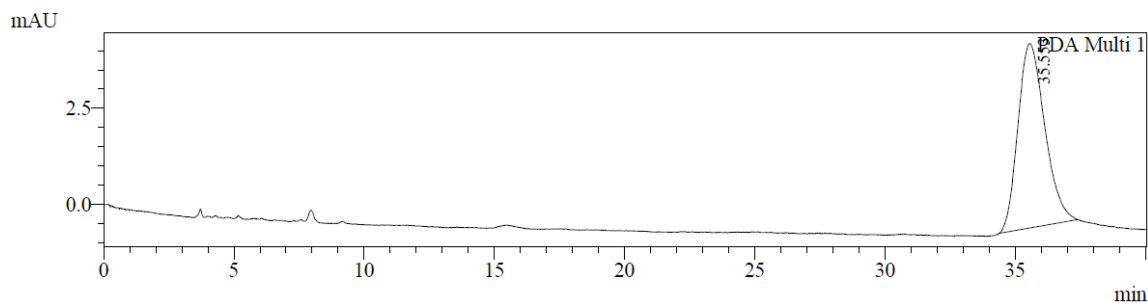
IR (neat): 3263, 2930, 2852, 2727, 2118, 1682, 1552, 1488, 1471, 1351, 1228, 1203, 1143, 1101, 1080, 1006, 902, 886, 795, 719 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₁H₂₀O₂Na: 327.13556; found: 327.1365.

[α]_D²⁰ - 122 (c 0.95, CHCl₃)

Chiral HPLC analysis: tR_{Rp} = 35.5 min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; λ = 254 nm; T = 25 °C]

HPLC analysis of compound (*R_p*)-4.3



1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

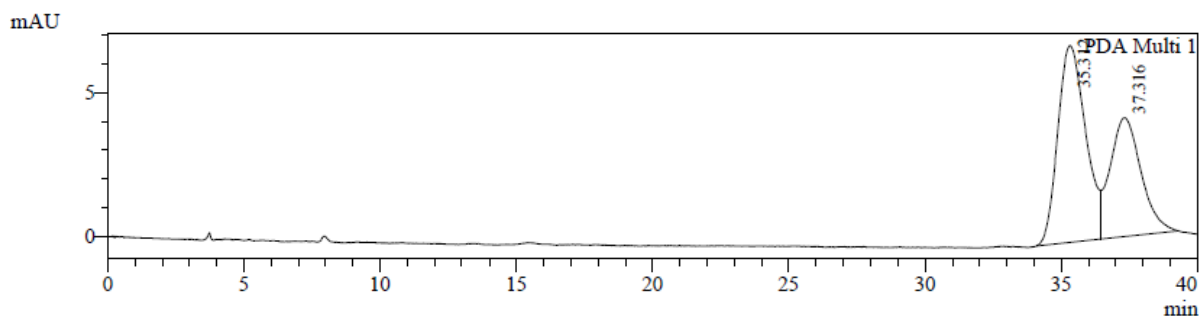
PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	35.553	343137	4793	100.000	100.000
Total		343137	4793	100.000	100.000

Chiral HPLC analysis: tR_{Rp} = 35.3 min; tR_{Sp} = 37.3 min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; λ = 254 nm; T = 25 °C]

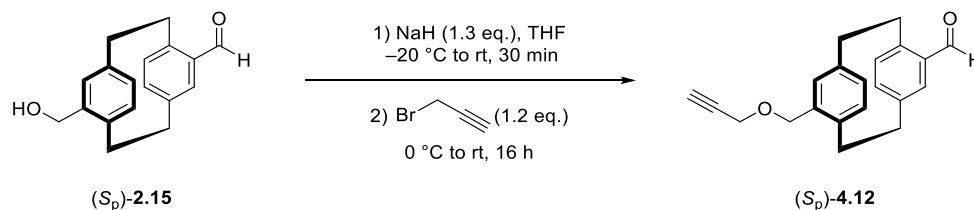
HPLC analysis of a mixture of compounds (*R_p*)-4.3 and (*S_p*)-4.3



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	35.312	484065	59.675
2	37.316	327110	40.325
Total		811176	100.000

(*S_p*)-14-[(Prop-2-yn-1-yloxy)methyl]tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4,6,10,13,15-hexaene-5-carbaldehyde **4.12**

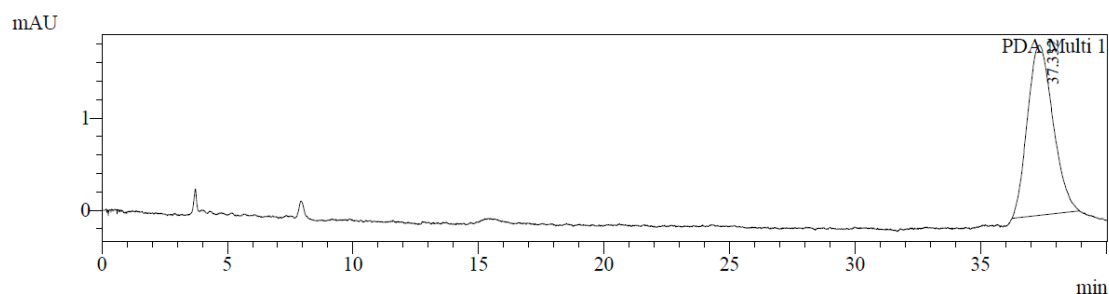


Following the procedure described for the synthesis of compound (*R_p*)-**4.12** (pag. 379): (*S_p*)-**2.15** (572 mg, 2.15 mmol, 1 eq.), NaH (109 mg, 2.71 mmol, 1.3 eq.), and bromoprop-1-yne (0.28 mL, 2.60 mmol, 1.2 eq.) in dry THF (20 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (eluent: EtOAc/Cy (1:10 to 4:6)) to afford compound (*S_p*)-**4.12** (250 mg, 0.82 mmol, 38% yield, 99% *ee*) as an amorphous white solid.

[α]_{589, 20} + 118 (c 0.9, CHCl₃)

Chiral HPLC analysis: tR_{RP} = 37.3 min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; λ = 254 nm; T = 25 °C]

HPLC analysis of compound (*S_p*)-**4.12**



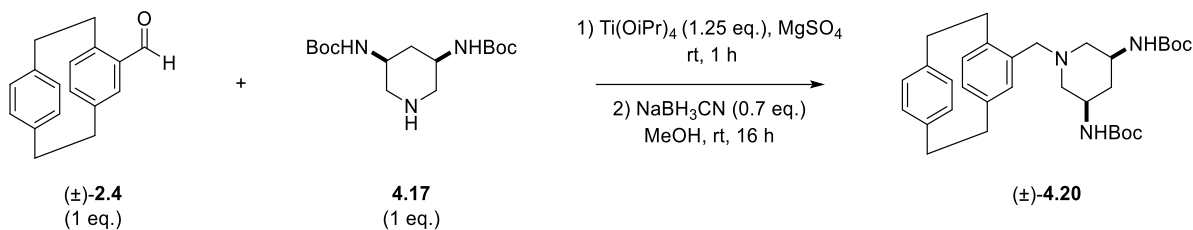
1 PDA Multi 1 / 254nm 4mm

PDA Ch1 254nm 4mm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	37.332	130436	1844	100.000	100.000
Total		130436	1844	100.000	100.000

(±)-di-tert-Butyl ((3R,5S)-1-(1,4(1,4)-dibenzocyclohexane-1²-ylmethyl)piperidine-3,5-diyl)dicarbamate

4.20



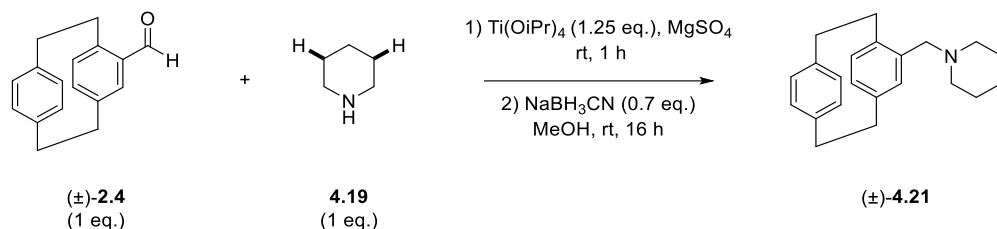
In a flame dried round-bottomed flask were added compound **4.17** (30 mg, 0.095 mmol, 1 eq.), compound $(\pm)\text{-2.4}$ (22.5 mg, 0.095 mmol, 1 eq.), MgSO_4 (1 spatula), and Ti(OiPr)_4 (0.04 mL, 0.12 mmol, 1.25 eq.) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at rt for 1 h, then MeOH (0.5 mL) and NaBH_3CN (4 mg, 0.064 mmol, 0.7 eq.) were added. The resulting white suspension was stirred at rt overnight. The reaction was then quenched by the addition of a saturated NaHCO_3 aq. solution (20 mL). The mixture was diluted with water (20 mL), and extracted with DCM (3 x 50 mL). The combined organic layers were washed with brine (100 mL), dried over MgSO_4 and filtered and evaporated under reduced pressure. The crude white solid was purified by silica gel column chromatography (dry loaded, eluent = Cy to Cy/EtOAc 1:14) to afford compound $(\pm)\text{-4.20}$ (14.8 mg, 0.028 mmol, 29% yield) as a colorless amorphous solid.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 6.24-6.61 (m, 7H), 6.37-6.40 (m, 1H), 4.50 (br s, 1H), 3.59-3.45 (m, 4H), 3.01-3.17 (m, 5H), 2.92-3.00 (m, 2H), 2.79-2.84 (m, 1H), 2.83-2.90 (m, 1H), 2.67 (br s, 2H), 1.88 (br s, 2H), 1.41 (s, 18H), 0.88 (t, $J = 6.85$ Hz, 1H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 155.0 (2C), 139.6 (C), 139.5 (C), 139.4 (C), 139.0 (C), 136.5 (C), 135.1 (CH), 135.0 (CH), 133.3 (CH), 133.2 (CH), 132.1 (CH), 131.7 (CH), 128.7 (CH), 79.3 (2C), 61.4 (CH_2), 58.2 (2CH_2), 46.1 (2CH), 35.3 (CH_2), 35.0 (CH_2), 34.4 (CH_2), 33.4 (CH_2), 31.9 (CH_2), 28.4 (6CH_3) ppm.

IR (neat): 3355, 2975, 2928, 2855, 1688, 1524, 1391, 1366, 1299, 148, 1234, 1170, 1074, 1042, 1011, 910, 867, 734, 718 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_4$: 536.3483; found: 536.3474.

(±)-1-{Tricyclo[8.2.2.2^{4,7}]hexadeca-1(12),4(16),5,7(15),10,13-hexaen-5-ylmethyl}piperidine **4.21**

In a flame dried round-bottomed flask were added piperidine (0.03 mL, 0.304 mmol, 1 eq.), compound $(\pm)\text{-2.4}$ (71.8 mg, 0.30 mmol, 1 eq.), MgSO_4 (1 spatula), and Ti(OiPr)_4 (0.12 mL, 0.38 mmol, 1.25 eq.) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at rt for 1 h, then MeOH (1 mL) and NaBH_3CN (12.8 mg, 0.20 mmol, 0.7 eq.) were added. The resulting white suspension was stirred at rt overnight. The reaction was then quenched by the addition of a saturated NaHCO_3 aq. solution (20 mL). The mixture was diluted with water (20 mL), and extracted with DCM (3x50 mL). The combined organic layers were washed with brine (100 mL), dried over MgSO_4 and filtered and evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography (dry loaded, eluent = Cy/EtOAc 1:0 to 6:4) to obtain compound $(\pm)\text{-4.21}$ (56.4 mg, 0.185 mmol, 61 %) as a colorless amorphous solid.

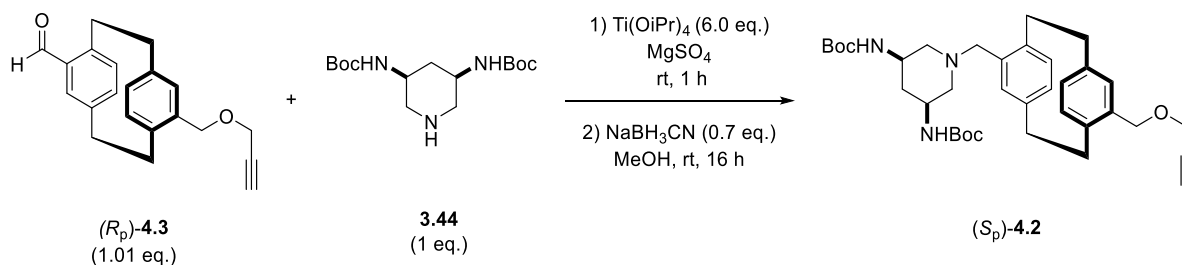
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 6.62-6.60 (m, 1H), 6.53-6.39 (m, 5H), 6.30 (s, 1H), 3.54-3.49 (m, 2H), 3.17-2.94 (m, 7H), 2.84-2.78 (m, 1H), 2.32 (br s, 4H), 1.54-1.52 (m, 4H), 1.38-1.37 (m, 2H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 139.6 (2C), 139.5 (C), 139.2 (C), 135.9 (C), 134.7 (CH), 133.4 (CH), 133.2 (CH), 132.2 (CH), 131.6 (CH), 129.1 (CH), 62.5 (CH_2), 54.7 (2 CH_2), 35.5 (CH_2), 35.1 (CH_2), 34.6 (CH_2), 33.8 (CH_2), 25.8 (2 CH_2), 24.3 (CH_2) ppm.

IR (neat): 2923, 2853, 1675, 1644, 1499, 1453, 1439, 1412, 1342, 1250, 1154, 1112, 1039, 902, 872, 796, 718 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}$: 306.2216; found: 306.2216.

(S_p)-di-tert-Butyl ((3*S*,5*R*)-1-((4³-(*prop*-2-yn-1-yloxy)methyl)-1,4(1,4)-dibenzenacyclohexaphane-1²-yl)methyl)piperidine-3,5-diyl)dicarbamate **4.2**



In a flame dried round-bottomed flask were added compound **3.44** (42 mg, 0.13 mmol, 1 eq.), compound **(R_p)-4.3** (41 mg, 0.14 mmol, 1.01 eq.), MgSO₄ (1 spatula), and Ti(OiPr)₄ (0.25 mL, 0.82 mmol, 6 eq.) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at rt 1 h, then MeOH (0.6 mL) and NaBH₃CN (5.9 mg, 0.094 mmol, 0.7 eq.) were added. The resulting white suspension was stirred at rt overnight. The reaction was then diluted with ice water (10 mL) and cold EtOAc (10 mL), the mixture was filtered through a short pad of silica gel with MeOH washings. The filtrate was extracted with EtOAc (5 x 20 mL). The combined organic layers were washed with brine (30 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography using Cy/EtOAc (1:0 to 1:1) as the eluent to yield compound **(S_p)-4.2** (40.8 mg, 0.068 mmol, 51 % yield, 99 % *ee*) as a colorless amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 6.59 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 6.22-6.32 (m, 3H), 6.25 (br s, 1H), 4.64 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.48 (br s, 1H), 4.31 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.06-4.18 (m, 2H), 3.64 (br s, 3H), 3.46-3.38 (m, 2H), 3.16-2.97 (m, 5H), 2.87-2.66 (m, 4H), 2.48 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H), 2.03-2.00 (m, 1H), 1.87 (br s, 1H), 1.40 (s, 18H), 1.27-1.24 (m, 3H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 171.3 (2C), 155.3 (C), 155.2 (C), 139.7 (C), 139.3 (C), 139.1 (C), 138.4 (C), 137.0 (C), 136.5 (C), 135.3 (CH), 134.2 (CH), 134.0 (CH), 133.9 (CH), 128.6 (CH), 128.4 (CH), 80.1 (2CH), 74.6 (CH), 71.2 (CH₂), 61.6 (CH₂), 60.5 (CH₂), 58.4 (CH₂), 57.4 (CH₂), 46.3 (CH), 33.9 (CH₂), 32.9 (2CH₂), 32.4 (CH₂), 29.8 (CH₂), 28.5 (6CH₃) ppm.

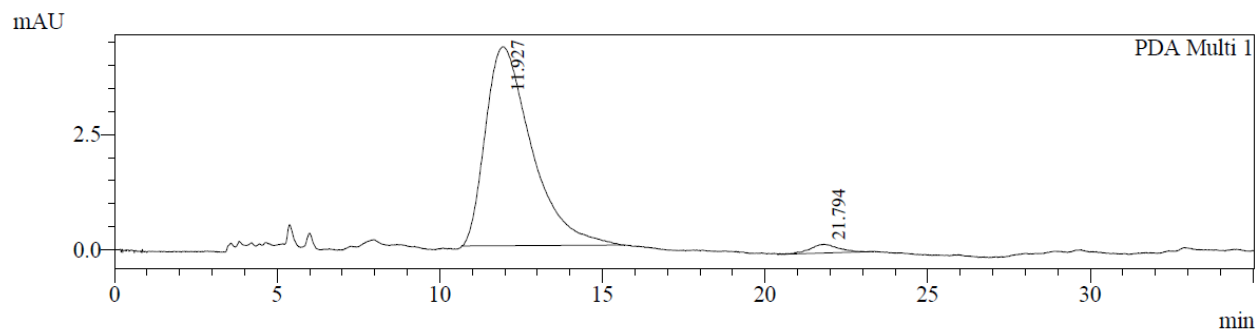
HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₆H₅₀N₃O₅: 604.3745; found: 604.3741.

[α]_{546, 20} – 20 (c 0.3, CHCl₃)

[α]_{365, 20} – 77 (c 0.3 CHCl₃)

Chiral HPLC analysis: $t_R = 11.9$ min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm; $T = 25$ °C]

HPLC analysis of compound (*S*_p)-4.2



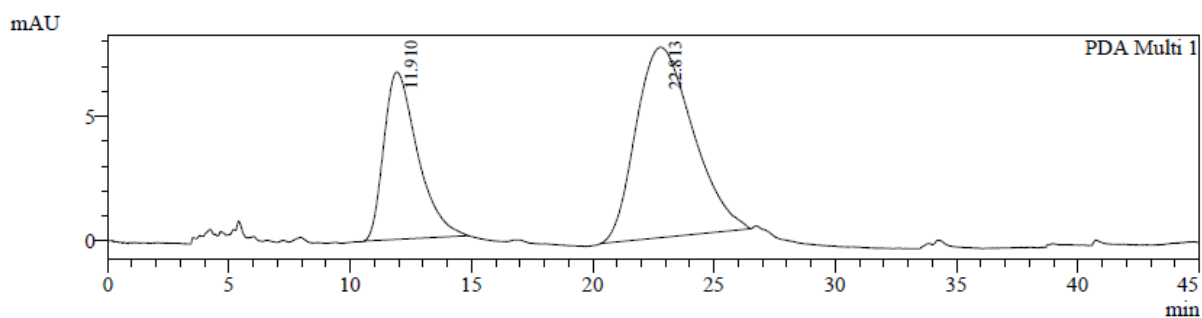
1 PDA Multi 1 / 254nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 254nm 4nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	11.927	425371	4310	97.370	95.750
2	21.794	11489	191	2.630	4.250
Total		436860	4501	100.000	100.000

Chiral HPLC analysis: $t_{R_{sp}} = 11.9$ min; $t_{R_{rp}} = 22.8$ min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; $\lambda = 254$ nm; $T = 25$ °C]

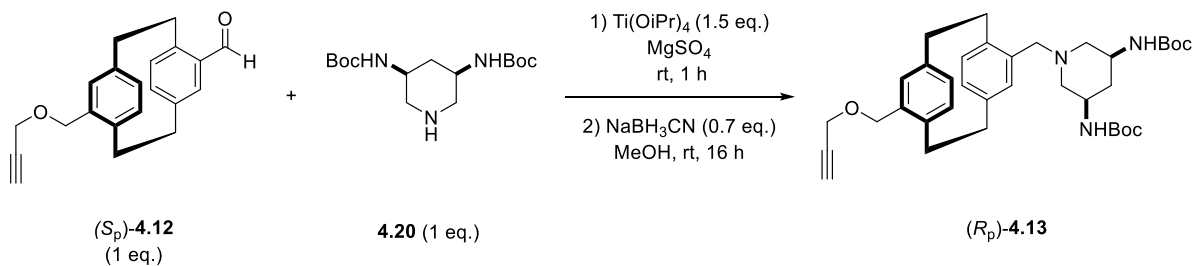
HPLC analysis of a mixture of compounds (*S*_p)-4.2 and (*R*_p)-4.2



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	11.910	649289	34.209
2	22.813	1248714	65.791
Total		1898004	100.000

(*R_p*)-*di-tert-Butyl* ((3*S*,5*R*)-1-((4³-(*prop*-2-yn-1-yloxy)methyl)-1,4(1,4)-dibenzenacyclohexaphane-1²-yl)methyl)piperidine-3,5-diyl)dicarbamate **4.13**



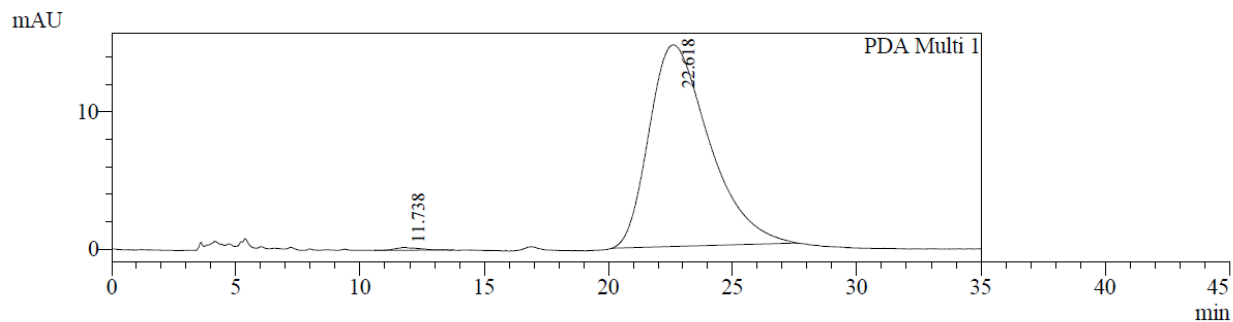
Following the procedure described for the synthesis of compound (*S_p*)-**4.13** (pag. 385): (*S_p*)-**4.12** (97 mg, 0.32 mmol, 1 eq.), compound **4.20** (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq.), Ti(OiPr)₄ (0.15 mL, 0.48 mmol, 1.5 eq.), and NaBH₃CN (14 mg, 0.22 mmol, 0.7 eq.) in MeOH (1.5 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (eluent: EtOAc/Cy (0:1 to 1:1)) to afford compound (*R_p*)-**4.13** (90 mg, 0.15 mmol, 47 % yield, 99 % *ee*) as an amorphous white solid.

[α]_{546, 20} + 31 (c 0.45, CHCl₃)

[α]_{589, 20} + 93 (c 0.45, CHCl₃)

Chiral HPLC analysis: tR = 22.6 min [Column = Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); eluent = *n*-heptane/*i*-PrOH (8:2); flow = 1 mL/min; λ = 254 nm; T = 25 °C]

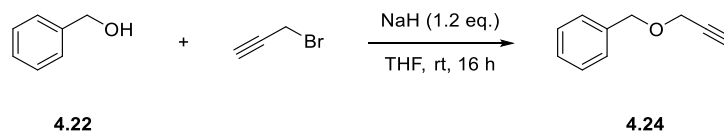
HPLC analysis of compound (*R_p*)-**4.2**



1 PDA Multi 1 / 254nm 4mm

PDA Ch1 254nm 4mm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	11.738	14219	0.573
2	22.618	2467540	99.427
Total		2481759	100.000

(Prop-2-yn-1-yloxy)benzene **4.24**

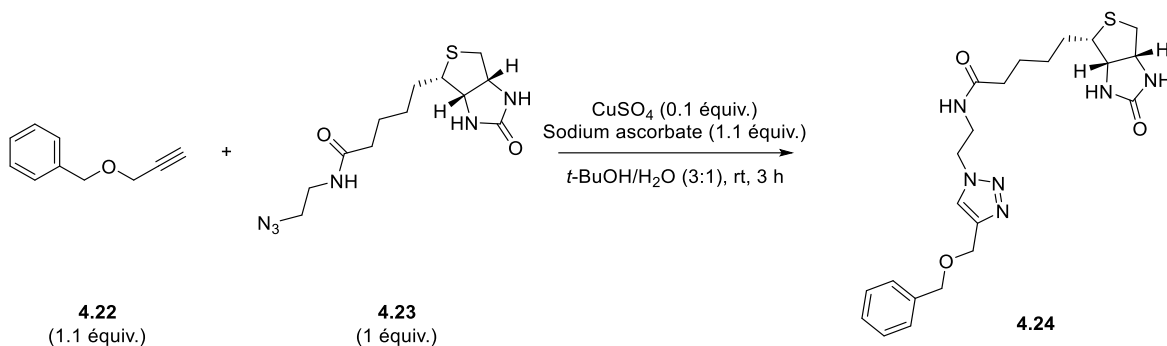
A flame and vacuum-dried 25 mL round-bottomed flask was charged with benzyl alcohol **4.22** (1 mL, 10 mmol, 1 eq.), and dry THF (10 mL) under Ar atmosphere. The mixture was cooled to -20 °C in an ice and salt bath, and NaH (479 mg, 12 mmol, 1.2 eq.) was added. The mixture was warmed up to rt. Once bubbling ceased, the reaction was cooled back to 0 °C and propargyl bromide (1784 mg, 1.3 mL, 12 mmol, 1.2 eq.) was added. The reaction was stirred at rt for 18 h, then water (30 mL) was added. The mixture was diluted with and EtOAc (30 mL). The immiscible phases were separated and the aqueous phase extracted with EtOAc (2 x 30 mL). The combined organic phases were washed with brine (40 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting dark yellow liquid was purified by silica gel column chromatography using Cy/EtOAc (1:0 to 6:4) as the eluent to yield compound **4.24** (650 mg, 4.45 mmol, 44 % yield) as a yellow liquid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.30-7.37 (m, 5H), 4.62 (s, 2H), 4.18 (s, 2H), 2.47 (br s, 1H) ppm.

¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 137.4 (C), 128.6 (2CH), 128.3 (2CH), 128.0 (CH), 79.8 (C), 74.7 (CH), 71.7 (CH₂), 57.2 (CH₂) ppm.

Spectroscopic data were consistent with the literature data for this compound.⁴²⁶

N-(2-{4-[(*N*-benzyloxy)methyl]-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl}ethyl)-5-{2-oxo-hexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazolidin-4-yl}pentanamide **4.24**



A vial was charged with compound **4.12** (23 mg, 0.074 mmol, 1 eq.), compound **4.14** (0.01 mL, 0.074 mmol, 1.01 eq.), sodium ascorbate (16.3 mg, 0.082 mmol, 1.12 eq.), CuSO₄ (1.3 mg, 0.0081 mmol, 0.1 eq.), H₂O (2.5 mL), and *t*-BuOH (0.75 mL). The mixture was stirred open air for 3 h, then concentrated under reduced pressure. The residue was taken up in DCM, directly loaded onto silica gel, and purified by flash column chromatography using DCM/MeOH (98:2 to 9:1) as the eluent to afford product **4.15** (20.5 mg, 0.045 mmol, 61% yield) as a colorless amorphous solid.

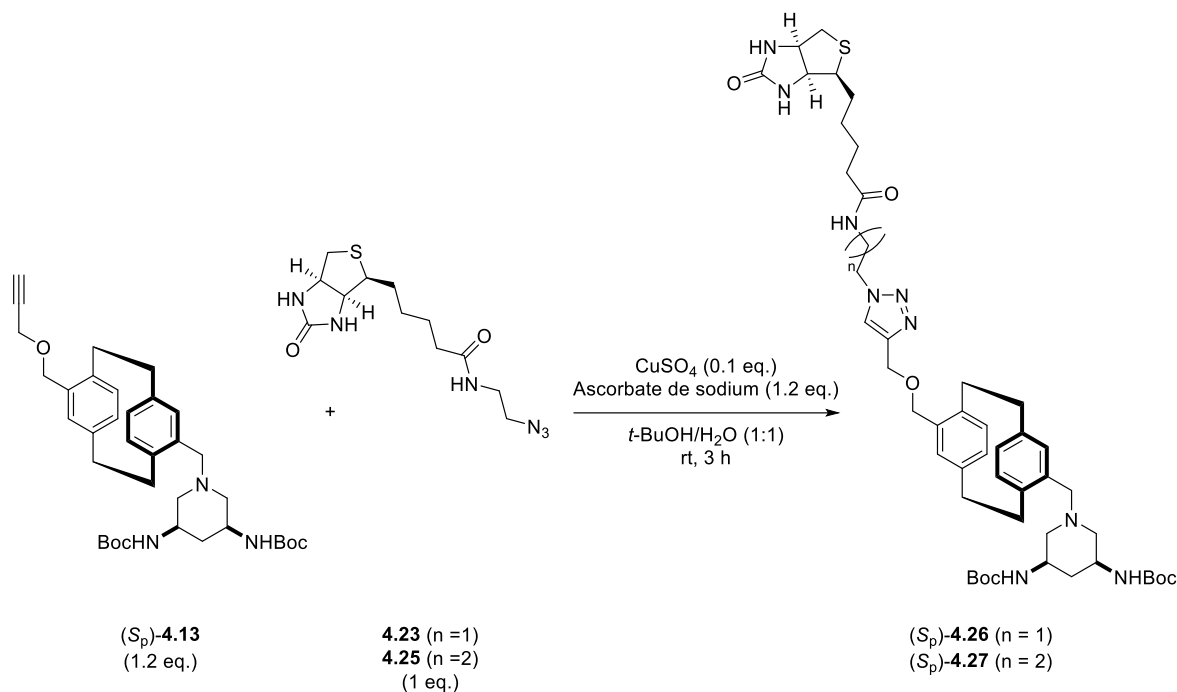
¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7.95 (s, 1H), 7.27-7.37 (m, 5H), 4.63 (s, 2H), 4.57 (s, 2H), 5.20 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 4.44-4.47 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 3.65 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.14-3.18 (m, 1H), 2.90 (dd, *J* = 12.7, 5.0 Hz, 2H), 2.68 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 2.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.63-1.73 (m, 1H), 1.48-1.63 (m, 3H), 1.35 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 176.5 (C), 166.1 (C), 146.0 (C), 139.3 (C), 129.5 (2CH), 129.1 (2CH), 128.9 (CH), 125.6 (CH), 73.4 (CH₂), 64.1 (CH₂), 63.3 (CH), 61.7 (CH), 56.9 (CH), 50.6 (CH₂), 41.1 (CH₂), 40.4 (CH₂), 36.6 (CH₂), 29.6 (CH₂), 29.4 (CH₂), 26.7 (CH₂) ppm.

IR (neat): 2970.7, 1738.1, 1365.9, 1217.0, 1057.4, 852.8, 749.7 cm⁻¹.

HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₂H₃₀N₆O₃NaS: 481.1992; found: 481.1988.

*(S_p)-di-tert-Butyl((3S,5R)-1-((4³-(((1-(2-(5-(2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)-1,4(1,4)-dibenz[en]cyclohexaphane-1²-yl)methyl)piperidine-3,5-diyl)dicarbamate **4.26** and *(S_p)-di-tert-Butyl((3S,5R)-1-((4³-(((1-(2-(5-(2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)-1,4(1,4)-dibenz[en]cyclohexaphane-1²-yl)methyl)piperidine-3,5-diyl)dicarbamate **4.27****



Azido ligands **4.23** and **4.25** synthesized according to a previously reported procedure.⁴²⁷

A vial was charged with compound **4.23** (8.6 mg, 0.028 mmol, 1 eq.) and compound *(S_p)-4.13* (20 mg, 0.033 mmol, 1.2 eq.), sodium ascorbate (6.6 mg, 0.033 mmol, 1.2 eq.) and CuSO_4 (0.4 mg, 0.0028 mmol, 0.1 eq.) subsequently dissolved in H_2O (1 mL) and *t*-BuOH (1 mL). The reaction mixture was left to stir open air for 3 h, before concentrated under reduced pressure. The residue was taken up in DCM with drops of MeOH, directly loaded onto silica gel and purified by flash column chromatography using DCM/MeOH (98:2 to 9:1) as eluent to afford product *(S_p)-4.26* (8.5 mg, 0.0093 mmol, 34 % yield) as an amorphous white solid.

¹H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 7.92 (s, 1H), 6.64-6.59 (m, 2H), 6.39-6.31 (m, 4H), 4.67 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.58 (s, 2H), 4.52 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 4.44 (dd, $J = 7.8, 4.6$ Hz, 1H), 4.30 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 4.24 (dd, $J = 7.9, 4.5$ Hz, 1H), 3.77-3.75 (br m, 1H), 3.66-3.64 (m, 2H), 3.55-3.49 (br m, 3H), 3.35 (s,

4H), 3.17-3.13 (m, 1H), 3.06-2.94 (m, 5H), 2.90 (dd, $J = 12.7, 5.0$ Hz, 1H), 2.85-2.79 (m, 3H), 2.69 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 2.15-2.12 (m, 2H), 2.02-1.99 (m, 1H), 1.71-1.52 (m, 7H), 1.41-1.29 (m, 22H) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ 176.4 (2C), 166.1 (C), 157.5 (C), 146.2 (C), 141.0 (C), 140.6 (C), 140.4 (C), 139.6 (C), 138.2 (C), 137.3 (CH), 137.1 (C), 135.2 (CH), 135.0 (CH), 134.9 (CH), 130.0 (CH), 129.7 (CH), 125.5 (CH), 80.1 (2C), 73.3 (CH_2), 64.2 (CH_2), 63.3 (CH), 62.4 (CH_2), 61.6 (CH), 58.9 (CH_2), 58.7 (CH_2), 56.9 (CH), 50.5 (CH_2), 49.8 (CH), 47.5 (CH), 41.1 (CH_2), 40.4 (CH_2), 38.0 (CH_2), 36.6 (CH_2), 34.7 (CH_2), 34.5 (CH_2), 33.9 (CH_2), 33.3 (CH_2), 29.4 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.1 (6 CH_3), 26.7 (CH_2) ppm.

IR (neat): 3649, 3310, 2988, 2901, 1700, 1681, 1555, 1541, 1535, 1523, 1456, 1409, 1394, 1259, 1172, 1068, 1057, 879, 749 cm^{-1} .

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{70}\text{N}_9\text{O}_7\text{S}$: 916.5113; found: 916.5119.

(Rp)-4.26

Following the procedure described for the synthesis of compound (*S_p*)-4.26 : (*R_p*)-4.13 (13.2 mg, 0.067 mmol, 1.2 eq.), 4.23 (16.2 mg, 0.052 mmol, 1 eq.), CuSO_4 (2.7 mg, 0.017 mmol, 0.3 eq.) and sodium ascorbate (13.2 mg, 0.067 mmol, 1.3 eq.) in a 1:1 mixture of $\text{H}_2\text{O}/t\text{-BuOH}$ (1.5 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (eluent: DCM/MeOH (98:2 to 19:1)) to afford the compound (*R_p*)-4.16 (24.9 mg, 0.027 mmol, 44 % yield) as an amorphous white solid.

(Rp)-4.27

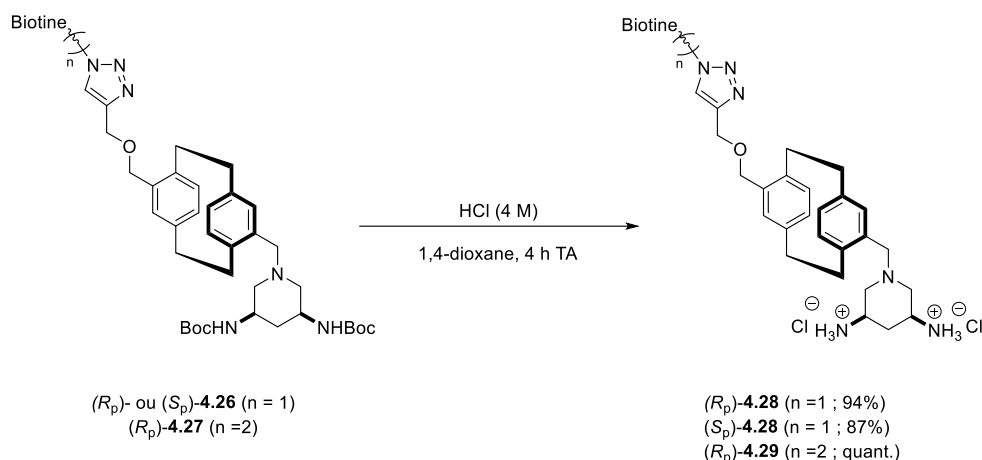
Following the procedure described for the synthesis of compound (*S_p*)-4.26 : (*R_p*)-4.13 (60 mg, 0.1 mmol, 1 eq.), 4.13 (39 mg, 0.12 mmol, 1.2 eq.), CuSO_4 (5.17 mg, 32 μmol , 0.3 eq.) and sodium ascorbate (25.3 mg, 0.13 mmol, 1.3 eq.) in a 1:1 mixture of $\text{H}_2\text{O}/t\text{-BuOH}$ (5 mL). The crude product was purified by silica gel column chromatography (eluent: DCM/MeOH (98:2 to 19:1)) to afford the compound (*R_p*)-4.27 (66 mg, 0.071 mmol, 66 % yield) as an amorphous white solid.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 8.01 (s, 1H), 6.71-6.54 (m, 2H), 6.43-6.24 (m, 4H), 4.67 (d $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.50-4.42 (m, 3H), 4.32-4.25 (m, 2H), 3.75-3.67 (br m, 1H), 3.62-3.43 (br m, 3H), 3.37 (s, 3H), 3.26-3.15 (m, 4H), 3.17-3.13 (m, 1H), 3.06-2.94 (m, 6H), 2.85-2.79 (m, 3H), 2.69 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 2.27-2.19 (m, 2H), 2.15-2.07 (m, 2H), 2.04-2.01 (m, 1H), 1.78-1.55 (m, 6H), 1.48 (s, 18H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 176.2 (2C), 166.1 (C), 157.5 (C), 146.0 (C), 141.0 (C), 140.4 (C), 139.6 (C), 138.2 (C), 137.4 (C), 137.3 (CH), 135.1 (CH), 135.1 (CH), 135.0 (CH), 130.0 (CH), 129.9 (CH), 129.5 (CH), 125.4 (CH), 80.1 (2C), 73.2 (CH₂), 64.1 (CH₂), 63.4 (CH), 62.5 (CH₂), 61.6 (CH), 59.2 (CH₂), 58.8 (CH₂), (CH₂), 57.0 (CH), 57.0 (CH₂), 56.9 (CH), 41.0 (CH₂), 40.4 (CH₂), 38.0 (CH₂), 36.6 (CH₂), 34.7 (CH₂), 34.5 (CH₂), 33.9 (CH₂), 33.3 (CH₂), 29.4 (CH₂), 28.7 (CH₂), 28.7 (6CH₃), 26.8 (CH₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z [M]⁺ calcd for C₃₉H₅₆N₉O₃S: 730.4221; found: 730.4221.

(*R_p*)-(3*S*,5*R*)-1-((4*S*-(((1-(2-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)-1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl)methyl) piperidine-3,5-diaminium dichloride **4.28** and (*R_p*)-(3*S*,5*R*)-1-((4*S*-(((1-(2-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)-1,4(1,4)-dibenzenacyclobexaphane-12-yl) methyl) piperidine-3,5-diaminium dichloride **4.29**



A vial was loaded with (*R_p*)-**4.26** (9 mg, 9.8 μmol , 1 equiv.) and HCl (4 M, 0.1 mL, 0.4 mmol) in 1,4-dioxane was added. After 4h of stirring the reaction was evaporated under reduced pressure to yield (*R_p*)-**4.28** (7.3 mg, 9.3 μmol , 94 %) as a white amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 6.82 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.58 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.64-6.59 (m, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.68 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.65-4.59 (m, 3H), 4.56 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.52-4.48 (m, 1H), 4.41-4.29 (m, 3H), 3.90-3.55 (m, 11H), 3.28-2.86 (m, 9H), 2.72 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 2.57 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 2.15 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.96 (q, *J* = 8.1 Hz, 1H) 1.73-1.64 (m, 1H), 1.62-1.49 (m, 4H), 1.41-1.32 (m, 2H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 176.5 (2C), 142.3 (C), 142.2 (C), 141.0 (C), 139.9 (CH), 139.9 (C), 138.6 (C), 136.5 (CH), 135.3 (CH), 134.9 (CH), 132.9 (CH), 131.1 (CH), 128.7 (C), 73.6 (CH₂), 73.2 (CH₂), 72.5 (CH₂), 63.7 (CH), 63.7 (CH₂), 62.2 (CH), 62.0 (CH₂), 60.9 (CH), 57.0 (CH₂), 52.4 (CH₂), 51.7 (CH₂), 51.5 (CH₂), 44.6 (CH), 43.8 (CH₂), 41.0 (CH₂), 40.3 (CH₂), 36.6 (CH₂), 34.9 (CH₂), 34.8 (CH₂), 34.4 (CH₂), 33.2 (CH₂), 31.7 (CH₂), 30.8 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.5 (CH₂), 26.7 (CH₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z [M]²⁺ calcd for C₄₈H₇₀N₉O₇S: 717.4138; found: 717.4832.

(*S_p*)-4.28

A vial was loaded with (*S_p*)-**4.26** (20 mg, 22 μ mol, 1 equiv.) and HCl (4 M, 0.2 mL, 0.8 mmol) in 1,4-dioxane was added. After 4h of stirring the reaction was evaporated under reduced pressure to yield (*S_p*)-**4.28** (15 mg, 19 μ mol, 87 %) as a white amorphous solid.

(*R_p*)-4.29

A vial was loaded with (*R_p*)-**4.27** (39 mg, 42 μ mol, 1 equiv.) and HCl (1 M, 0.2 mL, 4 mmol) in 1,4-dioxane was added. After 4h of stirring the reaction was evaporated under reduced pressure to yield (*R_p*)-**4.29** (33 mg, 41 μ mol, 98 %) as a white amorphous solid.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 6.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.64 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 6.47 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.47 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.76-4.23 (m, 10H), 6.45 (s, 1H), 3.89-3.71 (m, 4H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.34 (s, 5H), 3.25-2.85 (m, 13H), 2.73 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 2.57 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 2.22 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.13 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 1.96 (q, J = 8.3 Hz, 1H) 1.79-1.54 (m, 5H), 1.62-1.49 (m, 4H), 1.49-1.40 (m, 2H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 176.2 (2C), 141.3 (C), 141.2 (C), 140.8 (C), 139.9 (CH), 139.8 (C), 138.3 (C), 137.2 (CH), 136.8 (CH), 135.3 (CH), 134.0 (CH), 131.5 (CH), 128.9 (C), 73.4 (CH₂), 73.2 (CH₂), 72.5 (CH₂), 64.7 (CH), 64.6 (CH₂), 62.1 (CH), 62.0 (CH₂), 61.3 (CH), 57.6 (CH₂), 52.8 (CH₂), 51.5 (CH₂), 51.5 (CH₂), 44.6 (CH), 43.9 (CH₂), 41.0 (CH₂), 40.2 (CH₂), 36.6 (CH₂), 34.9 (CH₂), 34.8 (CH₂), 34.4 (CH₂), 33.2 (CH₂), 31.7 (CH₂), 30.8 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.5 (CH₂), 26.7 (CH₂) ppm.

HRMS (ESI): m/z [M]⁺ calcd for C₃₉H₅₆N₉O₃S: 730.4221; found: 730.4221.

DNA selection conditions

Library: random central domain of 41 pb with primer regions at each end; total: 68 bp, 90 bp with T7.
Provided by Marcel Hollenstein.

5'- CGT ACG GTC GAC GCT AGC - N₃₅ - CAC GTG GAG CTC GGA TCC -3'

Primers: one set with phosphate + complementary sequence to library (primer P).

Selections: in 200 µL final volume

Magnetic streptavidin beads: 4 mg/mL, about 1 nmol biotin bound per mg; washed thoroughly 3x with buffer before use

Buffer: TEN 1X; Tris 10 mM, EDTA 1mM, NaCl 150 mM, 5 mM MgCl₂; pH 7,4

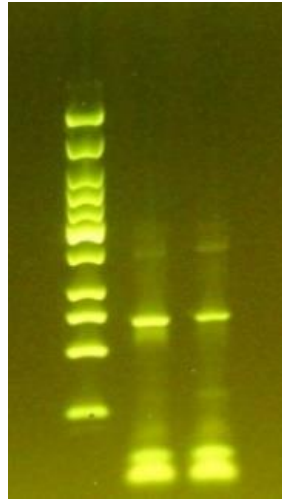
All purification steps were carried using SpinColumns and/or Phenol/chloroforme precipitation.

Typical PCR conditions: for 4 x 50 µL

dNTPs (100 mM)	0.8 µL each (x4)
PrimerP (10 mM)	4 µL
Primer (10 mM)	3.6 µL
MgCl ₂ (100 mM)	1.2 µL
Taq buffer (10X)	20 µL
Taq (5 U/µL)	8 µL
Gx	2 to 5 ng
H ₂ O	Up to 200 µL

Thermocycler conditions: 2' at 94 °C, 25 x (30" at 94 °C, 30" at 55 °C, 1' at 72 °C), 5' at 72 °C

Representative gel: lane 1 = DNA ladder ; lane 1 = purified PCR product ; lane 2 = PCR product before purification (not very successful)



Typical lambda exonuclease digestion: A tube was charged with the DNA library, 4 μL of lambda exonuclease were added and the final volume was brought to 70 μL by addition of water. The reaction was incubated for 2h at 37 $^{\circ}\text{C}$.

Selection protocol:

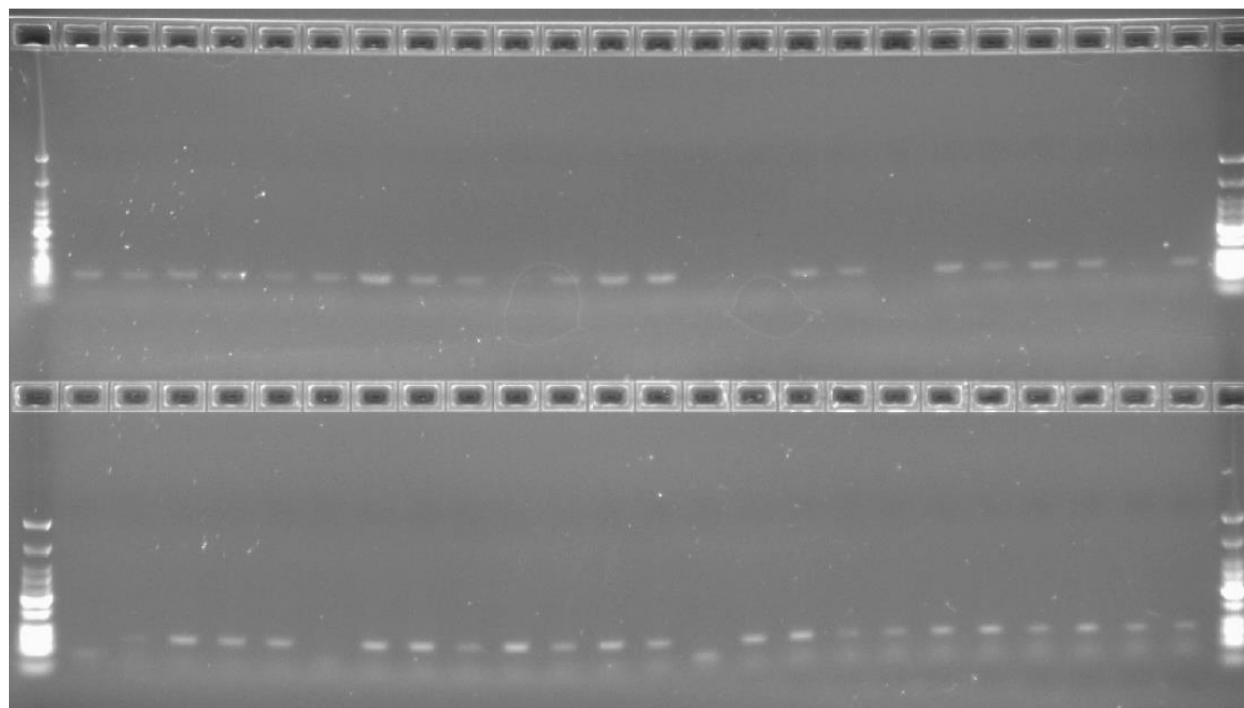
Counter-selection: To 50 μL of beads (\Leftrightarrow 200 pmol streptavidin) alone or pre-incubated 1h with **2.24**, were added 100 pmol of ssDNA library for 200 μL total volume, and incubated for the required time at 37 $^{\circ}\text{C}$.

Selection: Supernatant was collected on magnetic stand and added to the required amount of **4.28** (0.1 mM stock solution in buffer) for 200 μL of buffer. Incubated for required time at 37 $^{\circ}\text{C}$ (same conditions). The solution was added to a new set of beads (same as previously) and incubated for the required time at 37 $^{\circ}\text{C}$.

Elution: The beads were then kept and washed 2x 200 μL with buffer. Elution: 2x 75 μL ddH₂O, 5 min at 95 $^{\circ}\text{C}$ (dry bath, no agitation). Engaged immediately in PCR.

Substrate library (100 pmol)	Counter-selection target	(<i>S_p</i>)-4.28 (pmol)	Incubation time (h)	Product library
G0	Beads	200	2	G1
G1		200	2	G2
G2		200	2	G3
G3		200	2	G4
G4		200	2	G5
G5	4.24 (200 pmol)	200	2	G6
G6		100	2	G7
G7		100	1	G8
G8		100	1	G9
G9		50	0.5	G10

Cloning-sequencing: performed using, and according to, TOPO TA Cloning kit K4520-40 from Invitrogen. DH5 α competent cells were transformed, grown and selected for colony-based PCR (see gel below, PCR products of 71 bp expressed) from X-gal blue-white screening on agar plates. The chosen colonies were then cultured over night in LB medium and chemically lysed to recover, after purification, the sought overexpressed plasmids. Sanger sequencing was performed by Eurofins.



RNA selection conditions

Primers and library design from: Jeremy S. Paige, Karen Y. Wu, Samie R. Jaffrey, *Science* **2011**, 333, 6042, 642-646

All reagents and enzymes used were purchased from commercial sources (Sigma Aldrich, New England Biolabs or Invitrogen) and used as such or diluted to the appropriate concentration using ddH₂O.

Library: random central domain of 30 pb with primer regions at each end; total: 68 bp, 90 bp with T7

5'-ATA CGC TCT AGA ATT CAA TT-N₃₀-AGA TAG CTC GAG CAA TGC-3'

Primers: one set with T7 promoter region + complementary sequence to library

Forward (42mer): 5'- GTA TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGA TAC GCT CTA GAA TTC ATT-3'

Reverse (18mer) : 5'- GCA TTG CTC GAG CTA TCT-3'

Selections: in 200 µL final volume

Magnetic streptavidin beads: 4 mg/mL, about 1 nmol biotin bound per mg; washed thoroughly 3x with buffer before use

Buffer: TEN 1X; Tris 10 mM, EDTA 1mM, NaCl 150 mM, 5 mM MgCl₂; pH 7,4

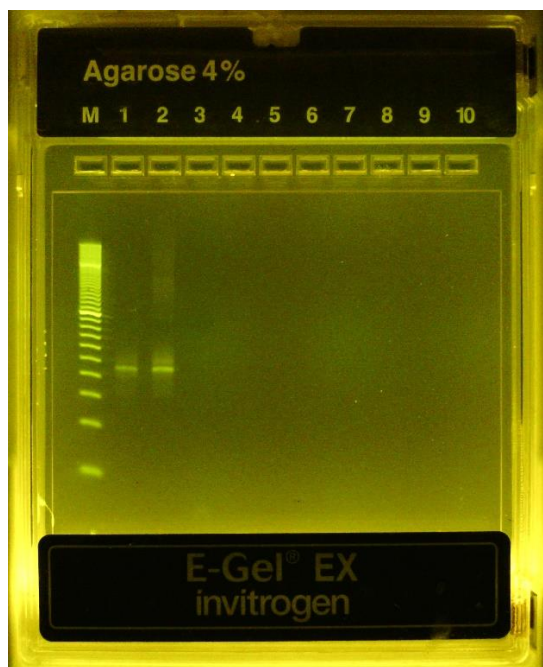
All purification steps were carried using appropriate Monarch[®] SpinColumns (RNA or DNA) purchased from NEB.

Typical PCR conditions: for 5 x 50 μ L

dNTPs (10 mM)	6 μ L <u>each</u>
PrimerF T7 (10 μ M)	6 μ L
PrimerR (10 μ M)	6 μ L
Taq buffer (10X)	30 μ L
Taq (5 U/ μ L)	2.4 μ L
Gx RT	5-20 μ L
H ₂ O	up to 200 μ L

Thermocycler conditions: 2' at 94 °C, 15x (30'' at 94 °C, 30'' at 52 °C, 45'' at 72 °C), 7' at 72 °C

Representative gel obtained: lane M = 20 bp DNA ladder ; lane 1 = purified PCR product ; lane 2 = PCR product before purification ; lane 3 = negative control



Typical transcription conditions:

Gx PCR prod dilx10	500 ng to 1 mg
NTPs mix (10 mM each)	4 μ L
RNase inhibitor (40 U/ μ L)	1 μ L
T7 Polymerase (20 U/ μ L)	4 μ L
T7 buffer (10X)	4 μ L
ddH ₂ O	Up to 40 μ L

Reaction conditions: 37 ° C for 2h; inactivation of T7 enzyme by heating at 65 °C for 5-10 min.

Representative gel obtained: Lane M = 20 bp DNA ladder ; lane 1 = RNA product ; lane 2 = Corresponding DNA substrate ; lane 3 = negative control.



Note: the second band on RNA (~45 bp, lane 1) has now been attributed to dimers of primers formed during the transcription reaction. After purification, RNAs were renatured by heating as described in the manuscript immediately before use in selections.

Typical reverse transcription conditions:

Protocol: eluted RNA are denatured and annealed in presence of the primers and dNTP for 10 min at 80 °C then placed on ice for 10 min. Water, RNase inhibitor and the RT enzyme are added and the mixture is placed at 37 °C for 50 min, then heated for 10 min at 85 °C to stop the reaction.

Gx RNA elution	40 µL
Primers (10 µM each)	2 x 2 = 4 µL
dNTPs (10 mM each)	4 x 2 = 8 µL
SSII or M-MLV (200 U/µL)	2 µL
RNase inhibitor (40 U/µL)	2 µL
Enzyme buffer (10X typically)	8 µL
ddH ₂ O	Up to 80 µL

The resulting solution was then used in PCR to generate the library for the next selection cycle. From G4, it may be necessary to dilute 10 or 20x as the RT product's concentration increasing with cycles.

Selection protocol:

Beads counter-selection: To 50 µL of beads (\Leftrightarrow 200 pmol streptavidin) on magnetic stand were added 200 pmol of RNA library for 200 µL total volume of buffer. Incubated for the required time at 37°C.

Selection: Supernatant was collected on magnetic stand and added the required amount of **4.29** (0.1 mM stock solution in buffer) for 200 µL of buffer. Incubated for required time at 37 °C. The solution was added to a new set of beads (50 µL) and incubated for the required time at 37 °C.

Elution: The beads were then kept and washed 2x 200 µL with buffer. Elution: 2x 20 µL ddH₂O, 5 min at 95 °C (dry bath, no agitation). Engaged immediately in RT.

Substrate Library (200 pmol)	Counter-selection time (h)	(R_p)-4.29 (pmol)	Pre-incubation time (h)	Incubation time (h)	Product Library
G0	2 h	200	1 h	1 h	G1
G1	0.5 h	200	1 h	1 h	G2
G2	0.5 h	200	1 h	1 h	G3
G3	/	200	1 h	1 h	G4
G4	/	200	1 h	1 h	G5
G5	/	100	1 h	1 h	G6
G6	/	100	/	1 h	G7
G7	/	50	/	1 h	G8
G8	/	50	/	1 h	G9
G9	/	50	/	0.5	G10

Références

- (1) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* **1953**, *171* (4356), 737–738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>.
- (2) Crick, F. H. On Protein Synthesis. In *Symp Soc Exp Biol*; **1958**; Vol. 12, p 8.
- (3) Hoagland, M. B.; Stephenson, M. L.; Scott, J. F.; Hecht, L. I.; Zamecnik, P. C. A Soluble Ribonucleic Acid Intermediate In Protein Synthesis. *Journal of Biological Chemistry* **1958**, *231* (1), 241–257. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)77302-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)77302-5).
- (4) Crick, F. Central Dogma of Molecular Biology. *Nature* **1970**, *227* (5258), 561–563. <https://doi.org/10.1038/227561a0>.
- (5) Guerrier-Takada, C.; Gardiner, K.; Marsh, T.; Pace, N.; Altman, S. The RNA Moiety of Ribonuclease P Is the Catalytic Subunit of the Enzyme. *Cell* **1983**, *35* (3 Pt 2), 849–857.
- (6) Ellington, A. D.; Szostak, J. W. In Vitro Selection of RNA Molecules That Bind Specific Ligands. *Nature* **1990**, *346* (6287), 818–822. <https://doi.org/10.1038/346818a0>.
- (7) Tuerk, C.; Gold, L. Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment: RNA Ligands to Bacteriophage T4 DNA Polymerase. *Science* **1990**, *249* (4968), 505–510. <https://doi.org/10.1126/science.2200121>.
- (8) Jenison, R. D.; Gill, S. C.; Pardi, A.; Polisky, B. High-Resolution Molecular Discrimination by RNA. *Science* **1994**, *263* (5152), 1425–1429.
- (9) Gilbert, W. Origin of Life: The RNA World. *Nature* **1986**, *319* (6055), 618. <https://doi.org/10.1038/319618a0>.
- (10) Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. The RNA World and the Origins of Life. *Molecular Biology of the Cell. 4th edition* **2002**.
- (11) Werstuck, G.; Green, M. R. Controlling Gene Expression in Living Cells through Small Molecule-RNA Interactions. *Science* **1998**, *282* (5387), 296–298.
- (12) Disney, M. D. Targeting RNA with Small Molecules To Capture Opportunities at the Intersection of Chemistry, Biology, and Medicine. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141* (17), 6776–6790. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b13419>.
- (13) Paul, A.; Bhattacharya, S. Chemistry and Biology of DNA-Binding Small Molecules. *Current Science* **2012**, *102* (2), 212–231.
- (14) Busscher, G. F.; Rutjes, F. P. J. T.; van Delft, F. L. 2-Deoxystreptamine: Central Scaffold of Aminoglycoside Antibiotics. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (3), 775–792. <https://doi.org/10.1021/cr0404085>.

- (15) Padroni, G.; Patwardhan, N. N.; Schapira, M.; Hargrove, A. E. Systematic Analysis of the Interactions Driving Small Molecule–RNA Recognition. *RSC Med. Chem.* **2020**, *11* (7), 802–813. <https://doi.org/10.1039/D0MD00167H>.
- (16) Ferguson, G.; Robertson, J. M. Planar and Non-Planar Aromatic Systems. In *Advances in Physical Organic Chemistry*; Gold, V., Ed.; Academic Press, **1963**; Vol. 1, pp 203–281. [https://doi.org/10.1016/S0065-3160\(08\)60279-8](https://doi.org/10.1016/S0065-3160(08)60279-8).
- (17) Brown, C. J.; Farthing, A. C. Preparation and Structure of Di-*p*-Xylylene. *Nature* **1949**, *164* (4178), 915–916. <https://doi.org/10.1038/164915b0>.
- (18) Millar, D. P. Fluorescence Studies of DNA and RNA Structure and Dynamics. *Current Opinion in Structural Biology* **1996**, *6* (3), 322–326. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(96\)80050-9](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(96)80050-9).
- (19) Sugiura, K. [2.2]Paracyclophane-Based Chiral Platforms for Circularly Polarized Luminescence Fluorophores and Their Chiroptical Properties: Past and Future. *Frontiers in Chemistry* **2020**, *8*, 700. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00700>.
- (20) Michelini, F.; Jalihal, A. P.; Francia, S.; Meers, C.; Neeb, Z. T.; Rossiello, F.; Gioia, U.; Aguado, J.; Jones-Weinert, C.; Luke, B.; Biamonti, G.; Nowacki, M.; Storici, F.; Carninci, P.; Walter, N. G.; d'Adda di Fagagna, F. From “Cellular” RNA to “Smart” RNA: Multiple Roles of RNA in Genome Stability and Beyond. *Chem. Rev.* **2018**, *118* (8), 4365–4403. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00487>.
- (21) Gold, L.; Polisky, B.; Uhlenbeck, O.; Yarus, M. Diversity of Oligonucleotide Functions. *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 763–797. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.64.070195.003555>.
- (22) Fulle, S.; Gohlke, H. Analyzing the Flexibility of RNA Structures by Constraint Counting. *Biophysical Journal* **2008**, *94* (11), 4202–4219. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.113415>.
- (23) Qu, Z.; Adelson, D. L. Evolutionary Conservation and Functional Roles of NcRNA. *Front Genet* **2012**, *3*. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00205>.
- (24) Guan, L.; Disney, M. D. Recent Advances in Developing Small Molecules Targeting RNA. *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7* (1), 73–86. <https://doi.org/10.1021/cb200447r>.
- (25) Connelly, C. M.; Moon, M. H.; Schneekloth, J. S. The Emerging Role of RNA as a Therapeutic Target for Small Molecules. *Cell Chem Biol* **2016**, *23* (9), 1077–1090. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.05.021>.
- (26) Harries, L. W. RNA Biology Provides New Therapeutic Targets for Human Disease. *Frontiers in Genetics* **2019**, *10*, 205. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00205>.
- (27) Thomas, J. R.; Hergenrother, P. J. Targeting RNA with Small Molecules. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (4), 1171–1224. <https://doi.org/10.1021/cr0681546>.
- (28) Giorgio, A. D.; Duca, M. Synthetic Small-Molecule RNA Ligands: Future Prospects as Therapeutic Agents. *Med. Chem. Commun.* **2019**, *10* (8), 1242–1255. <https://doi.org/10.1039/C9MD00195F>.

- (29) Costales, M. G.; Childs-Disney, J. L.; Haniff, H. S.; Disney, M. D. How We Think about Targeting RNA with Small Molecules. *J. Med. Chem.* **2020**, *63* (17), 8880–8900. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01927>.
- (30) Voet, D.; Voet, J. G. *Biochemistry*, 4th Edition.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, **2011**.
- (31) Chen, K.; Zhao, B. S.; He, C. Nucleic Acid Modifications in Regulation of Gene Expression. *Cell Chemical Biology* **2016**, *23* (1), 74–85. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2015.11.007>.
- (32) Takahashi, S.; Sugimoto, N. Watson–Crick versus Hoogsteen Base Pairs: Chemical Strategy to Encode and Express Genetic Information in Life. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54* (9), 2110–2120. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.0c00734>.
- (33) Carothers, J. M.; Oestreich, S. C.; Davis, J. H.; Szostak, J. W. Informational Complexity and Functional Activity of RNA Structures. *J Am Chem Soc* **2004**, *126* (16), 5130–5137. <https://doi.org/10.1021/ja031504a>.
- (34) Spiegel, J.; Adhikari, S.; Balasubramanian, S. The Structure and Function of DNA G-Quadruplexes. *TRECHEM* **2020**, *2* (2), 123–136. <https://doi.org/10.1016/j.trechm.2019.07.002>.
- (35) Das, R. RNA Structure: A Renaissance Begins? *Nat Methods* **2021**, *18* (5), 439–439. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01132-4>.
- (36) Al-Hashimi, H. M.; Walter, N. G. RNA Dynamics: It Is about Time. *Curr Opin Struct Biol* **2008**, *18* (3), 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2008.04.004>.
- (37) Ganser, L. R.; Kelly, M. L.; Herschlag, D.; Al-Hashimi, H. M. The Roles of Structural Dynamics in the Cellular Functions of RNAs. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2019**, *20* (8), 474–489. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0136-0>.
- (38) Mandal, M.; Boese, B.; Barrick, J. E.; Winkler, W. C.; Breaker, R. R. Riboswitches Control Fundamental Biochemical Pathways in *Bacillus Subtilis* and Other Bacteria. *Cell* **2003**, *113* (5), 577–586.
- (39) Cheah, M. T.; Wachter, A.; Sudarsan, N.; Breaker, R. R. Control of Alternative RNA Splicing and Gene Expression by Eukaryotic Riboswitches. *Nature* **2007**, *447* (7143), 497–500. <https://doi.org/10.1038/nature05769>.
- (40) Montange, R. K.; Mondragón, E.; van Tyne, D.; Garst, A. D.; Ceres, P.; Batey, R. T. Discrimination between Closely Related Cellular Metabolites by the SAM-I Riboswitch. *Journal of Molecular Biology* **2010**, *396* (3), 761–772. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.12.007>.
- (41) Sun, A.; Gasser, C.; Li, F.; Chen, H.; Mair, S.; Krasheninina, O.; Micura, R.; Ren, A. SAM-VI Riboswitch Structure and Signature for Ligand Discrimination. *Nat Commun* **2019**, *10* (1), 5728. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13600-9>.
- (42) Garst, A. D.; Edwards, A. L.; Batey, R. T. Riboswitches: Structures and Mechanisms. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2011**, *3* (6), a003533. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003533>.

- (43) Colot, H. V.; Loros, J. J.; Dunlap, J. C. Temperature-Modulated Alternative Splicing and Promoter Use in the Circadian Clock Gene Frequency. *MBoC* **2005**, *16* (12), 5563–5571. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-08-0756>.
- (44) Winkler, W. C.; Nahvi, A.; Roth, A.; Collins, J. A.; Breaker, R. R. Control of Gene Expression by a Natural Metabolite-Responsive Ribozyme. *Nature* **2004**, *428* (6980), 281–286. <https://doi.org/10.1038/nature02362>.
- (45) Ooms, M.; Huthoff, H.; Russell, R.; Liang, C.; Berkhout, B. A Riboswitch Regulates RNA Dimerization and Packaging in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Virions. *Journal of Virology* **2004**, *78* (19), 10814–10819. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10814-10819.2004>.
- (46) Stark, R.; Grzelak, M.; Hadfield, J. RNA Sequencing: The Teenage Years. *Nat Rev Genet* **2019**, *20* (11), 631–656. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0150-2>.
- (47) Mattick, J. S. The Functional Genomics of Noncoding RNA. *Science* **2005**, *309* (5740), 1527–1528. <https://doi.org/10.1126/science.1117806>.
- (48) Clamp, M.; Fry, B.; Kamal, M.; Xie, X.; Cuff, J.; Lin, M. F.; Kellis, M.; Lindblad-Toh, K.; Lander, E. S. Distinguishing Protein-Coding and Noncoding Genes in the Human Genome. *PNAS* **2007**, *104* (49), 19428–19433. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709013104>.
- (49) Moore, P. B.; Steitz, T. A. The Roles of RNA in the Synthesis of Protein. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2011**, *3* (11), a003780. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003780>.
- (50) Hocine, S.; Singer, R. H.; Grünwald, D. RNA Processing and Export. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2010**, *2* (12), a000752. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000752>.
- (51) Bentley, D. L. Coupling mRNA Processing with Transcription in Time and Space. *Nat Rev Genet* **2014**, *15* (3), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nrg3662>.
- (52) Maurel, M.-C.; Leclerc, F.; Hervé, G. Ribozyme Chemistry: To Be or Not To Be under High Pressure. *Chem. Rev.* **2020**, *120* (11), 4898–4918. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00457>.
- (53) Matthaei, J. H.; Jones, O. W.; Martin, R. G.; Nirenberg, M. W. Characteristics and Composition of Rna Coding Units. *PNAS* **1962**, *48* (4), 666–677. <https://doi.org/10.1073/pnas.48.4.666>.
- (54) Figureau, A. Information Theory and the Genetic Code. *Origins Life Evol Biosphere* **1987**, *17* (3), 439–449. <https://doi.org/10.1007/BF02386481>.
- (55) Marshall, J. The Genetic Code. *PNAS* **2014**, *111* (16), 5760–5760. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405652111>.
- (56) Hannon, G. J. RNA Interference. *Nature* **2002**, *418* (6894), 244–251. <https://doi.org/10.1038/418244a>.
- (57) Mattick, J. S. RNA Regulation: A New Genetics? *Nat Rev Genet* **2004**, *5* (4), 316–323. <https://doi.org/10.1038/nrg1321>.

- (58) Fire, A.; Xu, S.; Montgomery, M. K.; Kostas, S. A.; Driver, S. E.; Mello, C. C. Potent and Specific Genetic Interference by Double-Stranded RNA in *Caenorhabditis Elegans*. *Nature* **1998**, *391* (6669), 806–811. <https://doi.org/10.1038/35888>.
- (59) Agrawal, N.; Dasaradhi, P. V. N.; Mohammed, A.; Malhotra, P.; Bhatnagar, R. K.; Mukherjee, S. K. RNA Interference: Biology, Mechanism, and Applications. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **2003**, *67* (4), 657–685. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.657-685.2003>.
- (60) Carthew, R. W.; Sontheimer, E. J. Origins and Mechanisms of MiRNAs and SiRNAs. *Cell*. Elsevier Inc. **2009**, pp 642–655. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.035>.
- (61) Wang, Z.; Gerstein, M.; Snyder, M. RNA-Seq: A Revolutionary Tool for Transcriptomics. *Nat Rev Genet* **2009**, *10* (1), 57–63. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>.
- (62) Faghihi, M. A.; Modarresi, F.; Khalil, A. M.; Wood, D. E.; Sahagan, B. G.; Morgan, T. E.; Finch, C. E.; St. Laurent III, G.; Kenny, P. J.; Wahlestedt, C. Expression of a Noncoding RNA Is Elevated in Alzheimer's Disease and Drives Rapid Feed-Forward Regulation of β -Secretase. *Nat Med* **2008**, *14* (7), 723–730. <https://doi.org/10.1038/nm1784>.
- (63) Roshan, R.; Ghosh, T.; Scaria, V.; Pillai, B. MicroRNAs: Novel Therapeutic Targets in Neurodegenerative Diseases. *Drug Discovery Today* **2009**, *14* (23), 1123–1129. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2009.09.009>.
- (64) Gutschner, T.; Diederichs, S. The Hallmarks of Cancer. *RNA Biology* **2012**, *9* (6), 703–719. <https://doi.org/10.4161/rna.20481>.
- (65) Hermann, T. Small Molecules Targeting Viral RNA. *WIREs RNA* **2016**, *7* (6), 726–743. <https://doi.org/10.1002/wrna.1373>.
- (66) Zhang, X.; Ma, X.; Jing, S.; Zhang, H.; Zhang, Y. Non-Coding RNAs and Retroviruses. *Retrovirology* **2018**, *15* (1), 20. <https://doi.org/10.1186/s12977-018-0403-8>.
- (67) Bennett, C. F. Therapeutic Antisense Oligonucleotides Are Coming of Age. *Annu Rev Med* **2019**, *70*, 307–321. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-041217-010829>.
- (68) Roberts, T. C.; Langer, R.; Wood, M. J. A. Advances in Oligonucleotide Drug Delivery. *Nat Rev Drug Discov* **2020**, *19* (10), 673–694. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0075-7>.
- (69) Chi, X.; Gatti, P.; Papoian, T. Safety of Antisense Oligonucleotide and SiRNA-Based Therapeutics. *Drug Discovery Today* **2017**, *22* (5), 823–833. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.01.013>.
- (70) Zamani, F.; Suzuki, T. Synthetic RNA Modulators in Drug Discovery. *J. Med. Chem.* **2021**, *64* (11), 7110–7155. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00154>.
- (71) Ratni, H.; Ebeling, M.; Baird, J.; Bendels, S.; Bylund, J.; Chen, K. S.; Denk, N.; Feng, Z.; Green, L.; Guerard, M.; Jablonski, P.; Jacobsen, B.; Khwaja, O.; Kletzl, H.; Ko, C.-P.; Kustermann, S.; Marquet, A.; Metzger, F.; Mueller, B.; Naryshkin, N. A.; Paushkin, S. V.; Pinard, E.; Poirier, A.; Reutlinger, M.; Weetall, M.; Zeller, A.; Zhao, X.; Mueller, L. Discovery of Risdiplam, a Selective

- Survival of Motor Neuron-2 (SMN2) Gene Splicing Modifier for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy (SMA). *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (15), 6501–6517. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00741>.
- (72) Ratni, H.; Scalco, R. S.; Stephan, A. H. Risdiplam, the First Approved Small Molecule Splicing Modifier Drug as a Blueprint for Future Transformative Medicines. *ACS Med. Chem. Lett.* **2021**, *12* (6), 874–877. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.0c00659>.
- (73) Leach, K. L.; Brickner, S. J.; Noe, M. C.; Miller, P. F. Linezolid, the First Oxazolidinone Antibacterial Agent. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2011**, *1222* (1), 49–54. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.05962.x>.
- (74) Yu, A. M.; Lucks, J. B. Tracking RNA Structures as RNAs Transit through the Cell. *Nat Struct Mol Biol* **2019**, *26* (4), 256–257. <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0213-2>.
- (75) Baisden, J. T.; Childs-Disney, J. L.; Ryan, L. S.; Disney, M. D. Affecting RNA Biology Genome-Wide by Binding Small Molecules and Chemically Induced Proximity. *Current Opinion in Chemical Biology* **2021**, *62*, 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.03.006>.
- (76) Chow, C. S.; Bogdan, F. M. A Structural Basis for RNA–Ligand Interactions. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (5), 1489–1514. <https://doi.org/10.1021/cr960415w>.
- (77) Morgan, B. S.; Forte, J. E.; Hargrove, A. E. Survey and Summary Insights into the Development of Chemical Probes for RNA. *Nucleic Acids Research*. Oxford University Press **2018**, pp 8025–8037. <https://doi.org/10.1093/nar/gky718>.
- (78) Warner, K. D.; Hajdin, C. E.; Weeks, K. M. Principles for Targeting RNA with Drug-like Small Molecules. *Nature Reviews Drug Discovery* **2018**, *17* (8), 547–558. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.93>.
- (79) Morgan, B. S.; Forte, J. E.; Culver, R. N.; Zhang, Y.; Hargrove, A. E. Discovery of Key Physicochemical, Structural, and Spatial Properties of RNA-Targeted Bioactive Ligands. *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, *56* (43), 13498–13502. <https://doi.org/10.1002/anie.201707641>.
- (80) Nguyen, L.; Luu, L. M.; Peng, S.; Serrano, J. F.; Chan, H. Y. E.; Zimmerman, S. C. Rationally Designed Small Molecules That Target Both the DNA and RNA Causing Myotonic Dystrophy Type 1. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (44), 14180–14189. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b09266>.
- (81) Thomas, J. R.; Liu, X.; Hergenrother, P. J. Biochemical and Thermodynamic Characterization of Compounds That Bind to RNA Hairpin Loops: Toward an Understanding of Selectivity. *Biochemistry* **2006**, *45* (36), 10928–10938. <https://doi.org/10.1021/bi0607296>.
- (82) Donlic, A.; Morgan, B. S.; Xu, J. L.; Liu, A.; Roble Jr., C.; Hargrove, A. E. Discovery of Small Molecule Ligands for MALAT1 by Tuning an RNA-Binding Scaffold. *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57* (40), 13242–13247. <https://doi.org/10.1002/anie.201808823>.
- (83) Umuhire Juru, A.; Hargrove, A. E. Frameworks for Targeting RNA with Small Molecules. *Journal of Biological Chemistry* **2021**, *296*, 100191. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.015203>.

- (84) Childs-Disney, J. L.; Disney, M. D. Approaches to Validate and Manipulate RNA Targets with Small Molecules in Cells. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **2016**, *56* (1), 123–140. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103910>.
- (85) Hargrove, A. E. Small Molecule–RNA Targeting: Starting with the Fundamentals. *Chem. Commun.* **2020**, *56* (94), 14744–14756. <https://doi.org/10.1039/D0CC06796B>.
- (86) Becker, B.; Cooper, M. A. Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8* (1), 105–115. <https://doi.org/10.1021/cb3005116>.
- (87) Magnet, S.; Blanchard, J. S. Molecular Insights into Aminoglycoside Action and Resistance. *Chemical Reviews* **2005**, *105* (2), 477–498. <https://doi.org/10.1021/cr0301088>.
- (88) Pérez Luna, A.; Ceschi, M.-A.; Bonin, M.; Micouin, L.; Husson, H.-P.; Gougeon, S.; Estenne-Bouhtou, G.; Marabout, B.; Sevrin, M.; George, P. Enantioselective Desymmetrization of Meso Bicyclic Hydrazines: A Novel Approach to the Asymmetric Synthesis of Polysubstituted Amino Cyclopentanic Cores. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (10), 3522–3524. <https://doi.org/10.1021/jo011190e>.
- (89) Luna, A. P.; Bonin, M.; Micouin, L.; Husson, H.-P. Reversal of Enantioselectivity in the Asymmetric Rhodium- versus Iridium-Catalyzed Hydroboration of Meso Substrates. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (41), 12098–12099. <https://doi.org/10.1021/ja026714m>.
- (90) Blond, A.; Dockerty, P.; Álvarez, R.; Turcaud, S.; Lecourt, T.; Micouin, L. Modular Access to N-Substituted Cis-3,5-Diaminopiperidines. *J. Org. Chem.* **2013**, *78* (23), 12236–12242. <https://doi.org/10.1021/jo401994y>.
- (91) Lombès, T.; Bégis, G.; Maurice, F.; Turcaud, S.; Lecourt, T.; Dardel, F.; Micouin, L. NMR-Guided Fragment-Based Approach for the Design of AAC(6′)-Ib Ligands. *ChemBioChem* **2008**, *9* (9), 1368–1371. <https://doi.org/10.1002/cbic.200700677>.
- (92) Siegel, D.; Hui, H. C.; Doerffler, E.; Clarke, M. O.; Chun, K.; Zhang, L.; Neville, S.; Carra, E.; Lew, W.; Ross, B.; Wang, Q.; Wolfe, L.; Jordan, R.; Soloveva, V.; Knox, J.; Perry, J.; Perron, M.; Stray, K. M.; Barauskas, O.; Feng, J. Y.; Xu, Y.; Lee, G.; Rheingold, A. L.; Ray, A. S.; Bannister, R.; Strickley, R.; Swaminathan, S.; Lee, W. A.; Bavari, S.; Cihlar, T.; Lo, M. K.; Warren, T. K.; Mackman, R. L. Discovery and Synthesis of a Phosphoramidate Prodrug of a Pyrrolo[2,1-f][Triazin-4-Amino] Adenine C-Nucleoside (GS-5734) for the Treatment of Ebola and Emerging Viruses. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (5), 1648–1661. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01594>.
- (93) Brown, D. G.; Boström, J. Where Do Recent Small Molecule Clinical Development Candidates Come From? *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (21), 9442–9468. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00675>.
- (94) Jencks, W. P. On the Attribution and Additivity of Binding Energies. *PNAS* **1981**, *78* (7), 4046–4050. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.7.4046>.

- (95) Congreve, M.; Carr, R.; Murray, C.; Jhoti, H. A 'Rule of Three' for Fragment-Based Lead Discovery? *Drug Discovery Today* **2003**, *8* (19), 876–877. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(03\)02831-9](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(03)02831-9).
- (96) Shuker, S. B.; Hajduk, P. J.; Meadows, R. P.; Fesik, S. W. Discovering High-Affinity Ligands for Proteins: SAR by NMR. *Science* **1996**, *274* (5292), 1531–1534. <https://doi.org/10.1126/science.274.5292.1531>.
- (97) Rees, D. C.; Congreve; Murray, C. W.; Carr, R. Fragment-Based Lead Discovery. *Nat Rev Drug Discov* **2004**, *3* (8), 660–672. <https://doi.org/10.1038/nrd1467>.
- (98) Erlanson, D. A. Introduction to Fragment-Based Drug Discovery. In *Fragment-Based Drug Discovery and X-Ray Crystallography*; Davies, T. G., Hyvönen, M., Eds.; Topics in Current Chemistry; Springer: Berlin, Heidelberg, **2012**; pp 1–32. https://doi.org/10.1007/128_2011_180.
- (99) Scott, D. E.; Coyne, A. G.; Hudson, S. A.; Abell, C. Fragment-Based Approaches in Drug Discovery and Chemical Biology. *Biochemistry* **2012**, *51* (25), 4990–5003. <https://doi.org/10.1021/bi3005126>.
- (100) Marquet, R.; Isel, C.; Ehresmann, C.; Ehresmann, B. tRNAs as Primer of Reverse Transcriptases. *Biochimie* **1995**, *77* (1), 113–124. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)88114-4](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)88114-4).
- (101) Chung, F.; Tisné, C.; Lecourt, T.; Dardel, F.; Micouin, L. NMR-Guided Fragment-Based Approach for the Design of tRNA(Lys3) Ligands. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, *46* (24), 4489–4491. <https://doi.org/10.1002/anie.200605201>.
- (102) Chung, F.; Tisné, C.; Lecourt, T.; Seijo, B.; Dardel, F.; Micouin, L. Design of tRNA^{Lys3} Ligands: Fragment Evolution and Linker Selection Guided by NMR Spectroscopy. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15* (29), 7109–7116. <https://doi.org/10.1002/chem.200802451>.
- (103) Moumné, R.; Larue, V.; Seijo, B.; Lecourt, T.; Micouin, L.; Tisné, C. Tether Influence on the Binding Properties of tRNA^{Lys3} Ligands Designed by a Fragment-Based Approach. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8* (5), 1154–1159. <https://doi.org/10.1039/B921232A>.
- (104) Gaikwad, N. W.; Hwang, G.-S.; Goldberg, I. H. Synthesis and NMR Binding Study of a Chiral Spirocyclic Helical Analogue of a Natural DNA Bulge Binder. *Org. Lett.* **2004**, *6* (26), 4833–4836. <https://doi.org/10.1021/ol048152c>.
- (105) Xiao, Z.; Zhang, N.; Lin, Y.; Jones, G. B.; Goldberg, I. H. Spirocyclic Helical Compounds as Binding Agents for Bulged RNA, Including HIV-2 TAR. *Chem. Commun.* **2006**, No. 42, 4431–4433. <https://doi.org/10.1039/B610007D>.
- (106) Das, A. T.; Harwig, A.; Berkhout, B. The HIV-1 Tat Protein Has a Versatile Role in Activating Viral Transcription. *Journal of Virology* **2011**, *85* (18), 9506–9516. <https://doi.org/10.1128/JVI.00650-11>.

- (107) Meyer, S. T.; Hergenrother, P. J. Small Molecule Ligands for Bulged RNA Secondary Structures. *Org. Lett.* **2009**, *11* (18), 4052–4055. <https://doi.org/10.1021/ol901478x>.
- (108) Barros, S. A.; Chenoweth, D. M. Recognition of Nucleic Acid Junctions Using Triptycene-Based Molecules. *Angew Chem Int Ed Engl* **2014**, *53* (50), 13746–13750. <https://doi.org/10.1002/anie.201407061>.
- (109) Barros, S. A.; Yoon, I.; Chenoweth, D. M. Modulation of the E. Coli RpoH Temperature Sensor with Triptycene-Based Small Molecules. *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55* (29), 8258–8261. <https://doi.org/10.1002/anie.201601626>.
- (110) Cram, D. J.; Steinberg, H. Macro Rings. I. Preparation and Spectra of the Paracyclophanes. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73* (12), 5691–5704. <https://doi.org/10.1021/ja01156a059>.
- (111) CHAPTER 1. From Ansa Compounds to [2.2] Paracyclophane to Cyclophane Complexes. In *Monographs in Supramolecular Chemistry*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, **2016**; pp 1–51. <https://doi.org/10.1039/9781788010924-00001>.
- (112) Tsuji, T. Highly Strained Cyclophanes. In *Modern Cyclophane Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, **2004**; pp 81–104. <https://doi.org/10.1002/3527603964.ch3>.
- (113) Hope, H.; Bernstein, J.; Trueblood, K. N. The Crystal and Molecular Structure of 1,1,2,2,9,9,10,10-Octafluoro-[2,2]Paracyclophane and a Reinvestigation of the Structure of [2,2]Paracyclophane. *Acta Cryst B* **1972**, *28* (6), 1733–1743. <https://doi.org/10.1107/S0567740872004947>.
- (114) Walden, S. E.; Glatzhofer, D. T. Distinctive Normal Harmonic Vibrations of [2.2]Paracyclophane. *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101* (44), 8233–8241. <https://doi.org/10.1021/jp9720395>.
- (115) Henseler, D.; Hohlneicher, G. Theoretical Study on the Molecular Distortions in [2.2]Paracyclophane and Cyclobutane. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102* (52), 10828–10833. <https://doi.org/10.1021/jp983013w>.
- (116) Grimme, S.; Mück-Lichtenfeld, C. Accurate Computation of Structures and Strain Energies of Cyclophanes with Modern DFT Methods. *Israel Journal of Chemistry* **2012**, *52* (1–2), 180–192. <https://doi.org/10.1002/ijch.201100099>.
- (117) Kleinschroth, J.; Hopf, H. The Chemical Behavior of Multibridged [2n] Cyclophanes. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1982**, *21* (7), 469–480. <https://doi.org/10.1002/anie.198204691>.
- (118) Aly, A. A.; Hopf, H.; Ernst, L. Novel Synthesis of Phenanthrenoparacyclophanes and Phenanthrenophanes and a Study of Their NMR Properties. *European Journal of Organic Chemistry* **2000**, *2000* (17), 3021–3029. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200009\)2000:17<3021::AID-EJOC3021>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200009)2000:17<3021::AID-EJOC3021>3.0.CO;2-9).
- (119) Minuti, L.; Marrocchi, A.; Tesesi, I.; Gacs-Baitz, E. 5-Nitro[2.2]Paracyclophanepyran-6-One—Building Block for the Synthesis of [2.2]Paracyclophanes Containing Condensed Benzofuran

- Subunits. *Tetrahedron Letters* **2005**, *46* (50), 8789–8792. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.10.023>.
- (120) Aly, A. A.; Ehrhardt, S.; Hopf, H.; Dix, I.; Jones, P. G. Cycloadditions to Alkenyl[2.2]Paracyclophanes. *European Journal of Organic Chemistry* **2006**, *2006* (2), 335–350. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200500396>.
- (121) Reich, H. J.; Cram, D. J. Macro Rings. XXXVII. Multiple Electrophilic Substitution Reactions of [2.2]Paracyclophanes and Interconversions of Polysubstituted Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91* (13), 3527–3533. <https://doi.org/10.1021/ja01041a017>.
- (122) Hassan, Z.; Spuling, E.; Knoll, D. M.; Bräse, S. Regioselective Functionalization of [2.2]Paracyclophanes: Recent Synthetic Progress and Perspectives. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, *59* (6), 2156–2170. <https://doi.org/10.1002/anie.201904863>.
- (123) Cram, D. J.; Allinger, N. L. Macro Rings. XII. Stereochemical Consequences of Steric Compression in the Smallest Paracyclophane¹. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77* (23), 6289–6294. <https://doi.org/10.1021/ja01628a067>.
- (124) *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology: The Gold Book*, 4th ed.; Gold, V., Ed.; International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC): Research Triangle Park, NC, **2019**. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
- (125) Reich, H. J.; Cram, D. James. Racemization, Ring Opening, and Ring Expansion of [2.2]Paracyclophane Nucleus through a Diradical Intermediate. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89* (12), 3078–3080. <https://doi.org/10.1021/ja00988a068>.
- (126) Reich, H. J.; Cram, D. J. Macro Rings. XXXVI. Ring Expansion, Racemization, and Isomer Interconversions in the [2.2]Paracyclophane System through a Diradical Intermediate. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91* (13), 3517–3526. <https://doi.org/10.1021/ja01041a016>.
- (127) Cram, D. J.; Delton, M. H. Photoracemization of Optically Active Derivatives of [2.2]Paracyclophane. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92* (26), 7623–7625. <https://doi.org/10.1021/ja00729a039>.
- (128) Cahn, R. S.; Ingold, C.; Prelog, V. Specification of Molecular Chirality. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1966**, *5* (4), 385–415. <https://doi.org/10.1002/anie.196603851>.
- (129) Rademacher, P. UV/Vis Spectra of Cyclophanes. In *Modern Cyclophane Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, **2004**; pp 275–310. <https://doi.org/10.1002/3527603964.ch11>.
- (130) Zyss, J.; Ledoux, I.; Volkov, S.; Chernyak, V.; Mukamel, S.; Bartholomew, G. P.; Bazan, G. C. Through-Space Charge Transfer and Nonlinear Optical Properties of Substituted Paracyclophane. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (48), 11956–11962. <https://doi.org/10.1021/ja0022526>.
- (131) Zafra, J. L.; Molina Ontoria, A.; Mayorga Burrezo, P.; Peña-Alvarez, M.; Samoc, M.; Szeremeta, J.; Ramírez, F. J.; Lovander, M. D.; Droske, C. J.; Pappenfus, T. M.; Echegoyen, L.; López Navarrete, J. T.; Martín, N.; Casado, J. Fingerprints of Through-Bond and Through-Space

- Exciton and Charge π -Electron Delocalization in Linearly Extended [2.2]Paracyclophanes. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (8), 3095–3105. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b12520>.
- (132) Grimme, S.; Bahlmann, A. Electronic Circular Dichroism of Cyclophanes [1]. In *Modern Cyclophane Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, **2004**; pp 311–336. <https://doi.org/10.1002/3527603964.ch12>.
- (133) Lahann, J.; Klee, D.; Höcker, H. Chemical Vapour Deposition Polymerization of Substituted [2.2]Paracyclophanes. *Macromolecular Rapid Communications* **1998**, *19* (9), 441–444. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3927\(19980901\)19:9<441::AID-MARC441>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3927(19980901)19:9<441::AID-MARC441>3.0.CO;2-G).
- (134) Nandivada, H.; Chen, H.-Y.; Bondarenko, L.; Lahann, J. Reactive Polymer Coatings That “Click.” *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45* (20), 3360–3363. <https://doi.org/10.1002/anie.200600357>.
- (135) Pu, H.; Wang, Y.; Yang, Z. Chemical Vapor Deposition Copolymerization of 4-Carboxyl-[2,2] Paracyclophane and 4-Amino-[2,2] Paracyclophane. *Materials Letters* **2007**, *61* (13), 2718–2722. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.07.194>.
- (136) Sander, W. Reactive Intermediates from Cyclophanes. In *Modern Cyclophane Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, **2004**; pp 211–227. <https://doi.org/10.1002/3527603964.ch8>.
- (137) Pye, P. J.; Rossen, K.; Reamer, R. A.; Tsou, N. N.; Volante, R. P.; Reider, P. J. A New Planar Chiral Bisphosphine Ligand for Asymmetric Catalysis: Highly Enantioselective Hydrogenations under Mild Conditions. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (26), 6207–6208. <https://doi.org/10.1021/ja970654g>.
- (138) Rowlands, G. J. Planar Chiral Phosphines Derived from [2.2]Paracyclophane. *Israel Journal of Chemistry* **2012**, *52* (1–2), 60–75. <https://doi.org/10.1002/ijch.201100098>.
- (139) Hassan, Z.; Spuling, E.; Knoll, D. M.; Lahann, J.; Bräse, S. Planar Chiral [2.2]Paracyclophanes: From Synthetic Curiosity to Applications in Asymmetric Synthesis and Materials. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47* (18), 6947–6963. <https://doi.org/10.1039/C7CS00803A>.
- (140) Gibson, S. E.; Knight, J. D. [2.2]Paracyclophane Derivatives in Asymmetric Catalysis. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1* (8), 1256–1269. <https://doi.org/10.1039/B300717K>.
- (141) Paradies, J. [2.2]Paracyclophane Derivatives: Synthesis and Application in Catalysis. *Synthesis* **2011**, *2011* (23), 3749–3766. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1289296>.
- (142) David, O. R. P. Syntheses and Applications of Disubstituted [2.2]Paracyclophanes. *Tetrahedron* **2012**, *68* (44), 8977–8993. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.08.009>.
- (143) Aly, A. A.; Brown, A. B. Asymmetric and Fused Heterocycles Based on [2.2]Paracyclophane. *Tetrahedron* **2009**, *65* (39), 8055–8089. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2009.06.034>.

- (144) Morisaki, Y.; Chujo, Y. Through-Space Conjugated Polymers Consisting of [2.2]Paracyclophane. *Polym. Chem.* **2011**, *2* (6), 1249–1257. <https://doi.org/10.1039/C0PY00421A>.
- (145) Weiland, K. J.; Gallego, A.; Mayor, M. Beyond Simple Substitution Patterns – Symmetrically Tetrasubstituted [2.2]Paracyclophanes as 3D Functional Materials. *European Journal of Organic Chemistry* **2019**, *2019* (20), 3073–3085. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900061>.
- (146) Felder, S.; Wu, S.; Brom, J.; Micouin, L.; Benedetti, E. Enantiopure Planar Chiral [2.2]Paracyclophanes: Synthesis and Applications in Asymmetric Organocatalysis. *Chirality* **2021**, *33* (9), 506–527. <https://doi.org/10.1002/chir.23335>.
- (147) Delcourt, M.-L.; Turcaud, S.; Benedetti, E.; Micouin, L. Efficient and Scalable Kinetic Resolution of Racemic 4-Formyl[2.2]Paracyclophane via Asymmetric Transfer Hydrogenation. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2016**, *358* (8), 1213–1218. <https://doi.org/10.1002/adsc.201501153>.
- (148) Delcourt, M.-L.; Felder, S.; Benedetti, E.; Micouin, L. Highly Enantioselective Desymmetrization of Centrosymmetric Pseudo-Para-Diformyl[2.2]Paracyclophane via Asymmetric Transfer Hydrogenation. *ACS Catal.* **2018**, *8* (7), 6612–6616. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b01872>.
- (149) Delcourt, M.-L.; Felder, S.; Turcaud, S.; Pollok, C. H.; Merten, C.; Micouin, L.; Benedetti, E. Highly Enantioselective Asymmetric Transfer Hydrogenation: A Practical and Scalable Method To Efficiently Access Planar Chiral [2.2]Paracyclophanes. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (9), 5369–5382. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b00372>.
- (150) Furo, T.; Mori, T.; Wada, T.; Inoue, Y. Absolute Configuration of Chiral [2.2]Paracyclophanes with Intramolecular Charge-Transfer Interaction. Failure of the Exciton Chirality Method and Use of the Sector Rule Applied to the Cotton Effect of the CT Transition. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (23), 8242–8243. <https://doi.org/10.1021/ja0508323>.
- (151) Meyer-Eppler, G.; Sure, R.; Schneider, A.; Schnakenburg, G.; Grimme, S.; Lützen, A. Synthesis, Chiral Resolution, and Absolute Configuration of Dissymmetric 4,15-Difunctionalized [2.2]Paracyclophanes. *J. Org. Chem.* **2014**, *79* (14), 6679–6687. <https://doi.org/10.1021/jo501212t>.
- (152) Mézière, C.; Allain, M.; Oliveras-Gonzalez, C.; Cauchy, T.; Vanthuyne, N.; Sarbu, L. G.; Birsa, L. M.; Pop, F.; Avarvari, N. Tetrathiafulvalene-[2.2]Paracyclophanes: Synthesis, Crystal Structures, and Chiroptical Properties. *Chirality* **2018**, *30* (5), 568–575. <https://doi.org/10.1002/chir.22831>.
- (153) Deschamps, D.; Lohier, J.-F.; Richards, C. J.; Gaumont, A.-C.; Perrio, S. Functionalization of [2.2]Paracyclophanes via a Reductive Sulfanylation Reaction. *J. Org. Chem.* **2021**, *86* (1), 507–514. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c02235>.
- (154) König, W. A.; Gehrcke, B.; Hochmuth, D. H.; Mlynek, C.; Hopf, H. Resolution of Chiral [2.2]Paracyclophanes by Enantioselective Gas Chromatography. *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5* (3), 347–350. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(00\)86203-5](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(00)86203-5).

- (155) Zhang, M.-Y.; Liang, X.; Ni, D.-N.; Liu, D.-H.; Peng, Q.; Zhao, C.-H. 2-(Dimesitylboryl)Phenyl-Substituted [2.2]Paracyclophanes Featuring Intense and Sign-Invertible Circularly Polarized Luminescence. *Org. Lett.* **2021**, *23* (1), 2–7. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c02463>.
- (156) Gal, J. Pasteur and the Art of Chirality. *Nature Chem* **2017**, *9* (7), 604–605. <https://doi.org/10.1038/nchem.2790>.
- (157) Falk, H.; Schlögl, K. The Absolute Configuration of [2.2]Paracyclophanecarboxylic Acid. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, *7* (5), 383–384. <https://doi.org/10.1002/anie.196803833>.
- (158) Rozenberg, V.; Kharitonov, V.; Antonov, D.; Sergeeva, E.; Aleshkin, A.; Ikonnikov, N.; Orlova, S.; Belokon', Y. Scalemic 2-Formyl-3-Hydroxy[2.2]Paracyclophane: A New Auxiliary for Asymmetric Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1994**, *33* (1), 91–92. <https://doi.org/10.1002/anie.199400911>.
- (159) Rozenberg, V.; Dubrovina, N.; Sergeeva, E.; Antonov, D.; Belokon', Y. An Improved Synthesis of (S)-(+)- and (R)-(-)-[2.2]Paracyclophane-4-Carboxylic Acid. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9* (4), 653–656. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(98\)00015-9](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(98)00015-9).
- (160) Rozenberg, V.; Danilova, T.; Sergeeva, E.; Vorontsov, E.; Starikova, Z.; Lysenko, K.; Belokon', Y. Regioselective Fries Rearrangement and Friedel–Crafts Acylation as Efficient Routes to Novel Enantiomerically Enriched Ortho-Acylhydroxy[2.2]Paracyclophanes. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, *9*.
- (161) Rozenberg, V.; Danilova, T.; Sergeeva, E.; Vorontsov, E.; Starikova, Z.; Korlyukov, A.; Hopf, H. Resolution and Novel Reactions of 4-Hydroxy[2.2]Paracyclophane. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *10*.
- (162) Rozenberg, V.; Sergeeva, E.; Hopf, H. Cyclophanes as Templates in Stereoselective Synthesis. In *Modern Cyclophane Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, **2004**; pp 435–462. <https://doi.org/10.1002/3527603964.ch17>.
- (163) Cram, D. James.; Harris, F. Laurie. Macro Rings. XXXV. Stereochemistry of [2.2]Paracyclophanyl Nucleus as a Neighboring Group in Solvolyses Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89* (18), 4642–4651. <https://doi.org/10.1021/ja00994a014>.
- (164) Truesdale, E. A.; Cram, D. J. Macro Rings. 49. Use of Transannular Reactions to Add Bridges to [2.2]Paracyclophane. *J. Org. Chem.* **1980**, *45* (20), 3974–3981. <https://doi.org/10.1021/jo01308a005>.
- (165) Braun, C.; Nieger, M.; Thiel, W. R.; Bräse, S. [2.2]Paracyclophanes with N-Heterocycles as Ligands for Mono- and Dinuclear Ruthenium(II) Complexes. *Chemistry – A European Journal* **2017**, *23* (61), 15474–15483. <https://doi.org/10.1002/chem.201703291>.
- (166) Minuti, L.; Taticchi*, A.; Marrocchi, A. An Improved Synthesis of (S)-(+)- and (R)-(-)-4-Ethenyl[2.2]Paracyclophane. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11* (20), 4221–4225. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(00\)00392-X](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(00)00392-X).

- (167) Dorizon, P.; Martin, C.; Daran, J.-C.; Fiaud, J.-C.; Kagan, H. B. A Practical Kinetic Resolution of 4-Acetyl[2.2]Paracyclophane. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12* (18), 2625–2630. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(01\)00452-9](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(01)00452-9).
- (168) Zippel, C.; Hassan, Z.; Parsa, A. Q.; Hohmann, J.; Bräse, S. Multigram-Scale Kinetic Resolution of 4-Acetyl[2.2]Paracyclophane *via* Ru-Catalyzed Enantioselective Hydrogenation: Accessing [2.2]Paracyclophanes with Planar and Central Chirality. *Adv. Synth. Catal.* **2021**, adsc.202001536. <https://doi.org/10.1002/adsc.202001536>.
- (169) Banfi, S.; Manfredi, A.; Montanari, F.; Pozzi, G.; Quici, S. Synthesis of Chiral Mn(III)-Meso-Tetrakis-[2.2]-p-Cyclophanyl-Porphyrin: A New Catalyst for Enantioselective Epoxidation. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **1996**, *113* (1), 77–86. [https://doi.org/10.1016/S1381-1169\(96\)00048-9](https://doi.org/10.1016/S1381-1169(96)00048-9).
- (170) Antonov, D. Yu.; Rozenberg, V. I.; Danilova, T. I.; Starikova, Z. A.; Hopf, H. Iminophenol Ligands Derived from Chiral Regioisomeric Hydroxy[2.2]Paracyclophane-Carbaldehydes: The Influence of the Substitution Pattern on Asymmetric Induction. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008* (6), 1038–1048. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200700823>.
- (171) Izumi, T.; Hinata, T. Enzymatic Kinetic Resolution of [2.2]Para-Cyclophane Derivatives. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2007**, *55* (3), 227–231. <https://doi.org/10.1002/jctb.280550305>.
- (172) Pamperin, D.; Hopf, H.; Sylatk, C.; Pietzsch, M. Synthesis of Planar Chiral [2.2]Paracyclophanes by Biotransformations: Kinetic Resolution of 4-Formyl-[2.2]Paracyclophane by Asymmetric Reduction. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8* (2), 319–325. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(96\)00503-4](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(96)00503-4).
- (173) Pamperin, D.; Schulz, C.; Hopf, H.; Sylatk, C.; Pietzsch, M. Chemoenzymatic Synthesis of Optically Pure Planar Chiral (S)-(-)-5-Formyl-4-hydroxy[2.2]Paracyclophane. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, *5*.
- (174) Meerwein, H.; Schmidt, R. Ein Neues Verfahren Zur Reduktion von Aldehyden Und Ketonen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1925**, *444* (1), 221–238. <https://doi.org/10.1002/jlac.19254440112>.
- (175) Zassinovich, G.; Mestroni, G.; Gladiali, S. Asymmetric Hydrogen Transfer Reactions Promoted by Homogeneous Transition Metal Catalysts. *Chem. Rev.* **1992**, *92* (5), 1051–1069. <https://doi.org/10.1021/cr00013a015>.
- (176) Hashiguchi, S.; Fujii, A.; Takehara, J.; Ikariya, T.; Noyori, R. Asymmetric Transfer Hydrogenation of Aromatic Ketones Catalyzed by Chiral Ruthenium(II) Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (28), 7562–7563. <https://doi.org/10.1021/ja00133a037>.
- (177) Noyori, R.; Hashiguchi, S. Asymmetric Transfer Hydrogenation Catalyzed by Chiral Ruthenium Complexes. *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30* (2), 97–102. <https://doi.org/10.1021/ar9502341>.
- (178) Gladiali, S.; Alberico, E. Asymmetric Transfer Hydrogenation: Chiral Ligands and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35* (3), 226–236. <https://doi.org/10.1039/B513396C>.

- (179) Alonso, D. A.; Brandt, P.; Nordin, S. J. M.; Andersson, P. G. Ru(Arene)(Amino Alcohol)-Catalyzed Transfer Hydrogenation of Ketones: Mechanism and Origin of Enantioselectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (41), 9580–9588. <https://doi.org/10.1021/ja9906610>.
- (180) Fujii, A.; Hashiguchi, S.; Uematsu, N.; Ikariya, T.; Noyori, R. Ruthenium(II)-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones Using a Formic Acid–Triethylamine Mixture. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (10), 2521–2522. <https://doi.org/10.1021/ja954126l>.
- (181) Alba, A.-N. R.; Rios, R. Kinetic Resolution: A Powerful Tool for the Synthesis of Planar-Chiral Ferrocenes. *Molecules* **2009**, *14* (11), 4747–4757. <https://doi.org/10.3390/molecules14114747>.
- (182) Akiyama, M.; Akagawa, K.; Seino, H.; Kudo, K. Peptide-Catalyzed Kinetic Resolution of Planar-Chiral Metallocenes. *Chem. Commun.* **2014**, *50* (58), 7893–7896. <https://doi.org/10.1039/C4CC03266G>.
- (183) Liu, R.; Zhou, G.; Hall, T. H.; Clarkson, G. J.; Wills, M.; Chen, W. Practical Access to Planar Chiral 1,2-(α -Ketotetramethylene)- Ferrocene by Non-Enzymatic Kinetic Resolution and Conclusive Confirmation of Its Absolute Configuration. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2015**, *357* (16–17), 3453–3457. <https://doi.org/10.1002/adsc.201500728>.
- (184) Patti, A.; Pedotti, S. Parallel or Classical Kinetic Resolution of a Planar Chiral Ferrocenylketone through Asymmetric Reductions. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21* (21), 2631–2637. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2010.10.004>.
- (185) Yamakawa, M.; Yamada, I.; Noyori, R. CH/ π Attraction: The Origin of Enantioselectivity in Transfer Hydrogenation of Aromatic Carbonyl Compounds Catalyzed by Chiral H₆-Arene-Ruthenium(II) Complexes. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40* (15), 2818–2821. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010803\)40:15<2818::AID-ANIE2818>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010803)40:15<2818::AID-ANIE2818>3.0.CO;2-Y).
- (186) Touge, T.; Hakamata, T.; Nara, H.; Kobayashi, T.; Sayo, N.; Saito, T.; Kayaki, Y.; Ikariya, T. Oxo-Tethered Ruthenium(II) Complex as a Bifunctional Catalyst for Asymmetric Transfer Hydrogenation and H₂ Hydrogenation. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (38), 14960–14963. <https://doi.org/10.1021/ja207283t>.
- (187) G. Nedden, H.; Zanotti-Gerosa, A.; Wills, M. The Development of Phosphine-Free “Tethered” Ruthenium(II) Catalysts for the Asymmetric Reduction of Ketones and Imines. *The Chemical Record* **2016**, *16* (6), 2623–2643. <https://doi.org/10.1002/tcr.201600084>.
- (188) Dub, P. A.; Gordon, J. C. The Role of the Metal-Bound N–H Functionality in Noyori-Type Molecular Catalysts. *Nat Rev Chem* **2018**, *2* (12), 396–408. <https://doi.org/10.1038/s41570-018-0049-z>.
- (189) Ahlrichs, R.; Bär, M.; Häser, M.; Horn, H.; Kölmel, C. Electronic Structure Calculations on Workstation Computers: The Program System Turbomole. *Chemical Physics Letters* **1989**, *162* (3), 165–169. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(89\)85118-8](https://doi.org/10.1016/0009-2614(89)85118-8).
- (190) Contreras-García, J.; Johnson, E. R.; Keinan, S.; Chaudret, R.; Piquemal, J.-P.; Beratan, D. N.; Yang, W. NCIPLLOT: A Program for Plotting Noncovalent Interaction Regions. *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7* (3), 625–632. <https://doi.org/10.1021/ct100641a>.

- (191) Bannwarth, C.; Ehlert, S.; Grimme, S. GFN2-XTB—An Accurate and Broadly Parametrized Self-Consistent Tight-Binding Quantum Chemical Method with Multipole Electrostatics and Density-Dependent Dispersion Contributions. *J. Chem. Theory Comput.* **2019**, *15* (3), 1652–1671. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b01176>.
- (192) Bannwarth, C.; Caldeweyher, E.; Ehlert, S.; Hansen, A.; Pracht, P.; Seibert, J.; Spicher, S.; Grimme, S. Extended Tight-Binding Quantum Chemistry Methods. *WIREs Computational Molecular Science* **2021**, *11* (2), e1493. <https://doi.org/10.1002/wcms.1493>.
- (193) Wilkinson, G.; Rosenblum, M.; Whiting, M. C.; Woodward, R. B. THE STRUCTURE OF IRON BIS-CYCLOPENTADIENYL. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74* (8), 2125–2126. <https://doi.org/10.1021/ja01128a527>.
- (194) Kauffman, G. B. The Discovery of Ferrocene, the First Sandwich Compound. *J. Chem. Educ.* **1983**, *60* (3), 185. <https://doi.org/10.1021/ed060p185>.
- (195) van Staveren, D. R.; Metzler-Nolte, N. Bioorganometallic Chemistry of Ferrocene. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (12), 5931–5986. <https://doi.org/10.1021/cr0101510>.
- (196) Astruc, D. Why Is Ferrocene so Exceptional? *European Journal of Inorganic Chemistry* **2017**, *2017* (1), 6–29. <https://doi.org/10.1002/ejic.201600983>.
- (197) Rebière, F.; Riant, O.; Ricard, L.; Kagan, H. B. Asymmetric Synthesis and Highly Diastereoselective Ortho-Lithiation of Ferrocenyl Sulfoxides. Application to the Synthesis of Ferrocenyl Derivatives with Planar Chirality. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1993**, *32* (4), 568–570. <https://doi.org/10.1002/anie.199305681>.
- (198) Riant, O.; Samuel, O.; Kagan, H. B. A General Asymmetric Synthesis of Ferrocenes with Planar Chirality. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (13), 5835–5836. <https://doi.org/10.1021/ja00066a066>.
- (199) Riant, O.; Samuel, O.; Flessner, T.; Taudien, S.; Kagan, H. B. An Efficient Asymmetric Synthesis of 2-Substituted Ferrocenecarboxaldehydes. *J. Org. Chem.* **1997**, *62* (20), 6733–6745. <https://doi.org/10.1021/jo970075u>.
- (200) Shen, Y.; Chen, C.-F. Helicenes: Synthesis and Applications. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (3), 1463–1535. <https://doi.org/10.1021/cr200087r>.
- (201) Gingras, M. One Hundred Years of Helicene Chemistry. Part 1: Non-Stereoselective Syntheses of Carbohelicenes. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (3), 968–1006. <https://doi.org/10.1039/C2CS35154D>.
- (202) Gingras, M. One Hundred Years of Helicene Chemistry. Part 3: Applications and Properties of Carbohelicenes. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (3), 1051–1095. <https://doi.org/10.1039/C2CS35134J>.
- (203) Tribout, J.; Martin, R. H.; Doyle, M.; Wynberg, H. Chemical Assignment of Absolute Configurations in the Helicene and Heterohelicene Series. Part XXXIV 1. Hexahelicene 2. Benzo [d] Naphtho [1,2-D'] Benzo [1,2-b; 4,3-B'] Dithiophene. *Tetrahedron Letters* **1972**, *13* (28), 2839–2842. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)84950-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)84950-9).

- (204) Rajca, A.; Miyasaka, M.; Pink, M.; Wang, H.; Rajca, S. Helically Annulated and Cross-Conjugated Oligothiophenes: Asymmetric Synthesis, Resolution, and Characterization of a Carbon–Sulfur [7]Helicene. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (46), 15211–15222. <https://doi.org/10.1021/ja0462530>.
- (205) Gingras, M.; Félix, G.; Peresutti, R. One Hundred Years of Helicene Chemistry. Part 2: Stereoselective Syntheses and Chiral Separations of Carbohelicenes. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (3), 1007–1050. <https://doi.org/10.1039/C2CS35111K>.
- (206) Yubuta, A.; Hosokawa, T.; Gon, M.; Tanaka, K.; Chujo, Y.; Tsurusaki, A.; Kamikawa, K. Enantioselective Synthesis of Triple Helicenes by Cross-Cyclotrimerization of a Helicenyl Aryne and Alkynes via Dynamic Kinetic Resolution. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (22), 10025–10033. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c01723>.
- (207) Reznikova, K.; Hsu, C.; Schosser, W. M.; Gallego, A.; Beltako, K.; Pauly, F.; van der Zant, H. S. J.; Mayor, M. Substitution Pattern Controlled Quantum Interference in [2.2]Paracyclophane-Based Single-Molecule Junctions. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143* (34), 13944–13951. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c06966>.
- (208) Wang, B.; Graskemper, J. W.; Qin, L.; DiMugno, S. G. Regiospecific Reductive Elimination from Diaryliodonium Salts. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (24), 4079–4083. <https://doi.org/10.1002/anie.201000695>.
- (209) Schaal (née Lennartz), P.; Baars, H.; Raabe, G.; Atodiresei, I.; Bolm, C. Phenylodine Diacetate-Mediated Para-Functionalizations of Amido- and Amino-Substituted [2.2]Paracyclophanes. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2013**, *355* (13), 2506–2512. <https://doi.org/10.1002/adsc.201300547>.
- (210) Zippel, C.; Spuling, E.; Hassan, Z.; Polamo, M.; Nieger, M.; Bräse, S. Controlling Regioselectivity in Palladium-Catalyzed C–H Activation/Aryl–Aryl Coupling of 4-Phenylamino[2.2]Paracyclophane. *Chemistry – A European Journal* **2020**, *26* (61), 13771–13775. <https://doi.org/10.1002/chem.202003709>.
- (211) Schneider, J. F.; Fröhlich, R.; Paradies, J. Synthesis of Enantiopure Planar-Chiral Thiourea Derivatives. *Synthesis* **2010**, *2010* (20), 3486–3492. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1258205>.
- (212) Rieche, A.; Gross, H.; Höft, E. Über α -Halogenäther, IV. Synthesen Aromatischer Aldehyde Mit Dichlormethyl-Alkyläthern. *Chemische Berichte* **1960**, *93* (1), 88–94. <https://doi.org/10.1002/cber.19600930115>.
- (213) Sergeeva, E. V.; Rozenberg, V. I.; Antonov, D. Yu.; Vorontsov, E. V.; Starikova, Z. A.; Fedyanin, I. V.; Hopf, H. Novel Multichiral Diols and Diamines by Highly Stereoselective Pinacol Coupling of Planar Chiral [2.2]Paracyclophane Derivatives. *Chemistry – A European Journal* **2005**, *11* (23), 6944–6961. <https://doi.org/10.1002/chem.200500413>.
- (214) Kramer, J. J. P.; Yildiz, C.; Nieger, M.; Bräse, S. Direct Access to 4,5-Disubstituted [2.2]Paracyclophanes by Selective Ortho-Halogenation with Pd-Catalyzed C–H Activation. *European Journal of Organic Chemistry* **2014**, *2014* (6), 1287–1295. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201301723>.

- (215) Bradley, D. C.; Thomas, I. M. 765. Metallo-Organic Compounds Containing Metal–Nitrogen Bonds. Part I. Some Dialkylamino-Derivatives of Titanium and Zirconium. *J. Chem. Soc.* **1960**, No. 0, 3857–3861. <https://doi.org/10.1039/JR9600003857>.
- (216) Vilsmeier, A.; Haack, A. Über Die Einwirkung von Halogenphosphor Auf Alkyl-Formanilide. Eine Neue Methode Zur Darstellung Sekundärer Und Tertiärer p-Alkylamino-Benzaldehyde. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* **1927**, 60 (1), 119–122. <https://doi.org/10.1002/cber.19270600118>.
- (217) Ferguson, L. N. The Synthesis of Aromatic Aldehydes. *Chem. Rev.* **1946**, 38 (2), 227–254. <https://doi.org/10.1021/cr60120a002>.
- (218) Meth-Cohn, O.; Stanforth, S. P. 3.5 - The Vilsmeier–Haack Reaction. In *Comprehensive Organic Synthesis*; Trost, B. M., Fleming, I., Eds.; Pergamon: Oxford, **1991**; pp 777–794. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-052349-1.00049-4>.
- (219) Dyer, U. C.; Henderson, D. A.; Mitchell, M. B.; Tiffin, P. D. Scale-Up of a Vilsmeier Formylation Reaction: Use of HEL Auto-MATE and Simulation Techniques for Rapid and Safe Transfer to Pilot Plant from Laboratory. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, 6 (3), 311–316. <https://doi.org/10.1021/op0155211>.
- (220) Introduction. In *Intramolecular Charge Transfer*; John Wiley & Sons, Ltd, **2018**; pp 1–27. <https://doi.org/10.1002/9783527801916.ch1>.
- (221) Koser, G. F.; Wettach, R. H. [Hydroxy(Tosyloxy)Iodo]Benzene, a Versatile Reagent for the Mild Oxidation of Aryl Iodides at the Iodine Atom by Ligand Transfer. *J. Org. Chem.* **1980**, 45 (8), 1542–1543. <https://doi.org/10.1021/jo01296a049>.
- (222) Merritt, E. A.; Carneiro, V. M. T.; Silva, L. F.; Olofsson, B. Facile Synthesis of Koser’s Reagent and Derivatives from Iodine or Aryl Iodides. *J. Org. Chem.* **2010**, 75 (21), 7416–7419. <https://doi.org/10.1021/jo101227j>.
- (223) Jayasundera, K. P.; Kusmus, D. N. M.; Deuilhé, L.; Etheridge, L.; Farrow, Z.; Lun, D. J.; Kaur, G.; Rowlands, G. J. The Synthesis of Substituted Amino[2.2]Paracyclophanes. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14 (46), 10848–10860. <https://doi.org/10.1039/C6OB02150F>.
- (224) Felder, S.; Micouin, L.; Benedetti, E. Para-Functionalization of N-Substituted 4-Amino[2.2]Paracyclophanes by Regioselective Formylation. *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, 2021 (29), 4015–4018. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202100288>.
- (225) Schröder, K.; Enthaler, S.; Join, B.; Junge, K.; Beller, M. Iron-Catalyzed Epoxidation of Aromatic Olefins and 1,3-Dienes. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2010**, 352 (10), 1771–1778. <https://doi.org/10.1002/adsc.201000091>.
- (226) Enthaler, S.; Schröder, K.; Inoue, S.; Eckhardt, B.; Junge, K.; Beller, M.; Driß, M. Formamidines – Versatile Ligands for Zinc-Catalyzed Hydrosilylation and Iron-Catalyzed Epoxidation Reactions. *European Journal of Organic Chemistry* **2010**, 2010 (25), 4893–4901. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201000648>.

- (227) Mimoun, H.; de Saint Laumer, J. Y.; Giannini, L.; Scopelliti, R.; Floriani, C. Enantioselective Reduction of Ketones by Polymethylhydrosiloxane in the Presence of Chiral Zinc Catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (26), 6158–6166. <https://doi.org/10.1021/ja990522i>.
- (228) Introduction to Fluorescence. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, **2006**; pp 1–26. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4_1.
- (229) Williams, A. T. R.; Winfield, S. A.; Miller, J. N. Relative Fluorescence Quantum Yields Using a Computer-Controlled Luminescence Spectrometer. *Analyst* **1983**, *108* (1290), 1067–1071. <https://doi.org/10.1039/AN9830801067>.
- (230) Time-Domain Lifetime Measurements. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, **2006**; pp 97–155. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4_4.
- (231) Frequency-Domain Lifetime Measurements. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, **2006**; pp 157–204. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4_5.
- (232) Stokes, G. G. XXX. On the Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1852**, *142*, 463–562. <https://doi.org/10.1098/rstl.1852.0022>.
- (233) Lavis, L. D.; Raines, R. T. Bright Ideas for Chemical Biology. *ACS Chem. Biol.* **2008**, *3* (3), 142–155. <https://doi.org/10.1021/cb700248m>.
- (234) Vendrell, M.; Zhai, D.; Er, J. C.; Chang, Y.-T. Combinatorial Strategies in Fluorescent Probe Development. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (8), 4391–4420. <https://doi.org/10.1021/cr200355j>.
- (235) Garland, M.; Yim, J. J.; Bogoy, M. A Bright Future for Precision Medicine: Advances in Fluorescent Chemical Probe Design and Their Clinical Application. *Cell Chemical Biology* **2016**, *23* (1), 122–136. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2015.12.003>.
- (236) Cosco, E. D.; Caram, J. R.; Bruns, O. T.; Franke, D.; Day, R. A.; Farr, E. P.; Bawendi, M. G.; Sletten, E. M. Flavylium Polymethine Fluorophores for Near- and Shortwave Infrared Imaging. *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, *56* (42), 13126–13129. <https://doi.org/10.1002/anie.201706974>.
- (237) Ren, T.-B.; Xu, W.; Zhang, W.; Zhang, X.-X.; Wang, Z.-Y.; Xiang, Z.; Yuan, L.; Zhang, X.-B. A General Method To Increase Stokes Shift by Introducing Alternating Vibronic Structures. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140* (24), 7716–7722. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b04404>.
- (238) Solvent and Environmental Effects. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, **2006**; pp 205–235. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4_6.
- (239) Day, R. N.; Davidson, M. W. The Fluorescent Protein Palette: Tools for Cellular Imaging. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (10), 2887–2921. <https://doi.org/10.1039/B901966A>.
- (240) Fluorophores. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, **2006**; pp 63–95. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4_3.

- (241) Bartholomew, G. P.; Bazan, G. C. Bichromophoric Paracyclophanes: Models for Interchromophore Delocalization. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34* (1), 30–39. <https://doi.org/10.1021/ar9901568>.
- (242) Förster, Th. Excimers. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1969**, *8* (5), 333–343. <https://doi.org/10.1002/anie.196903331>.
- (243) Bazan, G. C.; Oldham, Warren J.; Lachicotte, R. J.; Tretiak, S.; Chernyak, V.; Mukamel, S. Stilbenoid Dimers: Dissection of a Paracyclophane Chromophore. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (36), 9188–9204. <https://doi.org/10.1021/ja973816h>.
- (244) Oldham, W. J.; Miao, Y.-J.; Lachicotte, R. J.; Bazan, G. C. Stilbenoid Dimers: Effect of Conjugation Length and Relative Chromophore Orientation. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (2), 419–420. <https://doi.org/10.1021/ja973374+>.
- (245) Zyss, J.; Ledoux, I.; Volkov, S.; Chernyak, V.; Mukamel, S.; Bartholomew, G. P.; Bazan, G. C. Through-Space Charge Transfer and Nonlinear Optical Properties of Substituted Paracyclophane. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (48), 11956–11962. <https://doi.org/10.1021/ja0022526>.
- (246) Bartholomew, G. P.; Bazan, G. C. Synthesis, Characterization, and Spectroscopy of 4,7,12,15-[2.2]Paracyclophane Containing Donor and Acceptor Groups: Impact of Substitution Patterns on Through-Space Charge Transfer. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (18), 5183–5196. <https://doi.org/10.1021/ja0121383>.
- (247) Benedetti, E.; Delcourt, M.-L.; Gatin-Fraudet, B.; Turcaud, S.; Micouin, L. Synthesis and Photophysical Studies of Through-Space Conjugated [2.2]Paracyclophane-Based Naphthalene Fluorophores. *RSC Advances* **2017**, *7* (80), 50472–50476. <https://doi.org/10.1039/C7RA10038H>.
- (248) Ye, J.-T.; Qiu, Y.-Q. The Inspiration and Challenge for Through-Space Charge Transfer Architecture: From Thermally Activated Delayed Fluorescence to Non-Linear Optical Properties. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2021**, *23* (30), 15881–15898. <https://doi.org/10.1039/D1CP02565A>.
- (249) Tanaka, H.; Inoue, Y.; Mori, T. Circularly Polarized Luminescence and Circular Dichroisms in Small Organic Molecules: Correlation between Excitation and Emission Dissymmetry Factors. *ChemPhotoChem* **2018**, *2* (5), 386–402. <https://doi.org/10.1002/cptc.201800015>.
- (250) Tanaka, H.; Ikenosako, M.; Kato, Y.; Fujiki, M.; Inoue, Y.; Mori, T. Symmetry-Based Rational Design for Boosting Chiroptical Responses. *Commun Chem* **2018**, *1* (1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s42004-018-0035-x>.
- (251) Polavarapu, P. L. *Chiroptical Spectroscopy: Fundamentals and Applications*; CRC Press, **2016**.
- (252) Eliel, E. L.; Wilen, S. H. *Stereochemistry of Organic Compounds*; Wiley–Blackwell: New York, **1994**.

- (253) Wang, J.; Li, Y.; Wang, X.; Chen, W.; Sun, H.; Wang, J. Lipopolysaccharide Induces Amyloid Formation of Antimicrobial Peptide HAL-2. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **2014**, *1838* (11), 2910–2918. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.07.028>.
- (254) Chen, Y.-H.; Yang, J. T.; Martinez, H. M. Determination of the Secondary Structures of Proteins by Circular Dichroism and Optical Rotatory Dispersion. *Biochemistry* **1972**, *11* (22), 4120–4131. <https://doi.org/10.1021/bi00772a015>.
- (255) Greenfield, N. J. Using Circular Dichroism Spectra to Estimate Protein Secondary Structure. *Nat Protoc* **2006**, *1* (6), 2876–2890. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.202>.
- (256) Richardson, F. S.; Riehl, J. P. Circularly Polarized Luminescence Spectroscopy. *Chem. Rev.* **1977**, *77* (6), 773–792. <https://doi.org/10.1021/cr60310a001>.
- (257) Riehl, J. P.; Richardson, F. S. Circularly Polarized Luminescence Spectroscopy. *Chem. Rev.* **1986**, *86* (1), 1–16. <https://doi.org/10.1021/cr00071a001>.
- (258) Longhi, G.; Castiglioni, E.; Koshoubu, J.; Mazzeo, G.; Abbate, S. Circularly Polarized Luminescence: A Review of Experimental and Theoretical Aspects. *Chirality* **2016**, *28* (10), 696–707. <https://doi.org/10.1002/chir.22647>.
- (259) Sánchez-Carnerero, E. M.; Agarrabeitia, A. R.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Muller, G.; Ortiz, M. J.; de la Moya, S. Circularly Polarized Luminescence from Simple Organic Molecules. *Chemistry – A European Journal* **2015**, *21* (39), 13488–13500. <https://doi.org/10.1002/chem.201501178>.
- (260) Kaseyama, T.; Furumi, S.; Zhang, X.; Tanaka, K.; Takeuchi, M. Hierarchical Assembly of a Phthalhydrazide-Functionalized Helicene. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50* (16), 3684–3687. <https://doi.org/10.1002/anie.201007849>.
- (261) Sawada, Y.; Furumi, S.; Takai, A.; Takeuchi, M.; Noguchi, K.; Tanaka, K. Rhodium-Catalyzed Enantioselective Synthesis, Crystal Structures, and Photophysical Properties of Helically Chiral 1,1'-Bitriphenylenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (9), 4080–4083. <https://doi.org/10.1021/ja300278e>.
- (262) Nakamura, K.; Furumi, S.; Takeuchi, M.; Shibuya, T.; Tanaka, K. Enantioselective Synthesis and Enhanced Circularly Polarized Luminescence of S-Shaped Double Azahelicenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (15), 5555–5558. <https://doi.org/10.1021/ja500841f>.
- (263) Isla, H.; Srebro-Hooper, M.; Jean, M.; Vanthuyne, N.; Roisnel, T.; L. Lunkley, J.; Muller, G.; Gareth Williams, J. A.; Autschbach, J.; Crassous, J. Conformational Changes and Chiroptical Switching of Enantiopure Bis-Helicenic Terpyridine upon Zn 2+ Binding. *Chemical Communications* **2016**, *52* (35), 5932–5935. <https://doi.org/10.1039/C6CC01748G>.
- (264) Atzori, M.; Dhbaibi, K.; Douib, H.; Grasser, M.; Dorcet, V.; Breslavetz, I.; Paillot, K.; Cador, O.; Rikken, G. L. J. A.; Le Guennic, B.; Crassous, J.; Pointillart, F.; Train, C. Helicene-Based Ligands Enable Strong Magneto-Chiral Dichroism in a Chiral Ytterbium Complex. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143* (7), 2671–2675. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c13180>.

- (265) Dhbaibi, K.; Abella, L.; Meunier-Della-Gatta, S.; Roisnel, T.; Vanthuyne, N.; Jamoussi, B.; Pieters, G.; Racine, B.; Quesnel, E.; Autschbach, J.; Crassous, J.; Favereau, L. Achieving High Circularly Polarized Luminescence with Push–Pull Helicenic Systems: From Rationalized Design to Top-Emission CP-OLED Applications. *Chem. Sci.* **2021**, *12* (15), 5522–5533. <https://doi.org/10.1039/D0SC06895K>.
- (266) Morisaki, Y.; Gon, M.; Sasamori, T.; Tokitoh, N.; Chujo, Y. Planar Chiral Tetrasubstituted [2.2]Paracyclophane: Optical Resolution and Functionalization. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (9), 3350–3353. <https://doi.org/10.1021/ja412197j>.
- (267) Gon, M.; Morisaki, Y.; Chujo, Y. Optically Active Cyclic Compounds Based on Planar Chiral [2.2]Paracyclophane: Extension of the Conjugated Systems and Chiroptical Properties. *J. Mater. Chem. C* **2014**, *3* (3), 521–529. <https://doi.org/10.1039/C4TC02339K>.
- (268) Tsuchiya, M.; Maeda, H.; Inoue, R.; Morisaki, Y. Construction of Helical Structures with Planar Chiral [2.2]Paracyclophane: Fusing Helical and Planar Chiralities. *Chem. Commun.* **2021**, *57* (73), 9256–9259. <https://doi.org/10.1039/D1CC03320D>.
- (269) Gon, M.; Morisaki, Y.; Chujo, Y. Highly Emissive Optically Active Conjugated Dimers Consisting of a Planar Chiral [2.2]Paracyclophane Showing Circularly Polarized Luminescence. *European Journal of Organic Chemistry* **2015**, *2015* (35), 7756–7762. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201501181>.
- (270) Delcourt, M.-L.; Reynaud, C.; Turcaud, S.; Favereau, L.; Crassous, J.; Micouin, L.; Benedetti, E. 3D Coumarin Systems Based on [2.2]Paracyclophane: Synthesis, Spectroscopic Characterization, and Chiroptical Properties. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (2), 888–899. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b02773>.
- (271) Zhang, M.-Y.; Li, Z.-Y.; Lu, B.; Wang, Y.; Ma, Y.-D.; Zhao, C.-H. Solid-State Emissive Triarylborane-Based [2.2]Paracyclophanes Displaying Circularly Polarized Luminescence and Thermally Activated Delayed Fluorescence. *Org. Lett.* **2018**, *20* (21), 6868–6871. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b02995>.
- (272) Liang, X.; Liu, T.-T.; Yan, Z.-P.; Zhou, Y.; Su, J.; Luo, X.-F.; Wu, Z.-G.; Wang, Y.; Zheng, Y.-X.; Zuo, J.-L. Organic Room-Temperature Phosphorescence with Strong Circularly Polarized Luminescence Based on Paracyclophanes. *Angewandte Chemie International Edition* **2019**, *58* (48), 17220–17225. <https://doi.org/10.1002/anie.201909076>.
- (273) Zhang, M.-Y.; Liang, X.; Ni, D.-N.; Liu, D.-H.; Peng, Q.; Zhao, C.-H. 2-(Dimesitylboryl)Phenyl-Substituted [2.2]Paracyclophanes Featuring Intense and Sign-Invertible Circularly Polarized Luminescence. *Org. Lett.* **2021**, *23* (1), 2–7. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c02463>.
- (274) Hasegawa, M.; Ishida, Y.; Sasaki, H.; Ishioka, S.; Usui, K.; Hara, N.; Kitahara, M.; Imai, Y.; Mazaki, Y. Helical Oligophenylene Linked with [2.2]Paracyclophane: Stereogenic π -Conjugated Dye for Highly Emissive Chiroptical Properties. *Chemistry – A European Journal* **2021**, *27* (65), 16225–16231. <https://doi.org/10.1002/chem.202103158>.

- (275) Miki, N.; Inoue, R.; Morisaki, Y. Synthesis and Chiroptical Properties of One-Handed Helical Oligo-*o*-Phenylene-Ethynylenes Using Planar Chiral [2.2]Paracyclophane. *BCSJ* **2021**. <https://doi.org/10.1246/bcsj.20210368>.
- (276) Morisaki, Y. Circularly Polarized Luminescence (CPL) Based on Planar Chiral [2.2]Paracyclophane. In *Progress in the Science of Functional Dyes*; Ooyama, Y., Yagi, S., Eds.; Springer: Singapore, **2021**; pp 343–374. https://doi.org/10.1007/978-981-33-4392-4_10.
- (277) Rapp, M. R.; Leis, W.; Zinna, F.; Di Bari, L.; Arnold, T.; Speiser, B.; Seitz, M.; Bettinger, H. Bright Luminescence by Combining Chiral [2.2]Paracyclophane with a Boron-Nitrogen-Doped Polyaromatic Hydrocarbon Building Block. *Chemistry – A European Journal* *n/a* (n/a). <https://doi.org/10.1002/chem.202104161>.
- (278) Weber, G.; Farris, F. J. Synthesis and Spectral Properties of a Hydrophobic Fluorescent Probe: 6-Propionyl-2-(Dimethylamino)Naphthalene. *Biochemistry* **1979**, *18* (14), 3075–3078. <https://doi.org/10.1021/bi00581a025>.
- (279) Macgregor, R. B.; Weber, G. Estimation of the Polarity of the Protein Interior by Optical Spectroscopy. *Nature* **1986**, *319* (6048), 70–73. <https://doi.org/10.1038/319070a0>.
- (280) Parasassi, T.; Krasnowska, E. K.; Bagatolli, L.; Gratton, E. Laurdan and Prodan as Polarity-Sensitive Fluorescent Membrane Probes. *Journal of Fluorescence* **1998**, *8* (4), 365–373. <https://doi.org/10.1023/A:1020528716621>.
- (281) Reichardt, C. Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators. *Chem. Rev.* **1994**, *94* (8), 2319–2358. <https://doi.org/10.1021/cr00032a005>.
- (282) Loving, G. S.; Sainlos, M.; Imperiali, B. Monitoring Protein Interactions and Dynamics with Solvatochromic Fluorophores. *Trends in Biotechnology* **2010**, *28* (2), 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.11.002>.
- (283) Cosner, C. C.; Cabrera, P. J.; Byrd, K. M.; Thomas, A. M. A.; Helquist, P. Selective Oxidation of Benzylic and Allylic Alcohols Using Mn(OAc)₃/Catalytic 2,3-Dichloro-5,6-Dicyano-1,4-Benzoquinone. *Org. Lett.* **2011**, *13* (8), 2071–2073. <https://doi.org/10.1021/ol200441g>.
- (284) Heravi, M. M.; Dehghani, M.; Zadsirjan, V.; Ghanbarian, M. Alkynes as Privileged Synthons in Selected Organic Name Reactions. *Current Organic Synthesis* *16* (2), 205–243.
- (285) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie International Edition* *40* (11), **2004**–2021. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5).
- (286) Sletten, E. M.; Bertozzi, C. R. Bioorthogonal Chemistry: Fishing for Selectivity in a Sea of Functionality. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (38), 6974–6998. <https://doi.org/10.1002/anie.200900942>.
- (287) Bird, R. E.; Lemmel, S. A.; Yu, X.; Zhou, Q. A. Bioorthogonal Chemistry and Its Applications. *Bioconjugate Chem.* **2021**, *32* (12), 2457–2479. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.1c00461>.

- (288) Liu, W.; Wang, H.; Li, C.-J. Metal-Free Markovnikov-Type Alkyne Hydration under Mild Conditions. *Org. Lett.* **2016**, *18* (9), 2184–2187. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b00801>.
- (289) Liu, H.; Wei, Y.; Cai, C. A Combination System of P-Toluenesulfonic Acid and Acetic Acid for the Hydration of Alkynes. *Synlett* **2016**, *27* (16), 2378–2383. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1562779>.
- (290) Bondarenko, L.; Dix, I.; Hinrichs, H.; Hopf, H. Cyclophanes. Part LII: Ethynyl[2.2]Paracyclophanes - New Building Blocks for Molecular Scaffolding. *Synthesis* **2004**, *2004* (16), 2751–2759. <https://doi.org/10.1055/s-2004-834872>.
- (291) Ohira, S. Methanolysis of Dimethyl (1-Diazo-2-Oxopropyl) Phosphonate: Generation of Dimethyl (Diazomethyl) Phosphonate and Reaction with Carbonyl Compounds. *Synthetic Communications* **1989**, *19* (3–4), 561–564. <https://doi.org/10.1080/00397918908050700>.
- (292) Müller, S.; Liepold, B.; Roth, G. J.; Bestmann, H. J. An Improved One-Pot Procedure for the Synthesis of Alkynes from Aldehydes. *Synlett* **1996**, *1996* (06), 521–522. <https://doi.org/10.1055/s-1996-5474>.
- (293) Clément, S.; Guyard, L.; Knorr, M.; Dilsky, S.; Strohmam, C.; Arroyo, M. Ethynyl[2.2]Paracyclophanes and 4-Isocyano[2.2]Paracyclophane as Ligands in Organometallic Chemistry. *Journal of Organometallic Chemistry* **2007**, *4* (692), 839–850. <https://doi.org/10.1016/j.jorgchem.2006.10.039>.
- (294) Bondarenko, L.; Hentschel, S.; Greiving, H.; Grunenberg, J.; Hopf, H.; Dix, I.; Jones, P. G.; Ernst, L. Intramolecular Reactions in Pseudo-Geminally Substituted [2.2]Paracyclophanes. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13* (14), 3950–3963. <https://doi.org/10.1002/chem.200601629>.
- (295) Wu, S.; Galán, L. A.; Roux, M.; Riobé, F.; Le Guennic, B.; Guyot, Y.; Le Bahers, T.; Micouin, L.; Maury, O.; Benedetti, E. Tuning Excited-State Properties of [2.2]Paracyclophane-Based Antennas to Ensure Efficient Sensitization of Lanthanide Ions or Singlet Oxygen Generation. *Inorg. Chem.* **2021**, *60* (21), 16194–16203. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c01986>.
- (296) Sahu, B.; Muruganatham, R.; Namboothiri, I. N. N. Synthetic and Mechanistic Investigations on the Rearrangement of 2,3-Unsaturated 1,4-Bis(Alkylidene)Carbenes to Ene-dienes. *European Journal of Organic Chemistry* **2007**, *2007* (15), 2477–2489. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200601137>.
- (297) Seebach, D.; Corey, E. J. Generation and Synthetic Applications of 2-Lithio-1,3-Dithianes. *J. Org. Chem.* **1975**, *40* (2), 231–237. <https://doi.org/10.1021/jo00890a018>.
- (298) Gröbel, B.-T.; Seebach, D. Umpolung of the Reactivity of Carbonyl Compounds Through Sulfur-Containing Reagents. *Synthesis* **1977**, *1977* (06), 357–402. <https://doi.org/10.1055/s-1977-24412>.
- (299) Seebach, D. Methods of Reactivity Umpolung. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1979**, *18* (4), 239–258. <https://doi.org/10.1002/anie.197902393>.

- (300) Nakata, M. Using Hydrogen Chloride, Zinc(II) Chloride, or Boron Trifluoride–Diethyl Ether Complex. In *Acetals: O/N, S/S, S/N, and N/N and Higher Heteroatom Analogues*; Georg Thieme Verlag KG, **2007**; p 1. <https://doi.org/10.1055/sos-SD-030-00275>.
- (301) *Knowledge Updates 2018/2*; Joule, Murai, Fuerstner, Thomas, Eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, **2018**; p b-006-160285. <https://doi.org/10.1055/b-006-160285>.
- (302) *Category 4, Compounds with Two Carbon Heteroatom Bond: Acetals: O/N, S/S, S/N, and N/N and Higher Heteroatom Analogues*, 1st ed.; Otera, Noyori, Eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, **2007**; p b-003-121817. <https://doi.org/10.1055/b-003-121817>.
- (303) Yao, Y.; Zhao, G.; Hamze, A.; Alami, M.; Provot, O. Mild Deprotection of Dithioacetals by TMSCl/NaI Association in CH₃CN. *European Journal of Organic Chemistry* **2020**, *2020* (35), 5775–5779. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202000979>.
- (304) Uma, R.; Crévisy, C.; Grée, R. Transposition of Allylic Alcohols into Carbonyl Compounds Mediated by Transition Metal Complexes. *Chem. Rev.* **2003**, *103* (1), 27–52. <https://doi.org/10.1021/cr0103165>.
- (305) Cadierno, V.; Crochet, P.; Gimeno, J. Ruthenium-Catalyzed Isomerizations of Allylic and Propargylic Alcohols in Aqueous and Organic Media: Applications in Synthesis. *Synlett* **2008**, *2008* (8), 1105–1124. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1072593>.
- (306) Uma, R.; Davies, M. K.; Crévisy, C.; Grée, R. Efficient Isomerization of Allylic Alcohols to Saturated Carbonyl Compounds by Activated Rhodium and Ruthenium Complexes. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001* (16), 3141. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200108\)2001:16<3141::AID-EJOC3141>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200108)2001:16<3141::AID-EJOC3141>3.0.CO;2-Y).
- (307) Abbate, S.; Lebon, F.; Gangemi, R.; Longhi, G.; Spizzichino, S.; Ruzziconi, R. Electronic and Vibrational Circular Dichroism Spectra of Chiral 4-X-[2.2]Paracyclophanes with X Containing Fluorine Atoms. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113* (52), 14851–14859. <https://doi.org/10.1021/jp9050066>.
- (308) Mazzeo, G.; Longhi, G.; Abbate, S.; Buonerba, F.; Ruzziconi, R. Chiroptical Signatures of Planar and Central Chirality in [2]Paracyclo[2](5,8)Quinolinophane Derivatives. *European Journal of Organic Chemistry* **2014**, *2014* (33), 7353–7363. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201402945>.
- (309) Barron, L. D. *Molecular Light Scattering and Optical Activity*, 2nd ed.; Cambridge University Press: Cambridge, **2004**. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511535468>.
- (310) Nafie, L. A. *Vibrational Optical Activity: Principles and Applications*, 1st edition.; Wiley: Chichester, West Sussex, **2011**.
- (311) Felder, S.; Delcourt, M.-L.; Bousquet, M. H. E.; Jacquemin, D.; Rodríguez, R.; Favereau, L.; Crassous, J.; Micouin, L.; Benedetti, E. Planar Chiral Analogues of PRODAN Based on a [2.2]Paracyclophane Scaffold: Synthesis and Photophysical Studies. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (1), 147–158. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02071>.

- (312) Mehrotra, R. C.; Bohra, R.; Gaur, D. P. *Metal [Beta]-Diketonates and Allied Derivatives*; Academic Press: London; New York, **1978**.
- (313) Loudet, A.; Burgess, K. BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties. *Chem. Rev.* **2007**, *107* (11), 4891–4932. <https://doi.org/10.1021/cr078381n>.
- (314) Kowada, T.; Maeda, H.; Kikuchi, K. BODIPY-Based Probes for the Fluorescence Imaging of Biomolecules in Living Cells. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (14), 4953–4972. <https://doi.org/10.1039/C5CS00030K>.
- (315) Bodio, E.; Denat, F.; Goze, C. BODIPYS and Aza-BODIPY Derivatives as Promising Fluorophores for in Vivo Molecular Imaging and Theranostic Applications. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2019**, *23* (11n12), 1159–1183. <https://doi.org/10.1142/S1088424619501268>.
- (316) Liu, Z.; Jiang, Z.; Yan, M.; Wang, X. Recent Progress of BODIPY Dyes With Aggregation-Induced Emission. *Frontiers in Chemistry* **2019**, *7*, 712. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00712>.
- (317) Rozenberg, V. I.; Dubrovina, N. V.; Vorontsov, E. V.; Sergeeva, E. V.; N. Belokon', Y. New Chiral β -Diketones Based on [2.2]Paracyclophane. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10* (3), 511–517. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(99\)00021-X](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(99)00021-X).
- (318) Vu, T. T.; Badré, S.; Dumas-Verdes, C.; Vachon, J.-J.; Julien, C.; Audebert, P.; Senotrusova, E. Yu.; Schmidt, E. Yu.; Trofimov, B. A.; Pansu, R. B.; Clavier, G.; Méallet-Renault, R. New Hindered BODIPY Derivatives: Solution and Amorphous State Fluorescence Properties. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113* (27), 11844–11855. <https://doi.org/10.1021/jp9019602>.
- (319) Tanaka, M.; Muraoka, S.; Matsui, Y.; Ohta, E.; Sakai, A.; Ogaki, T.; Yoshimoto, Y.; Mizuno, K.; Ikeda, H. Remarkable Solvatofluorochromism of a [2.2]Paracyclophane-Containing Organoboron Complex: A Large Stokes Shift Promoted by Excited State Intramolecular Charge Transfer. *ChemPhotoChem* **2017**, *1* (5), 188–197. <https://doi.org/10.1002/cptc.201600028>.
- (320) Nagai, A.; Kokado, K.; Nagata, Y.; Arita, M.; Chujo, Y. Highly Intense Fluorescent Diarylboron Diketonate. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (21), 8605–8607. <https://doi.org/10.1021/jo8017582>.
- (321) Duchateau, R.; Lancaster, S. J.; Thornton-Pett, M.; Bochmann, M. Synthesis of Cyclopentadienyl-, Indenyl-, and Fluorenylbis(Pentafluorophenyl)Boranes as Ligands in Titanium and Zirconium Half-Sandwich Complexes. The Crystal Structures of $C_{13}H_9B(C_6F_5)_2 \cdot t\text{-BuNH}_2$, $C_{13}H_8SiMe_3B(C_6F_5)_2$, and $\{\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4B(C_6F_5)_2\}TiCl_3$. *Organometallics* **1997**, *16* (23), 4995–5005. <https://doi.org/10.1021/om970433j>.
- (322) Bünzli, J.-C. G. Lanthanide Luminescence for Biomedical Analyses and Imaging. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (5), 2729–2755. <https://doi.org/10.1021/cr900362e>.
- (323) Armelao, L.; Quici, S.; Barigelletti, F.; Accorsi, G.; Bottaro, G.; Cavazzini, M.; Tondello, E. Design of Luminescent Lanthanide Complexes: From Molecules to Highly Efficient Photo-

- Emitting Materials. *Coordination Chemistry Reviews* **2010**, *254* (5), 487–505. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.07.025>.
- (324) Bodman, S. E.; Butler, S. J. Advances in Anion Binding and Sensing Using Luminescent Lanthanide Complexes. *Chem. Sci.* **2021**, *12* (8), 2716–2734. <https://doi.org/10.1039/D0SC05419D>.
- (325) Herlan, C.; Bräse, S. Lanthanide Conjugates as Versatile Instruments for Therapy and Diagnostics. *Dalton Trans.* **2020**, *49* (8), 2397–2402. <https://doi.org/10.1039/C9DT04851K>.
- (326) Liu, Y.; Tu, D.; Zhu, H.; Chen, X. Lanthanide-Doped Luminescent Nanoprobes: Controlled Synthesis, Optical Spectroscopy, and Bioapplications. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (16), 6924–6958. <https://doi.org/10.1039/C3CS60060B>.
- (327) Grykien, R.; Luszczynska, B.; Glowacki, I.; Puntus, L.; Pekareva, I.; Lyssenko, K.; Kajzar, F.; Rau, I.; Lazar, C. A. Electric Field Tunable Light Emitting Diodes Containing Europium β -Diketonates with [2.2]Paracyclophane Moiety. *Optical Materials* **2016**, *57*, 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2016.04.034>.
- (328) Shindy, H. A. Fundamentals in the Chemistry of Cyanine Dyes: A Review. *Dyes and Pigments* **2017**, *145*, 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2017.06.029>.
- (329) Armitage, B. A. Cyanine Dye–DNA Interactions: Intercalation, Groove Binding, and Aggregation. In *DNA Binders and Related Subjects*; Waring, M. J., Chaires, J. B., Eds.; Topics in Current Chemistry; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2005**; Vol. 253, pp 55–76. <https://doi.org/10.1007/b100442>.
- (330) Zhu, C.-Q.; Zhuo, S.-J.; Zheng, H.; Chen, J.-L.; Li, D.-H.; Li, S.-H.; Xu, J.-G. Fluorescence Enhancement Method for the Determination of Nucleic Acids Using Cationic Cyanine as a Fluorescence Probe. *Analyst* **2004**, *129* (3), 254–258. <https://doi.org/10.1039/B313463F>.
- (331) Kovalska, V. B.; Kryvorotenko, D. V.; Balanda, A. O.; Losytskyy, M. Yu.; Tokar, V. P.; Yarmoluk, S. M. Fluorescent Homodimer Styrylcyanines: Synthesis and Spectral-Luminescent Studies in Nucleic Acids and Protein Complexes. *Dyes and Pigments* **2005**, *67* (1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2004.10.007>.
- (332) Akbay, N.; Losytskyy, M. Yu.; Kovalska, V. B.; Balanda, A. O.; Yarmoluk, S. M. The Mechanism of Benzothiazole Styrylcyanine Dyes Binding with DsDNA: Studies by Spectral-Luminescent Methods. *J Fluoresc* **2008**, *18* (1), 139–147. <https://doi.org/10.1007/s10895-007-0252-7>.
- (333) Sigmundová, I.; Zahradník, P.; Loos, D. Synthesis and Study of Novel Benzothiazole Derivatives with Potential Nonlinear Optical Properties. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2007**, *72* (8), 1069–1093. <https://doi.org/10.1135/cccc20071069>.
- (334) Winstead, A. J.; Fleming, N.; Hart, K.; Toney, D. Microwave Synthesis of Quaternary Ammonium Salts. *Molecules* **2008**, *13* (9), 2107–2113. <https://doi.org/10.3390/molecules13092107>.

- (335) Zhang, X. H.; Liu, Q.; Shi, H. J.; Wang, L. Y.; Fu, Y. L.; Wei, X. C.; Yang, L. F. Synthesis, Spectral Properties of Cell-Permeant Dimethine Cyanine Dyes and Their Application as Fluorescent Probes in Living Cell Imaging and Flow Cytometry. *Dyes and Pigments* **2014**, *100*, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.09.011>.
- (336) Brooker, L. G. S.; White, F. L. Studies in the Cyanine Dye Series. X.1 Reactivity of the Methyl Group in Quaternary Salts of 3-Methylisoquinoline. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73* (3), 1094–1097. <https://doi.org/10.1021/ja01147a061>.
- (337) Zhang, X.-H.; Wang, L.-Y.; Nan, Z.-X.; Tan, S.-H.; Zhang, Z.-X. Microwave-Assisted Solvent-Free Synthesis and Spectral Properties of Some Dimethine Cyanine Dyes as Fluorescent Dyes for DNA Detection. *Dyes and Pigments* **2008**, *79* (2), 205–209. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2008.02.010>.
- (338) Shirinian, V. Z.; Shimkin, A. A. Merocyanines: Synthesis and Application. In *Heterocyclic Polymethine Dyes: Synthesis, Properties and Applications*; Streckowski, L., Ed.; Topics in Heterocyclic Chemistry; Springer: Berlin, Heidelberg, **2008**; pp 75–105. https://doi.org/10.1007/7081_2007_110.
- (339) Jia, H.; Lv, Y.; Wang, S.; Sun, D.; Wang, L. Synthesis, Crystal Structures, and Spectral Properties of Double N-Alkylated Dimethine Cyanine Dyes and Their Interactions with Biomolecules and Living Cells. *RSC Adv.* **2014**, *5* (6), 4681–4692. <https://doi.org/10.1039/C4RA10741A>.
- (340) Nielsen, C. B.; Johnsen, M.; Arnbjerg, J.; Pittelkow, M.; McIlroy, S. P.; Ogilby, P. R.; Jørgensen, M. Synthesis and Characterization of Water-Soluble Phenylene–Vinylene-Based Singlet Oxygen Sensitizers for Two-Photon Excitation. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (18), 7065–7079. <https://doi.org/10.1021/jo050507y>.
- (341) Jiang, L.; Zhang, M.; Tang, L.; Weng, Q.; Shen, Y.; Hu, Y.; Sheng, R. Identification of 2-Substituted Benzothiazole Derivatives as Triple-Functional Agents with Potential for AD Therapy. *RSC Adv.* **2016**, *6* (21), 17318–17327. <https://doi.org/10.1039/C5RA25788C>.
- (342) Mishra, A.; Thangamani, A.; Chatterjee, S.; Chipem, F. A. S.; Krishnamoorthy, G. Photoisomerization of Trans-2-[4'-(Dimethylamino)Styryl]Benzothiazole. *Photochemistry and Photobiology* **2013**, *89* (1), 247–252. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01227.x>.
- (343) Hestand, N. J.; Spano, F. C. Expanded Theory of H- and J-Molecular Aggregates: The Effects of Vibronic Coupling and Intermolecular Charge Transfer. *Chem. Rev.* **2018**, *118* (15), 7069–7163. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00581>.
- (344) Dimitriev, O. P.; Zirzmeier, J.; Menon, A.; Slominskii, Y.; Guldi, D. M. Exciton Dynamics in J- and H-Aggregates of a Tricarbocyanine Near-Infrared Dye. *J. Phys. Chem. C* **2021**, *125* (18), 9855–9865. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c11593>.
- (345) Zhai, D.; Xu, W.; Zhang, L.; Chang, Y.-T. The Role of “Disaggregation” in Optical Probe Development. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (8), 2402–2411. <https://doi.org/10.1039/C3CS60368G>.

- (346) Shen, J.-S.; Li, D.-H.; Ruan, Y.-B.; Xu, S.-Y.; Yu, T.; Zhang, H.-W.; Jiang, Y.-B. Supramolecular Aggregation/Disaggregation-Based Molecular Sensing: A Review Focused on Investigations from China. *Luminescence* **2012**, *27* (5), 317–327. <https://doi.org/10.1002/bio.1369>.
- (347) Yang, J.; Dong, C.-C.; Chen, X.-L.; Sun, X.; Wei, J.-Y.; Xiang, J.-F.; Sessler, J. L.; Gong, H.-Y. Excimer Disaggregation Enhanced Emission: A Fluorescence “Turn-On” Approach to Oxoanion Recognition. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141* (11), 4597–4612. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b09021>.
- (348) Li, X.; Jiang, H.; Luo, Z.; Chang, Y.-T.; Zhang, L. Development of a Disaggregation-Induced Emission Probe for the Detection of RecA Inteins from Mycobacterium Tuberculosis. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (58), 9086–9088. <https://doi.org/10.1039/C6CC00439C>.
- (349) Fagnani, D. E.; Meese Jr., M. J.; Abboud, K. A.; Castellano, R. K. Homochiral [2.2]Paracyclophane Self-Assembly Promoted by Transannular Hydrogen Bonding. *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55* (36), 10726–10731. <https://doi.org/10.1002/anie.201605286>.
- (350) Henderson, W. R.; Kumar, A.; Abboud, K. A.; Castellano, R. K. Influence of Amide Connectivity on the Hydrogen-Bond-Directed Self-Assembly of [n.n]Paracyclophanes. *Chemistry – A European Journal* **2020**, *26* (72), 17588–17597. <https://doi.org/10.1002/chem.202003909>.
- (351) Henderson, W. R.; Zhu, Y.; Fagnani, D. E.; Liu, G.; Abboud, K. A.; Castellano, R. K. Self-Assembling [n.n]Paracyclophanes: A Structure–Property Relationship Study. *J. Org. Chem.* **2020**, *85* (2), 1158–1167. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b03120>.
- (352) Mukherjee, A.; Ghosh, S. Circularly Polarized Luminescence from Chiral Supramolecular Polymer and Seeding Effect. *Chemistry – A European Journal* **2020**, *26* (56), 12874–12881. <https://doi.org/10.1002/chem.202002056>.
- (353) Haugland, R. P. *Handbook of Fluorescent Probes and Research Products*, 9th Updated edition.; Molecular Probes, **2002**.
- (354) Tran, D. N.; Zhdanko, A.; Barroso, S.; Nieste, P.; Rahmani, R.; Holan, J.; Hoefnagels, R.; Reniers, P.; Vermoortele, F.; Duguid, S.; Cazanave, L.; Figlus, M.; Muir, C.; Elliott, A.; Zhao, P.; Paden, W.; Diaz, C. H.; Bell, S. J.; Hashimoto, A.; Phadke, A.; Wiles, J. A.; Vogels, I.; Farina, V. Development of a Commercial Process for Odalasvir. *Org. Process Res. Dev.* **2021**. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.1c00237>.
- (355) Fu, Y.; Finney, N. S. Small-Molecule Fluorescent Probes and Their Design. *RSC Adv.* **2018**, *8* (51), 29051–29061. <https://doi.org/10.1039/C8RA02297F>.
- (356) Huang, B.; Bates, M.; Zhuang, X. Super Resolution Fluorescence Microscopy. *Annu Rev Biochem* **2009**, *78*, 993–1016. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.061906.092014>.
- (357) Vangindertael, J.; Camacho, R.; Sempels, W.; Mizuno, H.; Dedecker, P.; Janssen, K. P. F. An Introduction to Optical Super-Resolution Microscopy for the Adventurous Biologist. *Methods Appl. Fluoresc.* **2018**, *6* (2), 022003. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/aaae0c>.

- (358) Shashkova, S.; Leake, M. C. Single-Molecule Fluorescence Microscopy Review: Shedding New Light on Old Problems. *Bioscience Reports* **2017**, *37* (4), BSR20170031. <https://doi.org/10.1042/BSR20170031>.
- (359) van den Wildenberg, S. M. J. L.; Prevo, B.; Peterman, E. J. G. A Brief Introduction to Single-Molecule Fluorescence Methods. In *Single Molecule Analysis: Methods and Protocols*; Peterman, E. J. G., Ed.; Methods in Molecular Biology; Springer: New York, NY, G; pp 93–113. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7271-5_5.
- (360) Hecht, S.; Fréchet, J. M. J. Dendritic Encapsulation of Function: Applying Nature's Site Isolation Principle from Biomimetics to Materials Science. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40* (1), 74–91. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010105\)40:1<74::AID-ANIE74>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010105)40:1<74::AID-ANIE74>3.0.CO;2-C).
- (361) Hong, Y.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Aggregation-Induced Emission. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (11), 5361–5388. <https://doi.org/10.1039/C1CS15113D>.
- (362) Zhai, D.; Agrawalla, B. K.; Eng, P. S. F.; Lee, S.-C.; Xu, W.; Chang, Y.-T. Development of a Fluorescent Sensor for an Illicit Date Rape Drug – GBL. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (55), 6170–6172. <https://doi.org/10.1039/C3CC43153C>.
- (363) Yang, Q.; Xiang, J.; Yang, S.; Zhou, Q.; Li, Q.; Tang, Y.; Xu, G. Verification of Specific G-Quadruplex Structure by Using a Novel Cyanine Dye Supramolecular Assembly: I. Recognizing Mixed G-Quadruplex in Human Telomeres. *Chem. Commun.* **2009**, No. 9, 1103–1105. <https://doi.org/10.1039/B820101C>.
- (364) Colas, K.; Doloczki, S.; Posada Urrutia, M.; Dyrager, C. Prevalent Bioimaging Scaffolds: Synthesis, Photophysical Properties and Applications. *European Journal of Organic Chemistry* **2021**, *2021* (15), 2133–2144. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001658>.
- (365) Lee, L. G.; Chen, C.-H.; Chiu, L. A. Thiazole Orange: A New Dye for Reticulocyte Analysis. *Cytometry* **1986**, *7* (6), 508–517. <https://doi.org/10.1002/cyto.990070603>.
- (366) Yarmoluk, S. M.; Kovalska, V. B.; Volkova, K. D. Optimized Dyes for Protein and Nucleic Acid Detection. In *Advanced Fluorescence Reporters in Chemistry and Biology III: Applications in Sensing and Imaging*; Demchenko, A. P., Ed.; Springer Series on Fluorescence; Springer: Berlin, Heidelberg, **2011**; pp 161–199. https://doi.org/10.1007/978-3-642-18035-4_5.
- (367) Yarmoluk, S.; Kovalska, V.; Losytskyy, M. Symmetric Cyanine Dyes for Detecting Nucleic Acids. *Biotechnic & Histochemistry* **2008**, *83* (3–4), 131–145. <https://doi.org/10.1080/10520290802383684>.
- (368) Guo, L.; Chan, M. S.; Xu, D.; Tam, D. Y.; Bolze, F.; Lo, P. K.; Wong, M. S. Indole-Based Cyanine as a Nuclear RNA-Selective Two-Photon Fluorescent Probe for Live Cell Imaging. *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10* (5), 1171–1175. <https://doi.org/10.1021/cb500927r>.
- (369) Lu, Y.-J.; Deng, Q.; Hu, D.-P.; Wang, Z.-Y.; Huang, B.-H.; Du, Z.-Y.; Fang, Y.-X.; Wong, W.-L.; Zhang, K.; Chow, C.-F. A Molecular Fluorescent Dye for Specific Staining and Imaging of RNA in Live Cells: A Novel Ligand Integration from Classical Thiazole Orange and Styryl

- Compounds. *Chem. Commun.* **2015**, 51 (83), 15241–15244. <https://doi.org/10.1039/C5CC05551B>.
- (370) Gaur, P.; Kumar, A.; Dalal, R.; Bhattacharyya, S.; Ghosh, S. Emergence through Delicate Balance between the Steric Factor and Molecular Orientation: A Highly Bright and Photostable DNA Marker for Real-Time Monitoring of Cell Growth Dynamics. *Chem. Commun.* **2017**, 53 (17), 2571–2574. <https://doi.org/10.1039/C6CC09355H>.
- (371) Feng, R.; Li, L.; Li, B.; Li, J.; Peng, D.; Yu, Y.; Mu, Q.; Zhao, N.; Yu, X.; Wang, Z. A Small-Molecule with a Large Two-Photon Absorption Cross-Section Serves as a Membrane-Permeable Ribonucleic Acid (RNA) Probe for Live Cell Imaging. *New J. Chem.* **2018**, 42 (17), 14325–14331. <https://doi.org/10.1039/C8NJ02425A>.
- (372) Wang, K.-N.; Chao, X.-J.; Liu, B.; Zhou, D.-J.; He, L.; Zheng, X.-H.; Cao, Q.; Tan, C.-P.; Zhang, C.; Mao, Z.-W. Red Fluorescent Probes for Real-Time Imaging of the Cell Cycle by Dynamic Monitoring of the Nucleolus and Chromosome. *Chem. Commun.* **2018**, 54 (21), 2635–2638. <https://doi.org/10.1039/C8CC00256H>.
- (373) Luo, X.; Xue, B.; Feng, G.; Zhang, J.; Lin, B.; Zeng, P.; Li, H.; Yi, H.; Zhang, X.-L.; Zhu, H.; Nie, Z. Lighting up the Native Viral RNA Genome with a Fluorogenic Probe for the Live-Cell Visualization of Virus Infection. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, 141 (13), 5182–5191. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b10265>.
- (374) Cao, C.; Wei, P.; Li, R.; Zhong, Y.; Li, X.; Xue, F.; Shi, Y.; Yi, T. Ribosomal RNA-Selective Light-Up Fluorescent Probe for Rapidly Imaging the Nucleolus in Live Cells. *ACS Sens.* **2019**, 4 (5), 1409–1416. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00464>.
- (375) Sato, Y.; Yajima, S.; Taguchi, A.; Baba, K.; Nakagomi, M.; Aiba, Y.; Nishizawa, S. Trimethine Cyanine Dyes as Deep-Red Fluorescent Indicators with High Selectivity to the Internal Loop of the Bacterial A-Site RNA. *Chem. Commun.* **2019**, 55 (22), 3183–3186. <https://doi.org/10.1039/C9CC00414A>.
- (376) Yang, P.; De Cian, A.; Teulade-Fichou, M.-P.; Mergny, J.-L.; Monchaud, D. Engineering Bisquinolinium/Thiazole Orange Conjugates for Fluorescent Sensing of G-Quadruplex DNA. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, 48 (12), 2188–2191. <https://doi.org/10.1002/anie.200805613>.
- (377) Deiana, M.; Mettra, B.; Martinez-Fernandez, L.; Mazur, L. M.; Pawlik, K.; Andraud, C.; Samoc, M.; Improta, R.; Monnereau, C.; Matczyszyn, K. Specific Recognition of G-Quadruplexes Over Duplex-DNA by a Macromolecular NIR Two-Photon Fluorescent Probe. *J Phys Chem Lett* **2017**, 8 (23), 5915–5920. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.7b02547>.
- (378) Yu, Z.-Y.; Luo, W.-H.; Chen, X.-C.; Chen, S.-B.; Huang, Z.-S.; Tan, J.-H. Efficient and Rational Development of a New Fluorescent Probe Specific for RNA G-Quadruplex Imaging in Cells. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2020**, 324, 128770. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128770>.
- (379) Oshchepkov, A. S.; Reznichenko, O.; Xu, D.; Morozov, B. S.; Granzhan, A.; Kataev, E. A. Dye-Functionalized Phosphate-Binding Macrocycles: From Nucleotide to G-Quadruplex

- Recognition and “Turn-on” Fluorescence Sensing. *Chem. Commun.* **2021**, 57 (81), 10632–10635. <https://doi.org/10.1039/D1CC04096K>.
- (380) Paige, J. S.; Wu, K. Y.; Jaffrey, S. R. RNA Mimics of Green Fluorescent Protein. *Science* **2011**, 333 (6042), 642–646. <https://doi.org/10.1126/science.1207339>.
- (381) Dolgosheina, E. V.; Jeng, S. C. Y.; Panchapakesan, S. S. S.; Cojocaru, R.; Chen, P. S. K.; Wilson, P. D.; Hawkins, N.; Wiggins, P. A.; Unrau, P. J. RNA Mango Aptamer-Fluorophore: A Bright, High-Affinity Complex for RNA Labeling and Tracking. *ACS Chem. Biol.* **2014**, 9 (10), 2412–2420. <https://doi.org/10.1021/cb500499x>.
- (382) Litke, J. L.; You, M.; Jaffrey, S. R. Chapter Fourteen - Developing Fluorogenic Riboswitches for Imaging Metabolite Concentration Dynamics in Bacterial Cells. In *Methods in Enzymology*; Filonov, G. S., Jaffrey, S. R., Eds.; Visualizing RNA Dynamics in the Cell; Academic Press, **2016**; Vol. 572, pp 315–333. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2016.03.021>.
- (383) Song, W.; Filonov, G. S.; Kim, H.; Hirsch, M.; Li, X.; Moon, J. D.; Jaffrey, S. R. Imaging RNA Polymerase III Transcription Using a Photostable RNA-Fluorophore Complex. *Nature Chemical Biology* **2017**, 13 (11), 1187–1194. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2477>.
- (384) Ouellet, J. RNA Fluorescence with Light-Up Aptamers. *Front. Chem.* **2016**, 4. <https://doi.org/10.3389/fchem.2016.00029>.
- (385) Gotrik, M.; Sekhon, G.; Saurabh, S.; Nakamoto, M.; Eisenstein, M.; Soh, H. T. Direct Selection of Fluorescence-Enhancing RNA Aptamers. *Journal of the American Chemical Society* **2018**. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b10724>.
- (386) Neubacher, S.; Hennig, S. RNA Structure and Cellular Applications of Fluorescent Light-Up Aptamers. *Angewandte Chemie International Edition* **2019**, 58 (5), 1266–1279. <https://doi.org/10.1002/anie.201806482>.
- (387) Trachman, R. J.; Demeshkina, N. A.; Lau, M. W. L.; Panchapakesan, S. S. S.; Jeng, S. C. Y.; Unrau, P. J.; Ferré-D'Amaré, A. R. Structural Basis for High-Affinity Fluorophore Binding and Activation by RNA Mango. *Nature Chemical Biology* **2017**, 13 (7), 807–813. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2392>.
- (388) Grabowski, Z. R.; Rotkiewicz, K.; Rettig, W. Structural Changes Accompanying Intramolecular Electron Transfer: Focus on Twisted Intramolecular Charge-Transfer States and Structures. *Chem. Rev.* **2003**, 103 (10), 3899–4032. <https://doi.org/10.1021/cr940745l>.
- (389) Wang, C.; Chi, W.; Qiao, Q.; Tan, D.; Xu, Z.; Liu, X. Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) and Twists beyond TICT: From Mechanisms to Rational Designs of Bright and Sensitive Fluorophores. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50 (22), 12656–12678. <https://doi.org/10.1039/D1CS00239B>.
- (390) Tokar, V. P.; Losytskyy, M. Yu.; Ohulchanskyy, T. Y.; Kryvorotenko, D. V.; Kovalska, V. B.; Balanda, A. O.; Dmytruk, I. M.; Prokopets, V. M.; Yarmoluk, S. M.; Yashchuk, V. M. Styryl Dyes as Two-Photon Excited Fluorescent Probes for DNA Detection and Two-Photon Laser

- Scanning Fluorescence Microscopy of Living Cells. *J Fluoresc* **2010**, *20* (4), 865–872. <https://doi.org/10.1007/s10895-010-0630-4>.
- (391) Thordarson, P. Determining Association Constants from Titration Experiments in Supramolecular Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (3), 1305–1323. <https://doi.org/10.1039/C0CS00062K>.
- (392) Hibbert, D. B.; Thordarson, P. The Death of the Job Plot, Transparency, Open Science and Online Tools, Uncertainty Estimation Methods and Other Developments in Supramolecular Chemistry Data Analysis. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (87), 12792–12805. <https://doi.org/10.1039/C6CC03888C>.
- (393) Mortimer, S. A.; Weeks, K. M. A Fast-Acting Reagent for Accurate Analysis of RNA Secondary and Tertiary Structure by SHAPE Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (14), 4144–4145. <https://doi.org/10.1021/ja0704028>.
- (394) Busan, S.; Weidmann, C. A.; Sengupta, A.; Weeks, K. M. Guidelines for SHAPE Reagent Choice and Detection Strategy for RNA Structure Probing Studies. *Biochemistry* **2019**, *58* (23), 2655–2664. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b01218>.
- (395) McKeague, M.; McConnell, E. M.; Cruz-Toledo, J.; Bernard, E. D.; Pach, A.; Mastronardi, E.; Zhang, X.; Beking, M.; Francis, T.; Giamberardino, A.; Cabecinha, A.; Ruscito, A.; Aranda-Rodriguez, R.; Dumontier, M.; DeRosa, M. C. Analysis of In Vitro Aptamer Selection Parameters. *J Mol Evol* **2015**, *81* (5), 150–161. <https://doi.org/10.1007/s00239-015-9708-6>.
- (396) Stoltenburg, R.; Reinemann, C.; Strehlitz, B. SELEX—A (r)Evolutionary Method to Generate High-Affinity Nucleic Acid Ligands. *Biomolecular Engineering* **2007**, *24* (4), 381–403. <https://doi.org/10.1016/j.bioeng.2007.06.001>.
- (397) Komarova, N.; Kuznetsov, A. Inside the Black Box: What Makes SELEX Better? *Molecules* **2019**, *24* (19). <https://doi.org/10.3390/molecules24193598>.
- (398) Mi, J.; Liu, Y.; Rabbani, Z. N.; Yang, Z.; Urban, J. H.; Sullenger, B. A.; Clary, B. M. In Vivo Selection of Tumor-Targeting RNA Motifs. *Nat Chem Biol* **2010**, *6* (1), 22–24. <https://doi.org/10.1038/nchembio.277>.
- (399) Michaud, M.; Jourdan, E.; Villet, A.; Ravel, A.; Grosset, C.; Peyrin, E. A DNA Aptamer as a New Target-Specific Chiral Selector for HPLC. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (28), 8672–8679. <https://doi.org/10.1021/ja034483t>.
- (400) Farokhzad, O. C.; Jon, S.; Khademhosseini, A.; Tran, T.-N. T.; Lavan, D. A.; Langer, R. Nanoparticle-Aptamer Bioconjugates: A New Approach for Targeting Prostate Cancer Cells. *Cancer Res.* **2004**, *64* (21), 7668–7672. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-2550>.
- (401) Tombelli, S.; Minunni, M.; Mascini, M. Analytical Applications of Aptamers. *Biosensors and Bioelectronics* **2005**, *20* (12), 2424–2434. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2004.11.006>.
- (402) Song, K.-M.; Lee, S.; Ban, C. Aptamers and Their Biological Applications. *Sensors* **2012**, *12* (1), 612–631. <https://doi.org/10.3390/s120100612>.

- (403) Zou, X.; Wu, J.; Gu, J.; Shen, L.; Mao, L. Application of Aptamers in Virus Detection and Antiviral Therapy. *Frontiers in Microbiology* **2019**, *10*, 1462. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01462>.
- (404) Zhang, Y.; Lai, B. S.; Juhas, M. Recent Advances in Aptamer Discovery and Applications. *Molecules* **2019**, *24* (5), 941. <https://doi.org/10.3390/molecules24050941>.
- (405) Swetha, P.; Fan, Z.; Wang, F.; Jiang, J.-H. Genetically Encoded Light-up RNA Aptamers and Their Applications for Imaging and Biosensing. *J. Mater. Chem. B* **2020**, *8* (16), 3382–3392. <https://doi.org/10.1039/C9TB02668A>.
- (406) Ni, S.; Zhuo, Z.; Pan, Y.; Yu, Y.; Li, F.; Liu, J.; Wang, L.; Wu, X.; Li, D.; Wan, Y.; Zhang, L.; Yang, Z.; Zhang, B.-T.; Lu, A.; Zhang, G. Recent Progress in Aptamer Discoveries and Modifications for Therapeutic Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13* (8), 9500–9519. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c05750>.
- (407) Weigand, J. E.; Sanchez, M.; Gunnesch, E.-B.; Zeiher, S.; Schroeder, R.; Suess, B. Screening for Engineered Neomycin Riboswitches That Control Translation Initiation. *RNA* **2007**, *14* (1), 89–97. <https://doi.org/10.1261/rna.772408>.
- (408) Weigand, J. E.; Schmidtke, S. R.; Will, T. J.; Duchardt-Ferner, E.; Hammann, C.; Wöhnert, J.; Suess, B. Mechanistic Insights into an Engineered Riboswitch: A Switching Element Which Confers Riboswitch Activity. *Nucleic Acids Research* **2011**, *39* (8), 3363–3372. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq946>.
- (409) Stoltenburg, R.; Reinemann, C.; Strehlitz, B. FluMag-SELEX as an Advantageous Method for DNA Aptamer Selection. *Anal Bioanal Chem* **2005**, *383* (1), 83–91. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-3388-9>.
- (410) Boger, D. L.; Palanki, M. S. S. Functional Analogs of CC-1065 and the Duocarmycins Incorporating the 9a-(Chloromethyl)-1,2,9,9a-Tetrahydrocyclopropa[c]Benz[e]Indol-4-One (C2BI) Alkylation Subunit: Synthesis and Preliminary DNA Alkylation Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114* (24), 9318–9327. <https://doi.org/10.1021/ja00050a012>.
- (411) Mattson, R. J.; Pham, K. M.; Leuck, D. J.; Cowen, K. A. An Improved Method for Reductive Alkylation of Amines Using Titanium(IV) Isopropoxide and Sodium Cyanoborohydride. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (8), 2552–2554. <https://doi.org/10.1021/jo00295a060>.
- (412) Kostylev, M.; Otwell, A. E.; Richardson, R. E.; Suzuki, Y. Cloning Should Be Simple: Escherichia Coli DH5 α -Mediated Assembly of Multiple DNA Fragments with Short End Homologies. *PLoS One* **2015**, *10* (9), e0137466. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137466>.
- (413) Nguyen Quang, N.; Perret, G.; Ducongé, F. Applications of High-Throughput Sequencing for In Vitro Selection and Characterization of Aptamers. *Pharmaceuticals* **2016**, *9* (4), 76. <https://doi.org/10.3390/ph9040076>.
- (414) Sergeeva, E. V.; Shuklov, I. A.; Antonov, D. Yu.; Vorontsova, N. V.; Vorontsov, E. V.; Starikova, Z. A.; Il'in, M. M.; Rozenberg, V. I. Resolution Approaches to Enantiomers of 4-

- Formyl[2.2]Paracyclophane. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21* (8), 1004–1010. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2010.05.033>.
- (415) Sugiyama, S.; Aoki, Y.; Ishii, K. Enantioselective Addition of Diethylzinc to Aldehydes Catalyzed by Monosubstituted [2.2]Paracyclophane-Based N,O-Ligands: Remarkable Cooperative Effects of Planar and Central Chiralities. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17* (20), 2847–2856. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2006.10.040>.
- (416) Friedmann, C. J.; Ay, S.; Bräse, S. Improved Synthesis of Enantiopure 4-Hydroxy[2.2]Paracyclophane. *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (13), 4612–4614. <https://doi.org/10.1021/jo100468s>.
- (417) Holec, J.; Rybáček, J.; Vacek, J.; Karras, M.; Bednárová, L.; Buděšínský, M.; Slušná, M.; Holý, P.; Schmidt, B.; Stará, I. G.; Starý, I. Chirality-Controlled Self-Assembly of Amphiphilic Dibenzo[6]Helicenes into Langmuir–Blodgett Thin Films. *Chemistry – A European Journal* **2019**, *25* (49), 11494–11502. <https://doi.org/10.1002/chem.201901695>.
- (418) Nauth, A. M.; Otto, N.; Opatz, T. α -Cyanation of Aromatic Tertiary Amines Using Ferricyanide as a Non-Toxic Cyanide Source. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2015**, *357* (16–17), 3424–3428. <https://doi.org/10.1002/adsc.201500698>.
- (419) Parmar, R.; Coles, M.; Hitchcock, P.; Rowlands, G. Towards a Flexible Strategy for the Synthesis of Enantiomerically Pure [2.2]Paracyclophane Derivatives: The Chemistry of 4-Tolylsulfinyl[2.2]Paracyclophane. *Synthesis* **2010**, *2010* (24), 4177–4187. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1258286>.
- (420) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Li, X.; Caricato, M.; Marenich, A. V.; Bloino, J.; Janesko, B. G.; Gomperts, R.; Mennucci, B.; Hratchian, H. P.; Ortiz, J. V.; Izmaylov, A. F.; Sonnenberg, J. L.; Williams; Ding, F.; Lipparini, F.; Egidi, F.; Goings, J.; Peng, B.; Petrone, A.; Henderson, T.; Ranasinghe, D.; Zakrzewski, V. G.; Gao, J.; Rega, N.; Zheng, G.; Liang, W.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Throssell, K.; Montgomery Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J. J.; Brothers, E. N.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T. A.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Millam, J. M.; Klene, M.; Adamo, C.; Cammi, R.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Fox, D. J. *Gaussian 16 Rev. C.01*; Wallingford, CT, **2016**.
- (421) Cammi, R.; Mennucci, B. Linear Response Theory for the Polarizable Continuum Model. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110* (20), 9877–9886. <https://doi.org/10.1063/1.478861>.
- (422) Caricato, M.; Mennucci, B.; Tomasi, J.; Ingrosso, F.; Cammi, R.; Corni, S.; Scalmani, G. Formation and Relaxation of Excited States in Solution: A New Time Dependent Polarizable Continuum Model Based on Time Dependent Density Functional Theory. *J. Chem. Phys.* **2006**, *124* (12), 124520. <https://doi.org/10.1063/1.2183309>.
- (423) Becke, A. D. Density-functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (7), 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>.

- (424) Chai, J.-D.; Head-Gordon, M. Long-Range Corrected Hybrid Density Functionals with Damped Atom–Atom Dispersion Corrections. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10* (44), 6615–6620. <https://doi.org/10.1039/B810189B>.
- (425) Le Bahers, T.; Adamo, C.; Ciofini, I. A Qualitative Index of Spatial Extent in Charge-Transfer Excitations. *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7* (8), 2498–2506. <https://doi.org/10.1021/ct200308m>.
- (426) Ishikawa, T.; Mizuta, T.; Hagiwara, K.; Aikawa, T.; Kudo, T.; Saito, S. Catalytic Alkynylation of Ketones and Aldehydes Using Quaternary Ammonium Hydroxide Base. *J Org Chem* **2003**, *68* (9), 3702–3705. <https://doi.org/10.1021/jo026592g>.
- (427) Hsu, T.-L.; Hanson, S. R.; Kishikawa, K.; Wang, S.-K.; Sawa, M.; Wong, C.-H. Alkynyl Sugar Analogs for the Labeling and Visualization of Glycoconjugates in Cells. *PNAS* **2007**, *104* (8), 2614–2619. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611307104>.

Résumé :

De par leur implication dans de nombreux processus de régulation cellulaires, les ARN sont désormais considérés comme d'importantes cibles thérapeutiques. La meilleure compréhension de ces biomolécules, de leur fonctionnement et de leurs interactions pourraient mener à de nouvelles applications biomédicales. Dans cet objectif, il apparaît donc essentiel de pouvoir cibler les ARN avec de petites molécules afin de pouvoir mieux connaître, identifier et éventuellement moduler leurs actions. Plusieurs classes de molécules sont connues pour leur capacité à se lier aux acides nucléiques avec de bonnes affinités, par exemple, les composés chargés *via* des interactions électrostatiques ou les molécules aromatiques par des liaisons π . De nombreux ligands ont été synthétisés et décrits comme présentant de bonnes affinités pour différents ARN. Mais les modes d'interaction qu'ils adoptent ne sont généralement pas sources de sélectivité et ne permettent pas de fortement discriminer l'ARN par rapport à l'ADN. Pour pallier à ce déficit de sélectivité, plusieurs équipes ont utilisé des motifs aromatiques non plans afin de moduler les modes d'interaction de petites molécules avec l'ARN. La capacité des molécules aromatiques non planes à s'associer sélectivement à des structures secondaires des ARN soulignent l'importance de l'arrangement tridimensionnel de ces interactions. Toutefois, malgré ces efforts, il n'existe pas, à ce jour, de règles clairement établies afin d'élaborer rationnellement des ligands sélectifs et spécifiques de structures tridimensionnelles de l'ARN choisies. Notre équipe s'intéresse à l'exploration de nouveaux espaces chimiques pour la conception et la synthèse de ligands d'ARN. Sur la base des résultats décrits ci-dessus, nous avons envisagé d'utiliser un motif aromatique non plan, le [2.2]paracyclophane (pCp), comme plateforme pour développer de nouveaux ligands de structures tridimensionnelles de l'ARN. Le pCp devrait pouvoir former des liaisons π avec les bases non appariées des acides nucléiques via ses cycles benzéniques, sans pour autant être un agent intercalant grâce à son architecture stériquement encombrée. Cette molécule particulière possède également des propriétés de fluorescence potentiellement intéressantes à exploiter pour suivre ses interactions avec l'ARN. Toutefois, l'accès à des pCp polysubstitués est compliqué et l'éventail de modifications décrites a encore de nombreuses lacunes en terme de régio-, diastéréo- et énantiosélectivité. Cette thèse étudie ainsi l'utilisation du motif pCp pour la conception de molécules permettant des interactions sélectives avec des ARN. Après un chapitre bibliographique, un second chapitre présente l'élaboration de stratégies de synthèse régio- et énantiosélective permettant d'accéder à des [2.2]paracyclophanes polysubstitués pouvant jouer le rôle d'intermédiaires clés dans la préparation de molécules structurellement plus complexes. Le troisième chapitre est ensuite centré sur

la synthèse de fluorophores dérivés du pCp et l'analyse de leurs propriétés optiques. Enfin, dans le quatrième chapitre de ce manuscrit, les interactions de différents dérivés du [2.2]paracyclophane avec des ARN sont étudiées par spectroscopie de fluorescence et *via* la méthode SELEX.

Mots clé : ligands d'ARN, [2.2]paracyclophane, chiralité, tridimensionnalité, fluorescence, SELEX

Summary :

Due to their involvement in many cellular regulatory processes, RNAs are nowadays considered important therapeutic targets. A better understanding of these biomolecules, their functions and their interactions could lead to new biomedical applications. For this purpose, it therefore appears essential to be able to target RNAs with small molecules in order to be able to better understand, identify and possibly modulate their actions. Several classes of molecules are known for their ability to bind nucleic acids with good affinities, for example, compounds charged *via* electrostatic interactions or aromatic molecules *via* π bonds. Many ligands have been described as having good affinities for different RNAs. But the modes of interaction they adopt are generally not a source of selectivity and do not strongly discriminate between RNA and DNA. To overcome this selectivity deficit, several teams have used nonplanar aromatic motifs to modulate the modes of interaction of small molecules with RNA. The ability of nonplanar aromatic molecules to selectively associate with RNA secondary structures highlights the importance of the three-dimensional arrangement of these interactions. However, to date, there are no clearly established rules for the rational design of ligands that are selective and specific for the three-dimensional RNA structures chosen. Our team is interested in exploring new chemical spaces for the design and synthesis of RNA ligands. Based on the results described above, we considered using a nonplanar aromatic motif, [2.2] paracyclophane (pCp), as a platform to develop new ligands of three-dimensional RNA structures. The pCp should be able to form π bonds with the unpaired bases of the nucleic acids *via* its benzene rings, without however being an intercalating agent thanks to its sterically hindered architecture. This peculiar molecule also has potentially interesting fluorescence properties to exploit to monitor its interactions with RNA. However, access to polysubstituted pCps is complicated and the range of modifications described still have many shortcomings in terms of regio-, diastereo- and enantioselectivity. This thesis thus studies the use of the pCp motif for the design of molecules allowing selective interactions with RNAs. After a bibliographic chapter, a second chapter presents the development of regio- and enantioselective synthesis strategies allowing access to [2.2] polysubstituted paracyclophanes that can play the role of key intermediates in the preparation of structurally more complex molecules. The third chapter then focuses on the synthesis of fluorophores derived from pCp and the analysis of their optical properties. Finally, in the fourth chapter of this manuscript, the interactions of different derivatives of [2.2] paracyclophane with RNAs are studied by fluorescence spectroscopy and *via* the SELEX method.

Keywords : RNA binders, [2.2]paracyclophane, chirality, tridimensionality, fluorescence, SELEX