



HAL
open science

Synthèse de nucléolipides oléogélifiants : conception de nanosystèmes innovants pour le traitement des intoxications à l'ypérite

Arthur Klufts-Edel

► **To cite this version:**

Arthur Klufts-Edel. Synthèse de nucléolipides oléogélifiants : conception de nanosystèmes innovants pour le traitement des intoxications à l'ypérite. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2022. Français. NNT : 2022BORD0280 . tel-04769804

HAL Id: tel-04769804

<https://theses.hal.science/tel-04769804v1>

Submitted on 6 Nov 2024

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES CHIMIQUES
SPÉCIALITÉ CHIMIE ORGANIQUE

Par Arthur KLUFTS-EDEL

**SYNTHÈSE DE NUCLEOLIPIDES OLEOGELIFIANTS :
CONCEPTION DE NANOSYSTEMES INNOVANTS POUR LE
TRAITEMENT DES INTOXICATIONS A L'YPERITE**

Sous la direction de : Sylvie Crauste-Manciet et Valérie Desvergnès

Soutenue le 24 octobre 2022

Membres du jury :

M. Thierry DOUKI,
M. Yves GENISSON,
Mme Emilie GENIN,
M. Loïc STEFAN,
M. Christophe PIERARD,
Mme Sylvie CRAUSTE-MANCIET,
Mme Valérie DESVERGNES,

Directeur de Recherche, CEA de Grenoble
Directeur de Recherche, Université de Toulouse
Maître de conférences, Université de Bordeaux
Chargé de Recherche, Université de Lorraine
Pharmacien en chef, IRBA
PU-PH, Université de Bordeaux
Chargée de Recherche, Université de Bordeaux

Rapporteur, Président du jury
Rapporteur
Examineur
Examineur
Invité
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à témoigner toute ma reconnaissance au **Professeur Yves Génisson** et au **Docteur Thierry Douki** pour m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse. J'adresse toute ma gratitude aux examinateurs, les **Docteurs Emilie Genin** et **Loïc Stefan**. Je tiens également à remercier les membres de mon comité de suivi de thèse dont le **Docteur Philippe Hermange** avec une attention particulière pour le **Docteur Emilie Genin** qui aura assisté à mon suivi de mi-thèse et à ma soutenance et dont les conseils et discussions m'auront beaucoup apporté.

Ces travaux ont pu être mis en œuvre grâce au soutien financier de l'Agence de l'Innovation de Défense (Ministère des Armées) qui a permis d'établir de étroites collaborations entre plusieurs organismes sur un projet holistique. Je remercie par la même occasion le **Professeur Philippe Barthélémy** pour m'avoir permis d'effectuer ces travaux de recherche au sein d'une unité pluridisciplinaire. Ses conseils et questions lors des présentations ont toujours été d'une aide précieuse.

Cette thèse n'aurait jamais pu être réalisée sans l'aide et le soutien du **Pharmacien en Chef (colonel) Christophe Piérard**, du **Docteur Valérie Desvergnès** et du **Professeur Sylvie Crauste-Manciet**, que je ne remercierai jamais assez pour leurs disponibilités et le partage de leurs connaissances. Travailler ces trois années à leurs côtés a été un réel plaisir. Tout en m'orientant, vous m'avez volontairement laissé une autonomie formatrice qui m'a permis de gagner en expérience et de monter en compétences sur le sujet.

J'adresse mes remerciements les plus distingués au **Pharmacien en Chef (colonel) Christophe Piérard**, Chef de l'unité Vésicants et tuteur AID sur ce projet. Le partage de vos connaissances et votre sympathie ont permis des échanges constructifs et dans la bonne humeur. Tout au long de ces trois années, vous avez su vous rendre disponible. Votre minutie et votre redoutable efficacité, notamment illustrées par vos corrections « millimétriques », ont toujours été indispensables.

Je remercie particulièrement le **Docteur Valérie Desvergnès**, Directrice de thèse, pour sa grande implication qui aura été très enrichissante tant sur le plan scientifique qu'humain. Forte de ton expérience, tu m'as rapidement accordé ta confiance en me laissant libre et autonome au laboratoire. De plus, tu as toujours fait passer la recherche en priorité et notre passion commune pour la paillasse m'a permis d'apprendre beaucoup à tes côtés. Ta grande disponibilité et ton aide précieuse ont fait avancer le projet avec efficacité et l'ont ouvert à d'autres perspectives. Au-delà de la pratique, ton implication sur les rendus et les oraux ont été d'une grande aide. Par ailleurs, ta vision de la chimie m'a beaucoup inspirée et nos convictions partagées m'ont grandement aidé à définir mon projet professionnel. Tu as su m'aiguiller à plusieurs reprises avec beaucoup de bienveillance. Je te souhaite

une kyrielle de bons résultats et de belles molécules « vertes » pour ton futur ! Je remercie également **Frédéric Robert** pour son aide précieuse sur la mise en page du manuscrit.

Un grand merci au **Professeur Sylvie Crauste-Manciet**, Directrice de thèse, qui malgré son emploi du temps de « ministre » a toujours su se rendre disponible pour faire avancer le projet. Grâce à vos connaissances, j'ai pu m'ouvrir et me former à la formulation, discipline inconnue pour moi jusqu'ici. Nos réunions de projets, lors desquelles chimie et formulation faisaient deux et finissaient par se rejoindre, auront été enrichissantes et amusantes. Mon seul regret aura été de ne pas avoir pu goûter au fameux « tue-mouches » ... Je vous souhaite tout le meilleur dans vos futures fonctions à Angers.

Ces travaux ont notamment été orientés grâce à l'expertise du **Docteur Antoine Loquet** en RMN du solide et du **Docteur Brice Kauffmann** en DRX. Je vous remercie pour votre temps et nos nombreuses réunions qui ont permis d'éclaircir plusieurs problèmes. Grâce à vos connaissances et vos expériences, nous avons pu identifier les mécanismes derrière la gélification, ce qui nous a mis sur la voie d'un potentiel rationnel structural.

Je tiens également à remercier le **Docteur Fanny Caffin**, Responsable scientifique du projet NEOMAY à l'IRBA, dont les travaux essentiels à l'avancée du projet auront toujours été effectués avec efficacité et rapportés de manière claire et concise. Vous avez également su vous adapter à nos demandes et à l'attente de nos résultats, rendant d'autant plus agréable notre collaboration.

J'adresse également mes remerciements au **Docteur Muriel Cario**, qui a non seulement accepté d'évaluer la cytotoxicité de composés clés, mais qui nous aura également fourni des résultats déterminants dans le cadre du brevet.

Je remercie également les membres du BIC et plus particulièrement le **Docteur Etienne Gontier**, **Sabrina Lacomme** et **Mélina Petrel** pour leur aide et le partage de leurs connaissances en microscopie électronique à transmission, technique que j'ai « apprivoisé » après quelques séances...

Je remercie aussi toute l'équipe du **Professeur Stéphane Quideau** pour leur don généreux de SIBX ainsi que les équipes des **Professeurs Jean Guillon** et **Isabelle Bestel** pour leur aide et leur don de réactifs.

Au-delà des collaborations que ce projet a permis, j'ai eu la chance de faire de merveilleuses rencontres au sein de l'équipe ChemBioPharm.

Bérangère Dessane, mets bien tes lunettes Mamie Héritoès parce que je ne vais pas me répéter. J'aurais pu faire une page à résumer la centaine de prénoms que tu auras eu durant ces trois années mais tout le monde aurait cru que je remercie la France entière... J'ai donc décidé de te proposer des alternatives proches en te laissant le choix : Bérangèle, Bérangine ou encore mon petit préféré Béatrice. Quoiqu'il en soit, il est évident qu'au-delà de la difficulté de la formulation, ces trois années

n'auraient pas été les mêmes sans toi. En effet, j'ai appris le langage « oiseau » LV3, mais aussi à me faire une place entre le bruit des mouches et celui des papiers qui tombent. Alors merci pour ta mi-présence bien suffisante et ta mi-absence bien nécessaire. Je te souhaite un bel envol migratoire pour Lyon. Prend bien soin d'**Isidore**, dont je te laisse la garde avec une notice d'explication.

Anthony Cunha de la Casa de Papel, petite pépite du laboratoire, ta bonne humeur contagieuse et nos moments de rires me manqueront. Il est difficile de résumer ces trois années à tes côtés en quelques lignes mais une expression que tu connais trouve toute sa place ici : « un catalyseur de la connerie ». Toujours complices dans nos blagues et nos folies, nous aurons effectivement été de « vrais » jumeaux et cela au-delà du physique, puisque la question ne se pose évidemment pas. Plus sérieusement, ta capacité innée à rassembler les gens par ton humour et ta sensibilité nous auront permis de nombreux moments de joie au laboratoire comme à l'extérieur. J'espère que tu trouveras un poste qui te plaira et qui ne sera pas trop loin d'**Alexandre** (qui semble partager la même folie que toi) afin que tu puisses le rejoindre avec ta trottinette « Tut tut ».

Yannick Mousli mein klein Spountz, ta présence au laboratoire aura toujours été un plaisir. Très vite à l'aise à tes côtés, tu sais rendre les dégoisements agréables et mirifiques par ton riche vocabulaire et tes conseils objectifs. A chaque jour un nouveau mot : grâce à toi j'ai doublé mon vocabulaire en quelques mois ! Je ne mentionnerai pas tes expressions dont je fais toujours la liste ainsi que nos conversations en allemand niveau A2. En bon chimiste qui se respecte, j'ai eu la chance de goûter à tes doux élixirs maisons. Je remercie également **Jérémie** pour son écoute toujours attentive et sa profonde gentillesse. J'espère vous revoir très vite avec la bague au doigt...

Alexandra Gaubert, compagnon de Zéta, très attentionnée et généreuse, ta présence au laboratoire aura toujours été chaleureuse. La petite lumière venant de ton bureau peu importe l'heure, j'ai longtemps cru que tu cachais une maison quelque part dans ChemBioPharm. Après une enquête acharnée, j'en suis arrivé à la conclusion que tu devais juste travailler, drôle d'idée... J'ai rarement commencé une journée sans te voir et nos discussions matinales, à peine réveillés, ont dû m'éviter bon nombre d'accidents au laboratoire. Bien évidemment, je te remercie pour le partage de tes connaissances en rhéologie et en microscopie électronique à transmission. J'espère que tu continueras à voyager à travers le monde et que nos chemins se recroiseront. Si ce n'est pas en Ouzbékistan, ce sera au petit Québec, sinon je ne pourrai jamais commander la fameuse « Grande O'berge ».

Patricia Korczak ou Paty-Patou, tu auras été le petit rayon de soleil du laboratoire et évidemment la « responsable tableau ». Garde ton sourire communicatif. Je te souhaite un avenir radieux aux côtés de **Medhi**.

Julien Verget, blagueur et chanteur dans l'âme, merci pour ces fous rires et ces blagues à répétition. J'ai souvent eu l'impression d'écouter les grosses têtes de RTL en entendant ta voix de l'autre bout du laboratoire. J'espère que tu deviendras un jour Technicien de classe exceptionnelle au sein de CheumBioPharm. Plein de bonheur à toi et à ta petite famille.

Remerciements

Je tiens à rendre hommage au **Docteur Laurent Latxague** dont le sourire restera longtemps gravé à ChemBioPharm. Nos discussions sur la cuisine végétarienne et vos blagues me manqueront longuement.

Je remercie également tous les membres de ChemBioPharm qui ont participé de près ou de loin au projet. **Ibra** (Chef), ta soif d'apprendre et ton efficacité ont rendu nos échanges passionnants et je n'aurai pu espérer un stagiaire aussi incroyable que toi. **Cyprien** (Cypricien), futur médecin que je n'irai pas consulter, ta bonne humeur et ta sociabilité ont toujours été appréciables. **Hélène** (QDB), je voulais te remer... Sacré Pereirium. **Farrah** (Fajitas), merci pour ta politesse et ta bienveillance à mon égard... **Pauline** et ta bonne humeur légendaire, j'espère que tu t'épanouis dans ta vie de maman. Je remercie aussi **Sébastien**, toujours d'attaque pour discuter autour d'un verre d'eau et **Anceline** pour ses nombreux travaux exploratoires. J'en profite pour remercier tous les autres membres de l'équipe et de l'unité que j'ai eu la chance de côtoyer : **Professeur Tina Kauss, Docteur Guillaume Bouguéon, Mathias Brouillard, Agnès Récart, Docteur Jeanne Leblond-Chain, Brune Vialet, Faith, Julie, Henri, Pauline, Docteur Clémentine Aubry, Jacques, Natasha Perebaskine, Docteur Bruno Aliès, Malika Vloeberghs**, ainsi que les membres de l'équipe Développement Durable à savoir les **Docteurs Arnaud Gissot, Isabelle Lost, Anaïs Le Rhun, Laurent Azéma** et **Anne Bourdoncle**, en espérant que leurs efforts vont contribuer au début d'une transition.

Je tiens à remercier le **Professeur Philippe Compain** chez qui j'ai effectué mon stage de Master 2, à l'origine de ma mise en relation avec le **Docteur Valérie Desvergnès**. J'ai une attention particulière pour le **Docteur Nicolas Kern**, chimiste aux connaissances infinies avec lequel j'ai eu la chance de travailler et qui m'aura beaucoup appris.

En dehors des rencontres dans le cadre professionnel, j'ai eu la chance d'être entouré par plusieurs personnes : **Justine Poinsu**, connue pour ta sobriété légendaire, **Mostafa Badreldin**, je voulais te dire quelque chose mais ça peut attendre demain, **Francis Feugas**, ou Roodsney le roi de l'haltère, je te souhaite une grande réussite dans ta reconversion. Je remercie **Simon Collanges**, grand maître que j'ai eu la chance de rencontrer avec son acolyte **Roxane Josselin**. **Nathan Watteau**, sacré personnage, merci pour nos longues discussions toujours autour d'un barbecue de panets. Je remercie également **Eloïse, Ewen, Hugo, Léa, Louis, Lucille** et **Vaïana** (Léopoldine).

Je tiens également à remercier les « CREPAQueurs » et leurs compagnons : **Virginie, Alexandre, Charlotte, Edouard** et **Quentin** pour leur bonne humeur et nos moments de rires. J'en profite également pour remercier **Fred, Ben** et **Gwen**.

J'ai également une pensée envers mes amis en commençant par **Elias Ezzerrar**. On ne se sera pas beaucoup vu pendant cette période mais toi comme moi on sait. J'espère que nous revivrons des fous

rires en se baladant dans les rues de Colmar et que nous ferons des rencontres improbables. **Samir Lazzali**, belle rencontre de la prépa, j'espère que nous nous reverrons vite.

J'adresse mes remerciements les plus sincères aux **SZ** à savoir **Ziyed Abbadi**, malgré les nombreuses appréhensions procurées par ton fameux « j'ai une idée » ; **Alexandre Mangwa**, dont je n'ai que bruitages, grimaces, cris et onomatopées qui me viennent à l'esprit mais à chaque fois que tu débarques avec tes triangles, je sais que la suite ne sera que galéjade ; **Marek Dovicik**, le traqueur de triangles, tu m'auras donné plusieurs fous rires grâce à son sens de l'observation unique (toujours avoir un Marek avec soi, le bénéfice par définition) ; **Quentin Tizon**, dont les nombreuses blagues partagées, rires et confessions resteront gravés. Petite mention pour le sixième, **Mathieu G-ecpm**, à quand la fricadelle ?

Je remercie également les deux petites « doctoreuses » **Chloë Bonenfant** et **Dan Louvel**. **Valentine Béguin** et **Tiffany Feder**, merci pour votre folie et les événements organisés à plusieurs reprises permettant de revoir tout le monde. Merci à **Antoine Combes**, habile et toujours le mot pour rire, **Kim Gaudin** et **Lazare Saladin** pour nos convictions communes et enfin **Nina Morlet**, pour ta grandeur.

Je tiens à remercier **Maëlys Bonnet** et **Julien Sassi**, membres de la communauté de l'anneau, qui sont les premiers à m'offrir une tisane verveine bien réconfortante.

J'adresse mes plus profonds sentiments à **Clara Legallais-Moha** alias le lumbagosaure, grand pilier de cette aventure, qui continue à me supporter et à me rendre heureux. Je sais que tu attendais ce moment depuis longtemps, alors à nous d'aller explorer de nouveaux horizons. Tu m'as permis d'ouvrir les yeux et d'évoluer. Je suis fier de vivre à tes côtés et de la personne que tu es devenue. Essaie juste de moins faire le dos rond pour tes prochains voyages.

J'adresse également mes remerciements à la famille de Clara Legallais-Moha à savoir **Christine** pour votre gentillesse, **Françoise**, **Pascale** et **Huguette** toujours rayonnantes. Je remercie aussi **Laurent**, **Karen**, **William**, **Carine**, **Lili** et **Nono** pour les nombreuses soirées de « code names ».

Enfin, j'ai une pensée toute particulière pour ma famille. Je remercie mon papa **Philippe** et **Valérie** pour leur soutien et leur présence, mes frères **Eliott** et **Robin** pour nos moments de complicité ainsi que ma mamie **Marianne** pour sa force. J'ai également une pensée émue pour mon papy **Bernard**.

Sylvie, ma maman et **Jean-Christophe**, sans qui je ne serai sûrement pas arrivé jusqu'ici, je vous serai éternellement reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi. Vous m'avez apporté la confiance nécessaire et avez toujours été présents quand il le fallait. S'il y a bien deux choses que je

Remerciements

retiens et que j'applique grâce à vous, c'est que l'on est obligé de rien et qu'il faut agir pour être fier de soi. Un grand merci pour toutes les valeurs que vous m'avez inculquées et qui font en grande partie la personne que je suis devenu.

Ma sœur, **Juliane**, quelques mots seront plus simples qu'un long discours. Même si je n'ai pas été très présent jusqu'ici, je suis extrêmement fier de la femme que tu deviens. J'espère que tu t'épanouiras dans ta vie étudiante et que tu garderas tes convictions bien ancrées. N'arrête pas le judo si tu peux ou alors balade toi en kimono. S'il m'arrive une bricole, je pourrai dire que j'appelle ma petite sœur qui est ceinture noire.

Enfin, mes grands-parents **Angèle** et **Gérard**, j'éprouve envers vous une admiration hors du commun. Vous avez toujours été des modèles pour moi.

Je vous remercie profondément pour votre présence, votre amour et votre soutien sans faille.

TABLE DES ABRÉVIATIONS

Ac : acétyl

ADN : acide désoxyribonucléique

AID : Agence de l'Innovation de la Défense

ALS : *Aromatic-Linker-Steroids*

ANSM : Agence Nationale de la Sécurité du médicament et des produits de santé

AP2C : appareil portatif de contrôle de contamination

AP4C : appareil portatif de contrôle de contamination à 4 canaux

ARN : acide ribonucléique

ARNA : Acides Nucléiques : Régulations Naturelles et Artificielles

ARNm : acide ribonucléique messenger

ATP : Adénosine TriPhosphate

BAL : *British Anti-Lewisite*

Boc : *tert*-butoxycarbonate

Bn : benzyle

BUS : bain à ultrasons

CAB : 4-(2-anthryloxy)butanoate de cholestéryle

CBMN : Institut de Chimie et Biologie des Membranes et des Nano-objets

CCDC : The Cambridge Crystallographic Data Centre

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CDI : carbonyldiimidazole

CEA : Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Renouvelables

CEES : sulfure de 2-chloroéthyle éther

CEESO : sulfoxyde de 2-chloroéthyle éther

CIAC : Convention d'Interdiction des Armes Chimiques

C_{mg} : concentration minimale de gélification

CP : *Cross Polarization*

cryoMET : Microscopie Electronique à Transmission cryogénique

CuAAC : *Copper-catalyzed-azido-alkyne-cycloaddition*

Cx : connexine

DBS : (1,3 : 2,4) dibenzylidène sorbitol

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène

Table des Abréviations

DCM	: dichlorométhane
DEAD	: azodicarboxylate de diéthyle
DFT	: <i>Density Functionnal Theory</i>
DGA	: Direction Générale de l'Armement
DL₅₀	: Dose létale médiane
DLS	: <i>Dynamice Light Scattering</i>
DMAP	: 4-diméthylaminopyridine
DMF	: diméthylformamide
DMSO	: diméthylsulfoxyde
Dr.	: docteur
DRX	: Diffraction des Rayons X
DRXP	: Diffraction des Rayons X sur Poudre
EDC	: 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
eq	: équivalent
ESI-MS	: electrospray ionization mass spectrometry
Et	: éthyle
EtOAc	: acétate d'éthyle
EtOH	: éthanol
Et₂O	: éther diéthylique
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	: Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
G'	: module d'élasticité
G''	: module de viscosité
GC-MS	: <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
GL	: Glycosyllipide
GNBA	: Glycosylnucléoside bola-amphiphile
GNF	: Glycosylnucléolipide fluoré
GNL	: Glycosylnucléolipide
GSH	: glutathion
HD	: ypérite distillée
HDO	: sulfoxyde d'ypérite distillée
HDO₂	: sulfone d'ypérite distillée
HLB	: Balance Hydrophilie-Lipophilie
HRMS	: spectrométrie de masse à haute résolution

IBX : acide 2-iodoxybenzoïque

IL : Interleukine

INEPT : *Intensive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer*

iNOS : oxyde nitrique synthase

iPrOH : isopropanol

IR : Infrarouge

IRBA : Institut de Recherche Biomédicale des Armées

KGM : kératopathie au gaz moutarde

LC-MS : *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*

LDA : diisopropylamide de lithium

LiHMDS : bis(triméthylsilyl)amide de lithium

LMWG : *Low Molecular Weight Gel*

LMWOG : *Low Molecular Weight Oleogel*

LVER : *Linear Viscoelastic Region*

m-CPBA : acide métaperchlorobenzoïque

m/m : masse sur masse

MEB : Microscopie Electronique à Balayage

MEBEC : Microscopie Electronique à Balayage à Emission de Champ

MeOH : méthanol

MET : Microscopie Electronique à Transmission

MMP : Métalloprotéinase matricielle

MOF : *Metal Organic Framework*

Ms : mésyle

NAC : *N*-acétylcystéine

NAD⁺/NADH : nicotinamide adénine dinucléotide

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

***n*-BuLi** : *n*-butyl lithium

NEOMAY : NanoEmulOleogel Multiple Anti-Ypérite

NHC : carbène N-hétérocyclique

NICS : *Nucleus-Independent Chemical Shifts*

NIS : *N*-iodosuccinimide

NL : nucléolipide

NMO : *N*-oxyde de *N*-méthylmorpholine

NRBC : Nucléaire, Radiologique, Biologique et Chimique

OIAC : Organisation pour l'Interdiction des Armes Chimiques

OTAN : Organisation du Traité de l'Atlantique Nord

Ox/Red : oxydant/réducteur

P : pentane

PARGs : poly(Adénosine DiPhosphate-Ribose) glycosidase

PARPs : poly(Adénosine DiPhosphate-Ribose) polymérase

PBS : *Phosphate Buffered saline*

PCC : chlorochromate de pyridinium

Pd/C : Palladium sur charbon activé

PdI : indice de polydispersité

PEG : polyéthylène glycol

POM : polyoxométallate

ppm : partie par million

Pr : propyle

PS : polysorbate

PVA : alcool polyvinylique

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RNS : *Reactive Nitrogen Species*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

RSDL : *Reactive Skin Decontamination Lotion*

SAFINs : *Self-Assembled Fibrillar Networks*

SAXS : *Small Angle X-rays Scattering*

SIBX : acide 2-iodoxybenzoïque stabilisé

SBMSE : 1,1'-sulfonylbis[2-(méthylsulfinyl)éthane]

SBMTE : 1,1'-sulfonylbis[2-(méthylthio)éthane]

SCME : 2-chlorométhyle éther

SGDN : Secrétariat Général de la Défense Nationale

t.a. : température ambiante

TBAF : fluorure de tétrabutylammonium

TBDMS : *tert*-butyldiméthyl silyle

TBDPS : *tert*-butyldiphényl silyle

TES : Triéthyl silyle

TCL : Triglycéride à chaîne longue

TCM : Triglycéride à chaîne moyenne

Tf : Température de fusion

Tf : triflate

TFA : acide trifluoroacétique

T_{sol/gel} : Température de transition de l'état solution à l'état gel

ThDP : Thiamine diphosphate

THF : tétrahydrofurane

THX : thermomixer

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor alpha*

Ts : tosyle

VAC[®] : *Vacuum Assisted Closure*

VdW : Van der Waals

12-HSA : acide 12-hydroxystéarique

3 D : 3 dimensions

Par convention et pour éviter les répétitions, les termes « gélifiant » et « gélificateur » seront utilisés indifféremment.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	1
TABLE DES ABREVIATIONS	7
TABLE DES MATIERES	13
INTRODUCTION GENERALE	19
CHAPITRE 1 L'ypérite : une arme chimique de la famille des vésicants.....	25
I. Définition et contexte médico-militaire	27
I.1. Famille des vésicants	27
I.1.a. Les moutardes au soufre	27
I.1.b. Les moutardes à l'azote	28
I.1.c. La Lewisite et l'oxime de phosgène	28
I.2. Utilisation lors des conflits	30
I.3. Risque terroriste et conséquences sur la santé publique	32
I.3.a. Une menace terroriste permanente	32
I.3.b. L'immersion des munitions chargées à l'ypérite	33
I.3.c. Dégradation de l'ypérite en mer	34
I.3.d. Les conséquences pour l'Homme et l'environnement	36
II. Physiopathologie	37
II.1. Diversité des symptômes aigus	37
II.1.a. Toxicité oculaire	37
II.1.b. Toxicité cutanée	38
II.1.c. Toxicité respiratoire	40
II.1.d. Toxicité systémique	41
II.2. Effets à long terme	42
II.2.a. Symptomatologie oculaire à long terme	42
II.2.b. Symptomatologie cutanée à long terme	43
II.2.c. Symptomatologies respiratoires à long terme	43
II.2.d. Symptomatologie systémique à long terme	44
II.3. Mécanisme d'action de l'ypérite	44
II.3.a. Le CEES, un analogue de l'ypérite	46
II.3.b. Effets de l'ypérite sur l'ADN	47
II.3.c. Effets de l'ypérite sur les protéines	50
II.3.d. Ypérite, stress oxydatif et inflammation	52
III. Gestions de l'ypérite et de ses effets	54
III.1. Détection de l'ypérite	54
III.1.a. Détection environnementale et biologique	54

III.1.b.	Mesures organisationnelles.....	55
III.1.c.	Détection : pistes de recherche	56
III.2.	Décontamination de l'ypérite	57
III.2.a.	Décontamination des surfaces inertes.....	57
III.2.b.	L'oxydation, une piste pour la neutralisation de l'ypérite.....	58
III.3.	Thérapeutiques contre l'ypérite	61
III.3.a.	Premiers soins cutanés	61
III.3.b.	Thérapeutiques oculaires	63
III.3.c.	Traitements de première intention du système respiratoire.....	63
III.4.	Pistes de recherche thérapeutiques	64
III.4.a.	Des candidats antioxydants	64
III.4.b.	Quelques « scavengers »	65
III.4.c.	Candidats antiinflammatoires	66
III.4.d.	La silibinine, un candidat polyvalent.....	67
III.4.e.	Les mi-ARNs.....	68
III.5.	Vers une nanoformulation innovante : NEOMAY	69
CHAPITRE 2	Les gels, conception et défi au cœur de NEOMAY	73
I.	Les gels, état de l'art	75
I.1.	Généralités sur les gels	75
I.1.a.	Définition et concept	75
I.1.b.	Formation et caractérisation d'un gel.....	78
I.2.	Une catégorie prometteuse : les gels supramoléculaires de faible poids moléculaire..	79
I.2.a.	Origine de leurs assemblages	79
I.2.b.	Instabilité thermodynamique.....	81
I.3.	Les différents types de phases continues des gels supramoléculaires	82
I.3.a.	Hydrogels et Organogels : généralités	82
I.3.b.	Introduction sur les oléogels	83
I.4.	Découvertes de molécules gélificatrices et stratégies de conception	86
I.4.a.	Autoassemblages de lipides	87
I.4.b.	Autoassemblages de sucres et nucléosides.....	88
I.4.c.	Les peptides.....	90
I.4.d.	Les terpènes.....	91
I.5.	Hybrides gélifiants.....	93
I.5.a.	Les Glycolipides.....	94
I.5.b.	Les lipopeptides.....	95
II.	Les Nucléolipides, une famille d'hybrides gélifiants de choix.....	96
II.1.	Quelques généralités sur les nucléolipides naturels	97

II.1.a.	Les nucléobases lipidiques naturels	97
II.1.b.	Les nucléosides lipidiques naturels	98
II.1.c.	Les nucléotides lipidiques naturels.....	98
II.2.	Des autoassemblages variés pour les NLs	99
II.2.a.	Exemples de nucléobases lipidiques	100
II.2.b.	Cas des nucléosides lipidiques	100
II.2.c.	Autoassemblages issus de nucléotides lipidiques.....	101
II.2.d.	Un exemple d'oligonucléotides lipidiques	102
II.3.	Les NLs précurseurs d'hydrogels	103
II.3.a.	Les hydrogels issus de nucléosides lipidiques	103
II.3.b.	Les nucléotides lipidiques hydrogélifiants	105
II.3.c.	Les structures de type Bola-amphiphiles précurseurs d'hydrogels.....	106
II.3.d.	Les GlycoNucléoLipides (GNLs) hydrogélifiants	107
II.3.e.	Les Bola-amphiphiles de type GNLs précurseurs d'hydrogels.....	109
II.3.f.	Des hydrogels issus d'oligonucléotides lipidiques.....	110
II.4.	Les Nucléolipides organogélifiants	112
II.4.a.	Les nucléobases lipidiques organogélifiantes	112
II.4.b.	Des organogels issus de nucléosides-lipides	114
II.4.c.	Des interactions π - π <i>via</i> des hétéroaromatiques	121
III.	Découverte d'un gélificateur en milieu huileux	122
III.1.	Conception bioinspirée d'un NL lipophile	123
III.1.a.	L'organocatalyse bioinspirée.....	123
III.1.b.	Vers un nouveau lien 1,4-dicétone issue de la réaction de Stetter bioinspirée ...	124
III.1.c.	La réaction de Stetter : une réaction biomimétique	126
III.1.d.	Application à la synthèse d'un NL	127
III.2.	Tentatives de mises au point du processus de gélification du NL au lien 1,4-dicétone	130
III.2.a.	Optimisation de la benzylation en position 3'	130
III.2.b.	Optimisation de la préparation du partenaire énone	132
III.2.c.	Optimisation de la purification de la 1,4-dicétone.....	133
III.2.d.	Un processus de gélification difficilement reproductible	133
III.3.	Caractérisation de l'oléogel	135
III.3.a.	Observations en microscopie optique	135
III.3.b.	Propriétés mécaniques	135
III.4.	Etude des interactions moléculaires mises en jeu lors de la gélification	137
III.4.a.	Analyses par RMN du solide	138
III.4.b.	Structure par diffraction aux rayons X	139
CHAPITRE 3 Vers un rationnel structure – propriétés gélificatrices.....		143

I.	Impact du lien Nucléoside-Lipide : liaisons H	146
I.1.	Conception d'un lien <i>1,2</i> -hydroxycétone	147
I.1.a.	Etat de l'art	147
I.1.b.	Stratégie de synthèse	149
I.2.	Vers des liens <i>1,3</i> -dicétone et aldol	151
I.2.a.	Conception d'une <i>1,3</i> -dicétone par réactivité de type Umpolung.....	151
I.2.b.	Vers un lien <i>1,3</i> -dicétone depuis un chlorure d'acyle.....	153
I.2.c.	La <i>1,3</i> -dicétone par activation d'amide.....	156
I.2.d.	Aldolisation	157
I.3.	Vers un lien de type <i>1,4</i> -hydroxycétone	158
II.	Etude de l'influence de la chaîne lipidique.....	159
II.1.	Synthèse de différentes énonés lipidiques	159
II.1.a.	Synthèse d'énonés depuis l'amide de Weinreb.....	159
II.1.b.	Synthèse d'énonés par vinylation-oxydation	161
II.1.c.	Synthèse d'énonés par substitution	162
II.2.	Application de la réaction de Stetter à différents partenaires énonés lipidiques	163
II.2.a.	Variation du lipide.....	163
II.2.b.	Variation de la position du lien <i>1,4</i> -dicétone	164
II.3.	Essais de solubilisation et de gélification	165
III.	Influence de la nature du groupement aromatique : interactions π - π	169
III.1.	Synthèse du NL-3'-2-methylnaphatalène	169
III.2.	Préparation du NL 3'-indole.....	171
III.2.a.	Greffage de l'indole par synthèse de Williamson	171
III.2.b.	Couplage de l'indole par estérification.....	173
III.3.	Elaboration de l'analogue lipide-benzyle inversé	176
III.4.	Essais de solubilisation et gélification.....	177
IV.	Etude d'un effet cumulatif de groupes <i>1,4</i> -dicétones.....	178
IV.1.	Synthèse d'une double <i>1,4</i> -dicétone en 5'	178
IV.2.	Développement d'une double <i>1,4</i> -dicétone 3'-5'	181
IV.2.a.	Double Stetter	181
IV.2.b.	Réactions de Stetter en deux temps	182
IV.3.	Limites de la <i>1,4</i> -dicétone en formulation.....	185
IV.3.a.	Définition et généralités sur les nanoémulsions	185
IV.3.b.	Formulation du NL oléogélificateur	187
CHAPITRE 4 Découverte de nouveaux liens <i>1,4</i>-dicarboxylés prometteurs.....		189
I.	Développement d'un lien <i>1,4</i> -diester	191
I.1.	Synthèse de dérivés avec un lien <i>1,4</i> -diester	191

I.1.a.	Synthèse et propriétés gélifiantes	191
I.1.b.	Caractéristiques physico-chimiques et formulation	193
I.2.	Variation structurale autour du lien 1,4-diester	195
I.2.a.	Variation de la chaîne lipidique.....	195
I.2.b.	Inversion des groupements en position 3' et 5'	196
I.2.c.	Vers de multiples liens diesters	197
I.3.	Essais de solubilité et de gélification	198
I.3.a.	Solubilité des NLs aux liens diesters.....	198
I.3.b.	Un cas particulier, le cholestérol	199
II.	Développement de NLs aux structures combinant divers groupements carbonylés.....	201
II.1.	Vers des liens céto-esters	201
II.2.	Augmentation du nombre de fonctions 1,4-diesters	202
II.2.a.	Incorporation de deux liens 1,4-diesters en 5'	202
II.2.b.	Conception d'un NL avec un double lien 1,4-diester 3'-5'	203
II.3.	Etude autour du double 1,4-diester	205
II.3.a.	Simplification structurale <i>via</i> des esters simples 3'-5'	205
II.3.b.	Conception de NLs <i>N</i> -benzylés	207
III.	Développement d'un lien azoté déterminant.....	208
III.1.	Le lien 1,4 amide-ester comme candidat prometteur.....	209
III.1.a.	Synthèses de groupements carbonylés variés	209
III.1.b.	Un nouvel oléogélificateur prometteur	210
III.1.c.	Evaluation des propriétés mécaniques.....	211
III.2.	Etude structurale autour du 1,4-amide-ester	213
III.2.a.	Vers différentes longueurs de chaînes lipidiques	214
III.2.b.	Inversion des positions du lipide et du benzyle	217
III.2.c.	Variation du groupement lipophile en position 3'	218
III.2.d.	Conception d'un bis 1,4-amide-ester	221
III.3.	Influence de la position du groupement azoté	223
III.3.a.	Conception d'un lien 1,4-ester-amide.....	224
III.3.b.	Synthèse d'un NL portant un lien 1,4-ester-carbamate	226
III.3.c.	Vers le développement d'une aza-Stetter	228
	CONCLUSION.....	235
	PERSPECTIVES	241
	PARTIE EXPERIMENTALE	247
	ANNEXE.....	339
	BIBLIOGRAPHIE.....	347

INTRODUCTION GENERALE

Parmi les armes chimiques utilisées au siècle dernier lors de la première guerre mondiale, l'ypérite, représente toujours une menace d'actualité. Malgré des recherches intensives, aucun antidote ni traitement spécifique n'ont été découverts à ce jour. La conception d'une formulation thérapeutique innovante facilement utilisable sur le terrain, présente donc de réels intérêts médico-militaires et en santé publique.

C'est dans ce cadre que l'AID (Agence de l'Innovation de la Défense) a financé cette thèse sur le projet NEOMAY (NanoEmulOleogel Multiple Anti-Ypérite) qui consiste à développer une nanoformulation « *all-in-one* » (combinaison de tous les principes actifs dans la même formulation) véhiculant des agents thérapeutiques aux différentes actions. La nanoémulsion multiple (eau/huile/eau) E/H/E est conçue afin de protéger et servir de réservoir aux principes actifs incorporés dans les phases internes aqueuse (cicatrisant), huileuse (antioxydants et anti-inflammatoires) et externe aqueuse (« *scavenger* »). En collaboration avec l'unité Vésicants de l'IRBA (Institut de Recherche Biomédicale des Armées), dirigée par le Pharmacien en chef C. Piérard (colonel), ce projet ambitieux pourrait donner lieu à la mise sur le marché d'un traitement thérapeutique innovant pour soigner les lésions cutanées et oculaires causées par l'ypérite, pour lesquelles il n'existe toujours aucune solution efficace.

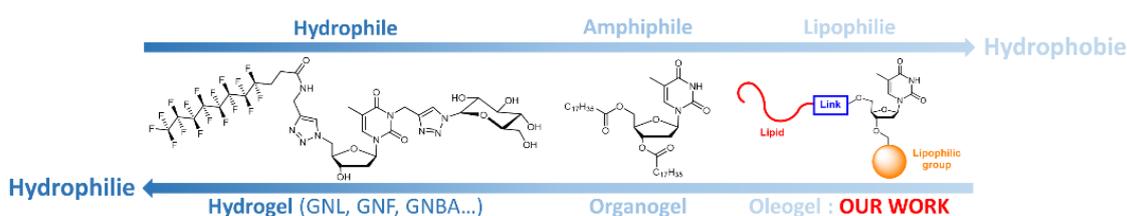
Le premier chapitre de ce manuscrit vise à faire un état des lieux des connaissances sur l'ypérite pour mettre en exergue la nécessité d'un traitement efficace.

L'originalité de la formulation galénique du projet NEOMAY réside dans l'incorporation d'une molécule aux propriétés oléogélifiantes afin de gélifier la phase huileuse qui protégerait et stabiliserait l'émulsion primaire tout en permettant une libération contrôlée des principes actifs. Définis par un état dit « semi-solide », les gels supramoléculaires sont le résultat d'un autoassemblage issu d'interactions entre chaque unité d'un composé dispersé dans une phase continue. Le réseau construit par cet arrangement piège le milieu environnant pour donner un gel. Lorsque la phase continue employée est une huile, nous parlerons d'oléogel.

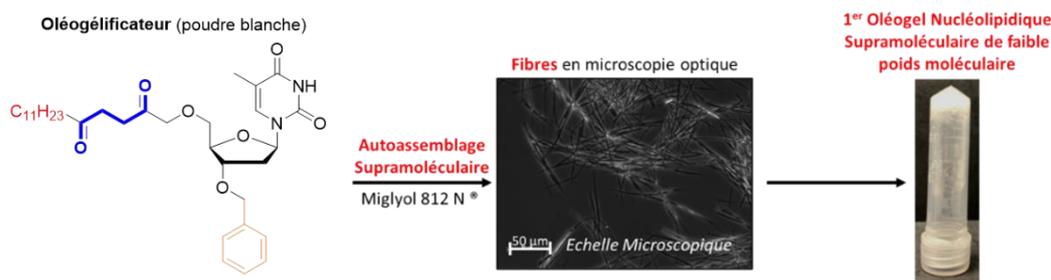
A l'origine de la description du terme chimie supramoléculaire, Jean-Marie Lehn l'a qualifiée de chimie : « au-delà de la molécule ». Cette chimie non covalente conduit à des assemblages supramoléculaires aux domaines d'applications variés. Le développement de gels en particulier, a nécessité une approche holistique rassemblant la chimie de synthèse, la physico-chimie et les sciences analytiques pour caractériser ces nouveaux matériaux. En effet, les mécanismes mis en jeu sont très complexes et dépendent de plusieurs paramètres. Malgré les nombreux exemples rapportés dans la littérature, la conception d'un gel de faible poids moléculaire (LMWG) par prédiction représente encore un immense défi.

Une stratégie majeure a été la conception de molécules amphiphiles ayant la capacité à se solubiliser dans une phase dispersante puis à s'autoassembler pour permettre la gélification. La Nature offre alors un vivier de molécules aux propriétés amphiphiles dont les nucléolipides (NLs). Composés d'un

lipide lié de manière covalente à un dérivé d'acide nucléique (nucléobase, nucléoside, nucléotide, oligonucléotide), ils présentent un intérêt dans plusieurs domaines tels que la médecine, la dépollution... etc. Ainsi l'équipe ChemBioPharm s'intéresse depuis plusieurs années à leur potentiel gélificateur. En particulier, de nombreux hydrogels (gels en milieu aqueux) et organogels (gels en solvant organique) ont été développés mais à notre connaissance, aucun NL capable de faire gélifier une huile n'a été rapporté dans la littérature. Le chapitre 2 fait le point sur les approches conduisant aux gels supramoléculaires dérivés de NLs. Des travaux antérieurs du laboratoire ont conduit à la découverte par sérendipité d'un NL original aux propriétés oléogélificatrices présentant un lien 1,4-dicétone essentiel pour la gélification.



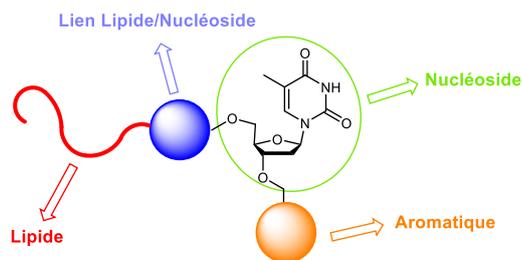
La première partie de ce travail de thèse, rapportée dans le chapitre 2 a consisté à étudier l'intérêt de ce composé original et a permis de mettre en évidence qu'il n'était pas un bon candidat pour le projet NEOMAY.



Le chapitre 3 rapporte une étude structurale méthodique basée sur l'approche synthétique à de nombreux dérivés pour comprendre les interactions et les fonctions moléculaires responsables de la gélification dans l'huile et mettant en évidence le rôle crucial du lien 1,4 dicarboxylé. Le travail a porté sur l'étude de 3 paramètres déterminants pour l'autoassemblage :

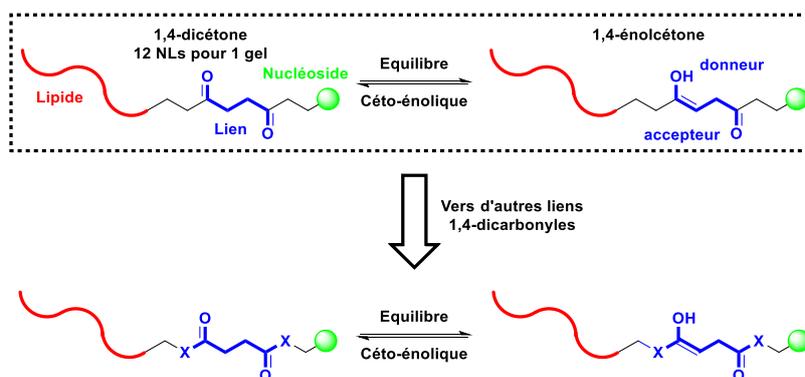
- La nature du groupement lipide
- La nature du groupement aromatique
- Le lien 1,4-dicarboxylé

Des analyses par DRX ayant montré sans ambiguïté la présence d'une fonction énol issue de l'équilibre céto-énolique, nous nous sommes attachés notamment à développer des composés nucléolipidiques portant comme le céto-énol une fonction acceptrice et une fonction donneuse de liaisons H.



Le chapitre 4 présente une approche rationnelle de modifications structurales portant principalement sur la nature du lien 1,4-dicarbonylé. Deux grandes familles de composés 1,4-diester (14 NLs pour 3 gels) et 1,4-ester-amide (10 NLs pour 7 gels) ont été développées pas à pas en s'appuyant sur les propriétés physico-chimiques observées. Les propriétés gélificatrices des candidats ont été étudiées dans l'huile pour voir s'ils répondaient aux caractéristiques nécessaires pour être incorporés à la nanoémulsion du projet NEOMAY. Ce travail a conduit à la découverte de plusieurs NLs oléogélifiants originaux. L'un d'entre eux a présenté les qualités requises et a été utilisé pour le développement de la nanoformulation qui est en cours de finalisation, réalisé en collaboration avec une doctorante galéniste, B. Dessane.

Ce projet ambitieux est donc né de la mise en commun de plusieurs expertises : la chimie organique pour la conception rationnelle de molécules oléogélificatrices (V. Desvergnès et A. Kluffs-Edel, ARNA), le développement galénique de formulations de type nanoémulsion multiple incorporant ce nouveau type de gel (B. Dessane et S. Crauste-Manciet, ARNA) et la biologie avec l'expérimentation et l'évaluation des formules *in vivo* (F. Caffin, Colonel C. Piérard, IRBA).



CHAPITRE 1

L'ypérite : une arme chimique de la famille des vésicants

I. Définition et contexte médico-militaire

I.1. Famille des vésicants

I.1.a. Les moutardes au soufre

Parmi les armes chimiques, les vésicants représentent une grande famille. Le sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle, plus communément appelé gaz moutarde ou ypérite depuis sa première utilisation le 12 juillet 1917 lors de la 1^{ère} guerre mondiale est le plus connu d'entre eux. Sous sa forme pure, il est également appelé HD (D pour « *distilled* ») par l'OTAN (Organisation du Traité de l'Atlantique Nord) et se présente sous la forme d'un liquide huileux, volatil, incolore et inodore. H désigne la qualité « armement » qui est riche en impuretés de synthèse lui conférant une odeur de moutarde ou alliécée ainsi que sa couleur jaune voire brunâtre. Les moutardes se caractérisent par la formule R-CH₂-CH₂-X où R est une base de Lewis (N, S...) et X un groupe halogène.

C'est en 1822 que la première synthèse du sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle a été réalisée par C.-M. Despretz et A. Riche.¹ Elle a mis en œuvre la réaction entre l'éthylène **1** et le dichlorure de soufre S₂Cl₂. A ce stade, ses propriétés vésicantes n'ont pas été mentionnées. Plus tard Levinstein a optimisé ce procédé en utilisant SCl₂ à la place de S₂Cl₂. C'est seulement en 1860 que Guthrie a mis en évidence les propriétés vésicantes du sulfure 2,2'-dichlorodiéthyle en observant la formation de cloques sur la peau après manipulation. Il a également souligné une odeur forte semblable à celle de la moutarde ou de l'ail.² Par la suite, en 1886, Viktor Meyer a développé la première synthèse de l'agent vésicant soufré en faisant réagir du thiodiglycol **2** avec du trichlorure de phosphore.³ C'est ce procédé qui a notamment été utilisé à grande échelle par les Allemands lors de la 1^{ère} guerre mondiale. Enfin, Clarke a remplacé le trichlorure de phosphore par de l'acide chlorhydrique concentré en 1913 afin d'obtenir le sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle **3** pur (*Schéma 1*).⁴

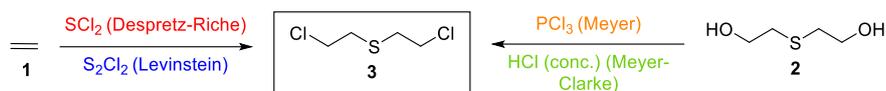


Schéma 1 : Synthèse du sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle depuis sa découverte

D'autres chimistes comme Steinkoff et Ludin ont travaillé sur l'obtention de cet agent en utilisant respectivement du chlorure de thionyle et des chlorures de soufre.⁵ Enfin, un dernier procédé

¹ (a) Despretz, C.-M. *Ann. d. Chim. e. d. Phys.* **1822**, 21, 428 ; (b) Riche, A. *Ann. d. Chim. e. d. Phys.* **1855**, 43, 283-304.

² (a) Guthrie, F.G. *Quart. J. Chem. Soc.* **1860**, 13, 129-135 ; (b) Niemann, A. *Ann. d. Chem. U. Pharm.* **1860**, 113, 288-292.

³ Meyer, V. *Chem. Ber.* **1886**, 19, 3259-3265.

⁴ Clarke, H.T. *J. Chem. Soc.* **1912**, 101, 1583-1590.

⁵ (a) Steinkoff, W.; Herold, J.; Stohr, J. *Chem. Ber.* **1920**, 53, 1007-1012 ; (b) Ludin, S.J. *Oxford University Press*, **1991**, 4.

impliquant l'addition photochimique de SH₂ sur des groupements éthyléniques a été développé en 1945.⁶ Les recherches menées sur cette arme chimique ont conduit à la découverte d'analogues soufrés possédant également des propriétés vésicantes, à savoir les composés **4** et **5** par exemple (*Tableau I*).

I.1.b. Les moutardes à l'azote

Durant les années 1930, un nouveau groupe de moutardes, les moutardes azotées a été découvert. Il englobe 4 composés majeurs dont la bis(2-chloroéthyl) éthylamine **6** (HN-1), la bis(2-chloroéthyl) méthylamine **7** (HN-2), la tris(2-chloroéthyl) amine **8** (HN-3) et la bis(2-chloroéthyl) isopropylamine **9** (*Tableau I*).⁷ Elles sont reconnaissables par leurs odeurs caractéristiques et très puissantes de « renfermé » et de poisson. Malgré leurs similarités avec le sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle, elles n'ont pas été utilisées en tant qu'arme mais ont fait l'objet de quelques essais pendant la 2^{ème} guerre mondiale⁸ causant des effets nocifs moindres en comparaison au composé **3** lors de la Grande guerre. Elles ont cependant été utilisées avec efficacité en chimiothérapie pour le traitement de maladies malignes pendant plusieurs années. Le composé azoté **8** a notamment été utilisé en injection dans le traitement de tumeurs comme pour la maladie de Hodgkin par exemple.⁹ Encore aujourd'hui des analogues comme le cyclophosphamide et l'ifosfamide, respectivement commercialisés sous le nom d'Endoxan[®] et de Holoxan[®], sont employés en chimiothérapie.¹⁰

I.1.c. La Lewisite et l'oxime de phosgène

Hors les moutardes, les agents arséniés constituent une nouvelle famille de vésicants avec la Lewisite **10** qui est la plus connue d'entre eux. Elle a été conçue par un chimiste de l'« US Army », le capitaine Winford Lee Lewis qui lui a donné son nom lors de la première guerre mondiale pour contrer les Allemands mais son usage comme arme chimique n'a jamais été rapporté. Elle possède une odeur caractéristique de géranium.¹¹ Elle a souvent été mélangée au sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle afin de diminuer son point de fusion et d'augmenter son action à l'état liquide. L'oxime de phosgène **11** est un autre composé classé parmi les vésicants, bien qu'elle ne provoque pas de vésicules, elle crée des

⁶ Vaughn, W.E.; Rust, F.F. *J. Org. Chem.* **1942**, *7*, 472-476.

⁷ (a) Ward, K.Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 914-916 ; (b) Sartori, M.F. *Chem. Rev.* **1951**, *48*, 225-257.

⁸ Ministerial report No. 1, Exhibit CD, Oil Division, **1947**.

⁹ (a) Jacobson, L.O.; Spurr, C.; Barron, E.S.G.; Smith, T. Lushbaugh, C.; Dick, G.F. *J. Am. Med. Ass.* **1946**, *132*, 263-271 ; (b) Gilman, A. *Am. J. Surg.* **1963**, *105*, 574-578 ; (c) Goodman, L.S.; Wintrobe, M.M.; Dameshek, W.; Goodman, M.J.; Gilman, A.; McLennan, M.T. *J. Am. Med. Ass.* **1946**, *132*, 126-132 ; (d) Rhoads, C.P. *J. Am. Med. Ass.* **1946**, *131*, 656-658.

¹⁰ Amjad, M.T.; Chidharla, A.; Kasi, A. *Cancer Chemotherapy. StatPearls*, **2022**.

¹¹ Lewis, W.L.; Stiegler, H.W. *Am. Chem. Soc.* **1925**, *47*, 2546-2555.

lésions urticantes. Cette arme chimique a été synthétisée pour la première fois par les Allemands en 1929.¹² Elle a perdu son statut d'arme chimique après plusieurs études américaines mettant en avant son instabilité et ses effets biologiques jugés limités (*Tableau I*).¹³

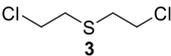
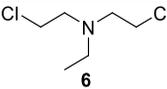
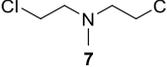
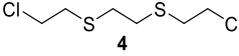
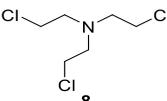
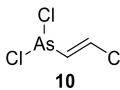
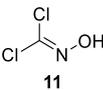
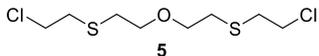
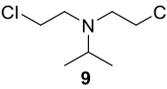
	Moutarde soufré	Moutarde azoté	Lewisite	Oxime de phosgène
Structure	 3	 6		
		 7		
	 4	 8	 10	 11
	 5	 9		
Apparence	Liquide incolore à brun foncé	Liquide incolore à jaune pâle	Liquide incolore	Solide ou liquide incolore
Odeur	Moutarde ou ail	Poisson ou renfermé	Géranium	/

Tableau I : Différents agents vésicants et caractéristiques

La découverte du sulfure de 2,2'-dichlorodiéthyle au XIX^{ème} siècle a amené les chimistes à orienter leurs recherches vers le développement de nouveaux agents vésicants qui se sont avérés plus ou moins efficaces. A ce jour, il reste l'arme chimique qui a été la plus utilisée lors de nombreux conflits postérieurs à la 1^{ère} guerre mondiale.

¹² Prandtl, W.; Sennewald, K. *Ber.* **1929**, *62B*, 1754-1768.

¹³ Joffe, M.H.; Barry, M.C.; Marzulli, F.N. Army Chemical Center, Md, *Medical Research Report*, **1954**, 288.

I.2. Utilisation lors des conflits

La dénomination « gaz moutarde » vient de son utilisation massive lors de la première guerre mondiale. Il a été déployé pour la première fois le 17 juillet 1917 par les soldats allemands contre les Anglais en Belgique, dans le saillant d'Ypres (Ieper en néerlandais), à l'origine de son appellation d'ypérite.¹⁴ Il a également été appelé LOST par les Allemands en référence aux deux chimistes Lommel et Steinkopf qui ont prôné son utilisation en tant qu'arme chimique. Les alliés n'ont eu accès à cette arme que quelques mois plus tard après s'être emparés d'une réserve d'obus allemands. Sur le front, les soldats dispersaient l'ypérite comme un aérosol mélangé à d'autres composés chimiques (chloropicrine, chlorure de benzène, tétrachlorométhane) donnant une couleur jaune-marron et une odeur alliacée très forte (*Figure 1*).¹⁴

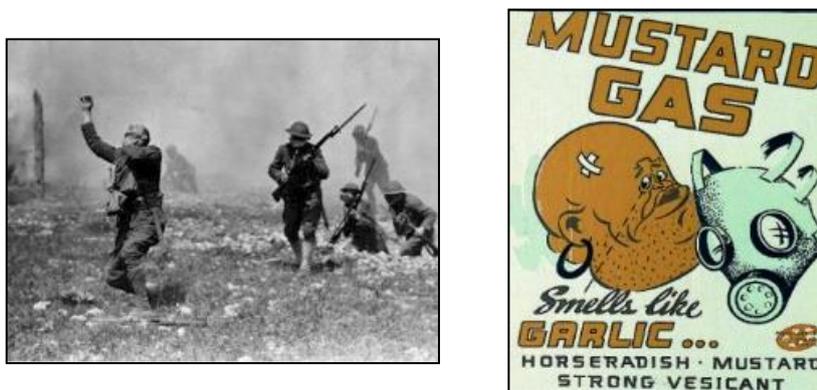


Figure 1 : Archives illustrant l'utilisation du moutarde durant la 1^{ère} guerre mondiale

Cette stratégie permettait d'abaisser la température de fusion de l'ypérite ($T_f = 14,4\text{ °C}$) et de faciliter sa lente évaporation. Ce mode d'utilisation est celui qui a causé le plus de victimes. Il est en effet reconnu que 80 % des cas sont dus aux vapeurs et non à la forme liquide.¹⁵ Il a également été répandu par voie aérienne lors d'explosions de mines et de missiles. Bien que les victimes exposées à l'ypérite représentent 80 % des victimes d'armes chimiques lors de la première guerre mondiale, le taux de mortalité n'a été estimé qu'à 3 %.¹⁶ L'ypérite, bien que classée parmi les agents létaux, est donc faiblement létale. A titre d'exemple, l'Angleterre a référencé environ 180 000 victimes des armes chimiques lors de ce conflit. Sur cette population, 160 000 individus (soit 88 %) ont été exposés au gaz moutarde. Les conséquences sur les soldats ont été néfastes dû à un taux de morbidité très élevé.¹⁷ Parmi cette population, seulement 4 000 (2,6 %) en sont décédés.¹⁸

¹⁴ Prentiss, A.M. *McGraw-Hill Book Company Inc.* **1937**, 177.

¹⁵ Blewett, W.K.; *Aberdeen ProvingGround, Md : Physical Protection Directorate*, **1992**.

¹⁶ Haldane, J.B.S.; Callinicus, A. *Defence of chemical warfare*, **1925**.

¹⁷ Somani, S.M.; Babu, S.R. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **1989**, 27, 419-435.

¹⁸ Balali-Mood, M.; Farhoodi, M.; Panjvani, F.K. *Proceedings of the 2nd World Congress on New Compounds in Biological and Chemical Warfare*, **1993**, Abstract.

A la suite de cette utilisation massive, le protocole de Genève, signé en 1925 a stipulé : « l'interdiction à la guerre de gaz asphyxiants, toxiques ou similaires et de moyens bactériologiques ». Néanmoins plusieurs belligérants ont dérogé à cet accord lors des conflits suivants :

- Les Espagnols ont été les premiers à utiliser cette arme après la 1^{ère} guerre mondiale. Lors de la guerre du Rif au Maroc (1921-1926), ils l'ont employée contre des civils, un an avant le protocole de Genève.¹⁹ Par la suite, plusieurs autres utilisations ont entraîné des victimes.
- Lors de la colonisation de l'Ethiopie par l'Italie (1935-1936), 150 000 victimes éthiopiennes ont été dénombrées.²⁰ Les témoins directs ont même décrit cet événement comme : « une terrible pluie qui brûle et tue ».²¹
- 3 000 victimes ont été attribuées à l'utilisation de l'ypérite lors de la guerre entre l'Egypte et le Yémen (1963-1965). A l'époque, l'Egypte a déployé de nombreux moyens dans l'amélioration de la productivité et de la qualité de l'ypérite.¹⁸
- Au cours du second conflit mondial, un seul incident impliquant l'ypérite est à déplorer. Le bateau américain SS John Harvey a été bombardé par un avion allemand au large de Bari, en Italie en décembre 1943. Il a coulé et explosé avec une cargaison de 2000 tonnes de bombes au gaz moutarde à son bord, en faisant près 80 morts et 600 blessés.²² Il a été également rapporté une utilisation d'ypérite en mélange avec la Lewisite, par le Japon contre la Chine de 1939 à 1945.
- Plus récemment, l'emploi d'ypérite a été dénoncé lors du conflit entre l'Iran et l'Irak (1981-1988). La moitié des victimes, soit 100 000 individus ont été en contact avec l'agent vésicant, tandis que le reste aurait été touché par des attaques d'agents neurotoxiques.²³

Malgré la signature du protocole de Genève en 1925, l'ypérite a continué à être utilisée en tant qu'arme chimique. Depuis ces conflits, l'ypérite a été interdite de manière plus stricte et contrôlée. En effet la Convention sur l'Interdiction des Armes Chimiques (CIAC), nouvel accord signé en 1993 a proscrit la mise au point, la fabrication, le stockage et l'usage d'armes chimiques notamment l'ypérite.²⁴ Ratifié par la France et entré en vigueur en 1997, il a prévu le désarmement chimique de la part de 193 états signataires sur 197 sous le contrôle des inspecteurs de l'Organisation pour l'Interdiction des Armes Chimiques (OIAC) dont le siège est à La Haye. A l'heure actuelle, il est estimé que plus de 99 % des stocks déclarés par les états parties ont été détruits.

¹⁹ Balfour, S. *Oxford University Press*, 2002.

²⁰ Balali-Mood, M.; Hefazi, M. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2005, 19, 297-315.

²¹ Barker, A.J. *Ballantine Books* 1971.

²² (a) Alexander, S.F. *Military Surg.* 1947, 101, 1-17 ; (b) Infield, G. *Disaster at Bari* 1988.

²³ Carus, W.S. *The Washington Insistute for Near East Policy* 1988.

²⁴ *Chemical Weapons Convention, Convention on the prohibition of the development, production, stockpiling and use of chemical weapons and on their destruction* 1993.

I.3. Risque terroriste et conséquences sur la santé publique

Aujourd'hui encore, l'ypérite est un agent de la menace chimique terroriste pour plusieurs raisons. En effet, elle n'est pas chère, facile à synthétiser et à stocker et difficile à contrôler. De plus, une fois dispersée, l'ypérite est un agent chimique persistant car elle est capable de contaminer l'environnement pendant plusieurs jours tout en conservant sa toxicité. Le point essentiel est qu'il n'existe actuellement aucun antidote ni de traitement spécifique pour contrer ses effets. La prise en charge d'un blessé ypérite est comparable à celle d'un brûlé immunodéprimé. Elle vise essentiellement à maintenir l'équilibre hydroélectrolytique, à combattre la douleur et à éviter les surinfections.

I.3.a. Une menace terroriste permanente

Pour toutes ces raisons, de nombreux scientifiques, agents de renseignements, diplomates, géopoliticiens etc. estiment que l'ypérite représente une des armes chimiques les plus dangereuses dont l'emploi est certainement le plus probable en comparaison notamment aux agents neurotoxiques organophosphorés.²⁵ Par ailleurs, l'impact psychologique créé par une arme chimique en fait un outil de terrorisme très efficace. A titre d'exemple, nous pouvons citer l'attaque d'une station de métro de Tokyo en mars 1995 par la secte japonaise Aum Shinrikyo qui a abandonné un sac plastique rempli de sarin (agent neurotoxique). Cet attentat a entraîné la mort de 12 personnes et fait près de 4 000 blessés.²⁶ Il est donc évident que les armes chimiques de guerre et plus particulièrement l'ypérite représentent une menace terroriste.

Concernant l'ypérite, plusieurs victimes ont malheureusement été dénombrées, malgré la CIAC. Depuis 2013, des enquêtes sur les conflits armés au Moyen-Orient et particulièrement en Syrie ont rapporté des attaques à l'arme chimique et notamment à l'ypérite.²⁷ Les autorités estiment, qu'à l'heure actuelle, des groupes terroristes comme Daesh sont capables de produire cet agent vésicant et d'en faire de la contrebande.²⁸ La Syrie est le premier état signataire à avoir violé la CIAC avec une première attaque au gaz moutarde rapportée en 2015, touchant une famille de 4 personnes.²⁹ Plusieurs attaques ont suivi mettant en danger 17 hommes et femmes et faisant peser une menace permanente sur la population.³⁰

²⁵ Smith, K.J.; Skelton, H. *Skinmed.* **2003**, 2, 215-221.

²⁶ (a) Wessely, S.; Hyams, K.G. *BMJ* **2001**, 323, 878-879 ; (b) Tu, A.T.; *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **2000**, 745, 304-307.

²⁷ Kilic, E.; Ortatagli, M.; Sezigen, S.; Eyison, R.K.; Kenar, L. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2018**, 37, 332-337.

²⁸ CBS, **2016**, <https://www.cbsnews.com/news/cia-director-john-brennan-60-minutes-scott-pelley/>.

²⁹ Sezigen, S.; Ivelik, K.; Ortatagli, M.; Almacioglu, M.; Demirkasimoglu, M.; Eyison, R.K.; Kunak, Z.I.; Kenar, L. *Toxicol. Lett.* **2019**, 303, 9-15.

³⁰ Sezigen, S.; Kenar, L. *Toxicol. Lett.* **2020**, 320, 52-57.

I.3.b. L'immersion des munitions chargées à l'ypérite

Sur la quantité d'ypérite fabriquée au cours des décennies passées, une partie n'a pas été utilisée et le devenir de ces stocks est un problème encore aujourd'hui. Après la 2^{ème} guerre mondiale, les alliés (Etats-Unis, France, Royaume-Uni et Russie) ont pris la décision de disposer de tous les stocks d'armes chimiques de guerre appartenant à l'Allemagne.

A cette époque, les alliés se sont accordés sur le fait que déverser les stocks d'armes à la mer apparaissait comme la solution idéale car les composés à haut risque finiraient par être « dilués » et ne plus présenter aucun danger pour l'Homme. Ainsi les différents pays se sont partagé les stocks, soit près de 300 000 tonnes d'armes pour les immerger (Amérique de Nord, nord de l'Europe, Russie, Méditerranée, Australie, Chine et Japon).³¹ En Europe, le plus grand site de décharge a été la mer Baltique et plus particulièrement Bornholm qui contiendrait près de 90 % des stocks de la mer Baltique, autrement dit entre 40 000 et 150 000 tonnes d'armes chimiques dont l'ypérite, quelques gaz arséniés, du phosgène etc. (**Figure 2**).³²



Figure 2 : Sites européens de déversements d'ypérite³³

³¹ (a) MEDEA. Ocean dumping of chemical munitions: environmental effects in arctic seas. McLean, VA: MEDEA, **1997** ; (b) Kurata, H. Lessons learned from the destruction of the chemical weapons of the Japanese Imperial Forces. In: Stockholm International Peace Research Institute, editor. Chemical weapons: destruction and conversion. London: Taylor & Francis; **1980**, 77–93 ; (c) Alcaro, L.; Della Torre, C.; Petoichi, T. ; *et al. Marine Technol Soc. J.* **2012**, *46*, 10-20 ; (d) Plunkett G. Chemical warfare agent sea dumping off Australia. Canberra, Australia: Defense Publishing Service, Australia Department of Defense; **2003**.

³² Chemical Munitions Dump Sites in Coastal Environments. Brussels, Belgium: Belgium Ministry of Social Affairs, Public Health and the Environment, **2002**.

³³ Greenberg, M.I.; Sexton, K.J.; Vearrier, D. *Clin. Toxicol.* **2016**, *54*, 79-91.

Toutefois, plusieurs facteurs empêchent de bien définir les zones de relargage. Pour économiser le carburant, les armes étaient souvent déversées sur le trajet. De plus, une fois arrivé sur la zone, le bateau dérivait pendant le déchargement rendant peu précis l'endroit où avait été abandonnée sa cargaison. Certains obus étaient conservés dans des caisses en bois qui flottaient une fois jetées à la mer. Tous ces paramètres ont étendu la zone susceptible de renfermer des agents dangereux. D'autre part, la documentation sur les zones exactes de largage ainsi que leurs quantités reste lacunaire. De ce fait, les zones à risques sont potentiellement immenses.³³ Rien qu'à Bornholm, près de 700 obus corrodés et non explosés ont déjà été remontés par inadvertance dans les filets de pêcheurs.

I.3.c. Dégradation de l'ypérite en mer

Au cours du temps, la corrosion des obus au fond des eaux va conduire à une libération prolongée de l'agent vésicant. Les activités en haute mer en plein essor comme la pêche ou encore les forages vont également augmenter ce risque de libération. Avec la quantité d'obus d'ypérite sur le site de Bornholm, le risque de voir ce composé investir petit à petit les fonds marins est élevé. Les obus se corrodent sur des dizaines d'années et libèrent leur contenu de manière progressive, l'ypérite est très légèrement hydrolysée en thiodiglycol **2** car sa solubilité dans l'eau est très faible.

En revanche, sa lipophilie va conduire à la formation d'amas solides poreux à la suite de réactions de polymérisation entre molécules mais également avec les sédiments. Cette « roche » peut s'hydrolyser en raison de sa porosité mais une grande quantité d'ypérite peut y rester intacte pendant plusieurs années. Elle présente ainsi un grand danger pour la vie marine mais aussi pour les pêcheurs qui peuvent s'y exposer quand ils remontent de tels amas dans leurs filets. A la surface de ces roches, plusieurs réactions vont mener à la formation des sels soufrés **17**, **18** et **20** mais également de composés cycliques soufrés tels que le dithiane **19** ou encore le trithiépiane **21** qui présentent une grande toxicité et donc un danger pour la faune et la flore marines (*Schéma 2*).³⁴

³⁴ Czub, M.; Nawała, J.; Popiel, S.; Dziedzic, P.; Brzezinski, T.; Masczyk, P.; Sanderson, H.; Fabisiak, J.; Beldowski, J.; Kotwicki, L. *Mar. Environ. Res.* **2020**, *161*, 1-10.

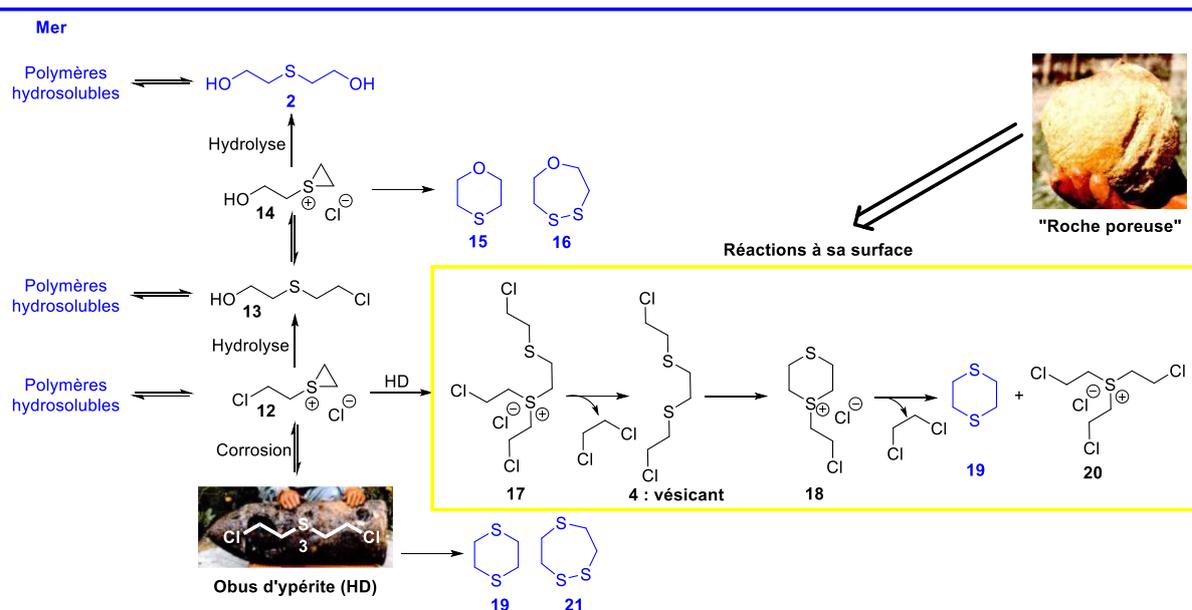


Schéma 2 : Exemples de réactions de dégradation de l'ypérite en milieu marin³⁵

Durant les conflits, des chimistes ont cherché à augmenter la viscosité de l'ypérite afin de la rendre plus persistante en y ajoutant des agents texturants comme le polystyrène. L'immersion de l'ypérite crée un grumeau gélatineux insoluble rendant sa biodisponibilité nulle et présentant hypothétiquement un risque faible.³⁶ Cependant, même si cet amas se dissout sur des dizaines d'années, son hydrolyse en thiodiglycol **2** et dithiane **19** est extrêmement rapide.³⁷ Ce phénomène est évidemment favorisé par l'augmentation de la température de l'eau environnante et les mouvements au fond de l'eau. En résumé, l'ypérite enfouie en mer conserve toute sa toxicité du fait de sa persistance favorisée par le polystyrène qui s'oppose à sa solubilisation par sa texture visqueuse et hydrophobe.³⁸

³⁵ (a) *Memo 4.3A-6*, Spreading of viscous gas, **2008** ; (b) Hemström, P.; Holmgren, K.H.; Hammarström, B.E.; Larsson, A.; Östin, A. *Mar. Environ. Res.* **2020**, *162*, 1-9.

³⁶ Sanderson, H.; Fauser, P.; Thomsen, M.; Sørensen, P.B. *J. Haz. Mat.* **2009**, *162*, 416-422.

³⁷ (a) Dacre, J.; Goldman, M. *Pharmacol. Rev.* **1996**, *48*, 289-326 ; (b) Munro, N *Environ Health Perspect.* **1999**, *107*, 933-974.

³⁸ Hellstrom, T.O.M. Long-time behavior of mustard gas dumped in the Bornholm Basin, Department of Earth Sciences, University of Gothenburg, **2013**.

I.3.d. Les conséquences pour l'Homme et l'environnement

Les impacts de l'immersion de l'ypérite sont donc multiples tant au niveau de la santé publique que sur la vie marine. Depuis les années 1950 plusieurs incidents ont été rapportés.³⁹ La pêche dans les zones dangereuses telle que la zone de décharge principale à Bornholm a depuis 1984 été interdite et déconseillée à ses alentours.⁴⁰ Des lésions ont été observées sur les poissons vivants dans ces zones. Des analyses plus poussées dans les zones à risque ont relevé la présence d'intermédiaires de dégradation de l'ypérite dans les poissons ainsi que dans les sédiments des fonds marins.⁴¹ La consommation des espèces vivantes exposées à l'ypérite ne connaît cependant à ce jour aucune réglementation. Autrement dit, les conséquences de transmission à l'Homme au cours de la chaîne alimentaire restent peu connues.

Pour aller plus loin, des scientifiques se sont intéressés à l'évolution de la vie marine dans ces milieux et ont observé le développement d'espèces tolérantes (champignons, bactéries...) à l'ypérite et/ou à ses intermédiaires comme le thiodiglycol.⁴² La portée des déversements d'ypérite dans la mer paraît immense même si les effets sur le long terme restent inconnus tant sur la vie marine que sur la santé humaine.

Actuellement, la récupération de cette immense réserve d'armes chimiques par les terroristes reste peu probable. Au-delà des risques liés au terrorisme et aux immersions, il subsiste tout de même des accidents professionnels en industrie et même en laboratoire.⁴³ Ces risques existent en France avec les 15 tonnes d'obus chargés à l'ypérite déterrées chaque année dans le Nord et l'Est de la France. Une douzaine d'accidents par an sont reportés en France dont les principales victimes sont les agriculteurs, les collectionneurs de militaria et les ouvriers.⁴⁴ Parmi eux, nous pouvons citer les incidents à Liévin en 2007 et à Cambrai en 2009 et plus récemment un accident à Arras en 2021. La répétition des incidents ajoutée à une menace terroriste potentielle font de l'ypérite un danger rémanent.

³⁹ Report of the Secretary General. Cooperative measures to assess and increase awareness of environmental effects related to waste originating from chemical munitions dumped at sea. United Nations General Assembly; **2013**.

⁴⁰ Missiaen, T.; Soderstrom, M.; Popescu, I. *et al. Sci. Total Environ.* **2010**, *408*, 3536-3553.

⁴¹ (a) Amato, E.; Alcaro, L.; Corsi, I.; Torre, C.D.; Farchi, C.; Focardi, S.; Marino, G.; Tursi, A. *Mar. Biol.* **2006**, *149*, 17-23.

⁴² Medvedeva, N.; Polyak, Y.; Kankaanpaa, H. *et al. Mar. Environ. Res.* **2009**, *68*, 71-81.

⁴³ (a) Steinritz, D.; Striepling, E.; Rudolf, K-D.; Schröder-Kraft, C.; Püschel, K.; Hullard-Pulstinger, A.; Koller, M.; Thiermann, H.; Gandor, F.; Gawlik, M.; John, H. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 112-120; (b) Schmidt, A.; Steinritz, D.; Rudolf, K-D.; Thiermann, H.; Striepling, E. *Toxicol. Lett.* **2018**, *293*, 62-66.

⁴⁴ Mérat, S.; Perez, J.P.; Rüttimann, M.; Bordier, E.; Lienhard, A.; Lenoir, B.; Pats, B. *Ann. Fr. Anesthésie et de Réanimation* **2003**, *22*, 108-118.

II. Physiopathologie

Au cours des derniers conflits, l'ypérite a marqué les esprits par la diversité de ses effets incapacitants sur l'Homme. Sa capacité à pénétrer en quelques minutes divers matériaux et vêtements (caoutchouc, cuir, textiles...) lui confère un fort pouvoir contaminant.⁴⁵ L'observation des victimes a mis en évidence que les symptômes apparaissent principalement au niveau cutané, oculaire et pulmonaire. Près de 90 % des personnes exposées à l'ypérite présentent des lésions cutanées et/ou oculaires.⁴⁶ Les cas plus graves présentent néanmoins des atteintes notamment digestives (en cas d'ingestion), de la moelle osseuse et des gonades.⁴⁷

La gravité des manifestations observées dépend alors de plusieurs paramètres. L'ypérite est un agent vésicant insidieux car son action apparaît après un certain délai (quelques heures) qui varie selon la durée d'exposition de la victime. De plus, sa pénétration est indolore. Ainsi, les observations cliniques montrent que plus les premiers symptômes mettent de temps à apparaître, plus le taux de morbidité sera élevé. En effet, un soldat intoxiqué par l'ypérite sans le savoir ne mettra pas en place les premiers gestes de décontamination et l'arme chimique continuera de pénétrer insidieusement les tissus. Cette pénétration sera d'autant plus efficace que les facteurs environnementaux (température et taux d'humidité), la quantité exposée, le mode d'exposition (liquide, vapeur) y seront favorables. A cela s'ajoute que l'ypérite agit plus rapidement sur les tissus avec un métabolisme rapide (cellules épithéliales cutanées, moelle osseuse, intestinales...). A la suite d'une intoxication à l'ypérite, la toxicité aiguë se traduira par des effets à court terme et des effets à long terme seront également évaluables.⁴⁸

II.1. Diversité des symptômes aigus

II.1.a. Toxicité oculaire

L'œil constitue l'organe le plus sensible à l'ypérite et le premier touché,⁴⁹ ce qui s'explique par sa composition. En effet, il est constitué de couches aqueuse-muqueuse au niveau de la cornée et de cellules épithéliales qui présentent un taux de renouvellement important et un métabolisme intense.

⁴⁵ Vedder, E.B. *Ind. Eng. Chem.* **1925**, *17*, 326-327.

⁴⁶ (a) Solberg, Y.; Alcalay, M.; Belkin, M. *Surv. Ophthalmol.* 1997, *41*, 461-466 ; (b) Safarinejad, M.R.; Moosavi, S.A.; Montazeri, B. *Mil. Med.* **2001**, *166*, 67-70 ; (c) Javadi, M.A.; Jafarinesab, M.R.; Feizi, S.; Karimian, F.; Negahban, K. *Ophthalmology* **2007**, *118*, 1272-1281 ; (d) Ghasemi, H.; Ghazanfari, T.; Ghassemi-Broumand, M.; Javadi, M.A.; Babaei, M.; Soroush, M.R.; Yarae, R.; Faghihzadeh, S.; Poorfarzam, S.; Owlia, P.; Naghizadeh, M.M.; Etezzad-Razavi, M.; Jadidi, K.; Naderi, M.; Hassan, Z.M. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2009**, *28*, 71-77.

⁴⁷ (a) Papirmeister, B.; Feister, A.J.; Robinson, S.L.; *et al.* Boca Raton : CRC Press, 1991, 359. ; (b) Borak, J.; Sidell, F. *Ann. Emerg. Med.* **1992**, *21*, 303-308 ; (c) Kehe, K.; Scinicz, L. *Toxicol.* **2005**, *214*, 198-209.

⁴⁸ Wattana, M.; Bey, T. *Prehospital Disast. Med.* **2009**, *24*, 19-29.

⁴⁹ Etezzad-Razavi, M.; Mahmoudi, M.; Hefazi, M.; Balali-Mood, M. *Clin. Exp. Ophthalmol.* **2006**, *34*, 343-346.

Le caractère lipophile de l'ypérite lui permet de pénétrer facilement à travers la cornée et la conjonctive et de se loger dans la partie huileuse des larmes majoritairement composée de cholestérol et de triglycérides. Elle entre alors en contact avec les cellules épithéliales de la cornée (**Figure 3**). Ces cellules se renouvelant très vite et efficacement, elles constituent un site très sensible à l'ypérite en cas d'exposition oculaire.

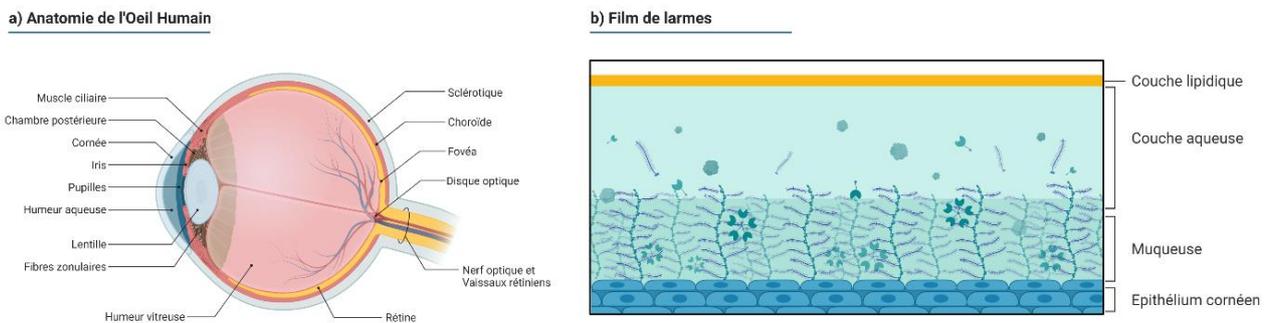


Figure 3 : a) Anatomie d'un œil humain b) Film de larmes

Les symptômes à court terme après une exposition aux vapeurs d'ypérite vont alors dépendre de la dose et du temps de contact. Pour des doses dites faibles (inférieures à 80 mg/min/m^3), une conjonctivite, des irritations et des larmoiements apparaissent chez la victime entre 4 à 24 h après exposition. Ces symptômes s'atténuent généralement après quelques jours.

Au-delà, des doses modérées (entre 100 et 200 mg/min/m^3) vont conduire à une kératoconjonctivite (œil sec), des douleurs oculaires, un œdème (infiltration de liquide séreux dans des cellules ou des tissus de l'œil), un gonflement de la cornée, une cécité temporaire, une photophobie, un chémosis (gonflement de la conjonctive), une blépharite (inflammation du bord des paupières) et une opacification de la cornée après 3 à 6 h d'exposition. En général, ces effets régressent après plusieurs semaines.

Dans le cas des doses sévères (supérieures à 200 mg/min/m^3), les atteintes suivantes sont recensées : un blépharospasme (contraction involontaire de paupières), une vision floue, des douleurs (ulcérations, uvéite), une nécrose de l'épithélium et une cécité temporaire voire définitive dans les cas les plus graves.⁴⁷

II.1.b. Toxicité cutanée

Les symptômes observés sur la peau vont principalement varier suivant le taux d'humidité, la température, l'hydratation de la peau et le site anatomique. En effet, plus la peau est fine, hydratée et chaude, plus son derme sera sujet à absorber l'agent vésicant. Ainsi, les zones comme le cou, les aisselles, le visage ou encore les organes génitaux sont extrêmement fragiles. Il est à noter que les

enfants ayant une peau plus fine que les adultes et étant plus petits sont également plus sensibles aux vapeurs qui s'accumulent près du sol. La dose létale percutanée pour 50 % d'une population donnée (DL_{50}) est estimée à environ 100 mg/kg soit 7 g pour un homme de 70 kg. Cette quantité, équivalente à une cuillère à café permettrait de recouvrir pratiquement 25 % de la surface corporelle d'un homme moyen. Il est à noter que l'ypérite, lipophile, pénètre l'épiderme en seulement 2 minutes et le derme en 30 minutes et cela de manière totalement indolore.⁵⁰ Une fois au contact de la peau 20 % de l'agent vésicant est absorbé et 80 % se volatilise (**Figure 4**).⁵¹

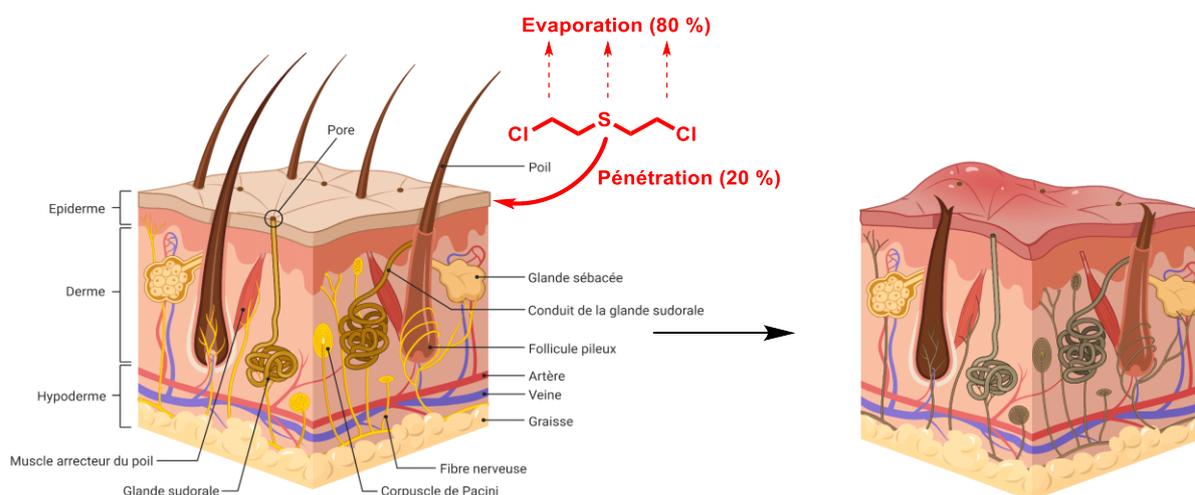


Figure 4 : Représentation sur une coupe cubique d'une brûlure cutanée à l'ypérite

Parmi la portion d'ypérite absorbée, 20 % réagit avec les biomolécules de la peau et 80 % pénètre le flux sanguin pour diffuser à travers les organes ou être éliminé par les fluides biologiques. Les premiers symptômes cutanés débutent par un prurit (démangeaisons) et la formation d'érythèmes (rougeurs) après 1 à 2 h pour des expositions faibles de l'ordre de $50 \text{ mg}\cdot\text{min}/\text{m}^3$ soit l'équivalent d'une application sous forme liquide de $0,1\text{-}1,0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Après 6 h, des œdèmes sous-cutanés peuvent apparaître ainsi qu'une légère pigmentation. Pour des doses allant jusqu'à $300 \text{ mg}\cdot\text{min}/\text{m}^3$, des sensations douloureuses de brûlures et de petites cloques (phlyctènes) feront leur apparition près des érythèmes 4-18 h après exposition témoignant de la séparation entre l'épiderme et le derme. Ces vésicules contiennent un liquide limpide qui va progressivement devenir jaune et visqueux. Plusieurs vésicules peuvent alors fusionner pour donner une grande bulle qui une fois rompue conduira à des ulcérations et des nécroses.

D'un point de vue histologique, les kératinocytes, présents au sein de la membrane basale sont pris pour cible et une séparation épiderme-derme en résulte. Pour des expositions plus massives (1000

⁵⁰ Poursaleh, Z.; Ghanei, M.; Babamahmoodi, F.; Izadi, M.; Harandi, A.A.; Emadi, S.E.; Taghavi, N-o-S.; Sayad-Nouri, S.S.; Emadi, S.N. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2012**, *31*, 241-249.

⁵¹ (a) Smith, K.J.; Hurst, C.G.; Moeller, R.B.; Skelton, H.G.; Sidell, F.R. *J. Am. Acad. Dermatol.* **1995**, *32*, 765-776 ; (b) Wormser, U. *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 164-167.

mg.min/m³) ceci conduira à des phlyctènes après 12-48 h. Ces dernières sont plus lentes à cicatriser (plusieurs semaines) et le risque d'infection est d'autant plus élevé pendant cette période.⁴⁴

II.1.c. Toxicité respiratoire

Les poumons figurent parmi les organes les plus touchés par les vapeurs d'ypérite. D'ailleurs, l'intoxication par inhalation est la cause majeure de décès qui apparaît seulement quelques semaines après l'exposition.⁵² Une fois les vapeurs inhalées, des lésions vont apparaître dès les voies aériennes supérieures. Les premiers signes d'intoxications légères sont caractéristiques d'irritations telles que pharyngite (inflammation du pharynx), rhinite (inflammation des voies nasales), laryngite (inflammation du larynx) et toux sèche. Ils évoluent ensuite en trachéobronchite (inflammation de la trachée et des bronches). Ces manifestations surviennent au moins 12 h après exposition (**Figure 5**).

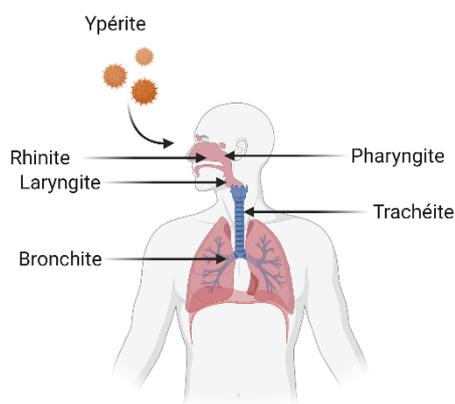


Figure 5 : Symptômes respiratoires de toxicité aiguë

Dans le cas d'intoxications fortes, les symptômes apparaissent entre 4 à 8 h après exposition et s'étendent aux voies respiratoires inférieures. Un œdème peut se former entraînant une dyspnée (gêne respiratoire) et une dysphonie (altération de la voix). L'épithélium respiratoire, première surface de contact avec des agents extérieurs au niveau des poumons va se nécroser entraînant des obstructions bronchiques. Les formes les plus graves pourront provoquer un œdème pulmonaire avec insuffisance respiratoire aiguë en seulement quelques heures.⁵³

⁵² (a) Balali-Mood, M.; Mousavi, S.; Balali-Mood, B. *Emerg. Health Threats J.* **2008**, *1*, 7068 ; (b) Balali-Mood, M.; Balali-Mood, B. *J. Med. Sci.* **2009**, *34*, 155-171.

⁵³ Sadeghi, S.; Tapak, M.; Ghazanfari, T.; Mosaffa, N. *Toxicol. Lett.* **2020**, *333*, 115-129.

II.1.d. Toxicité systémique

Parmi les 20 % d'ypérite absorbés dans le corps, 80 à 90 % se retrouvent dans la circulation sanguine et peuvent donc atteindre tout type d'organe. Les effets qui en découlent peuvent être très variés et la toxicité systémique en est d'autant plus grande (**Figure 6**).⁵⁴

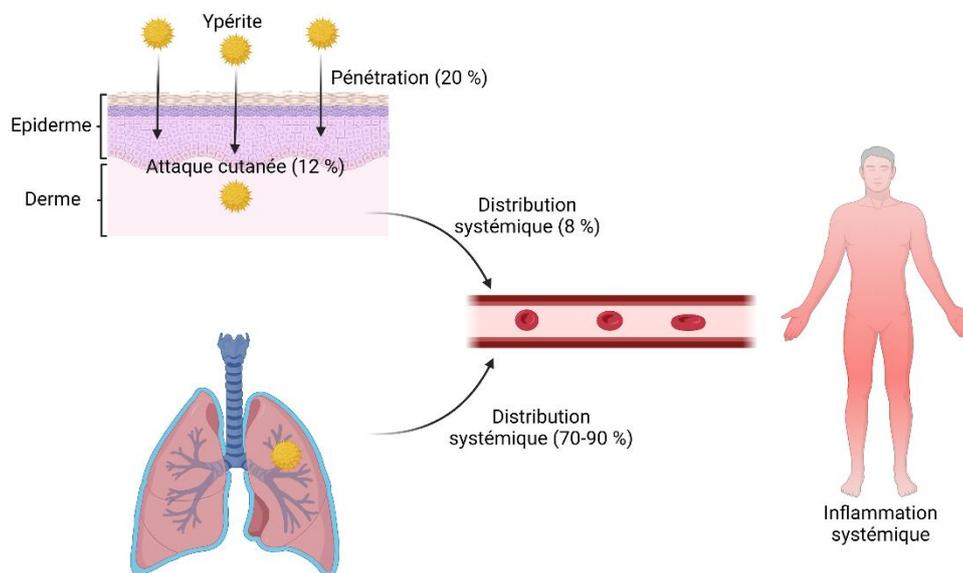


Figure 6 : Inflammation systémique après intoxication cutanée et/ou pulmonaire par l'ypérite⁵⁵

Le système gastro-intestinal va subir des dégâts qui vont se manifester sous la forme de vomissements, de nausées et de douleurs abdominales quelques dizaines d'heures après exposition.⁵⁶ La moelle peut également être affectée. Des cas de leucopénie (diminution du nombre de globules blancs), de thrombocytopénie (baisse du nombre de plaquettes) et quelquefois d'anémie sont recensés.⁵⁷

L'atteinte du système nerveux se traduit quant à elle par un affaiblissement des liaisons nerveuses pouvant entraîner de l'anxiété, des troubles de la mémoire ou encore des maux de tête.⁵⁸

⁵⁴ (a) Cullumbine, H. *Nature* **1947**, *159*, 151-153 ; (b) Chilcott, R.P.; Jenner, J.; Carrick, W.; Hotchkiss, S.A.M.; Rice, P. *J. Appl. Toxicol.* **2000**, *20*, 349-355 ; (c) Meng, W.Q.; Zhang, H.; Xiao, L.; Chen, X.T.; Sun, M.X.; Xu, Q.Q.; Cao, Y.B.; Xiao, K.; Li, Z.J. *Sens. Actuators B Chem.* **2019**, *296*.

⁵⁵ Etemad, L.; Moshiri, M.; Balali-Mood, M. *Cri. Rev. Toxicol.* **2019**, *49*, 191-214.

⁵⁶ Eisenmenger, W.; Drash, G.; von Clarmann, M.; Kretschmer, E.; Roider, G. *J. Forensic. Sci.* **1991**, *36*, 1688-1698.

⁵⁷ Bodansky, O. *Science* **1945**, *102*, 517-523.

⁵⁸ Gros-Desormeaux, F.; Beracochea, D.; Dorandeu, F.; Pierard, C. *Toxicol. Lett.* **2018**, *293*, 73-76.

Enfin, des lésions rénales sont également répertoriées et des conséquences sur le système reproducteur ont aussi été observées. Les lésions génitales ainsi que la baisse de la qualité et de la quantité des spermatozoïdes peuvent être citées.⁵⁹

II.2. Effets à long terme

Le suivi des patients exposés à l'ypérite est nécessaire sur le long terme. En effet, une fois la phase de toxicité aiguë passée, des symptômes peuvent faire leur apparition après des mois voire même des années. Même si l'ypérite est peu létale sur l'Homme, elle est fortement incapacitante. De nos jours, des milliers de soldats iraniens occupent encore les hôpitaux, plus de 30 ans après leur exposition.

II.2.a. Symptomatologie oculaire à long terme

Environ 60 % des victimes connaissent une résolution complète de leurs symptômes après une exposition faible ou moyenne. Les autres vont développer une kératopathie au gaz moutarde (KGM) chronique ou latente. Les pathologies sont maintenant bien connues mais leurs origines échappent encore aux scientifiques.

Les manifestations cliniques chroniques se placent dans la continuité des manifestations aiguës avec une résolution incomplète. Elles vont se caractériser le plus souvent par des défauts épithéliaux persistants dus notamment à une diminution de la production des cellules souches limbiques responsables du renouvellement de l'épithélium cornéen. Des vaisseaux sanguins peuvent se former au sein du stroma cornéen de nature avasculaire, c'est la néovascularisation cornéenne. Des sensations récurrentes d'œil sec, une opacification de la cornée et une conjonctivite chronique sont fréquentes. Dans certains cas, une ischémie pouvant se compliquer en nécrose vasculaire peut être observée. Les victimes les plus exposées auront tendance à souffrir d'ulcérations entraînant des déficits visuels pouvant aller jusqu'à la cécité. D'autres patients auront un semblant de résolution après quelques semaines mais la résurgence de symptômes a été rapportée jusqu'à 40 ans après exposition. Cette manifestation latente laisse place au larmoiement, la photophobie, la sécheresse oculaire, la sensation de corps étranger, un œdème cornéen, l'opacification cornéenne (dépôt de lipides et minéraux) et des défauts épithéliaux.⁶⁰

⁵⁹ Panahi, Y.; Ghanei, M.; Ghabili, K.; Ansarin, K.; Aslanabadi, S.; Poursaleh, Z.; Golzari, S.E.J.; Etemadi, J.; Khalili, M.; Shoja, M.M. *Urol. J.* **2013**, *10*, 837-846.

⁶⁰ Fuchs, A.; Giuliano, E.A.; Sinha, N.R.; Mohan, R.R. *Toxicol. Lett.* **2021**, *343*,21-27.

II.2.b. Symptomatologie cutanée à long terme

La peau lésée par l'ypérite gardera également des séquelles plus ou moins invalidantes. Les lésions telles que l'érythème et les phlyctènes peuvent évoluer en nécrose ou en cicatrice après 10 à 50 jours. Des mois voire des années après, cela peut conduire à des anomalies pigmentaires dues à des variations du taux de mélanocytes. Une peau avec un taux de mélanocytes en baisse connaît une hypopigmentation et à l'inverse l'activation des mélanocytes par une inflammation conduit à une hyperpigmentation (souvent angiome rouge). La peau peut aussi être asséchée (xérose), ce qui peut entraîner à nouveau un prurit (démangeaisons) et de l'eczéma. Des sensations de douleurs peuvent se manifester avec des ulcérations chroniques.⁶¹ Bien que l'ypérite soit connue pour ses propriétés carcinogènes, peu de cancers de la peau ont été recensés après une exposition.⁶²

II.2.c. Symptomatologies respiratoires à long terme

La symptomatologie chronique pulmonaire fait souvent suite aux symptômes aigus et persiste sans interruption. Les effets peuvent être classés selon deux types :

- Maladies obstructives : expectoration (expulsion des sécrétions accumulées), dyspnée (difficultés à respirer), toux, chute de la capacité pulmonaire (volume d'air inspiré), bronchite, bronchectasie (dilatation et destruction des bronches), emphysème (provoquée par une destruction progressive des alvéoles pulmonaires).
- Maladies restrictives : Fibrose pulmonaire (inflammation et cicatrisation sévères des poumons), infections, tuberculose, asthme, cancers (**Figure 7**).⁶³

⁶¹ Ghabili, K.; Agutter, P.S.; Ghanei, M.; Ansarin, K.; Shoja, M.M. *J. Appl. Toxicol.* **2010**, *30*, 627-643.

⁶² Firooz, A.; Sadr, B.; Davoudi, S.M.; Nassiri-Kashani, M.; Panahi, Y.; Dowlati, Y.; *Cuta. Ocul. Toxicol.* **2011**, *30*, 64-68 ; (b) Emadi, S.N.; Hosseini-Khalili, A.; Soroush, M.R.; Davoodi, S.M.; Aghamiri, S.S. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2008**, *69*, 574-576 ; (c) Emadi, S.N.; Kaffashi, M.; Poursaleh, Z.; Akhavan-Moghaddam, J.; Soroush, M.R.; Emadi, S.E.; Taghavi, N-o-S. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2011**, *30*, 170-174.

⁶³ Malaviya, R.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Lett.* **2020**, *319*, 168-174.

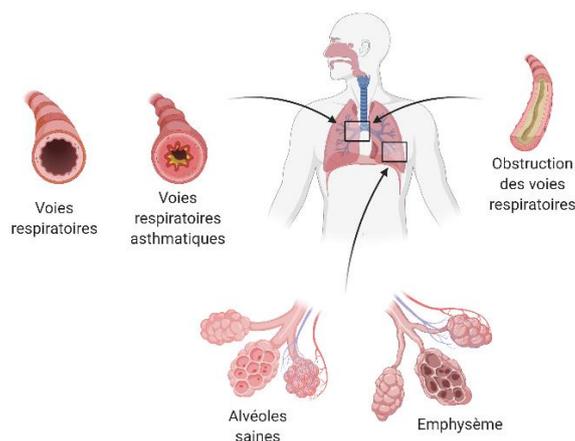


Figure 7 : Quelques symptômes de toxicité pulmonaire chronique

II.2.d. Symptomatologie systémique à long terme

Des maladies rénales peuvent se développer. Des lésions gonadiques voire même une infertilité masculine sont également recensées. Un risque cancérigène sur le système génito-urinaire est également à noter. D'autre part des irrégularités cardiaques ainsi qu'au niveau du système nerveux peuvent se développer à long terme. Un élargissement des ventricules, des arythmies cardiaques et parfois même des convulsions ont été rapportés. Sur le plan gastro-intestinal, une inflammation sévère de l'œsophage peut apparaître plusieurs années après exposition.⁶¹

L'ypérite agit de manière insidieuse sur un bon nombre de cibles biologiques et les effets à long terme sur l'Homme en font une arme fortement incapacitante. Ses propriétés mutagènes, cancérigènes et reprotoxiques en font une menace supplémentaire notamment pour la descendance des victimes. En effet, des cas de malformations à la naissance ont été décrits sur des enfants de soldats exposés à l'ypérite (microcéphalie, défauts cardiaques...).⁶⁴

II.3. Mécanisme d'action de l'ypérite

À l'échelle moléculaire, l'ypérite pénètre aisément les premières barrières par diffusion grâce à son caractère lipophile ($\log P \sim 2$). Pour rappel, elle passe à travers l'épiderme en seulement 2 minutes et 30 minutes pour le derme. L'ion épisulfonium **12** est ensuite formé par substitution nucléophile intramoléculaire. L'atome de soufre attaque un carbone en α d'un chlore pour conduire au cation

⁶⁴ Abolghasemi, H.; Radfar, M.H.; Rambod, M.; Salehi, P.; Ghofrani, H.; Soroush, M.R.; Khademolhosseini, S.M.; Kavehmanesh, Z.; Joffres, M.; Burkle Jr, F.M.; Mills, E.J. *Confl. Health* **2010**, *4*, 1-6.

sulfonium extrêmement réactif. Le départ du Cl^- est favorisé au contact de l'eau.⁶⁵ A l'origine, l'acide chlorhydrique ainsi généré était vu comme la cause principale de la toxicité.⁶⁶ En effet, le pH de la peau initialement à 5 diminue sous l'effet de la production d' HCl et des nécroses cellulaires et tissulaires en résultent mais ce n'est pas la raison principale de sa toxicité.⁶⁷

Le fort caractère électrophile de l'ion épisulfonium **12** en fait un agent d'alkylation puissant vis-à-vis de multiples molécules biologiques (ADN, ARN, protéines, lipides, glutathion) en réagissant avec leurs fonctions nucléophiles thiols, alcools, amines. Cette réactivité de l'ypérite avec les molécules environnantes est l'élément clé de la compréhension des mécanismes mis en jeu et qui induisent des toxicités multifactorielles (*Schéma 3*).⁶⁸

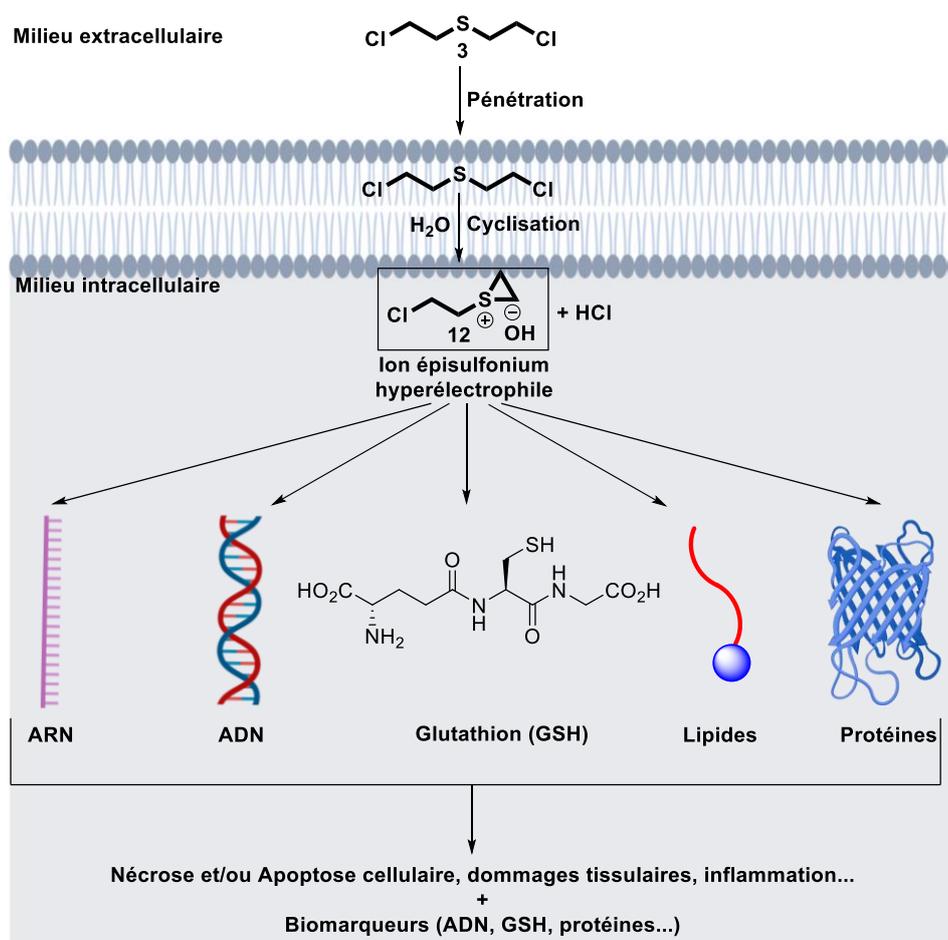


Schéma 3 : Cibles biologiques alkylées par l'ion épisulfonium⁶⁹

⁶⁵ Gilman, A.; Philips, F.S. *Science* **1946**, *103*, 409-415.

⁶⁶ Lynch, V.; Smith, H.; Marshall, E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1918**, *12*, 265-290.

⁶⁷ Peters, R.A.; Walker, E. *Biochem. J.* **1923**, *17*, 260-276.

⁶⁸ Roberts, J.J.; Wawrick, G.P. *Biochem. Pharmacol.* **1963**, *12*, 1329-1334.

⁶⁹ Adapté de la thèse : Batal, M. Etude de la formation et de la réparation des dommages à l'ADN causés par l'ypérite chez l'animal Ph.D. thesis, université de Grenoble, 2013.

Ces études s'effectuent notamment par le dosage de métabolites formés entre les biomolécules et l'ypérite, appelés adduits. Parmi eux, il existe des adduits issus de l'alkylation des protéines et de l'ADN par l'ypérite qui seront détaillés par la suite. Le thiodiglycol **2** produit d'hydrolyse et le sulfoxyde de thiodiglycol **22** produit d'oxydation sont également des indicateurs de l'intoxication. Cependant, comme ils ne sont pas spécifiques d'une intoxication à l'ypérite, ils constituent de mauvais biomarqueurs.⁷⁰ Enfin, les réactions avec le glutathion conduisent à la formation de plusieurs adduits qui seront précisés ultérieurement. Les métabolites issus du clivage par β -lyase comme le SBMTE **23** et SBMSE **24** ne seront pas détaillés au vu de leur faible persistance dans les milieux biologiques (*Figure 8*).⁷¹

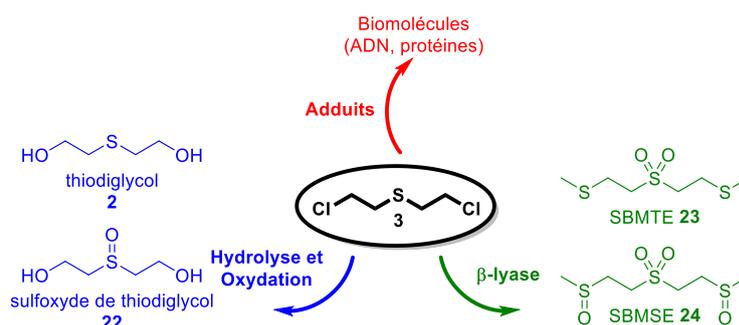


Figure 8 : Biomarqueurs à l'issue de l'action *in vivo* de l'ypérite

II.3.a. Le CEES, un analogue de l'ypérite

Depuis la CIAC, toute activité impliquant l'ypérite est formellement proscrite. Seule une habilitation par l'OIAC (Organisation pour l'Interdiction des Armes Chimiques) permet sa synthèse pour une utilisation en recherche. La DGA (Direction Générale de l'Armement) est le seul organisme français autorisé à en produire. Elle fournit notamment l'IRBA (Institut de Recherche Biomédicale des Armées) qui est habilité à utiliser l'ypérite pure au sein du laboratoire de toxicologie. En raison de cette surveillance très rigoureuse de l'agent vésicant et du cercle fermé autorisé à le manipuler, des analogues sont utilisés pour évaluer les effets toxiques de l'ypérite mais également l'efficacité thérapeutique de molécules candidates et/ou de formes galéniques innovantes.

L'analogue le plus commun est le sulfure de 2-chloroéthyle éther (CEES) **25**, ou héli-moutarde dont la différence réside dans la perte d'un atome de chlore. Il est commercialement disponible en solution dans l'acétone et possède des propriétés physico-chimiques plus ou moins semblables à l'ypérite hormis sa volatilité plus importante. Il peut être utilisé sous forme liquide mais aussi gazeuse pour se

⁷⁰ Black, R.M. *J. Anal. Toxicol.* **2008**, 32, 2-9.

⁷¹ Xu, H.; Nie, Z.; Zhang, Y.; Li, C.; Yue, L.; Yang, W.; Chen, J.; Dong, Y.; Liu, Q.; Lin, Y.; Wu, B.; Feng, J.; Li, H.; Guo, L.; Xie, J. *Toxicol. Reports* **2014**, 1, 533-543.

rapprocher de la réalité du terrain. Les utilisations sous forme gazeuse permettent une meilleure définition de la zone exposée et donc des essais reproductibles.

Une récente étude menée par l'unité Vésicants de l'IRBA sous la direction du Pharmacien en chef (colonel) C. Piérard a confirmé la pertinence du CEES comme analogue de l'ypérite.⁷² Même si les dommages d'une exposition à l'ypérite apparaissent plus tôt que ceux dus au CEES, les conséquences à terme sont les mêmes. La toxicité du CEES étant légèrement inférieure à celle de l'ypérite soit 9,7 mg/kg par voie percutanée, une application par vapeur saturante durant 30 minutes équivaut à 8 min d'application d'ypérite. Nous pouvons retenir que le CEES provoque plus de lésions cutanées en surface. Etant moins lipophile, il pénètre moins facilement la peau et a plus tendance à se disperser en surface. *In vivo*, les niveaux d'inflammations sont comparables et la réépithélialisation est également tardive. Il est à noter que d'autres analogues de l'ypérite ont été rapportés notamment les moutardes à l'azote, le sulfure de 2-chlorométhyle éther (SCME) **26**, l'adipate de diméthyle **27**, de diéthyle **28** et d'autres encore (*Figure 9*).⁷³

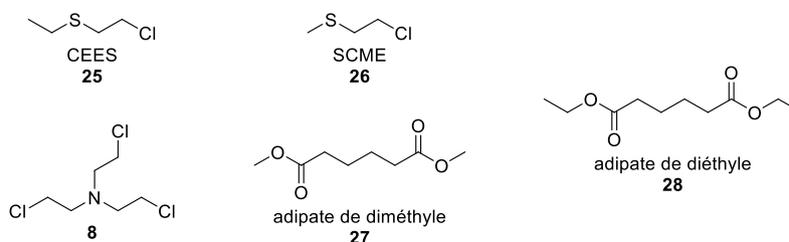


Figure 9 : Exemples d'analogues structuraux de l'ypérite

Ces analogues et plus particulièrement le CEES sont utilisés par les laboratoires non habilités à l'utilisation de l'ypérite, en particulier les laboratoires universitaires. Les études qui en découlent permettent alors une extrapolation de la toxicité de l'ypérite *in vivo*.

II.3.b. Effets de l'ypérite sur l'ADN

Le mécanisme d'action cellulaire et moléculaire de l'ypérite est complexe et encore mal connu mais il est maintenant admis que la cytotoxicité de l'ypérite est largement due à ses propriétés alkylantes. L'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) qui contient l'information génétique est nécessaire pour la vie, ses caractéristiques seront plus amplement décrites par la suite. Sous l'action de l'ypérite, sa structure 3D est abîmée altérant sa capacité à réaliser sa fonction principale, le transfert de l'information génétique. Au niveau moléculaire, l'ion épisulfonium réagit majoritairement avec les guanines en

⁷² Gros-Desormeaux, F.; Caffin, F.; Igert, A.; Guatto, N.; Piérard, C. *Toxicol. Lett.* **2022**, *361*, 21-28.

⁷³ Bartelt-Hunt, S.L.; Knappe, D.R.U.; Barlaz, M.A. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2008**, *38*, 112-136.

position N-7 (61 %).⁷⁴ Il peut également réagir avec l'adénine en position N-3 (16 %) et des adduits de bis-guanine particulièrement toxiques car difficiles à réparer⁷⁵ se forment également (15 %) par réticulation intramoléculaire ou intermoléculaire (*Schéma 4*).⁷⁶ L'alkylation des azotes conduit à divers ions iminiums. La charge sur la nucléobase fragilise la liaison glycosidique qui finit par être clivée pour stabiliser la nucléobase, c'est le processus de dépurination.⁷⁷ Ce phénomène est à l'origine des mutations et fait donc de l'ypérite un poison radiomimétique.

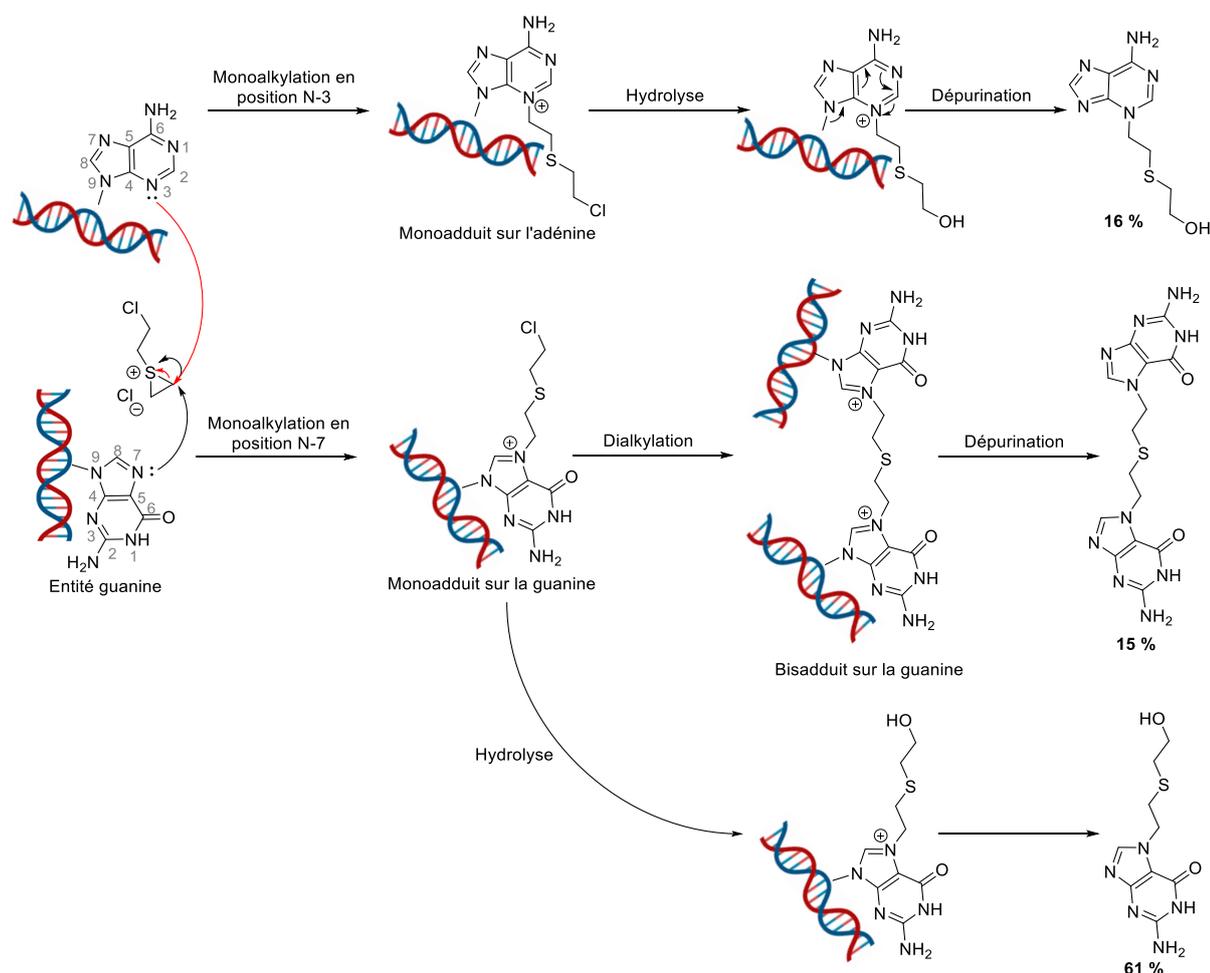


Schéma 4 : Alkylation de l'ADN

Une étude menée par l'équipe du Dr. T. Douki au CEA (Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Renouvelables) a souligné l'omniprésence de ces adduits de l'ypérite 4 h après exposition sur souris sans poils SKH-1. Après une application cutanée d'ypérite avec des doses correspondantes aux brûlures du 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} degrés, respectivement 2, 6 et 60 mg/kg⁷⁸, les auteurs ont observé les

⁷⁴ Niut, T.; Matijasevic, Z.; Austin-Ritchie, P.; Sterling, A.; Ludlum, D.B. *Chemico-Biol. Interact.* **1996**, *100*, 77-84.

⁷⁵ Noll, D.M.; Mason, T.M.; Miller, P.S. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 277-301.

⁷⁶ Jowsey, P.A.; Williams, F.M.; Blain, P.G. *Toxicol. Lett.* **2012**, *209*, 1-10.

⁷⁷ Gates, K.S.; Nooner, T.; Dutta, S. *Chem. Res. Toxicol.* **2004**, *17*, 839-856.

⁷⁸ Batal, M.; Boudry, I.; Mouret, S.; Wartelle, J.; Emorine, S.; Bertoni, M.; Bérard, I.; Cléry-Barraud, C.; Douki, T. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2013**, *273*, 644-650.

adduits issus de l'ADN dans le cerveau, les poumons, les reins, le foie et la rate. Ces adduits se sont montrés très persistants, présents après 2 semaines pour les doses de 2 mg/kg et 6 mg/kg et après 3 semaines pour une dose de 60 mg/kg.⁷⁹ De plus, le monoadduit de guanine, plus persistant est encore présent après 1 mois dans l'urine et 2 semaines dans le sang.⁷¹ Les adduits d'ADN apparaissent donc comme des biomarqueurs d'intérêts dans le cadre d'une intoxication à l'ypérite. Il est à noter que l'observation de ces adduits après seulement 4 h dans chaque organe, excepté aux deux doses les plus faibles, met en avant une diffusion efficace de l'agent vésicant qui peut ainsi être détecté avant les effets macroscopiques.

Après alkylation de l'ADN, les endonucléases (enzymes responsables du clivage des phosphodiester) sont activées pour casser les sites ne présentant plus de purines (guanine et adénine). De ce fait, l'altération du matériel génétique conduit à une activation des poly(Adénosine DiPhosphate-Ribose) polymérase (PARPs) dont la fonction principale est de restituer la structure de l'ADN bicaténaire⁷⁶ en utilisant le NAD⁺ (nicotinamide adénine diphosphate) et plusieurs protéines. Ainsi une suractivation des PARPs peut induire une déplétion en NAD⁺ mais également bloquer l'activité cellulaire avec l'accumulation de toutes les protéines. La perte en NAD⁺ est estimée à 75 % de la réserve à disposition.⁸⁰ En fin de processus, les PARPs sont principalement dégradées par les PARGs (poly(Adénosine DiPhosphate-Ribose) glycosidase) pour mener la cellule à l'apoptose et/ou la nécrose *via* également une perte d'énergie avec l'utilisation massive d'ATP (Adénosine TriPhosphate) (**Figure 10**).⁸¹

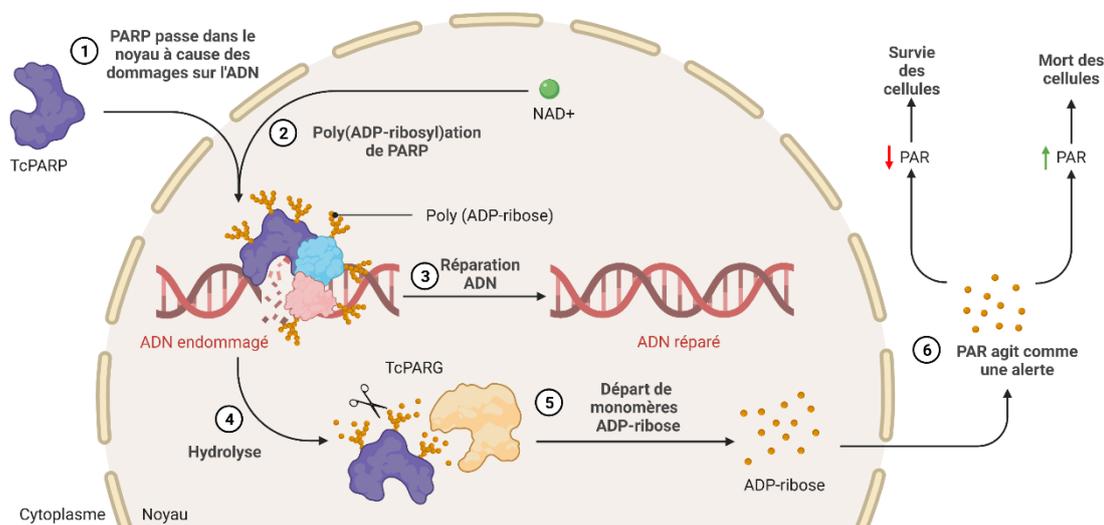


Figure 10 : Mode d'action des PARPs

⁷⁹ Batal, M.; Boudry, I.; Mouret, S.; Cléry-Barraud, C.; Wartelle, J.; Bézard, I.; Douki, T. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2014**, 278, 39-44.

⁸⁰ Debiak, M.; Kehe, K.; Burkle, A. *Toxicol.* **2009**, 263, 20-25.

⁸¹ Kehe, K.; Raithel, K.; Kreppel, H.; Jochum, M.; Worek, F.; Thiermann, H. *Arch. Toxicol.* **2008**, 82, 461-470.

Il en résulte une inhibition de la glycolyse qui conduit à la production de protéases. Le résultat est une nécrose cellulaire associée à une réaction inflammatoire.⁴⁷ Il est supposé que les dommages créés sur l'ADN sont l'origine majeure de la toxicité à court et long terme de l'ypérite et qu'ils augmentent la probabilité de cancer chez l'individu.⁶¹

II.3.c. Effets de l'ypérite sur les protéines

En parallèle, les protéines, riches en fonctions nucléophiles : thiols, thioéthers, carboxylates, imidazoles, hydroxyles et amines réagissent elles aussi avec l'ion épisulfonium qui finit par les détériorer. Il s'ensuit alors des modifications de leurs fonctions notamment avec une dégradation du cytosquelette par alkylation de la kératine.⁸² La laminine 332, une protéine d'ancrage de la membrane basale de l'épiderme se voit également dégradée. Cela empêche l'adhésion des kératinocytes (cellules majoritaires de l'épiderme) au niveau de la jonction dermo-épidermique.⁸³

L'ypérite forme également des adduits avec les acides aminés permettant ainsi son traçage. La valine de l'hémoglobine est notamment connue pour réagir avec l'agent vésicant d'un point de vue chimique conduisant à un adduit capable d'être détecté pendant 3 mois après l'exposition. Il constitue ainsi un biomarqueur de choix d'une intoxication spécifique à l'ypérite puisque c'est le plus persistant.⁷¹

Les connexines, des protéines ubiquitaires constitutives des « *gap junctions* » qui permettent des échanges de métabolites et de médiateurs d'inflammation⁸⁴ entre cellules, sont également touchées. La connexine Cx-43, la plus présente au sein de la peau joue un rôle primordial dans la cicatrisation. Lors d'une lésion, son taux chute ce qui empêche toute transmission de la réponse inflammatoire entre chaque cellule. Par conséquent, la réépithélialisation des tissus cutanés est altérée.⁸⁵

Le glutathion réduit (GSH), molécule omniprésente dans les cellules humaines est une cible de l'agent vésicant. Le glutathion permet notamment de réguler l'équilibre d'oxydo-réduction au niveau du cytoplasme en permettant les échanges d'énergie au sein de la cellule. Le GSH est d'ailleurs le composé antioxydant de faible poids moléculaire le plus important au sein des cellules. Il intervient également comme agent détoxifiant vis-à-vis d'agents extérieurs tels que des métaux ou l'ypérite dans le cas présent. C'est la fonction thiol nucléophile qui réagit avec l'ion épisulfonium en le « capturant », c'est l'effet « *scavenger* ». Plusieurs études ont mis en évidence la formation d'adduits issus de la

⁸² Byrne, M.P.; Broomfield, C.A. *J. Protein Chem.* **1996**, *15*, 131-136.

⁸³ (a) Rousselle, P.; Lunstrum, G.P.; Keene, D.R.; Burgeson, R.E. *J. Cell. Biol.* **1991**, *114*, 567-576 ; (b) Smith, K.J.; Graham, J.S.; Hamilton, T.A.; Skelton, H.G.; Petrali, J.P.; Hurst, C.G. *J. Dermatol. Sci.* **1997**, *15*, 173-182 ; (c) Smith, K.J.; Smith, W.J.; Hamilton, T.; Skelton, H.G.; Graham, J.S.; Okerberg, C.; Moeller, R.; Hackley, Jr.B.E. *Am. J. Dermatopathol.* **1998**, *20*, 22-28 ; (d) Greenberg, S.; Kamath, P.; Petrali, J.; Hamilton, T.; Garfield, J. ; Garlick, J.A. *Toxicol. Sci.* **2006**, *90*, 549-557.

⁸⁴ Meda, P. *Médecine/sciences* **1996**, *12*, 8-9.

⁸⁵ Wong, P.; Tan, T.; Chan, C.; Laxton, V.; Chan, Y.W.; Liu, T.; Wong, W.T.; Tse, G. *Front. Physiol.* **2016**, *7*, 596.

réaction entre le glutathion et l'agent vésicant. Des études menées en utilisant le CEES ont mis en évidence la formation de l'adduit CEES-GSH **29** indiquant la réactivité de cet analogue de l'ypérite.⁸⁶ Les adduits tels que la cystéine liée au GSH (GSH-cystéine **30**) ou encore la *N*-acétyl-cystéine (NAC) liée au GSH (GSH-NAC **31**) retrouvés en grande quantité notamment dans le plasma, sont issus de la voie métabolique du mercapturate.⁸⁷ Malgré les faibles quantités générées de métabolite **30** et des difficultés à détecter le composé **31**, le CEES-GSH est, quant à lui, facile à détecter et présente en quantités suffisantes pour la détection, ce qui en fait un bon biomarqueur (*Schéma 5*).⁸⁸

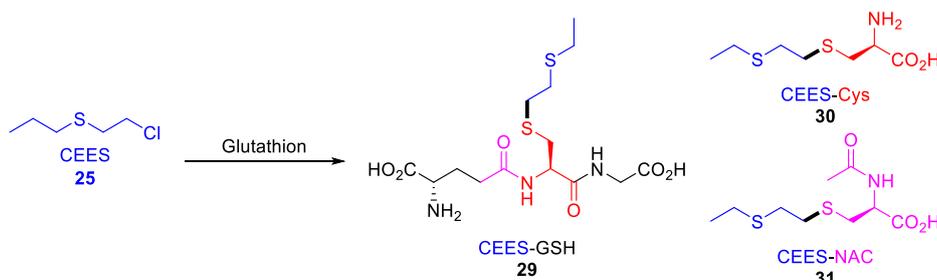


Schéma 5 : Effet « scavenger » du GSH et biomarqueurs associés

Dans le cas d'une intoxication à l'ypérite (mono et bis-alkylant), une étude du Dr. T. Douki et de son équipe publiée en 2015 a rapporté un autre bis adduit. Confirmée par RMN, sa structure révèle l'alkylation du GSH puis de la guanine avec l'ypérite. Cet adduit mixte **32** a été observé dans des quantités similaires au bis-adduit de guanine et persiste pendant 2 semaines dans le cerveau, les poumons, la rate, la peau et les reins après une application cutanée sur des souris sans poils SKH-1 (*Schéma 6*).⁸⁹ Cette observation confirme les suspicions d'effets mutagènes causés par l'ypérite.

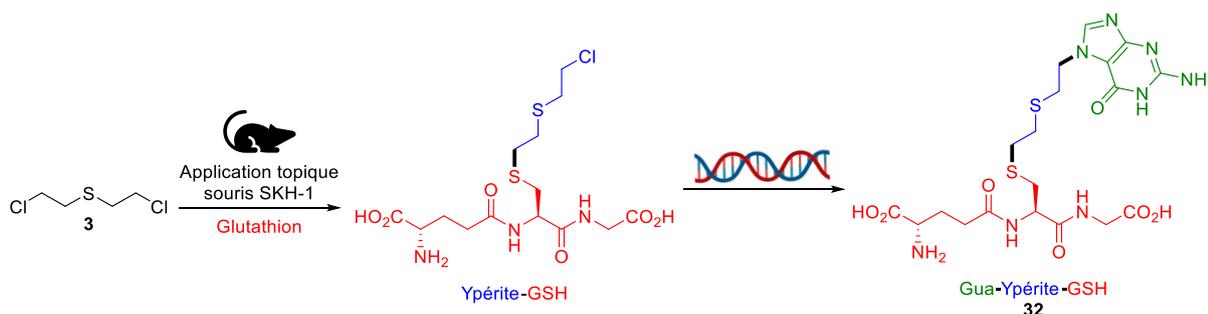


Schéma 6 : Formation de l'adduit mixte guanine-éthylthioéthyl-glutathion

⁸⁶ Abel, E.L.; Bubel J.D.; Simper, M.S.; Powell, L.; McCellan, S.A.; Andreeff, M.; MacLeod, M.C.; DiGiovanni, J. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2011**, 255, 176-183.

⁸⁷ Nobakht, B.F.; Aliannejad, R.; Rezaei-Tavirani, M.; Arefi Oskouie, A.; Naseri, M.T.; Parastar, H.; Aliakbarzadeh, G.; Fathi, F.; Taheri, S. *Biomarkers* **2016**, 21, 479-489.

⁸⁸ Roser, M.; Béal, D.; Eldin, C.; Gudimard, L.; Caffin, F.; Gros-Desormeaux, F.; Léonço, D.; Junot, C.; Piérard, C.; Douki, T. *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, 413, 1337-1351.

⁸⁹ Batal, M.; Rebelo-Moreira, S.; Hamon, N.; Bayle, P.-A.; Mouret, S.; Cléry-Barraud, C.; Boudry, I.; Douki, T. *Toxicol. Lett.* **2015**, 233, 1-7.

Le glutathion, impliqué dans la capture d'ypérite diminue alors entraînant une rupture de l'équilibre Ox/Red des cellules et une accumulation des métabolites oxydés notamment OH[•] ou encore O₂^{•-}. La production et l'accumulation de ces espèces radicalaires dites ROS (« *Reactive Oxygen Species* ») affecte les réactions cellulaires et les macromolécules comme l'ADN, les protéines (oxydation) et les lipides (peroxydation). Le stress oxydant les endommage et induit des lésions ainsi que des nécroses cellulaires.

D'autre part la déplétion du glutathion et l'oxydation des fonctions thiols finit par inactiver les protéines.⁹⁰ Or ces dernières jouent un rôle primordial dans l'homéostasie calcique (mécanismes contrôlant la concentration en calcium extracellulaire) vitale notamment pour les reins, les os et l'intestin.⁹¹ En effet, les fonctions thiols des protéines jouent le rôle de pompes qui vont « extraire » le calcium stocké dans les cellules. Lorsqu'elles ne jouent plus leur rôle correctement, le calcium s'accumule dans le cytosol (liquide cytoplasmique) augmentant l'activité de protéases et de phospholipases qui va mener à la dégradation des protéines intracellulaires (dénaturation des enzymes) et de l'ADN et conduire à une nécrose cellulaire.⁶¹

Les lipides membranaires subissent, quant à eux une peroxydation conduisant à la formation de radicaux libres. Plusieurs modifications s'enchaînent ainsi, aboutissant à la perte d'intégrité des membranes, à l'hydrolyse des phospholipides et à la diminution des défenses cellulaires contre le stress oxydatif.⁹²

II.3.d. Ypérite, stress oxydatif et inflammation

D'après des études récentes, le stress oxydatif et l'inflammation auraient un rôle déterminant dans les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu par l'ypérite. En effet, il est estimé que l'ypérite est éliminée en majeure partie (environ 90 %) par l'organisme sans métabolisation mais la part restante est métabolisée par les acteurs cités précédemment (glutathion, ADN, protéines...).⁹³ Ces réactions induisent des réponses inflammatoires impliquant l'activation de médiateurs tels que les interleukines et les protéines cationiques dans les neutrophiles qui constituent la première ligne de défense de l'organisme.⁹⁴ Des réactions en chaîne se produisent notamment au niveau des cellules épithéliales conduisant à la nécrose des cellules qui libèrent alors leur contenu et sont exposées à de

⁹⁰ Potter, A.L. *Br. J. Ind. Med.* **1950**, 7, 125-130.

⁹¹ Orrenius, S.; Nicotera, P. *Arch. Toxicol. Suppl.* **1987**, 11, 11-19.

⁹² Nourani, M.R.; Hosseini, H.M.; Jamalkandi, S.A.; Fooladi, A.A.I. *J. Receptors Signal Transduction* **2017**, 37, 200-216.

⁹³ Dayton, P.G.; Sicam, L.E.; Landrau, M.; Burns, J.J. *Pharmacol.* **1961**, 7, 65-74.

⁹⁴ Sacca, R.; Cuff, C.A.; Ruddle, N.H. *Curr. Opin. Immunol.* **1997**, 9, 851-857.

potentielles infections amenant des réponses inflammatoires sévères.⁹⁵ L'expression de protéines comme les interleukines ou encore le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) démarre alors.⁹⁶

Le TNF- α a plusieurs effets dont la nécrose cellulaire ou encore le déclenchement de réactions en cascade menant à la formation de plusieurs espèces dont des espèces réactives azotées appelées RNS (« *Reactive Nitrogen Species* ») telles que des oxydants comme l'oxyde nitrique et le peroxydant augmentant ainsi le stress oxydant et l'inflammation.⁹⁷

En parallèle, l'action simultanée de l'interleukine 6 (IL-6) et du TNF- α permet l'infiltration des neutrophiles (source extracellulaire majeure de ROS) et entraîne donc une stimulation supplémentaire du stress oxydant.⁹⁸ Dans le même temps, les métalloprotéinases matricielles (MMPs) notamment la MMP-9, accentuent la réponse inflammatoire et les dommages tissulaires par leur expression.⁹⁹ La production de ces composés a de multiples conséquences dont l'apoptose des cellules, des dommages tissulaires importants, la dégradation de biomolécules, l'atténuation des transferts électroniques effectués par les mitochondries (source intracellulaire majeure de RNS) aboutissant finalement à une mort cellulaire.¹⁰⁰ Il est à noter que la déplétion en GSH, neutrophiles et mitochondries conduit le système à une chute brutale d'antioxydants aggravant d'autant plus le stress oxydant et l'inflammation.

Les effets cytotoxiques, cytostatiques et mutagènes de l'ypérite ont permis de la classer dans le groupe des molécules radiomimétiques. Malgré toutes les études effectuées sur le mode d'action de l'ypérite *in vivo*, plusieurs hypothèses se contredisent et les liens entre chaque mécanisme restent encore peu clairs. Il reste à définir précisément l'impact de l'ypérite sur chaque biomolécule et les conséquences qui s'ensuivent. Le manque de données et de précisions sur les effets de l'ypérite souligne un réel besoin de prise en charge des victimes. Contrairement à la Lewisite pour laquelle il existe un antidote (le « *British Anti-Lewisite* » ou BAL chélateur de métaux lourds¹⁰¹), l'ypérite n'a toujours pas d'antidote à l'heure actuelle.

⁹⁵ Kehe, K.; Thiermann, H.; Balszuweit, F. *Toxicol.* **2009**, *263*, 3-8.

⁹⁶ Pohanka, M. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 742-748.

⁹⁷ Sunil, V.R.; Patel, K.J.; Mainelis, G.; Turpin, B.J.; Ridgely, S.; Laumbach, R.J.; Kipen, H.M.; Nazarenko, Y.; Veleparambil, M.; Gow, A.J.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2009**, *241*, 283-293.

⁹⁸ (a) Smith, R.E.; Strieter, R.M.; Phan, S.H.; Lukacs, N.; Kunkel, S.L. *J. Leukoc. Biol.* **1998**, *64*, 528-536 ; (b) Rainger, G.E.; Rowley, A.F.; Nash, G.B. *Blood*, **1998**, *92*, 4819-4827.

⁹⁹ Sunil, V.R.; Shen, J.; Patel-Vayas, K.; Gow, A.J.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2012**, *261*, 22-30.

¹⁰⁰ Gould, N.S.; White, C.W.; Day, B.J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *328*, 732-739.

¹⁰¹ Vilensky, J.A.; Redman, K. *Ann. Emerg. Med.* **2003**, *41*, 378-383.

III. Gestions de l'ypérite et de ses effets

En raison de la haute toxicité de l'ypérite et de son interdiction par l'OIAC, la plupart des études menées sur la décontamination et les potentiels traitements contre ses effets ont été menées en utilisant son analogue le CEES (II.3.a.). Comme cité précédemment,⁷² le CEES présente une toxicité similaire à celle de l'ypérite avec quelques effets moins marqués et une dose létale médiane (DL₅₀) plus importante.

III.1. Détection de l'ypérite

III.1.a. Détection environnementale et biologique

Lors de l'exposition d'un terrain à l'ypérite, sa gestion est bien définie selon la circulaire 700 SGDN et la fiche ANSM Piratox n°6 avec plusieurs procédures à suivre concernant le relevage, la décontamination et l'évacuation.¹⁰² Avant toute prise en charge, il est primordial de délimiter la zone contaminée. Cependant, l'ypérite agit de manière insidieuse car plus elle est pure plus elle est incolore et inodore.

Etant donné que les symptômes apparaissent uniquement après plusieurs heures, la zone de contamination continue de s'étendre pendant cette période. Ainsi, il est nécessaire d'effectuer une détection rapide, dite détection d'alerte. Les forces armées peuvent la réaliser sur le terrain principalement grâce à un papier détecteur qui se colorera en rouge-violet en présence de l'agent. Malheureusement cet outil permet une détection de l'ypérite uniquement sous sa forme liquide. Pour la forme gazeuse, un appareil portatif de contrôle ayant une sensibilité de l'ordre de 150 µg/m³ est exploité (**Figure 11**). Il s'agit de l'appareil portatif de contrôle de contamination (AP2C), basé sur le principe de la spectrométrie de flamme, détectant les molécules phosphorées (agents neurotoxiques) ou soufrées (ypérite). Il existe un petit système s'adaptant sur l'AP2C, le S4PE, qui permet de détecter l'ypérite sous forme liquide après vaporisation. Il existe également une forme plus perfectionnée de l'AP2C, l'AP4C, qui permet une détection sur 4 canaux. De nouveaux appareils portatifs sont récemment apparus sur le marché, mais non encore en dotation dans les armées. Ils sont basés sur la spectroscopie IR ou Raman, ou encore sur la spectroscopie RMN. Ils comportent une bibliothèque de spectres de référence des principaux agents de la menace chimique dont l'ypérite.

¹⁰² Circulaire relative à la doctrine nationale d'emploi des moyens de secours et de soins face à une action terroriste mettant en œuvre des matières chimiques, n° 700/SGDSN/PSE/PSN 02/10/2018.



Figure 11 : a) Papier détecteur b) Appareil portable de contrôle de contamination

Pour finir, la détection des biomarqueurs dans les milieux biologiques participent également à la filière de preuve notamment au moyen d'analyses par GC-MS, plus précises qui permettent une identification de l'ypérite *via* les adduits formés notamment avec l'albumine ou encore la kératine.¹⁰³ En parallèle, des analyses urinaires peuvent également confirmer l'intoxication en relevant la présence de thiodiglycol, métabolite de l'ypérite.

III.1.b. Mesures organisationnelles

Lorsqu'une contamination est suspectée, des services spécialisés tels que l'IRBA, la DGA et la Maîtrise NRBC (Nucléaire, Radiologique, Biologique et Chimique) sont à même de traiter les échantillons biologiques (IRBA) et environnementaux (DGA et Maîtrise NRBC).⁴⁴

Selon la circulaire 700 SGDN, après une attaque chimique, différentes zones sont définies suivant plusieurs critères (**Figure 12**) :

- Zone d'exclusion avec une zone de danger immédiat définie par un rayon de 100 m autour de la contamination et une zone de danger sous le vent de 500 m de rayon. Ces distances prennent en compte les conditions météorologiques pouvant étendre la contamination.
- Zone contrôlée : lieu de décontamination des personnes exposées.
- Zone de soutien : accueil des services de prise en charge (santé...)¹⁰²

¹⁰³ Noort, D.; Fidder, A.; Hulst, A.G.; de Jong, L.P.; Benschop, H.P. *J. Appl. Toxicol.* **2000**, *20*, 199-204.

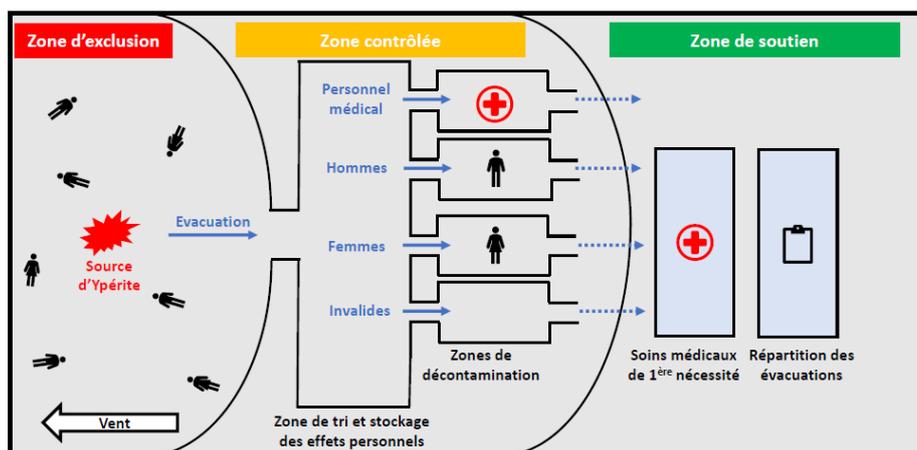


Figure 12 : Zones définies après une exposition à l'ypérite¹⁰²

Les personnes étant considérées comme exposées sont extraites de la zone contaminée par des secouristes primo-intervenants équipés d'une protection respiratoire et cutanée. La tenue de protection comporte un masque à filtre antiparticules, un vêtement en polyamide hydrofuge, des gants et bottes en butyle ou polyvinyle. Les victimes sont ensuite isolées en prenant soin d'éviter de les faire asseoir pour ne pas aggraver les lésions. Elles sont déshabillées et les éclats éventuels sont enlevés. Elles sont ensuite douchées à l'eau froide avec du savon doux pour une décontamination par entraînement.

III.1.c. Détection : pistes de recherche

L'ypérite est une petite molécule ($M = 159,07 \text{ g/mol}$), très réactive provoquant une intoxication au caractère insidieux dont la détection reste laborieuse. Elle nécessite des techniques hautement sensibles et peu adaptées au terrain des opérations notamment la chromatographie par GC-MS ou LC-MS. Le développement de techniques fiables et simples à utiliser présente donc un réel intérêt. La conception d'un « nez chimique » constitué d'un noyau pyridine relié à un squelette π -conjugué luminophore ou chromophore a été rapporté dans les années 2000. En présence du CEES en phase gazeuse et ceci même à faible concentration (sensibilité de 50 ppb) l'amine pyridinique se quaternarise par réaction avec l'ypérite changeant alors les propriétés optiques du polymère/oligomère et créant alors un décalage sur les spectres d'absorption. Une palette de 7 molécules (**33** à **39**) aux noyaux pyridine permet alors de détecter et de différencier les agents alkylants par simple luminescence (*Schéma 7*).¹⁰⁴

¹⁰⁴ Hertzog-Ronen, C.; Borzin, E.; Gerchikov, Y.; Tessler, N.; Eichen, Y. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10380-10386.

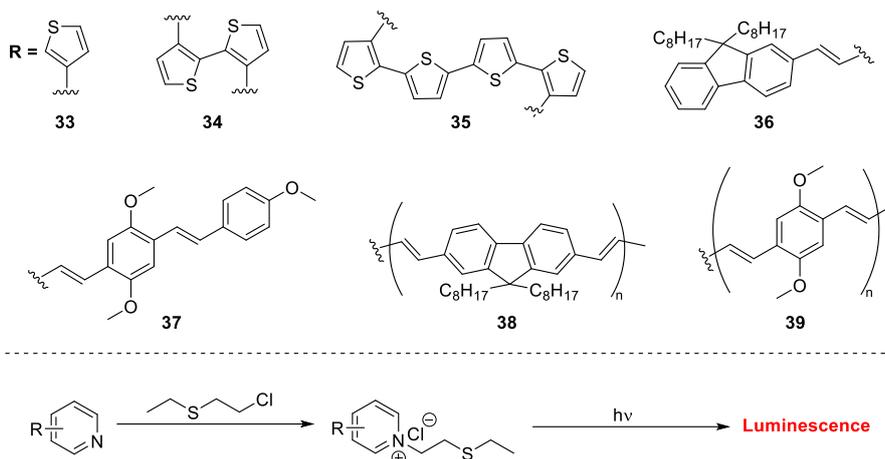


Schéma 7 : Détection d'agents alkylants via des molécules conjuguées : exemple du CEES

III.2. Décontamination de l'ypérite

III.2.a. Décontamination des surfaces inertes

Une fois détectée, l'ypérite doit être « détruite » et donc les zones de terrain touchées, décontaminées. Pour cela, plusieurs procédés ont été développés et certains se sont avérés efficaces. Les grands dispositifs de décontamination reposent majoritairement sur une élimination mécanique (absorption par exemple) ou thermique ou par oxydation, ou encore par hydrolyse. L'hydrolyse est cependant moyennement efficace compte tenu de la lipophilie de l'ypérite.

Concernant les surfaces inertes, les premiers moyens de décontamination mettaient en œuvre l'utilisation de solutions d'hypochlorite de sodium (eau de javel à 36° Cl)⁴⁴ et de bases fortes comme la soude. Néanmoins les problèmes de solubilité de l'ypérite en solution aqueuse ont nécessité des adaptations notamment avec l'emploi de microémulsions utilisant le tétrachloroéthylène comme solvant organique, un agent de transfert comme le chlorure de tétrabutylammonium et une source d'ions Cl⁻ (Ca(OCl)₂ ou HOCl) ou d'oxydant (acide 2-iodobenzoïque (IBX) en milieu tampon). L'utilisation de solides absorbants notamment des polymères de styrène et divinyle benzène (absorbant) comprenant des résines échangeuses d'ions pour hydrolyser l'agent s'est avérée plus efficace.¹⁰⁵

Une décontamination rapide et efficace des zones exposées est vitale pour contrer l'étalement de cet agent persistant et en limiter ses effets. Les techniques utilisées jusqu'à présent nécessitent de grandes quantités de réactifs et sont souvent corrosives.

¹⁰⁵ Yang, Y-C.; Baker, J.A.; Ward, J.R. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1729-1743.

III.2.b. L'oxydation, une piste pour la neutralisation de l'ypérite

L'oxydation a fait l'objet de nombreuses études. Le défi majeur est la formation sélective du sulfoxyde **40** (HDO), en évitant la suroxydation conduisant à la sulfone **41** (HDO₂), elle-même vésicante (*Schéma 8*).¹⁰⁶

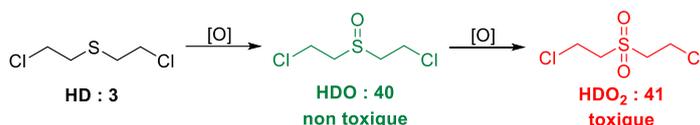


Schéma 8 : Oxydation de l'ypérite en sulfoxyde puis en sulfone

Ces dernières années, plusieurs systèmes ont été développés avec l'analogue CEES mettant en œuvre différents oxydants ou moyens de générer l'agent oxydant. Les polyoxométallates (POMs) ont notamment été largement explorés. Ces structures sont des oxydes moléculaires anioniques formés à partir de métaux de transition et permettent une oxydation catalytique parfois même en présence d'oxygène notamment avec du vanadium supporté sur silice.¹⁰⁷ D'autres promoteurs de métaux, les « *metal organic frameworks* » (MOFs) jouent également un rôle dans la décontamination de l'ypérite. En effet, leur structure poreuse et régulière aide à avoir une dispersion homogène de l'agent au sein de son réseau. Un exemple assez probant est celui des PCN-222/MOF-545 contenant un noyau de porphyrines. Ces photosensibilisateurs vont exciter l'oxygène à l'état singulet qui sera stabilisé grâce à la structure du MOF. Ce dernier va alors oxyder sélectivement l'analogue de l'ypérite en sulfoxyde CEESO selon le mécanisme proposé suivant (*Schéma 9*).¹⁰⁸

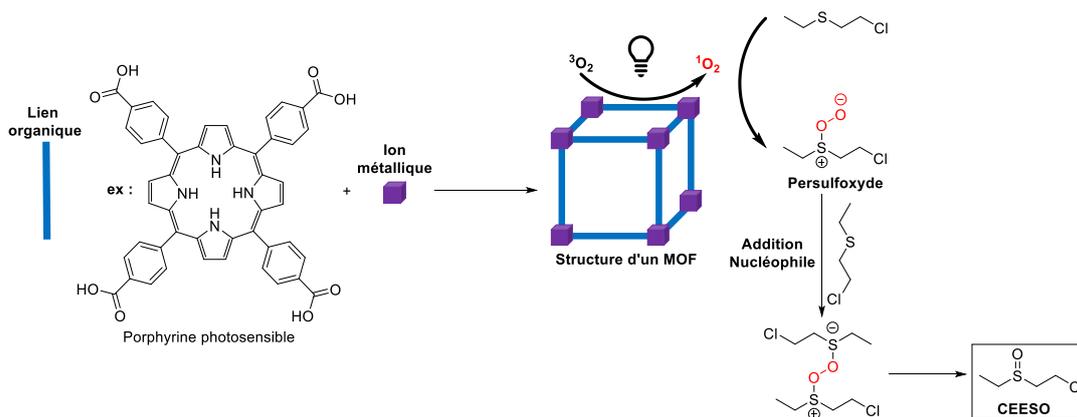


Schéma 9 : Proposition de mécanisme d'oxydation sélective de CEES grâce aux MOFs

¹⁰⁶ Hirade, J.; Ninomiya, A. *J. Biochem.* **1950**, *37*, 19-34.

¹⁰⁷ Livingston, S.R.; Landry, C.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13214-13215.

¹⁰⁸ (a) Liu, Y.; Moon, S.-Y.; Hupp, J.T.; Farha, O.K. *ACS Nano* **2015**, *9*, 12358-12364 ; (b) Liu, Y.; Howarth, A.J.; Hupp, J.T.; Farha, O.K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 9001-9005.

En complément des oxydations catalytiques, d'autres systèmes en milieu organique ont été mis au point afin de s'affranchir des problèmes de solubilité en milieu aqueux. Un exemple d'oxydation douce est en présence de N-iodosuccinimide (NIS) dans un solvant ne présentant pas ou très peu de basicité de Lewis comme l'acétonitrile pour décontaminer l'ypérite par une oxydation rapide et sélective en sulfoxyde (*Schéma 10*).¹⁰⁹

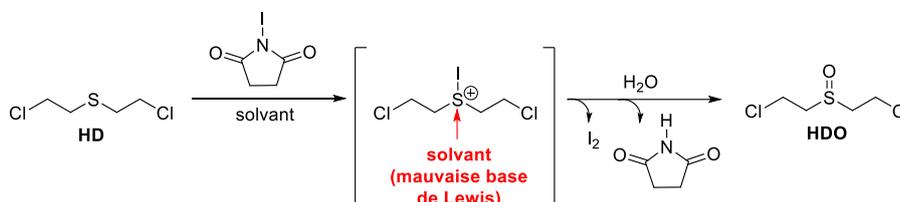


Schéma 10 : Hypothèse de mécanisme d'oxydation de HD en HDO à l'iode

Les outils de décontamination chimique cités précédemment sont pour la plupart efficaces uniquement à l'échelle du laboratoire et ne sont pas transposables à la réalité du terrain. Cependant, l'équipe française de J. Legros a récemment développé une technique de décontamination très prometteuse. En effet, la conception repose sur la chimie en flux continu mettant en présence de l'agent vésicant un adduit d'urée de peroxyde d'hydrogène avec le méthanol comme solvant et l'acide méthanesulfonique pour permettre l'activation de H₂O₂. Son système doté d'un appareil RMN, permet un suivi en temps réel de la dégradation sélective à 99 % de CEES à l'échelle du kilogramme et à une vitesse d'environ 0,27 g/min.¹¹⁰ Plus récemment la même équipe a développé un système d'oxydation encore plus sélectif et rapide utilisant l'oxone solide à travers laquelle passe une solution de CEES dans de l'éthanol (EtOH) et de l'acide trifluoroacétique (TFA) (*Schéma 11*).¹¹¹

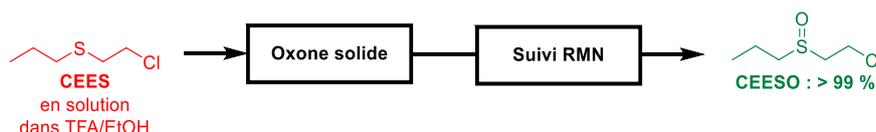


Schéma 11 : Système d'oxydation sélective en flux

Dernièrement, des hydrogels polymériques encapsulant un système de dégradation ont été développés pour améliorer encore les capacités à décontaminer. Parmi les exemples rapportés, il y a les gels hautement réticulés aromatiques encapsulant un système d'oxydation sélective des sulfures en sulfoxyde, à savoir les tribromures de nitrates en milieu acide ou encore les hydrogels d'alcool

¹⁰⁹ Smolkin, B.; Levi, N.; Karton-Lifshin, N.; Yehezkel, L.; Zafrani, Y.; Columbus, I. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 13949-13955.

¹¹⁰ Picard, B.; Gouilleux, B.; Lebleu, T.; Maddaluno, J.; Chataigner, I.; Penhoat, M.; Felpin, F-X.; Giraudeau, P.; Legros, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 7568-7572.

¹¹¹ Delaune, A.; Mansour, S.; Picard, B.; Carrasqueira, P.; Chataigner, I.; Jean, L.; Renard, P-Y.; Monbaliu, J.-C.M.; Legros, J. *Green Chem.* **2021**, *23*, 2925-2930.

polyvinyle (PVA)/Borax avec NaBO_3 comme source d'oxygène actif. Dans cet exemple, le gel est issu du mélange PVA/Borax. En effet, le borax s'hydrolyse pour donner une solution tampon (pKa ~9) d'acide borique et de tétrahydroxyborate. Les borates se lient alors au PVA pour construire le réseau du gel. La présence de NaBO_3 au sein du réseau va permettre la formation de peroxyde d'hydrogène comme agent oxydant (*Schéma 12*).¹¹²

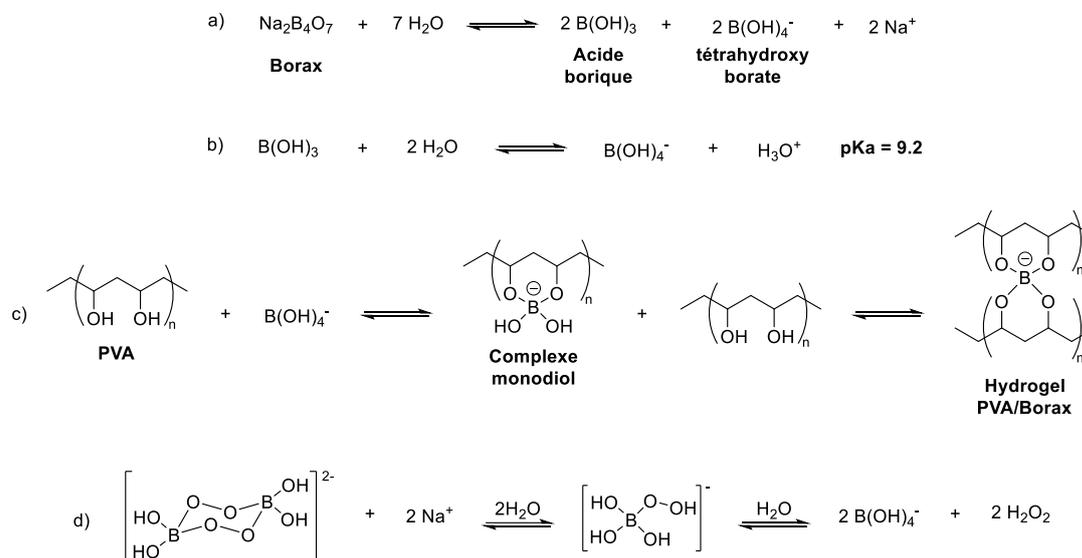


Schéma 12 : a) Hydrolyse du borax b) Solution tampon après hydrolyse du borax c) Formation du gel PVA/Borax d) Hydrolyse de NaBO_3 produisant H_2O_2

Très récemment, l'utilisation de nanoparticules d'oxyde de zinc, de titane ou encore des zéolites pour dégrader l'agent toxique a été rapportée. Leur efficacité est en partie liée à leur surface spécifique.¹¹³ L'utilisation de jets de plasma s'est également révélée être une solution prometteuse pour décontaminer tout type de matériau. Cette technique également rapportée sur la peau, est peu coûteuse en énergie, fonctionne à basse température, ne provoque aucune lésion et permet une destruction en seulement quelques minutes du CEES.¹¹⁴

Plusieurs procédés de décontamination ont été développés dont certains qui se montrent prometteurs pour l'avenir notamment les systèmes d'oxydation sélective à l'aide de la chimie en flux ou encore les hydrogels polymériques incorporant un agent oxydant. Une fois les zones touchées décontaminées, la prise en charge et le soin des victimes est vital. Les traitements actuellement disponibles sont uniquement symptomatiques. Ils visent principalement à calmer la douleur, éviter

¹¹² (a) Snider, V.G.; Alshehri, R.; Slaugenhaupt, R.M.; Hill, C.L. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 51519-51524 ; (b) Keisar, O.R.; Nahum, V.; Yehezkel, L.; Marcovitch, I.; Columbus, I.; Fridkin, G.; Chen, R. *ACS Omega* **2021**, *6*, 5359-5367.

¹¹³ Ginghina, R.-E.; Toader, G.; Purica, M.; Bratu, A.-E.; Lazaroaie, C.; Tigianescu, T.-V.; Oncioiu, R.-E.; Iorga, G.-O.; Zorila, F.L.; Constantin, M.; Craciun, G.; Comanescu, F.; Romanitan, C. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 1-28.

¹¹⁴ Li, Y.; Han, S.; Li, Z.; Liu, Z.; Liang, L.; Yan, K.; Zhu, A. *J. Hazard. Mater.* **2022**, *424*, 1-10.

les surinfections, surveiller l'équilibre hydro-électrolytique et éviter la dénutrition. Ces traitements s'apparentent à ceux utilisés chez sur un patient brûlé immunodéprimé.

III.3. Thérapeutiques contre l'ypérite

III.3.a. Premiers soins cutanés

Les premiers soins d'urgence sont dispensés au niveau de la peau et des yeux pour ralentir voire empêcher le passage de l'agent à ce niveau. Pour la peau, plusieurs composés permettent de ralentir le passage cutané notamment la terre de foulon (argile smectique) constitutive du gant poudreux en dotation dans les armées, le kit « *Reactive Skin Decontamination Lotion* » (RSDL) ou du charbon activé par absorption. En l'absence de ces moyens, du talc ou de la farine peuvent être utilisés.⁵⁰ Malgré une absorption efficace, peu de systèmes dégradent l'ypérite. C'est pourquoi les blessures sont également lavées plusieurs minutes avec des solutions oxydantes comprenant notamment du KMnO_4 , HCO_3Na , HOCl .⁴⁴

Les effets de l'ypérite sur la peau se manifestent principalement par l'apparition de prurit. Il a été traité dans le passé sur les victimes iraniennes au moyen de corticostéroïdes notamment la bétaméthasone.¹¹⁵ Une autre étude a également mis en évidence l'efficacité d'une préparation topique à base de menthol et de phénol induisant une sensation bienfaisante de froid.¹¹⁶ Le traitement de xérosis et d'eczéma se fait à l'aide d'adouçissants, d'huiles ou de pommades qui vont avoir un effet barrière empêchant la perte d'eau et donc le séchage de la peau. D'autres traitements symptomatiques sont à l'étude à des stades plus ou moins avancés.⁵⁰ La sensation de démangeaison peut, quant à elle, également être traitée avec des antihistaminiques. De manière générale, il est important pour la qualité de vie du patient de calmer la douleur avec des analgésiques (morphine, buprénorphine).

Eventuellement, des opérations chirurgicales peuvent permettre d'enlever les zones cutanées lésées afin de permettre à l'épiderme de recroître à nouveau. Pour favoriser une meilleure cicatrisation, des techniques de débridement ont été mises en œuvre pour amoindrir les blessures cutanées. La dermabrasion utilisée autrefois, permettait une élimination des couches épidermiques nécrosées jusqu'à l'atteinte d'une couche superficielle du derme saine. Elle se faisait par frottements sous anesthésie et aidait à une réépithélialisation après une semaine avec formation d'un nouvel épiderme au bout d'un mois.¹¹⁷

¹¹⁵ Shohrati, M.; Davoudi, M.; Almasi, M.; Sadr, B.; Peyman, M. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2007**, *26*, 303-309.

¹¹⁶ Panahi, Y.; Davoodi, S.M.; Kahlili, H.; Dashti-Khavidaki, S.; Bigdeli, M. *Singapore Med. J.* **2007**, *48*, 392-395.

¹¹⁷ Rice, P.; Brown, R.F.R.; Lam, D.G.K.; Chilcott, R.P.; Benett, N.J. *Burns*, **2000**, *26*, 34-40.

Sur le plan médical, de meilleures techniques de détersion ont été mises en œuvre pour amoindrir les blessures cutanées. Différents lasers ont notamment été étudiés tels que ceux au CO₂ ou erbium-YAG (plus efficace). Cela permet d'atteindre des zones plus difficiles d'accès avec une réépithélialisation observée en 7 jours. Le « *Vacuum Assisted Closure VAC® Therapy™* » est un outil qui possède plusieurs avantages grâce à sa cicatrisation « dirigée » via un vide d'environ 27 mbar. Il stimule le tissu de granulation (aspect après guérison), rapproche les berges de la plaie, évite la stagnation des sérosités et améliore la cicatrisation des lésions. Ce procédé agit en quelques minutes avec un effet très précis et sélectif sans créer d'échauffement local (**Figure 13**).¹¹⁸ Enfin, un dernier procédé rapporte le développement d'un système hydrochirurgical, le Versajet™ qui stoppe la progression de la nécrose en envoyant un jet d'eau très puissant et ciblé sur la plaie.¹¹⁹ Ces techniques chirurgicales éventuellement suivies d'une greffe de peau, ont pour but d'éliminer le réservoir cutané d'ypérite, qui, sinon relarguerait progressivement et compromettrait le succès de la prise de greffe.

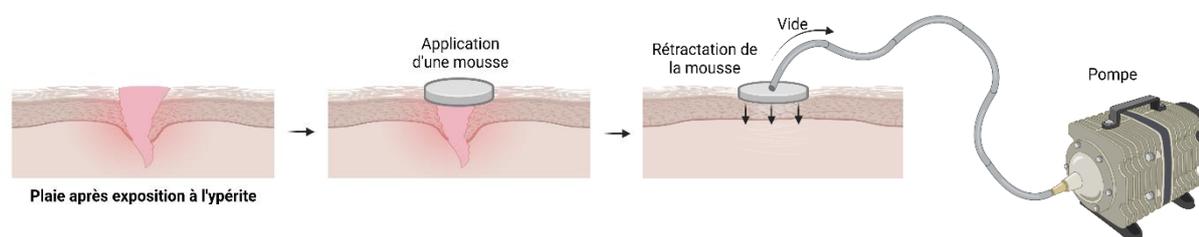


Figure 13 : *Vacuum Assisted Closure VAC® Therapy™*

La chirurgie réalisée, un pansement devra être appliqué pour éviter toute infection et promouvoir une nouvelle épithélialisation. Il existe plusieurs types de pansements suivant le type de plaies à soigner, parmi lesquels :

- des hydrocolloïdes qui sont utilisés dans le cas de brûlures mineures où une barrière protectrice est formée *in situ* via un gel polymérique.
- des alginates qui forment un gel au contact de l'exsudat (liquide de la plaie) permettant de rétablir l'équilibre hydro-électrolytique.
- des hydrogels qui humidifient la plaie.
- des semiperméables adhésifs qui protègent la plaie épithéliale.
- des mousses qui maintiennent l'humidité et isolent thermiquement.
- des antibactériens, notamment à base de sulfadiazine argentique, qui contrôle l'infection et promeut la granulation des plaies.¹²⁰

¹¹⁸ Graham, J.S.; Stevenson, R.S.; Mitcheltree, L.W.; Hamilton, T.A.; Deckert, R.R.; Lee, R.B.; Schiavetta, A.M. *Toxicol.* **2009**, *263*, 47-58.

¹¹⁹ Boudana, D.A.; Wolber, A.; De Broucker, V.; Martinot-Duquennoy, V.; Pellerin, P. *Burns*, **2010**, *36*, e44-e48.

¹²⁰ Jenner, J.; Graham, S.J. *Chemico-Biol. Interact.* **2013**, *206*, 491-495.

Généralement, ces pansements doivent être changés quotidiennement avec des lavages entre chaque pose et des traitements topiques en particulier avec la sulfadiazine argentique (antibactérien). Les phlyctènes peuvent être mises à plat. Enfin, des solutions à base de xylocaïne (anesthésique local) et d'antagonistes de la calmoduline se sont montrés efficaces pour limiter les lésions cutanées.¹²¹

III.3.b. Thérapeutiques oculaires

Les yeux, quant à eux, sont rincés abondamment soit à l'eau distillée soit avec du sérum physiologique et des pommades ne contenant pas de dérivé pétrolier sont appliquées.¹²² En effet, l'ypérite étant soluble en milieu organique, elle finirait par se concentrer dans la partie huileuse des larmes.⁴⁷ Des lunettes de soleil sont ensuite fournies à chaque victime pour lutter contre la photophobie.¹²³ Pour contrer l'inflammation et l'uvéïte, des traitements à base de corticostéroïdes, anti-inflammatoires non stéroïdiens et d'agents mydriatiques, permettant une dilatation persistante de la pupille, sont prescrits.⁴⁶ Des antibiotiques sont fournis pour prévenir toute infection.¹²⁴ Pour des blessures aiguës et/ou chroniques plus sévères, une transplantation de membrane amniotique peut être mise en œuvre afin de contrôler l'inflammation et d'améliorer la guérison de la cornée.²⁰ Dans les cas graves, une chirurgie peut être nécessaire notamment par tarsorrhaphie (suture temporaire des paupières entre elles) afin d'empêcher l'amincissement de la cornée qui est le symptôme le plus courant.¹²⁵ Une surveillance de l'état de la cornée et la prescription de collyres antibiotiques et anti-inflammatoires par un ophtalmologiste est donc conseillée.

III.3.c. Traitements de première intention du système respiratoire

Concernant les insuffisances respiratoires à l'issue d'une exposition, le premier réflexe consiste à traiter le patient par oxygénothérapie pour maintenir la ventilation. Des antitussifs et un humidificateur d'air sont également conseillés. Les patients présentant un enrrouement voire même des bruits respiratoires devront subir une trachéotomie pour permettre à l'air d'arriver aux poumons. Dans le cas de formation de « pseudo-membranes » gênant la respiration du patient, une bronchoscopie pourra être exécutée pour visualiser leur localisation et les enlever.⁴⁷ Si le patient

¹²¹ Kim, Y.-B.; Hur, G.H.; Choi, D.S.; Shin, S.; Han, B.G.; Lee, Y.S.; Sok, D.E. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *313*, 107-114.

¹²² Wolfe, G.A.; Petteys, S.M.; Phelps, J.F.; Wasmund, J.B.; Plackett, T.P. *J. Spec. Oper. Med.* **2019**, *19*, 81-86.

¹²³ Dahl, H.; Gluud, B.; Vangsted, P.; Norn, M. *Acta Ophthalmol. Suppl.* **1985**, *173*, 30-31.

¹²⁴ Murray, V.S.; Volans, G.N. *Bmj* **1991**, *302*, 129-130.

¹²⁵ Javadi, M.A.; Baradaran-Rafii, A. *Cornea* **2009**, *28*, 51-57.

développe une bronchite à long terme, des corticostéroïdes, l'activateur tissulaire de plasminogène¹²⁶ ainsi que des β -2-mimétiques peuvent s'avérer efficaces notamment pour limiter l'obstruction des voies respiratoires.¹²⁷

III.4. Pistes de recherche thérapeutiques

Malgré les différents traitements symptomatiques, il n'existe à ce jour, aucun antidote ni traitement spécifique contre l'ypérite approuvé par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA). En effet, les approches sont jugées non spécifiques et ne conduisent pas à une amélioration globale de la qualité de vie des victimes. De plus, plusieurs effets secondaires sont à prendre en compte notamment avec les traitements à base de corticoïdes.

III.4.a. Des candidats antioxydants

La compréhension des mécanismes de toxicité mis en jeu a permis la génération d'une banque de molécules avec des actions thérapeutiques différentes. Ainsi, plus de 700 candidats protecteurs ou curatifs notamment avec une action sur la détersion, le refroidissement, l'inflammation, l'inhibition des PARPs, l'inhibition des protéases, la modulation calcique, l'équilibre redox ou encore le piège de l'ypérite ont été étudiés à ce jour.¹²⁸

- La NAC, précurseur de glutathion a montré de réelles propriétés antioxydantes tant dans la phase de toxicité aiguë que chronique. En effet, elle permet la synthèse de glutathion et donc un apport supplémentaire à celui déjà disponible pour lutter contre les ROS et RNS. De plus, ce composé a déjà fait preuve d'efficacité dans le traitement des victimes iraniennes y compris sur des effets à long terme. Il a révélé des propriétés anti-inflammatoires en diminuant la libération des cytokines pro-inflammatoires. Enfin, la NAC est supposée avoir un effet « *scavenger* » sur l'ypérite grâce à sa fonction nucléophile thiol. De ce fait, utilisée de façon précoce sur la victime exposée, elle permettrait une action rapide empêchant alors les réactions en cascade sur les biomolécules.¹²⁹

¹²⁶ Veress, L.A.; Hendry-Hofer, T.B.; Loader, J.E.; Rioux, J.S.; Garlick, R.B.; White, C.W. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.* **2013**, *48*, 439-447.

¹²⁷ Ghanei, M.; Shohrati, M.; Harandi, A.A.; Eshraghi, M.; Aslani, J.; Alaeddini, F.; Manzoori, H. *Inhal. Toxicol.* **2007**, *19*, 889-894.

¹²⁸ Smith, W.J. *Toxicol.* **2009**, *263*, 70-73.

¹²⁹ (a) Balszuweit, F.; Menacher, G.; Schmidt, A.; Kehe, K.; Popp, T.; Worek, F.; Thiermann, H.; Steinritz, D. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 35-43 ; (b) Sawyer, T.W. *Free Rad. Biol. Med.* **2020**, *161*, 305-320.

-En tant qu'antioxydant, la vitamine E ou α -tocophérol et ses dérivés apparaissent comme des molécules de choix. En effet, une étude sur des cochons d'inde intoxiqués à l'ypérite a révélé une action protectrice de la vitamine E sur les voies respiratoires, les reins mais aussi le foie. De plus, le trolox, un analogue hydrosoluble permet une réduction des dommages issus du stress oxydant tout en limitant les réponses inflammatoires.¹³⁰ Pour cibler plus précisément les RNS, l'aminoguanidine est un excellent inhibiteur de l'enzyme iNOS responsable de leur synthèse.¹³¹ Plusieurs études ont démontré l'amélioration histopathologique des poumons de souris, la réduction du stress oxydant et de l'inflammation détruisant des macrophages pro-inflammatoires.¹³² Parmi les antioxydants répertoriés, il existe également l'ebsele, un « scavenger » sélénié de peroxy-nitrite, la mélatonine, le carvacrol, des enzymes comme la superoxydase dismutase et bien d'autres encore (**Figure 14**).¹³³

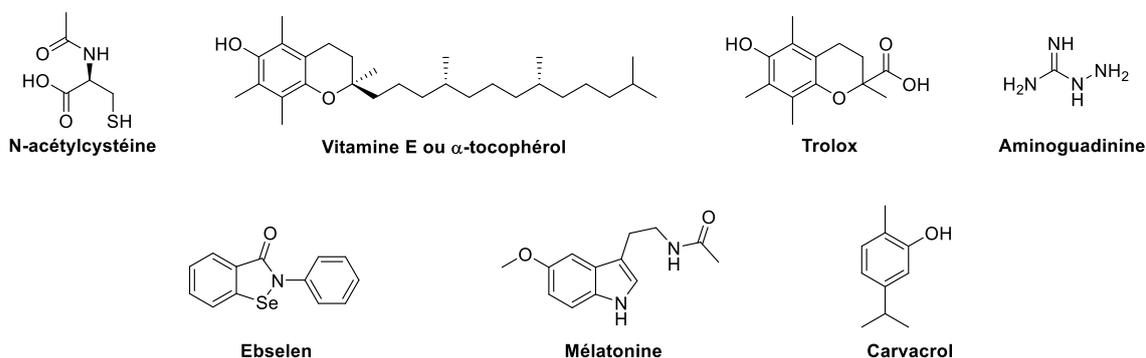


Figure 14 : Quelques structures d'antioxydants

III.4.b. Quelques « scavengers »

La NAC n'est pas le seul composé utilisé comme « scavenger », le thiosulfate de sodium a longtemps été utilisé tout comme la 2,6-dithiopurine qui s'avère même plus efficace en milieu basique et à des températures compatibles avec celles du terrain (4-50 °C). Ceci est certainement corrélé à la valeur plus faible du pK_a (< 6) en comparaison avec la NAC (9,5). La 2,6-dithiopurine forme plus aisément une fonction thiolate plus nucléophile que la NAC. De ce fait elle constitue un meilleur « scavenger » que la NAC (**Figure 15**).¹³⁴

¹³⁰ Gholamnezhad, Z.; Boskabady, M.H.; Amery, S.; Vahedi, N.; Tabatabaei, A.; Boskabady, M.; Shahriary, A. *Toxicol. Ind. Health* **2016**, *32*, 1971-1977.

¹³¹ Southan, G.J.; Szabo, C. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *51*, 383-394.

¹³² Malaviya, R.; Sunil, V.R.; Venosa, A.; Vayas, K.N.; Heck, D.E.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 2-7.

¹³³ Weinberger, B.; Malaviya, R.; Sunil, V.; Venosa, A.; Heck, D.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2016**, *305*, 1-11.

¹³⁴ Liu, J.; Powell, K.L.; Thames, H.D.; MacLeod, M.C. *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, *23*, 488-496.

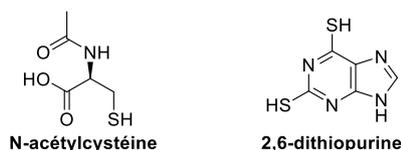


Figure 15 : Exemples de « scavengers »

III.4.c. Candidats antiinflammatoires

La doxycycline, un antibiotique et antiinflammatoire de la famille des tétracyclines, est un bon candidat pour lutter contre les effets néfastes des protéases comme les MMPs, augmentant l'inflammation et les dommages tissulaires. Peu couteuse, elle est approuvée par la FDA et inhibe les MMPs et plus particulièrement la MMP-9. Elle a été encapsulée au sein d'un hydrogel à base de PEG (Polyéthylène-glycol). Ce gel, plus visqueux qu'une solution, est plus difficilement éliminé par les larmes et peut donc traverser les barrières oculaires. De plus, les liaisons thioesters du réseau du gel, étant labiles dans l'eau, le gel est biodégradable ce qui permet donc une libération prolongée durant 7 jours. Une étude comparative a établi de manière évidente qu'un système gélifié permettait une meilleure biodisponibilité que des gouttes (**Figure 16**).¹³⁵

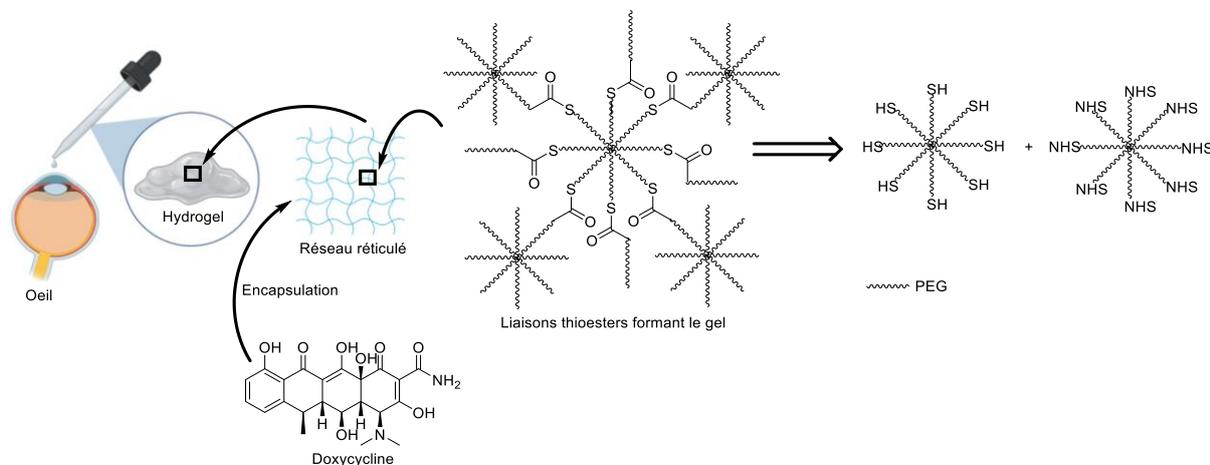


Figure 16 : Hydrogel de PEG encapsulant la doxycycline

De nombreuses autres molécules se sont avérées être de bons agents anti-inflammatoires. Les glucocorticoïdes et plus précisément la bétaméthasone et la dexaméthasone permettent une amélioration des symptômes inflammatoires au niveau des voies respiratoires notamment en promouvant l'arrivée de lymphocytes et en empêchant l'accumulation de collagène.¹³⁶ L'utilisation

¹³⁵ Anumolu, S.N.S.; DeSantis, A.S.; Menjoge, A.R.; Hahn, R.A.; Beloni, J.A.; Gordon, M.K.; Sinko, P.J. *Biomater.* **2010**, *31*, 964-974.

¹³⁶ Wiggenstam, E.; Jonasson, S.; Koch, B.; Bucht, A. *Toxicol.* **2012**, *301*, 66-71.

d'autres anti-inflammatoires comme les curcuminoïdes ou les macrolides antibiotiques a été rapportée. La pentoxifylline ou des anticorps spécifiques de FNT- α , permettent, quant à eux, de bloquer la synthèse des FNT- α (agents pro-inflammatoires). La pentoxifylline est particulièrement connue pour son action inhibitrice de phosphodiesterases aboutissant à une diminution des activités pro-inflammatoires couplée à l'augmentation des anti-inflammatoires (**Figure 17**).¹³⁷

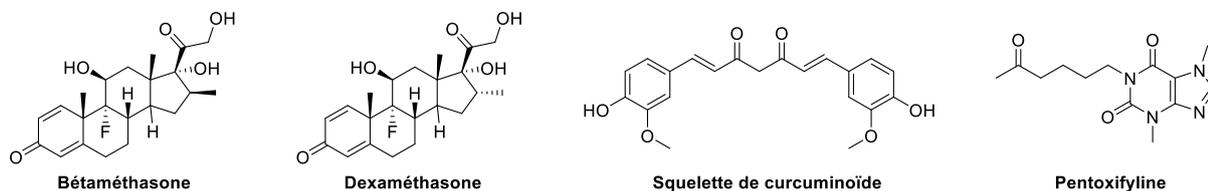


Figure 17 : Exemples d'anti-inflammatoires étudiés contre les effets de l'ypérite

III.4.d. La silibinine, un candidat polyvalent

Lors de l'alkylation de l'ADN par l'ypérite, les PARPs s'activent pour la réparer provoquant des réactions en cascade aboutissant à la mort cellulaire. L'inhibition des PARPs est donc un des enjeux majeurs notamment pour diminuer la présence d'espèces réactives de l'oxygène. Les polyphénols naturels semblent posséder de nombreux effets bénéfiques.¹³⁸ Parmi ces composés, les flavonoïdes, et tout spécifiquement la silibinine (**Figure 18**), présentent un bon potentiel avec des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, réparatrices d'ADN, ou encore hépatoprotectrices.¹³⁹ L'utilisation de la silibinine en application topique a montré une bonne efficacité en diminuant la taille des lésions induites par du moutarde à l'azote et à l'obtention d'un épiderme plus épais.¹⁴⁰

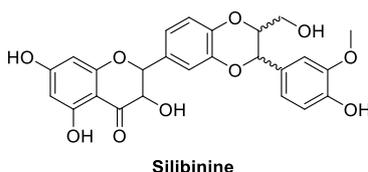


Figure 18 : Structure de la Silibinine

Les différentes molécules candidates présentées ci-dessus restent très spécifiques et sont, pour certaines, inadaptées à la réalité du terrain ou à une utilisation à grande échelle. La rapidité et la diversité des effets de l'ypérite requièrent le développement d'un traitement polyvalent. Or, les

¹³⁷ Fernandes, J.L.; de Oliveira, R.T.; Mamoni, R.L.; Coelho, O.R.; Nicolau, J.C.; Blotta, M.H.; Serrano, Jr.C.V. *Atherosclerosis* **2008**, *196*, 434-442.

¹³⁸ Jafari, S.; Saednia, S.; Abdollahi, M. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2014**, *15*, 409-421.

¹³⁹ Tewari-Singh, N.; Agarwal, R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2016**, *1374*, 184-192.

¹⁴⁰ Jain, A.K.; Tewari-Singh, N.; Inturi, S.; Kumar, D.; Orlicky, D.J.; Agarwal, C.; White, C.W.; Agarwal, R. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2015**, *285*, 71-78.

solutions médicamenteuses proposées jusqu'à maintenant ne répondent pas entièrement au cahier des charges et ne présentent pas d'effets thérapeutiques suffisants. A cela s'ajoute le fait que certaines ont des effets secondaires qui peuvent s'ajouter aux dégâts causés par l'ypérite et donc empirer la situation. En revanche, une combinaison de plusieurs principes actifs dans le but d'associer les propriétés recherchées pour contrer les effets de l'ypérite semble être une stratégie de choix. A titre d'exemple, une étude comparative a souligné une meilleure efficacité pour la combinaison silibinine/doxycycline que la doxycycline seule pour soigner les lésions oculaires.¹⁴¹

III.4.e. Les mi-ARNs

Lors d'une exposition à l'ypérite, les ARNs messagers (ARNm) habituellement régulés par les mi-ARNs sont perturbés.¹⁴² A titre d'exemple, le mi-ARN 210 a été notamment rapporté comme un des acteurs principaux de la réépithélialisation des tissus lésés.¹⁴³ Après exposition à l'ypérite, le mi-ARN 210 endogène est alors surexprimé dans les zones d'hypoxie, entraînant une perturbation de la viabilité cellulaire, de la prolifération et de la différenciation des kératinocytes primaires.¹⁴⁴ L'apport d'un inhibiteur de mi-ARN 210 dit antagonir pourrait être utile pour contrebalancer les perturbations de ces processus dans des conditions pathologiques et améliorer la réépithélialisation des lésions cutanées après exposition à l'ypérite. De ce fait, l'antagomir mi-ARN 210 va induire une inhibition spécifique et permettre une cicatrisation des tissus exposés (*Figure 19*).

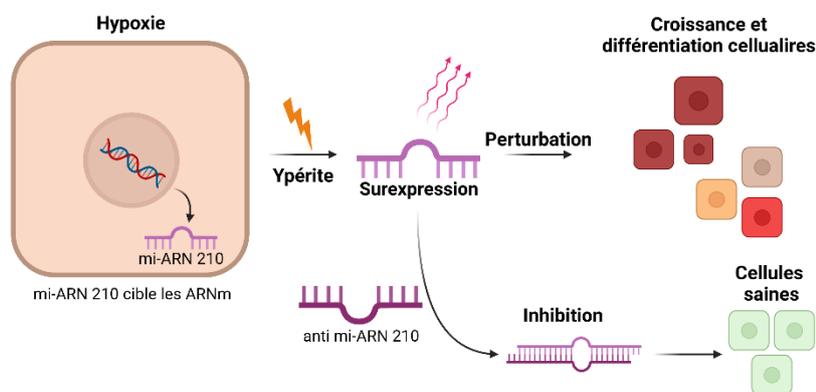


Figure 19 : Mode d'action de l'antagomir mi-ARN 210

A *contrario* les agomirs sont des mi-ARNs qui vont interagir avec l'ARNm pour être traduits par les ribosomes en protéine aux effets désirés. Ils ne vont cependant pas inhiber l'ARNm et la traduction

¹⁴¹ Tewari-Singh, N.; Jain, A.K.; Inturi, S.; Ammar, D.A.; Agarwal, C.; Tyagi, P.; Kompella, U.B.; Enzenauer, R.W.; Petrash, J.M.; Agarwal, R. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2012**, *264*, 23-31.

¹⁴² Schmidt, A.; Steinritz, D.; Thiermann, H.; Meineke, V.; Abend, M. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 88-94.

¹⁴³ (a) Fahs, F.; Bi, X.; Yu, F.S.; Zhou, L.; Mi, Q.S. *IUBMB Life* **2015**, *67*, 889-896.

¹⁴⁴ Deppe, J.; Steinritz, D.; Santovito, D.; Egea, V.; Schmidt, A.; Weber, C. Ries, C. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 81-87.

non-désirée se poursuivra en parallèle de celle issue de l'agomir. De plus, les effets de l'agomir après exposition à l'ypérite n'ont pas été reportés dans la littérature à notre connaissance.

La diversité des modes d'action de l'ypérite nécessite la mise au point d'un antidote ayant la capacité d'agir sur toutes les voies détériorées à la suite d'une exposition. Dans ce contexte, les études précédemment citées ont mis en évidence l'intérêt de plusieurs composés susceptibles d'agir différemment et de façon complémentaire sur les atteintes dues à l'ypérite. Dans notre cas, il s'agit notamment de la silibinine qui présente une activité polyvalente,¹⁴⁵ de l' α -tocophérol, de la NAC et d'un antagoniste miRNA 210.

III.5. Vers une nanoformulation innovante : NEOMAY

La diversité des voies et sites de toxicité dus à une exposition à l'ypérite et la pluralité des molécules aux modes d'actions différents guident la recherche vers la conception de formulations regroupant plusieurs principes actifs. Cette idée concorde avec le besoin d'un antidote capable d'agir rapidement, avec une action polyvalente, neutralisante de façon immédiate et cicatrisante à terme. De ce fait, l'IRBA voit un réel potentiel dans le développement d'un traitement combinant plusieurs agents thérapeutiques pouvant viser plusieurs cibles thérapeutiques. C'est dans ce contexte que le projet NEOMAY entre l'IRBA et l'équipe ChemBioPharm de l'unité ARNA (Acides Nucléiques : Régulations naturelles et artificielles) a vu le jour. Ce projet vise le développement galénique de nanoformulations innovantes pour le traitement précoce (avant apparition d'érythèmes) et différé (phlyctènes voire nécroses) des intoxications cutanées et oculaires à l'ypérite. De plus, étant donné la rapidité et l'efficacité de l'agent vésicant à traverser les membranes biologiques, la forme galénique proposée devra faciliter le passage des principes actifs mais également la captation de l'ypérite en surface et après pénétration. Pour cela, la nanoformulation proposée est de type nanoémulsion multiple stabilisée par la gélification de la phase huileuse de l'émulsion primaire. Ce système multiple vise à encapsuler des principes actifs lipophiles dans une phase huileuse et des principes hydrophiles dans des phases aqueuses. Ces principes actifs ainsi protégés notamment dans des phases gélifiées pourront alors être véhiculés à travers la barrière cutanée pour une action systémique. En parallèle, ce type de formulation a une capacité à stocker les principes actifs et donc à les libérer de manière contrôlée.¹⁴⁶ De plus, le défi supplémentaire sera de mettre au point une nanoémulsion multiple w/o/w (« *water in oil in water* ») afin de véhiculer des principes actifs lipophiles mais aussi hydrophiles tout

¹⁴⁵ Tewari-Singh, N.; Jain, A.K.; Inturi, S.; Agarwal, C.; White, C.W.; Agarwal, R. *Plos One* **2012**, *7*, 1-12.

¹⁴⁶ Choudhury, H.; Gorain, B.; Pandey, M.; Chatterjee, L.A.; Sengupta, P.; Das, A.; Molugulu, N.; Kesharwani, P. K. *J. Pharm. Sci.* **2017**, *106*, 1736-1751.

en les protégeant notamment grâce au gel pour espérer une libération prolongée.¹⁴⁷ Cette formulation a pour objectif de combiner les principes actifs à visée thérapeutique cutanée et oculaire choisis avec soin par l'IRBA. Ainsi la formulation galénique incorporera la NAC en phase aqueuse externe comme « *scavenger* » pour permettre l'action de captation immédiate de l'ion épisulfonium. La phase huileuse centrale réunira les principes actifs lipophiles, à savoir la vitamine E pour ses propriétés antioxydantes et la silibinine pour ses diverses actions anti-inflammatoire, antioxydante et cicatrisante. Enfin, l'encapsulation d'un antagoniste mi-ARN 210 dans la phase aqueuse interne devrait favoriser la cicatrisation des tissus lésés après exposition.¹⁴⁸ La gélification partielle du système a pour intérêt de le stabiliser et également de faciliter la pénétration. En résumé le projet NEOMAY propose la formulation représentée ci-dessous (**Figure 20**).

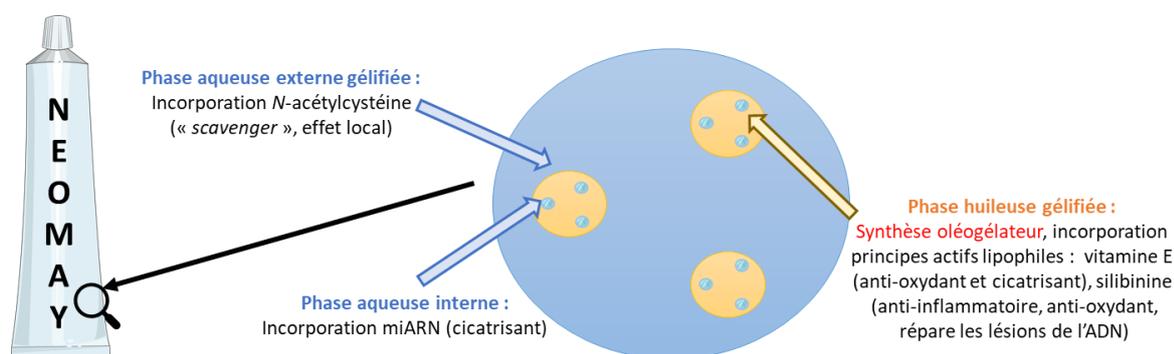


Figure 20 : Nanoémulsion multiple w/o/w « all-in-one » NEOMAY

Ce projet ambitieux comprend deux aspects qui ont été réalisés au cours de deux thèses distinctes effectuées en parallèle. En effet ce manuscrit rapporte mon travail de thèse qui a été principalement ciblé sur la conception et la synthèse d'une molécule oléogélificatrice supramoléculaire innovante pour le projet NEOMAY. Autrement dit, cet oléogélificateur devait être biocompatible, biodégradable, issu d'une synthèse aisée, extrapolable à grande échelle et stable dans la formulation finale. La formulation et la caractérisation de la nanoémulsion ont été réalisées par la doctorante galéniste B. Dessane (Docteur en Pharmacie, Assistante Hospitalo-Universitaire). Ce travail a été effectué en étroite collaboration de façon à bénéficier d'interactions constructives pour avancer efficacement. Enfin l'évaluation *in vivo* de l'efficacité thérapeutique du système a été mise en œuvre par la responsable scientifique du projet, Dr. F. Caffin (Unité Vésicants IRBA). Les modèles animaux testés dans le respect des règles de l'éthique animale ont été la souris sans poils SKH-1 pour l'étude cutanée et les lapins New-Zealand pour la toxicité oculaire. Après une exposition à l'ypérite, la souris

¹⁴⁷ (a) PANGENI, R.; CHOI, S.W.; JEON, O.-C.; BRYUN, Y.; PARK, J.W. *Int. J. Nanomedicine* **2016**, *11*, 6379-6399 ; (b) PANGENI, R.; PANTHI, V.K.; YOON, I.-S.; PARK, J.W. *Pharmaceutics* **2018**, *10*, 1-22 ; (c) CHUAN, Y.P.; ZENG, B.Y.; O'SULLIVAN, B.; THOMAS, R.; MIDDLEBERG, A.P. *J. Colloid Inter. Sci.* **2012**, *368*, 616-624 ; (d) SIGWARD, E.; MIGNET, N.; RAT, P.; DUTOT, M.; MUHAMED, S.; GUIGNER, J.-M.; SCHERMAN, D.; BROSSARD, D.; CRAUSTE-MANCIET, S.; *Int. J. Nanomedicine* **2012**, *8*, 611-625 ; (e) McClements, D.J. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2010**, *1*, 241-269.

¹⁴⁸ Mishra, N.; Raina, K.; Agarwal, R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2021**, *1491*, 25-41.

sans poils SKH-1 présente quelques symptômes similaires à l'Homme, soit des érythèmes et des ulcérations. Cela justifie l'emploi de ce modèle pour étudier l'efficacité thérapeutique de la formulation NEOMAY sur les lésions cutanées.¹⁴⁹ L'objectif final serait donc de conduire au développement et à la mise sur le marché d'un traitement thérapeutique innovant pour soigner les lésions cutanées et oculaires causées par l'ypérite.

¹⁴⁹ Mouret, S.; Wartelle, J.; Batal, M.; Emorine, S.; Bertoni, M.; Poyot, T.; Cléry-Barraud, C.; El Bakdouri, N.; Peinnequin, A.; Douki, T.; Boudry, I. *Toxicol. Lett.* **2015**, *232*, 68-78.

CHAPITRE 2

Les gels, conception et défi au cœur de NEOMAY

Pour contrer les effets immédiats et prolongés de l'ypérite, le projet NEOMAY propose le développement d'une formulation innovante de type nanoémulsion « *all-in-one* », ce qui représente un défi de taille. Il s'agit en effet de développer une nanoémulsion triple gélifiée et incorporant les principes actifs des différentes phases en fonction de leur hydrophilie/lipophilie. La particularité et le caractère innovant de cette formulation reposent sur la nature même de l'une des deux phases gélifiées. En effet, la phase gélifiée huileuse est constituée d'un gel supramoléculaire issu de l'autoassemblage d'une molécule de type nucléolipide (NL).

Le développement de ce gel bioinspiré et biocompatible est basé sur la conception et la synthèse d'un composé organique qui possède la capacité à faire gélifier une phase continue huileuse, ici une huile biocompatible à application pharmaceutique. L'utilisation de cette émulsion huile/eau gélifiée pour réaliser une émulsion multiple de type eau/huile/eau devrait conduire, après incorporation des différentes substances actives sélectionnées, à l'élaboration d'une formule thérapeutique de type crème pour une application cutanée. Ce mode d'administration non-invasif permettrait aussi de délivrer les principes actifs directement sur la peau contaminée voire même à la circulation sanguine après pénétration. Sur l'aspect technique, une crème pharmaceutique est composée d'au moins trois composés : un principe actif, un liquide dispersant et une molécule aux propriétés gélificatrices.

L'intérêt de ce travail de thèse repose particulièrement sur la conception de l'agent gélifiant à l'origine de la structure « gélatineuse » de la phase huileuse qui encapsulera et protégera les principes actifs lipophiles. Le gel résultant devra présenter une bonne stabilité dans le temps au sein de la nanoémulsion de NEOMAY et dans différentes conditions de stockage. Il devra évidemment être non toxique et non irritant. Au-delà de ces caractéristiques, la formulation galénique aura tout intérêt à être gélifiée car elle adhèrera plus facilement à la peau et permettra une libération contrôlée et efficace des principes actifs.¹⁵⁰

I. Les gels, état de l'art

I.1. Généralités sur les gels

I.1.a. Définition et concept

Depuis les premiers travaux menés par Thomas Graham en 1861 au cours desquels il a rapporté la capacité de certains composés comme l'amidon à absorber l'eau pour gonfler et donner un aspect gélatineux, plusieurs scientifiques se sont penchés sur la définition même d'un gel.¹⁵¹ Après plus de 150 ans de travaux dans le domaine, aucune définition universelle n'a pu faire consensus parmi les scientifiques. D'après R. G. Weiss, cette quête est d'ailleurs compromise car, au fil des années, les

¹⁵⁰ Oshedo, Y. *Gels*, **2016**, 2, 1-11.

¹⁵¹ Graham, T. *Philos. Trans. R. Soc. London*, **1861**, 151, 183-224.

différences entre des gels se sont montrées plus évidentes et nombreuses que leurs similitudes. Pour mieux comprendre cette explication, une analogie avec la parabole bouddhiste : « les aveugles et l'éléphant » illustre cette situation. Pour la petite histoire, chaque aveugle pense détenir la vérité absolue et décrit l'éléphant à sa manière et depuis son expérience personnelle. Chaque observation étant différente des autres, ils ne parviennent pas à se mettre d'accord (**Figure 21**).¹⁵²

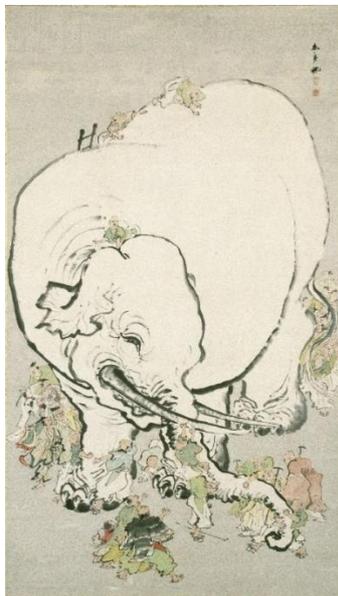


Figure 21 : Moines aveugles évaluant un éléphant par Ohara Donshu, Encre et couleurs sur papier, ensemble : 92×46½ in, Musée de Brooklyn

Parmi les descriptions d'un gel, celle proposée par Dorothy Jordon Lloyd est particulièrement révélatrice : « ...l'état colloïdal, le gel est plus facile à reconnaître qu'à définir ». D'un point de vue plus scientifique, plusieurs conditions sont tout de même nécessaires à l'obtention d'un gel. Il est constitué d'au moins deux composés : un solide (molécule gélificatrice) et un liquide (phase dispersante) qui une fois mélangés vont donner un système dont l'apparence est solide.¹⁵³ De manière plus précise, un gel est un type de colloïdes qui peut se définir de deux manières différentes :

- Liquide semi-solide.
- Solide déformable et élastique issu d'un réseau formé par des particules colloïdales ou des gouttes ou des macromolécules ou des petites molécules.

Alors en milieu dispersé, la matière ne ressemble en aucun cas aux trois états physiques classiques connus à température et pression données, soit solide, liquide et gazeux. A l'échelle macroscopique un gel se comporte comme un solide et aucun écoulement n'est observé. Autrement dit, la structure en trois dimensions (3 D) qui le constitue, fige le système et conserve son énergie mécanique. En revanche, sur un plan moléculaire à l'échelle microscopique, le système est considéré comme liquide

¹⁵² Weiss, R.G. *Molecular Gels : Structure and Dynamics* **2018**, 1-27.

¹⁵³ Lloyd, D.J. *Col. Chem. New York*, **1926**, 1, 767-782.

d'où la dénomination d'état semi-solide. D'après la pharmacopée : « les gels sont des préparations semi-solides pour application cutanée composées d'une base liquide monophasée gélifiée à l'aide d'un gélifiant appropriée. »

Malgré le manque de clarté sur la définition même d'un gel, à la moitié du XX^{ème} siècle, les scientifiques ont commencé à vouloir les classer suivant deux paramètres. Le premier consiste d'une part à les différencier suivant la nature du solvant. Il existe donc les hydrogels (milieu aqueux), les organogels (milieu organique) et les xérogels et aérogels (milieu gazeux et dépourvu de phase dispersante). D'autre part la molécule gélifiante, ayant la capacité de former un réseau 3 D dans un milieu donné, s'assemble sous l'effet d'interactions de nature variées. Les gels peuvent alors être classés d'une deuxième manière et cela quelle que soit la nature du composé gélifiant (polymère, molécule organique ou inorganique, sels...) (**Figure 22**) :

- **Les gels chimiques** sont composés d'un réseau permanent et irréversible formé par des liaisons covalentes avec une énergie comprise entre 36 à 215 kcal/mol.¹⁵⁴
- **Les gels physiques** résultent d'un réseau réversible issu d'un assemblage intermoléculaire par interactions faibles avec une énergie allant de 0.24 à 10 kcal/mol.¹⁵⁵

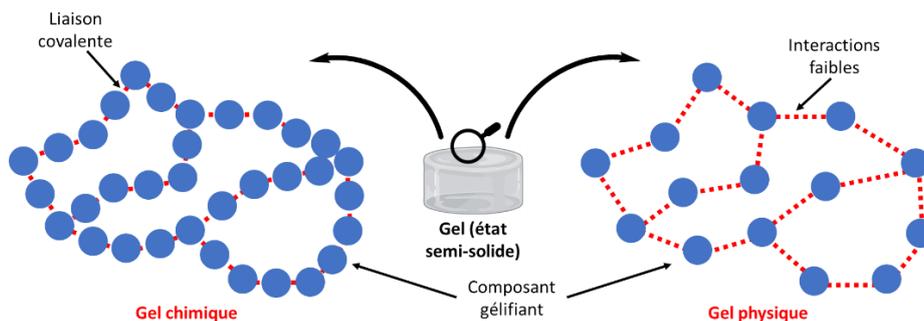


Figure 22 : Schématisation d'un gel chimique et d'un gel physique

Les interactions dites faibles rassemblent notamment les interactions de Van der Waals (VdW), les effets hydrophobes, les recouvrements π , les liaisons Hydrogène (H) etc. Elles peuvent être classées en fonction des énergies d'interaction (**Figure 23**).

¹⁵⁴ Osada, Y.; Kajiwara, K.; Fushimi, T.; Hirasa, O.; Hirokawa, Y.; Matsunaga, T.; Shimomura, T.; Wang, L.; Ishida, H. *Gels Handbook Academic Press San Diego, CA, USA, 2001, 1-3.*

¹⁵⁵ Israelachvili, J.N. *Academic Press 1985, 296.*

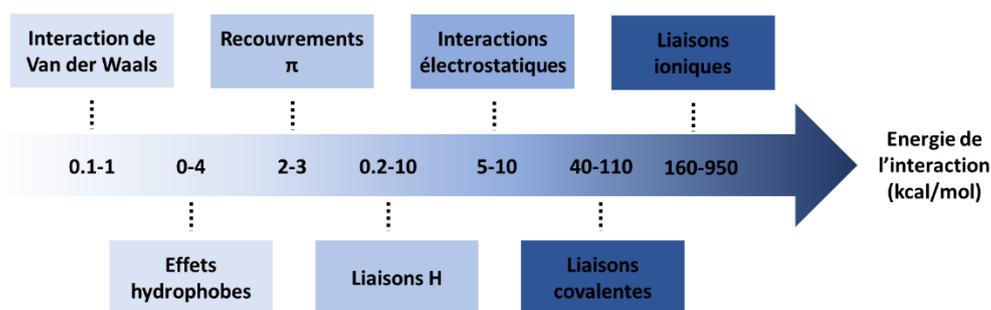


Figure 23 : Valeurs générales des énergies des interactions covalentes et non covalentes par ordre croissant

I.1.b. Formation et caractérisation d'un gel

D'un point de vue pratique, un gel est obtenu en dispersant le composé dans une phase continue. Le système est ensuite soumis à une stimulation extérieure (température, ultrasons, ajout d'un composé supplémentaire ou d'une enzyme, pH, potentiel redox, irradiation...). Cette déstabilisation appliquée au système disperse le composé gélifiant dans le solvant et rend le système homogène. Le réseau se forme après un certain temps, une fois la perturbation terminée.¹⁵⁶ L'obtention du gel est ensuite en première approximation confirmée à l'échelle du laboratoire par l'observation macroscopique de l'absence d'écoulement de l'échantillon lors de son retournement.

De manière générale, pour caractériser un gel, des analyses rhéologiques sont réalisées afin de mesurer les propriétés viscoélastiques du gel sous une déformation. Cette analyse déterminante va notamment estimer les modules d'élasticité G' et de viscosité G'' en Pa. Ils mesurent respectivement la capacité du matériau à absorber l'énergie qui lui est transmise et à la perdre. Ces grandeurs varient en fonction de la contrainte appliquée, la fréquence, le temps et la température. Par définition, dans le cas d'un gel, $G' > G''$. Des données comme la « *Linear Viscoelastic Region* » (LVER), qui définit le domaine de linéarité du gel ou encore la $T_{sol/gel}$, température de transition entre l'état liquide (solution) et solide et enfin la thixotropie, capacité d'un matériau à rétablir son réseau rompu après une perturbation sans perte de ses propriétés mécaniques, pourront s'ajouter à la caractérisation. Des observations, notamment par microscopie optique ou à transmission électronique permettent, par ailleurs, de visualiser le réseau tridimensionnel formé. D'autres analyses par viscosimétrie ou encore par pénétrométrie pourront compléter la caractérisation.

¹⁵⁶ Chu, C.-W.; Schalley, C.A. *Organic Materials* **2021**, 3, 25-40.

Les gels ayant été brièvement définis, l'analyse de la littérature qui va suivre sera focalisée sur une classe de gels bien définie et qui connaît un grand essor depuis les dernières décennies, les gels moléculaires organiques physiques issus de « petites molécules » plus connus sous le nom de « *Low Molecular Weight Gelators* » (LMWGs) supramoléculaires.¹⁵⁷

I.2. Une catégorie prometteuse : les gels supramoléculaires de faible poids moléculaire

I.2.a. Origine de leurs assemblages

Depuis les années 1990, les gels moléculaires ou gels de faible poids moléculaires (LMWGs) supramoléculaires ont retenu l'intérêt des chercheurs.¹⁵⁸ Depuis les travaux de Flory, les décrivant comme des « structures particulières et désordonnées », les scientifiques se sont appliqués à définir plus précisément ce qu'est un LMWG.¹⁵⁹ De manière générale, il correspond à l'autoassemblage d'une molécule gélificatrice dans un liquide donné conduisant alors à un matériau viscoélastique. Pour rentrer dans la classe des LMWGs, la molécule doit avoir une masse molaire inférieure à 3 000 g/mol. L'autoassemblage résulte d'interactions faibles (**Figure 24**).

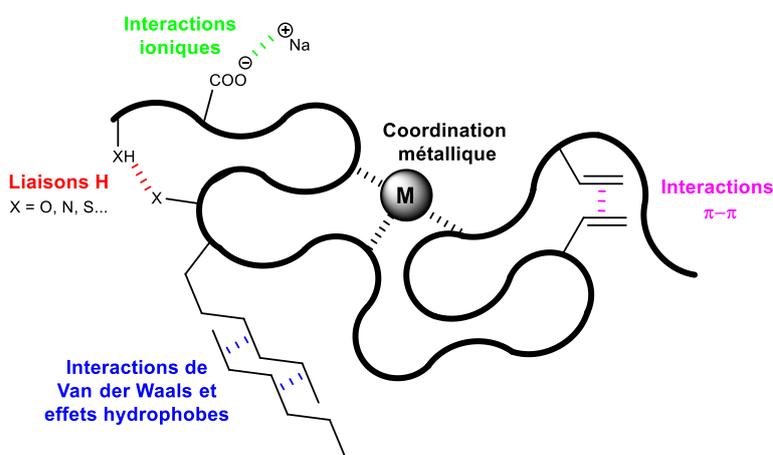


Figure 24 : Représentation des interactions faibles

Pour plus de clarté sur le mécanisme de gélification, la molécule gélificatrice est considérée comme un objet dit « 0 D » à l'échelle du gel. Elle a l'avantage d'avoir une structure connue. En revanche, la structure des gels issus de polymères n'est pas précisément assimilée en raison des réticulations

¹⁵⁷ Estroff, L.A.; Hamilton, A.D.; Chem. Rev. 2004, 104, 1201-1218.

¹⁵⁸ Weiss, R.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 7519-7530.

¹⁵⁹ Flory, P.J. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1974**, 57, 7-18.

dans l'espace qui ne sont pas maîtrisées. Cependant, pour une molécule de faible masse molaire ($< 3\ 000\ \text{g/mol}$), les scientifiques éprouvent plus de difficultés à discerner les causes des assemblages menant la molécule (objet 0 D) à l'état de gel tridimensionnel et non à une cristallisation ou une précipitation.

De manière générale, l'état 3 D formé par les LMWGs est souvent un réseau de fibrilles autoassemblées plus communément appelé « *Self-Assembled Fibrillar Networks* » (SAFINs). Il est formé à l'issue de zones de jonctions créées par la rencontre de fibrilles et/ou par leurs enchevêtrements. Ces dernières sont issues d'un amas de molécules rapprochées entre elles de manière anisotrope selon un axe défini.¹⁶⁰ Elles peuvent prendre plusieurs formes telles que des fibres, des tiges, des rubans, des nanotubes, des bandes, des plaquettes et d'autres encore.

Le réseau, résultant de la réunion de plusieurs molécules agrégées se forme grâce à l'application d'une perturbation physique. Cette dernière va disperser les objets 0 D (molécule) dans le liquide et lorsque cette perturbation cesse, le retour à un état stationnaire (plus ou moins long) va rapprocher les molécules entre elles. Ce phénomène d'agrégation qui conduit à un objet 1 D (Å-nm) est réversible puisqu'il est issu d'interactions faibles.¹⁶¹ La croissance de ces agrégats microscopiques constitue une nouvelle phase avec l'apparition de points de nucléation de plus en plus grands qui constituent la morphologie des agrégats, c'est l'objet 2 D (nm- μm).¹⁶² Ces derniers finissent par se joindre pour former des points de jonctions qui vont construire le réseau tridimensionnel (μm -mm). Des enchevêtrements entre fibrilles participeront également à l'architecture du réseau gélifié. Les interactions supramoléculaires construisent donc le réseau du gel dont l'aspect à l'échelle macroscopique, résulte majoritairement de forces interfaciales et capillaires (**Figure 25**).¹⁶¹

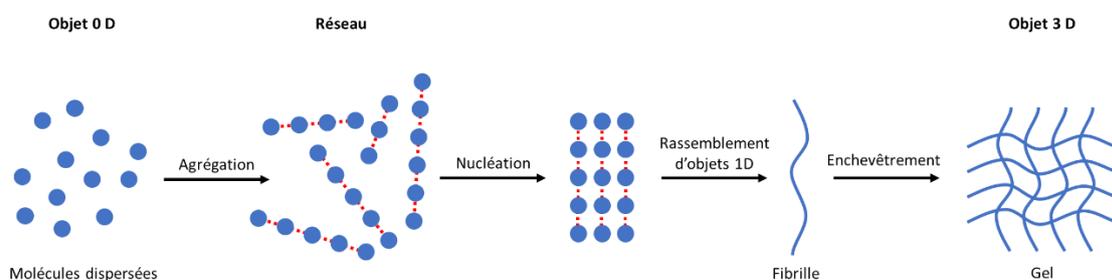


Figure 25 : Processus de gélification « standard » en fibres d'un LMWG

Il est nécessaire d'analyser un gel aux différentes échelles décrites. Pour cela, plusieurs techniques sont utilisées. La rhéologie, citée précédemment, permet la caractérisation globale. Les microscopies à balayage électronique (MEB) ou à transmission électronique cryogénique (cryoMET) permettent de visualiser la structure du réseau enchevêtré et/ou branché. L'objet 1 D issu de l'agrégation peut

¹⁶⁰ George, M.; Weiss, R.G. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 489-497.

¹⁶¹ Terech, P.; Weiss, R.G. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 3133-3159.

¹⁶² Kawasaki, T.; Tanaka, H. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107*, 14036-14041.

être analysé par diffraction aux rayons X (DRX), spectroscopie infrarouge (IR), ultraviolets-visible, dichroïsme circulaire ou encore « *Small Angle X-rays Scattering* » (SAXS). Enfin les interactions supramoléculaires à l'origine de la construction des fibres sont étudiées par spectroscopie IR, ultraviolets-visible, Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et DRX.

I.2.b. Instabilité thermodynamique

Fondamentalement, les gels sont complexes car leur état hautement dispersé évolue en état agrégé faiblement entropique. Cette évolution contre-intuitive ne remet pas en cause un des principes fondamentaux de la thermodynamique car un gel moléculaire est avant tout un réseau dynamique. En d'autres termes, les molécules qui restent solubilisées après structuration de l'architecture supramoléculaire s'intervertissent continuellement avec les molécules directement impliquées dans le réseau. Cette caractéristique, indépendante de l'état cristallin ou non du gel peut mener à sa déstabilisation dans le temps et donc à un état de plus grande entropie. Un phénomène majeur peut être le mûrissement d'Ostwald. Irréversible, il est issu de la croissance des cristaux et conduit donc à la rupture du réseau.¹⁶³ La synérèse peut également se produire avec le temps, elle consiste à l'apparition de deux phases issues de l'expulsion du liquide par le gel (**Figure 26**).¹⁶⁴

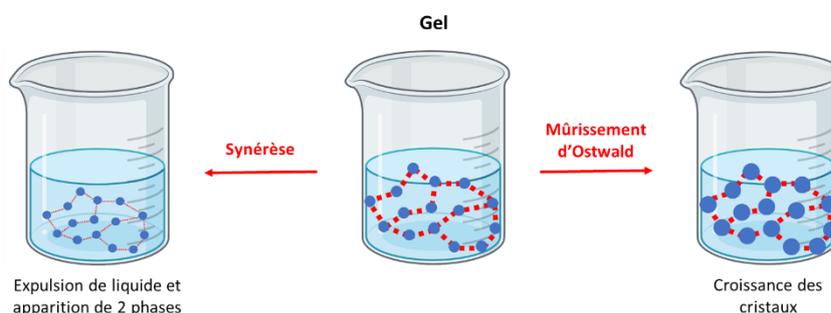


Figure 26 : Déstabilisation d'un gel dans le temps

Malgré leur l'instabilité thermodynamique, les LMWGs supramoléculaires possèdent des avantages intrinsèques. En dépit de la petite taille de la molécule de départ, sa structure est parfaitement définie en comparaison notamment aux polymères où la longueur de chaîne et d'autres paramètres ne sont pas considérés. Le fait de travailler sur un objet connu offre la possibilité de modifier la structure moléculaire par réactions chimiques et donc de modifier les propriétés physico-chimiques du matériau. Ceci permet un large choix de possibilités et représente un immense défi encore à l'heure

¹⁶³ Leal-Calderon, F.; Poulin, P. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1999**, *4*, 223-230.

¹⁶⁴ Weiss, R.G. *Gels* **2018**, *4*, 1-9.

actuelle.¹⁵⁰ L'intérêt est majeur car les LMWGs ont de multiples applications notamment dans les domaines médical¹⁶⁵, agro-alimentaire¹⁶⁶, environnemental¹⁶⁷ et celui de l'ingénierie tissulaire¹⁶⁸.

I.3. Les différents types de phases continues des gels supramoléculaires

I.3.a. Hydrogels et Organogels : généralités

Comme précisé précédemment, les gels peuvent être différenciés en fonction de la nature de la phase continue employée. Les deux exemples majeurs sont les hydrogels et les organogels constitués respectivement d'une phase continue aqueuse et organique. Ces dernières décennies, ces deux familles ont largement été étudiées et exploitées par les scientifiques. Malgré des phases continues différentes, ces deux types de gels partagent des points communs tant sur les éventuelles interactions supramoléculaires conduisant à l'agrégation, que sur le procédé utilisé pour les mettre en forme.

De manière générale, l'état de gel se caractérise par le passage d'un état très soluble à quasiment insoluble grâce à l'application d'une perturbation qui peut être de plusieurs types (thermique, physique, chimique, enzymatique, pH...). Pour permettre la solubilisation du composé puis dans un second temps sa gélification, le paramètre crucial est sa balance hydrophilie/lipophilie appelée HLB (valeur variant de 0 à 20). Pour un hydrogel, les composantes hydrophiles vont améliorer la solubilisation et peuvent participer à l'autoassemblage par liaisons H tandis que les parties hydrophobes vont s'autoassembler pour conduire au gel. Dans le cadre d'un organogel, cela dépend de la polarité du solvant utilisé. Globalement, l'autoassemblage est dirigé par les mêmes types d'interactions dans les deux cas, qui sont souvent les interactions de VdW, des recouvrements π , des liaisons H et des effets hydrophobes (*Tableau II*).¹⁶⁹

¹⁶⁵ (a) Vintiloiu, A.; Leroux, J.-C. *J. Control. Rel.* **2008**, *125*, 179-192 ; (b) Esposito, C.L.; Kirilov, P.; Roullin, V.G. *J. Control. Rel.* **2018**, *271*, 1-20.

¹⁶⁶ Pușcas, A.; Mureșan, V.; Socaciu, C.; Muste, S. *Foods* **2020**, *9*, 70.

¹⁶⁷ (a) Okesola, B.O.; Smith, D.K. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 4226-4251 ; (b) Peveler, W.J.; Packman, H.; Alexander, S.; Chauhan, R.R.; Hayes, L.M.; Macdonald, T.J.; Cockcroft, J.K.; Rogers, S.; Aarts, D.G.A.L.; Carmalt, C.J.; Parkin, I.P.; Bear, J.C. *Soft. Matter.* **2018**, *14*, 8821-8827 ; (c) Abdellatif, M.M.; Ibrahim, S.; Nomuro, K. *J. King Saud Univ. Sci.* **2020**, *32*, 946-951.

¹⁶⁸ Skilling, K.J.; Citossi, F.; Bradshaw, T.D.; Ashford, M.; Kellam, M.; Marlow, M. *Soft. Matter.* **2014**, *10*, 237-256.

¹⁶⁹ Draper, E.R.; Adams, D.J. *Chem.* **2017**, *3*, 390-410.

Nature	Phase continue	Interactions	Procédé de gélification	Applications
Hydrogel	Aqueuse	Liaisons H, VdW, effets hydrophobes, recouvrements π	Thermique, physique, chimique, pH	pharmaceutique, cosmétique, alimentaire...
Organogel	Organique	Liaisons H, VdW, effets hydrophobes, recouvrements π	Thermique, physique, chimique, pH...	Cosmétique, alimentaire, pharmaceutique, dépollution environnementale, électronique...

Tableau II : Comparaisons entre les hydrogels et les organogels

L'eau étant biocompatible par nature, les hydrogels ont un potentiel d'applications très riche dans le domaine médical notamment pour l'administration de principes actifs hydrophiles. En revanche, les organogels ayant une phase continue organique, leurs utilisations chez l'Homme peuvent poser des problèmes de toxicité suivant sa nature. Pour pallier cet inconvénient majeur, une famille d'organogels biocompatibles voire même comestibles pour certains, fait l'objet d'un intérêt grandissant, ce sont les oléogels.

I.3.b. Introduction sur les oléogels

Dans le contexte du projet NEOMAY, l'objectif est la formulation d'une nanoémulsion innovante pour application cutanée. En effet, la peau étant l'organe le plus exposé à l'environnement extérieur, elle constitue la première barrière de défense. La première couche épidermale, le *stratum corneum* d'une épaisseur de plusieurs centaines de micromètres, est majoritairement composée de kératinocytes entourés d'une matrice lipidique. L'emploi d'un matériau oléogélifié devrait donc favoriser le passage de cette barrière lipophile et réduire les pertes d'eau transépidermales. En parallèle, la phase aqueuse externe devrait maintenir une hydratation de la peau.

De manière générale, la famille des oléogels est connue depuis plusieurs années mais peu d'articles mentionnent le terme « oléogel » malgré une nette augmentation de l'occurrence de ce terme au cours de la dernière décennie (*Figure 27*).

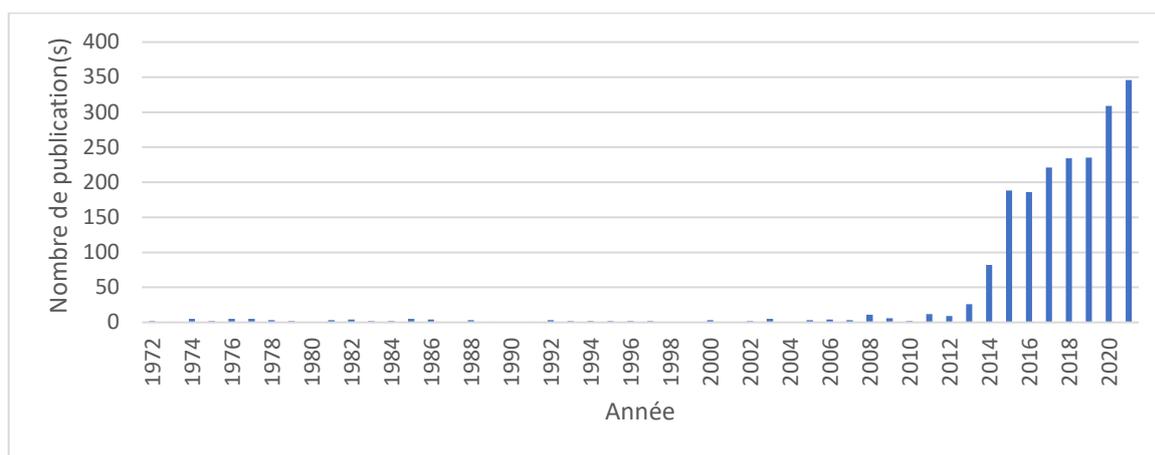


Figure 27 : Evolution dans le temps du nombre d'articles publiés mentionnant le terme « oléogel »

Un oléogel renvoie par définition à un composé présent en faible quantité (< 10 %) et capable de s'auto-assembler dans une huile. Leurs applications sont variées mais ils sont particulièrement connus pour leurs utilisations dans l'industrie agroalimentaire.¹⁷⁰ Parmi les huiles employées, il existe celles qui sont comestibles principalement utilisées dans le domaine alimentaire et les non-comestibles utilisées particulièrement en pharmacie et en cosmétique. Les huiles utilisées peuvent être d'origine végétale ou animale.

Les huiles marines, comme l'huile de foie de morue, présentent plusieurs effets bénéfiques sur la santé mais sont instables dans le temps et particulièrement coûteuses. Les huiles végétales, comprenant les triglycérides à chaînes moyennes et longues (TCMs et TCLs) sont employées dans plus de domaines. Les TCLs rassemblent notamment l'huile de tournesol, de soja, d'olive et d'autres légumes et graines. Les TCMs comme l'huile de noix de coco ou encore le Miglyol 812N[®] sont reconnus pour leurs capacités à être facilement absorbés jusqu'à la circulation sanguine.¹⁷¹ L'huile choisie comme phase continue au sein de la formulation de NEOMAY est une huile à base de TCM (Miglyol 812N[®]) largement utilisée en pharmacie comme véhicule de formulations pharmaceutiques. Elle est composée de triglycérides d'acides gras saturés d'origine végétale essentiellement d'acide caprylique et d'acide caprique. Plus globalement, une huile est composée à 90 % de triglycérides qui vont influencer la permittivité, la polarité et la viscosité de l'huile. La partie restante est composée de produits d'oxydations et de molécules naturelles (**Figure 28**).

¹⁷⁰ Li, L.; Liu, G.; Bogojevic, O.; Nedergaard Pedersen, J.; Guo, Z. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2022**, *21*, 2077-2104.

¹⁷¹ Fayaz, G.; Polenghi, O.; Giardina, A.; Cerne, V.; Calligaris, S. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2021**, *56*, 1040-1047.

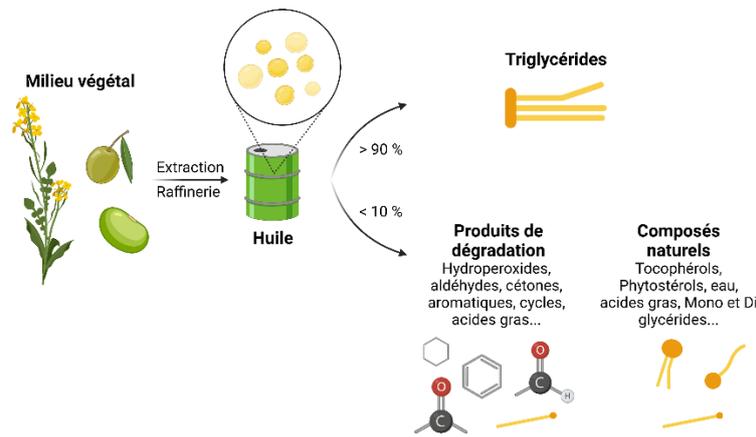


Figure 28 : Composition générale d'une huile végétale

En présence d'un oléogélificateur, l'huile va avoir une influence sur le processus de gélification suivant sa longueur de chaîne, son degré d'insaturation et sa composition. Parmi les oléogélificateurs comestibles connus, il existe le mono et diacyl glycérol, les acides et alcools gras, les stérols comme le cholestérol, les cires et l'éthyle cellulose. Les oléogélificateurs non alimentaires rassemblent l'acide 12-hydroxystéarique (12-HSA) qui sera détaillé par la suite ou encore l'acide ricinoléique, la silice avec le produit commercial Aerosil^{®172}... Un exemple particulièrement intéressant est le cas de la lécithine de soja utilisée comme tensioactif mais qui est également utilisée comme molécule oléogélifiante.¹⁷³

Les applications des oléogels sont variées, par exemple le remplacement des acides gras insaturés dans l'alimentation¹⁷⁴, ou pour la délivrance de principes actifs lipophiles¹⁷⁵ voire même pour la dépollution des eaux¹⁷⁶. Puisqu'il existe peu d'exemples sur les oléogels supramoléculaires, il nous a paru nécessaire d'étudier les techniques de recherches rapportées pour la découverte de LMWGs en milieu aqueux et organique.

¹⁷² Balasubramanian, R.; Sughir, A.A.; Damodar, G. *Asian J. Pharm.* **2012**, *6*, 1-9.

¹⁷³ Scartazzini, R.; Luisi, P.L. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 829-833.

¹⁷⁴ Hughes, N.E. *Trend Food Sci. Tech.* 2009, *20*, 470-480.

¹⁷⁵ Vintiloiu, A.; Leroux, J.C. *J. Control Release* **2008**, *125*, 179-192.

¹⁷⁶ Niia, S.; Okumuraa, S.; Kinoshitab, T.; Ishigakib, Y.; Nakanob, K.; Yamaguchib, K.; Akita, S. *Sep. Purif. Technol.* **2010**, *73*, 250-255.

I.4. Découvertes de molécules gélificatrices et stratégies de conception

En l'absence de définition universelle des gels et même de données suffisantes sur les potentiels facteurs favorables à la gélification, plusieurs études ont été menées dans le but de rationaliser la relation entre une structure moléculaire donnée et le gel en résultant. Depuis la découverte du premier LMWG constitué d'urate de lithium dans l'eau au XIX^{ème} siècle, de nombreuses recherches ont été rapportées aboutissant à ce jour à une vaste gamme de molécules aux propriétés gélificatrices.¹⁷⁷ Pour cela plusieurs stratégies de conception ont été développées, souvent à partir des molécules de type biomolécules et également *via* l'utilisation de modèles empiriques. Les paramètres de solubilité de Hansen, basés sur les propriétés énergétiques (dispersives δ_d , polaires δ_p , liaisons H δ_h) d'une molécule permettent notamment de définir des systèmes de solvants pour lesquels le composé étudié est soluble, gélifié ou insoluble grâce au tracé de sphères respectivement bleue, verte et rouge (**Figure 29**).

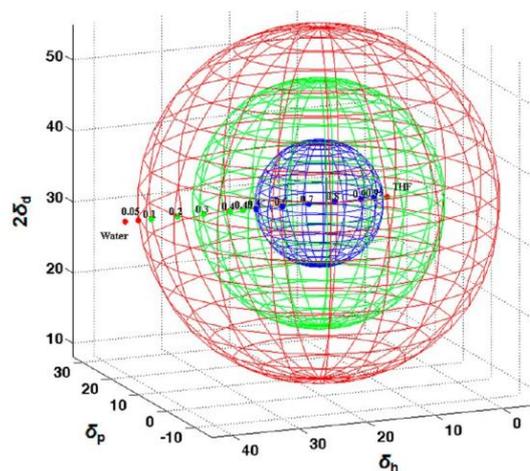


Figure 29 : Exemple de sphère de Hansen¹⁷⁸

Toutes les familles de biomolécules présentent des exemples de composés avec des propriétés gélifiantes. Les exemples suivants non exhaustifs illustrent successivement le cas des lipides, des sucres, des nucléosides et des peptides.

¹⁷⁷ Von Lipowitz, A. *Liebigs Ann. Chem. Pharm.* **1841**, 38, 348-355.

¹⁷⁸ Yan, N.; Xu, Z.; Diehn, K.K.; Raghavan, S.R.; Fang, Y.; Weiss, R.G. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 8989-8999.

I.4.a. Autoassemblages de lipides

L'approche la plus simple consiste à partir d'une molécule capable de faire gélifier une phase continue et d'en modifier la structure pas à pas. Les alcanes linéaires (chaînes carbonées allant de 24 à 36 carbones) constituent les molécules les plus simples ayant révélé une capacité à former un réseau lamellaire dans des solvants organiques.¹⁷⁹ Ces assemblages mettant en œuvre uniquement des interactions de London ont été progressivement complexifiés afin de définir des groupements chimiques fonctionnels au potentiel gélificateur. Ainsi en allant du « simple » au « complexe », différentes molécules gélificatrices ont été découvertes possédant des fonctions acides, alcools ou des insaturations. Il a aussi été mis en évidence qu'un amide terminal présente de meilleures propriétés gélificatrices que les amines primaires et secondaires et les carbamates d'ammonium.¹⁸⁰

L'exemple de l'acide 12-hydroxystéarique (12-AHS), un LMWG issu de l'huile de castor, a montré que la présence de la fonction hydroxyle ajoute des liaisons H au réseau de l'acide gras initial.¹⁸¹ En effet, l'objet 0 D a alors un donneur et un accepteur de liaisons H favorisant ainsi une structure 1 D issu d'un assemblage par liaisons H. Toute modification d'un paramètre (fonction, longueur de chaîne, position de fonction) semble modifier les directions de formations de réseau et influencer sur la gélification (**Figure 30**).¹⁸⁰

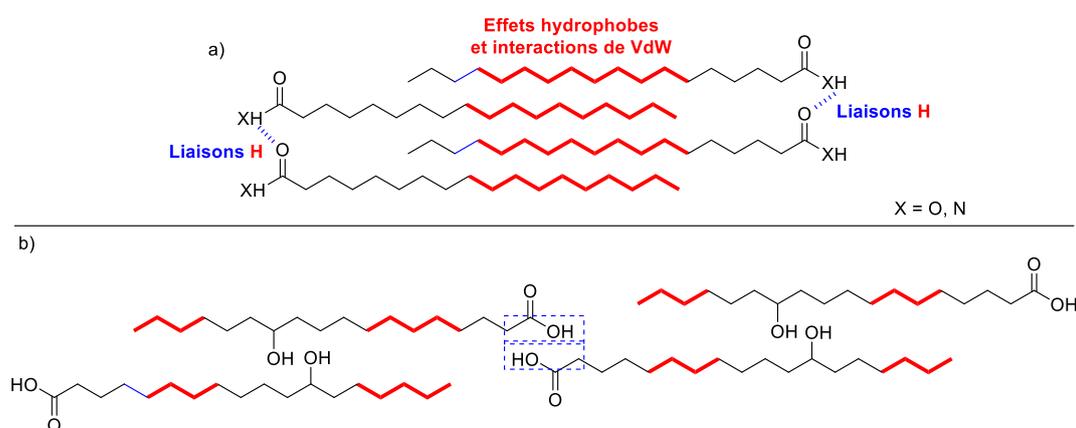


Figure 30 : Autoassemblages a) d'acide gras ou d'amide gras b) du 12-AHS

L'incorporation d'un groupement urée ou thiourée en bout de chaîne a également montré un impact sur la gélification car des liaisons H viennent s'ajouter aux interactions de London issues des alcanes. La structure est ainsi solidifiée et plusieurs réarrangements notamment fibrillaires et lamellaires en résultent. La substitution des groupements NH_2 par des chaînes carbonées conduit à des molécules

¹⁷⁹ Abdallah, D.J.; Weiss, R.G. *Langmuir* **2000**, *16*, 352-355.

¹⁸⁰ Mallia, V.A.; Weiss, R.G. *J. Phys. Org. Chem.* **2014**, *27*, 310-315.

¹⁸¹ Maskaev, A.K.; Man'kovskaya, N.K.; Len'el, I.V.; Fedorovskii, V.T.; Simurova, E.I.; Terent'eva, V.N. *Chem. Technol. Fuel Oils* **1971**, *7*, 109-112.

symétriques aux propriétés gélifiantes. Le raccourcissement de la longueur de chaîne n'impacte pas la gélification. La *N,N'*-diméthylurée serait, à ce jour, la molécule gélificatrice de plus faible poids moléculaire connue ($M = 88 \text{ g/mol}$) (**Figure 31**).¹⁸²

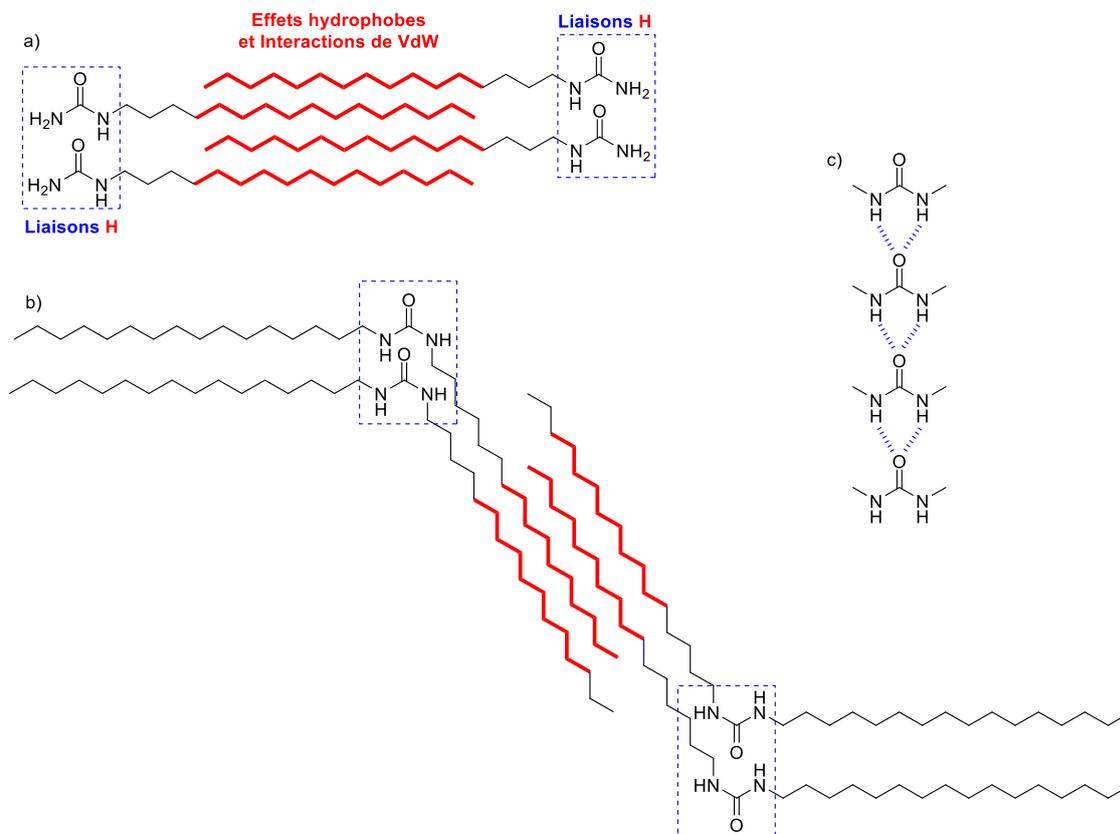


Figure 31 : Autoassemblages a) d'urée terminale b) d'urée symétrique c) de *N,N'*-diméthylurée

I.4.b. Autoassemblages de sucres et nucléosides

Une des molécules gélificatrices les plus étudiées a été le (1,3 : 2,4) dibenzylidène sorbitol (DBS) **42**¹⁸³ qui est obtenu par condensation du sorbitol (agent épaississant naturel) et du benzaldéhyde.¹⁸⁴ Au XIX^{ème} siècle, sa capacité à former des gels dans plus de 70 liquides a été rapportée.¹⁸⁵ Cette molécule gélifiante polyvalente a été largement utilisée depuis sa découverte en 1891 et plusieurs modifications structurales y ont été effectuées afin de comprendre les paramètres de la gélification de ce composé. Ainsi la synthèse d'analogues dépourvus de groupements aromatiques comme le composé **43** ou avec les alcools acétylés **44** a démontré l'importance des aromatiques pour les

¹⁸² George, M.; Tan, G.; John, V.T.; Weiss, R.G. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3243-3254.

¹⁸³ Angyal, S.J.; Lawler, J.V. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 837-838.

¹⁸⁴ Meunier, M.J. *Ann. Chim. Phys.* **1891**, *22*, 412-432.

¹⁸⁵ (a) Yamamoto, S. *Kogyo Kagaku Zasshi* **1943**, *46*, 779 ; (b) Yamamoto, S. *Kogyo Kagaku Zasshi* **1942**, *45*, 695.

interactions π - π et des hydroxyles pour les liaisons H.¹⁸⁶ En effet, les analogues synthétisés, gélifient dans un panel moins large de solvants et leurs réseaux qui en résultent diffèrent totalement de ceux formés par le DBS **42** démontrant l'impact de la structure moléculaire sur les capacités à gélifier. Les images effectuées par MEB des structures de gels dans l'acétonitrile ont montré des arrangements différents pour chaque structure avec un réseau fibrillaire très fin pour le gel issu du DBS, des fibres plus larges pour le réseau causé par **44** qui est dépourvu d'aromatiques et des petits cristaux pour le gel formé par **43** (*Figure 32*).

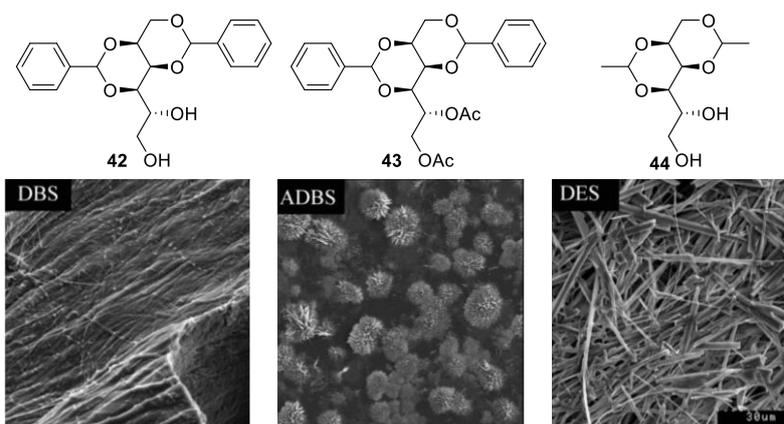


Figure 32 : Structures des xérogels **42**, **43** et **44** à 5 % m/m¹⁸⁶

A la suite de la découverte du DBS, un cas d'école, une large variété de sucres gélifiants a été rapportée.¹⁸⁷ Parmi eux se trouvent notamment les cyclodextrines¹⁸⁸ mais aussi des sucres de configurations différentes (glucose, galactose et mannose) portant des groupements aromatiques pour ajouter des interactions π - π . Toutes les modifications structurales tendent à montrer l'importance des groupements hydroxyles sur le sucre pour permettre des liaisons H. Il a également été démontré que les groupements amide, carbamate et urée favorisent une gélification en solvant organique et dans l'eau en raison de leur capacité à être donneur et/ou accepteur de liaisons H.

Pour ce qui est des nucléosides, peu de gels ont été, à ce jour, rapportés dans la littérature. Les dérivés de type guanines peuvent former une structure qui leur est propre, les G-quadruplexes.¹⁸⁹ J.-M. Lehn et son équipe ont alors démontré le potentiel de ces dérivés à faire gélifier l'eau en présence d'ions potassiums. En effet, l'utilisation d'hydrazine de guanosine **45** comme substrat a montré la possibilité

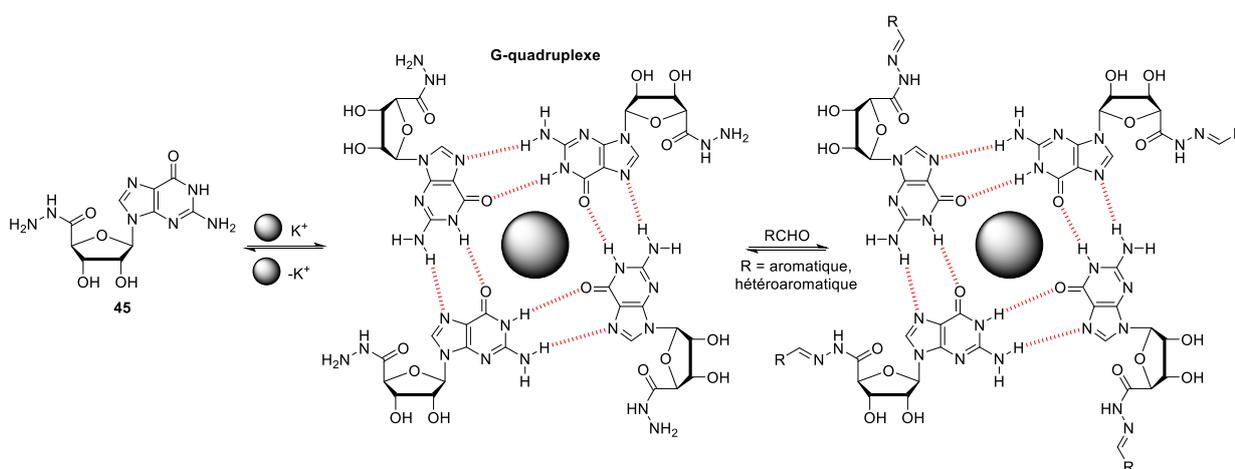
¹⁸⁶ Singh, A.; Auzanneau, F.-I.; Corradini, M.G.; Grover, G.; Weiss, R.G.; Rogers, M.A. *Langmuir* **2017**, *33*, 10907-10916.

¹⁸⁷ (a) Basu, N.; Chakraborty, A.; Ghosh, R. *Gels* **2018**, *4*, 1-34 ; (b) Dattaa, S.; Bhattacharya, S. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 5596-5637.

¹⁸⁸ De Rango, C.; Charpin, P.; Navaza, J.; Keller, N.; Nicolis, I.; Villain, F.; Coleman, A.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5479-5480.

¹⁸⁹ (a) Parkinson, G.N.; Lee, M.P.H.; Neidle, S. *Nature* **2002**, *417*, 876-880 ; (b) Zahler, A.M.; Williamson, J.R.; Cech, T.R.; Prescott, D.M. *Nature* **1991**, *350*, 718-720.

d'obtenir différents gels issus de G-quadruplexes. La nature des partenaires aldéhydes entraîne une variation des propriétés physico-chimiques du gel formant des hydrazones variées (*Schéma 13*).¹⁹⁰



*Schéma 13 : Structures des G-quadruplexes substitués piégeant l'eau*¹⁹⁰

I.4.c. Les peptides

Parmi les biomolécules, les peptides de par leur taille et leurs conformations variables favorisent les interactions supramoléculaires. Plusieurs hydrogels protéiques ont aussi été découverts par sérendipité ce qui est notamment le cas pour l'insuline.¹⁹¹ La structure du réseau obtenu dépend alors de la séquence d'acides aminés. Plusieurs séquences peptidiques ont été répertoriées comme gélifiantes. Globalement, l'incorporation de groupements aromatiques, particulièrement de fluorènes et pyrènes pour induire des interactions π - π au sein des peptides s'est avérée être une stratégie fructueuse dans la conception de molécules gélifiantes.¹⁹² C'est le cas notamment en série phénylalanine où les interactions π - π apportées par ces groupements stabiliseraient les liaisons H issues de la liaison peptidique. Ainsi des groupements tels que le naphthalène, le pyrène ou le fluorène ont un impact immédiat sur les propriétés des peptides notamment pour faire gélifier l'eau.¹⁹³

Plus récemment une équipe s'est penchée sur la capacité d'un acide aminé non naturel à former un gel dit ambidextre, c'est-à-dire à la fois dans des solvants apolaires et polaires, y compris l'eau. Une étude structurale autour du peptide gélificateur **46** découvert par sérendipité a été mise en œuvre. Tous ces peptides fonctionnalisés sont des molécules gélifiantes ambidextres avec une topologie homologue à une haltère. Le squelette carboné de l'haltère effectue majoritairement des interactions hydrophobes et/ou des interactions π - π via la variation des groupements aromatiques mais aussi de la

¹⁹⁰ Sreenivasachary, N.; Lehn, J.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 5938-5943.

¹⁹¹ Hutchinson, K.G. *J. Pharm. Pharmacol.* **1985**, *37*, 528-531.

¹⁹² Tomasini, C.; Castellucci, N. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 156-172.

¹⁹³ Du, X.; Zhou, J.; Xu, B. *Chem. Asian J.* **2014**, *9*, 1446-1472.

longueur de chaîne. En parallèle, les liaisons peptidiques interviennent dans des liaisons H stabilisées par la présence d'une tête polaire. Cette structure originale explique la particularité de ces molécules à gélifier à la fois dans des solvants polaires et apolaires (**Figure 33**).¹⁹⁴



Figure 33 : a) Gels du peptide ambidextre 46 à 1 % m/m b) Structure de type haltère¹⁹⁴

Une étude structurale a montré qu'en l'absence d'aromatiques, ces peptides gélifiaient dans une gamme moins étendue de solvants.¹⁹⁵ Il semble donc que la présence de groupements aromatiques au sein des peptides joue un rôle fondamental pour la gélification au sein de solvants variés.

I.4.d. Les terpènes

En plus des biomolécules classiques (acides aminés, lipides, acides nucléiques, sucres), certaines molécules naturelles présentent un intérêt pour la conception de gels. Un exemple : les stéroïdes liés à des aromatiques « *Aromatic-Linker-Steroids* » (ALS) ont également fait l'objet d'études concernant leur aptitude à gélifier. Le CAB (4-(2-anthryloxy)butanoate de cholestéryle) est sans doute le plus connu d'entre eux.¹⁹⁶ Solubilisé dans des solvants aux polarités variées allant du dodécane à l'octanol, il conduit à l'obtention de gels possédant des réseaux de fibres très denses (**Figure 34**).

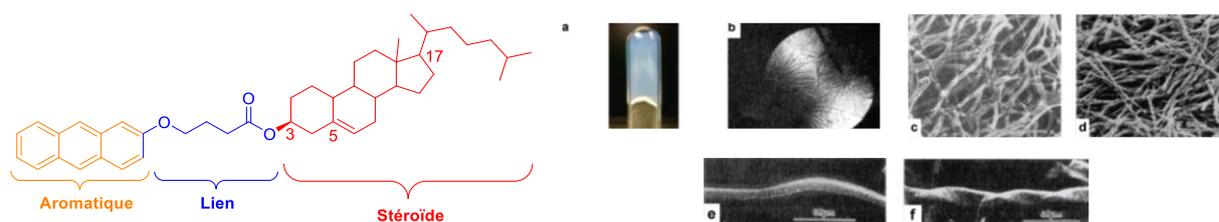


Figure 34 : Le CAB, squelette de de type ALS a) gel à 1.3 % m/m dans l'octanol b) fibres en microscopie optique à 2.2 % m/m dans le dodécane c)e) MET dans le dodécane d)f) MET dans l'octanol¹⁹⁶

Une large étude structurale a été effectuée sur ces composés dévoilant plusieurs informations. La variation de la position de substitution du groupement 2-anthryle n'a pas abouti à l'obtention d'un

¹⁹⁴ Arokianathan, J.F.; Ramya, K.A.; Deshpande, A.P.; Leemarose, A.; Shanmugam, G. *Coll. Sur. Phy. Eng. Asp.* **2021**, *618*, 1-9.

¹⁹⁵ Mancineella, S.; Murugan, N.A.; Govindaraju, G. *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 3581-3590.

¹⁹⁶ Lin, Y.-C.; Kachar, B.; Weiss, R.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5542-5551.

gel dans les mêmes solvants que le CAB. Ce résultat souligne donc l'importance de la position du groupement aromatique sur le squelette. La variation de la nature du groupement aromatique n'a quant à elle donnée aucun gel.¹⁹⁷ L'incorporation d'aromatiques substitués par un simple lien ester a néanmoins pu apporter des propriétés inattendues. Alors que les composés **47** et **48** ont des capacités de gélification similaires, le composé **49** semble moins rigide. Cependant, un mélange entre les composés **48** et **49** permet l'obtention d'un gel thixotropique dans l'octanol. Ce résultat peut s'expliquer par un transfert de densité électronique entre les carbonyles (pauvres en électrons) et les groupements méthoxy (riches en électrons) (*Figure 35*).¹⁹⁸

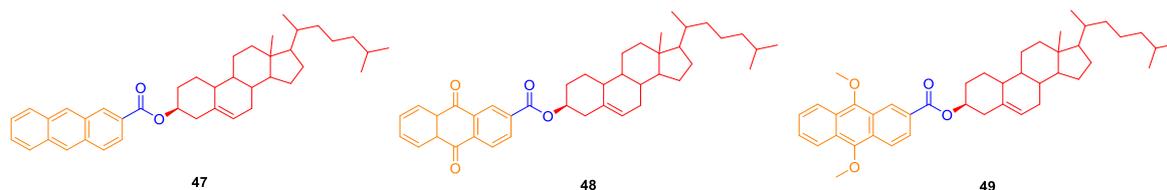


Figure 35 : Variations d'ALS autour du groupement aromatique

L'incorporation de liens donneurs et accepteurs de liaisons H favorise la gélification compte tenu de leur prédominance dans l'autoassemblage de molécules. Enfin la partie stéroïde contient plusieurs particularités qui peuvent avoir des conséquences immédiates comme la stéréochimie du carbone en position C-3 ou encore la nature des groupements en position C-17. En effet, un carbone asymétrique peut orienter des groupements fonctionnels dans l'espace pour favoriser un réarrangement supramoléculaire menant à un réseau tridimensionnel. Le rôle de la chiralité, même s'il présente un intérêt dans la conception de gels, ne sera pas plus développé dans ce manuscrit. Des modifications qui paraissent mineures comme la présence de l'insaturation en C-5 peuvent avoir des conséquences directes sur la capacité à gélifier pour une molécule donnée dans un solvant donné.¹⁹⁹ En effet une vaste étude a rapporté la faculté des triterpènes, une classe de molécules naturelles, à s'autoassembler notamment en fibres, vésicules, plaquettes... etc.²⁰⁰

Que cela concerne les biomolécules ou encore des molécules naturelles ou synthétiques, la découverte des propriétés gélifiantes se fait majoritairement par sérendipité. Les quelques exemples ci-dessus, choisis arbitrairement ne donnent qu'une vision restreinte des paramètres jouant un rôle. Ils suffisent à comprendre qu'il est difficile d'établir un lien rationnel précis entre la structure et les propriétés d'autoassemblages de petites molécules organiques.

¹⁹⁷ Mukkamala, R.; Weiss, R.G. *Langmuir* **1996**, *12*, 1474-1482.

¹⁹⁸ Ostuni, E. *M.S. Thesis, Georgetown University, Washington, DC, 1995*.

¹⁹⁹ George, M.; Weiss, R.G. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 489-497.

²⁰⁰ Bag, B.G.; Majumdar, R.; *Chem. Rec.* **2017**, *17*, 1-34.

En dépit du développement d'instruments d'analyses de pointe et de logiciels informatiques de prédiction (KAP, DFT...etc.), il est difficile d'anticiper l'autoassemblage d'une molécule.²⁰¹ Il n'existe pas de feuille de route pour y parvenir. Les seules techniques qui ont mené à des succès sont les modifications structurales précises sur une famille de molécules donnée. D'après P. Dastidar, le défi de prévoir la gélification d'un composé dans un solvant donné reste : « mince, si ce n'est impossible ». ²⁰² Cette discipline renferme encore beaucoup de mystères et nécessite une approche multidisciplinaire. Richard G. Weiss souligne également l'importance de la rigueur lors de la conception de gels car beaucoup de problèmes de reproductibilité ont été soulevés.¹⁶⁴

Les biomolécules occupent une place majeure dans le domaine des gels supramoléculaires ce qui conduit les scientifiques à s'inspirer du vivant pour créer des systèmes auto-assemblés à base de molécules naturelles. La nature constitue une réserve d'inspiration inépuisable.

I.5. Hybrides gélifiants

Les biomolécules ont de nombreux avantages pour l'élaboration de gels supramoléculaires même fonctionnalisées car elles sont le plus souvent biocompatibles et biodégradables. En d'autres termes, ces composés sont assimilables *in vivo* et sont facilement éliminés par le système contrairement à des gels issus de polymères. De plus, la combinaison des différentes familles de biomolécules conduit à des hybrides qui existent dans la nature : les bioconjugués. Ces associations bioinspirées permettent une infinité de possibilités sur le plan synthétique et notamment l'accès à des molécules amphiphiles résultant du « mariage » entre une partie hydrophile (sucres, acides aminés, acides nucléiques...) et une partie hydrophobe (lipide) (**Figure 36**). Les molécules amphiphiles sont par ailleurs connues pour leur capacité à s'autoassembler pour conduire à différentes structures dont les gels dits supramoléculaires.

²⁰¹ (a) Li, J.-L.; Yuan, B.; Liu, X.-Y.; Hu, H.-Y. *Cryst. Growth Des.* **2010**, *10*, 2699-2706 ; (b) Schoonbeek, F.S.; van Esch, J.H.; Hulst, R.; Kellogg, R.M.; Feringa, B.L. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2633-2643 ; (c) Gesquiere, A.; Abdel-Mottaleb, M.M.S.; De Feyter, S.; De Schryver, F.C.; Schoonbeek, F.; van Esch, J.; Kellogg, R.M.; Feringa, B.L.; Calderone, A.; Lazzaroni, R.; Bredas, J.L. *Langmuir* **2000**, *16*, 10385-10391 ; (d)) Zweep, N.; Hopkinson, A.; Meetsma, A.; Browne, W.; Feringa, B.L.; van Esch, J.H. *Langmuir* **2009**, *25*, 8802-8809.

²⁰² Dastidar, P. *Gels* **2019**, *5*, 1-10.

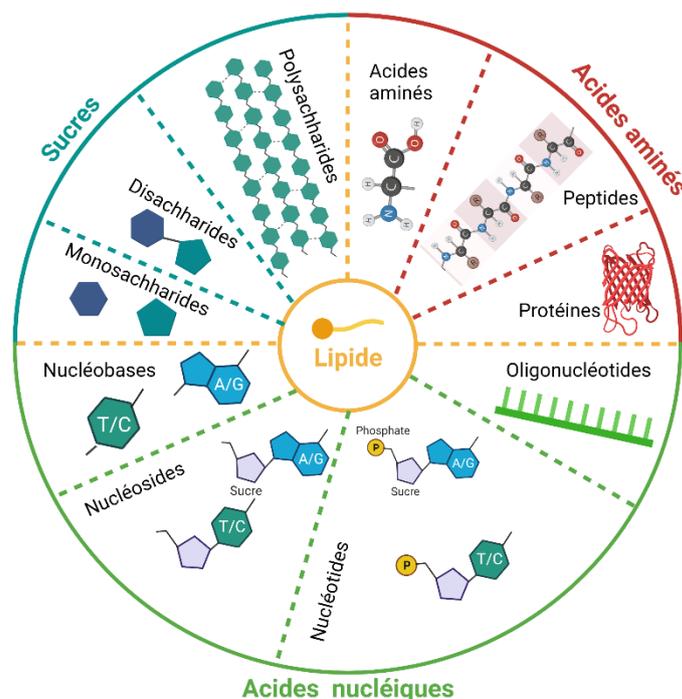


Figure 36 : Bioconjugés hybrides amphiphiles issus de la combinaison d'une partie hydrophobe et hydrophile

Quelques exemples sont développés ci-dessous pour illustrer le potentiel de différentes familles de bioconjugés dans l'obtention de gels supramoléculaires.

I.5.a. Les Glycolipides

A l'état naturel, les glycolipides résultent principalement de réactions (estérification ou amidification) entre des oses ou des aminosucre et des lipides. Ils jouent un rôle important au niveau des membranes cellulaires. Les glycolipides combinent une structure hydrophile avec la présence d'un sucre et une partie hydrophobe avec la chaîne carbonée. Ce caractère amphiphile est à l'origine de leurs propriétés d'autoassemblages.

Parmi les exemples d'analogues synthétiques rapportés dans la littérature, des disaccharides (maltose, cellulose et lactose) ont été reliés à une chaîne carbonée C_{16} issue de l'acide palmitique. La bioconjugaison entre ces deux molécules a été réalisée au moyen d'une CuAAC (« *Copper-catalyzed-azido-alkyne-cycloaddition* »), réaction classique de chimie click qui permet la réaction entre une fonction azoture et un alcyne vrai dans des conditions douces et de manière efficace et sélective pour conduire à un squelette *1,4*-triazole.²⁰³ Le lien triazole qui en résulte permet d'ajouter des interactions π - π qui ont été mises en évidence par RMN. La fonction amide génère de possibles liaisons H et la

²⁰³ Breinbauer, R.; Köhn, M. *ChemBioChem* **2003**, *4*, 1147-1149.

chaîne carbonée (palmitique) est à l'origine d'effets hydrophobes. La combinaison de ces interactions conduit à l'obtention d'hydrogels à des concentrations allant de 0.5 % à 1 % m/m lorsque ces composés sont dissous dans l'eau. Les images par MET révèlent également des structures en rubans entremêlés dont le sens d'entortillement dépend du sucre employé et suppose ainsi une chiralité supramoléculaire (**Figure 37**).²⁰⁴

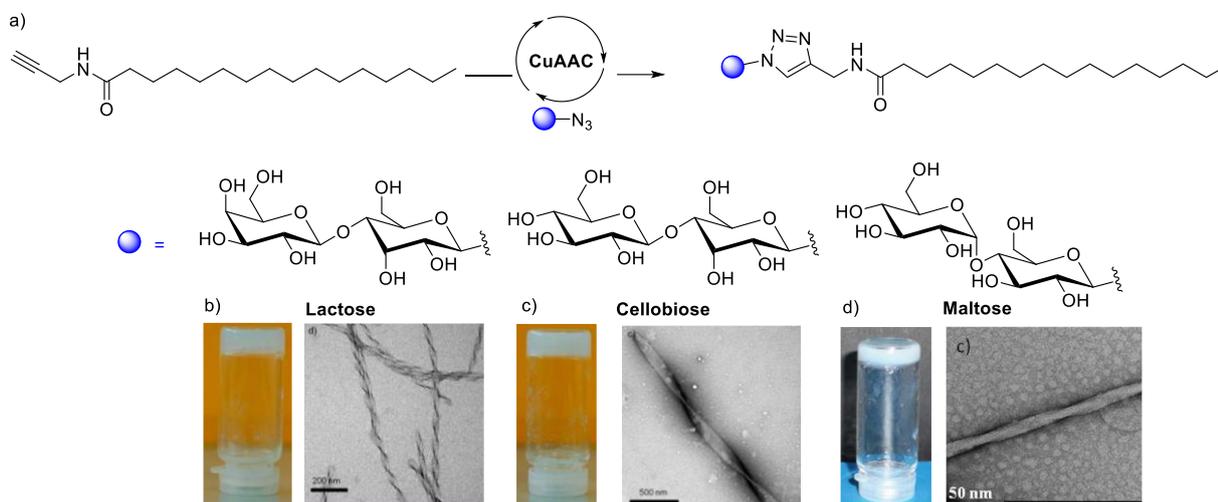


Figure 37 : a) Réaction de type CuAAC b) hydrogel de lactose à 1 % m/m et image en MET de ruban enroulé côté gauche c) hydrogel de cellobiose à 1 % m/m et image de MET de ruban enroulé côté droit c) hydrogel de maltose à 1 % m/m et image de MET d'une fibre. Echantillons séchés et contrastés à l'acétate d'uranyle (1 % m/m dans l'eau)²⁰⁴

I.5.b. Les lipopeptides

Les lipopeptides sont une autre famille de bioconjugués amphiphiles qui existent à l'état naturel et qui sont notamment connus pour des propriétés antibiotiques ou antifongiques. Ils ont été largement explorés pour leurs propriétés d'autoassemblages. La présence de nombreuses liaisons H possibles au sein des peptides permet des conformations variées dont les plus connues sont « β -sheet » et l'hélice α . Le lien entre peptide et lipide va leur permettre un gain d'hydrophobie non négligeable pour permettre un arrangement supramoléculaire voire la formation d'un gel. Ainsi, de nombreux exemples de synthèse de lipopeptides avec des applications variées ont été rapportés dans la littérature.

Parmi ces exemples, les dérivés d'acides aminés *N*-stéaroylés avec une amine terminale ont été rapportés pour leur capacité à gélifier dans des solvants organiques et dans l'eau. En effet après incorporation d'un acide aminé sur un squelette semblable à la C18AA, molécule gélificatrice utilisée notamment pour la préparation de nanoparticules d'or, les lipopeptides résultants se sont avérés

²⁰⁴ (a) Clemente, M.J.; Romero, P.; Serrano, J.L.; Fitremann, J.; Oriol, L. *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 3847-3858 ; (b) Clemente, Fitremann, J.; Mauzac, M.; Serrano, J.L.; Oriol, L. *Langmuir* **2011**, *27*, 15236-15247.

gélifiants. Cette approche rationnelle a notamment mené à l'obtention du composé **50** qui gélifie à 0.5 % m/m dans l'eau et dans le toluène avec un réseau formé de fines fibres ordonnées dans l'eau et irrégulières dans le toluène, qui ont été observées par microscopie électronique à balayage à émission de champ (MEBEC) (**Figure 38**).²⁰⁵ Ceci n'est qu'un exemple des nombreux composés de ce type synthétisés et rapportés dans la littérature.²⁰⁶

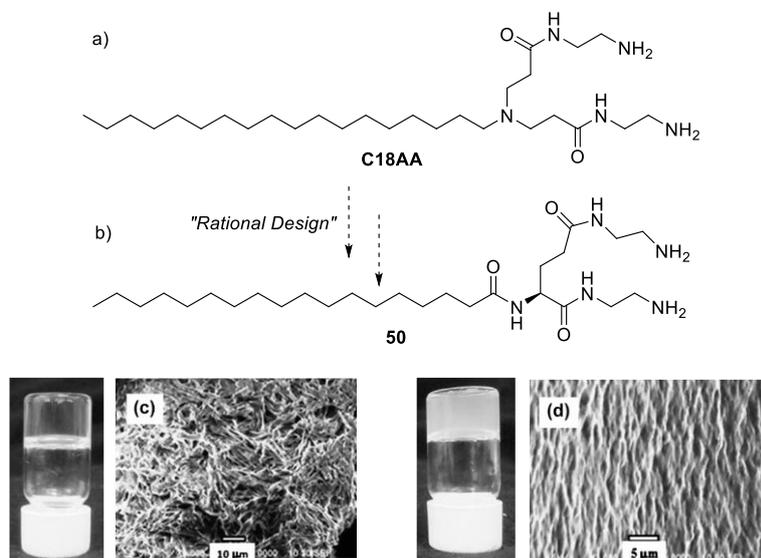


Figure 38 : a) Structure de C18AA b) Structure du lipopeptide c) 50 à 1 % m/m dans le toluène et réseau en MEBEC (échelle 10 μm) c) 50 à 1 % m/m dans l'eau et réseau en MEBEC (échelle 5 μm)²⁰⁵

II. Les Nucléolipides, une famille d'hybrides gélifiants de choix

Les nucléolipides (NLs) représentent une autre classe d'hybrides amphiphiles qui existent à l'état naturel. De très nombreuses études rapportent la synthèse et l'utilisation de NLs synthétiques. En effet, la réunion de deux biomolécules aussi différentes qu'un dérivé d'acide nucléique et qu'un lipide se présente comme une stratégie prometteuse dans le but de promouvoir les autoassemblages supramoléculaires de différents types et notamment la formation de gels. Les NLs présents à l'état naturel donnent une idée de l'immense potentiel que constitue la combinaison de structures très variées, en termes de synthèse mais également de diversité des propriétés des molécules formées. Les fragments constituant ces hybrides étant eux-mêmes modifiables et modulables, de multiples fonctionnalisations sont possibles dont la limite serait l'imagination du chimiste de synthèse. Ces variations permettent alors de réguler leur caractère amphiphile à l'origine notamment de la

²⁰⁵ Delbecq, F.; Tsujimoto, K.; Ogue, Y.; Endo, H.; Kawai, T. *J. Col. Int. Sci.* **2013**, 390, 17-24.

²⁰⁶ (a) Kurbasic, M.; Parisi, E.; Garcia, A.M.; Marchesan, S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2020**, 20, 1300-1309 ; (b) Delbecq, F. *Adv. Col. Inter. Sci.* **2014**, 209, 98-108 ; (c) Hachisako, H.; Saeki, N.; Uchiyama, S.; Ihara, H. *Rec. Res. Dev. Pure App. Chem.* **2000**, 4, 59-80.

construction de réseaux supramoléculaires. La répartition hydrophilie/hydrophobie au sein même du nucléolipide amène à des propriétés physico-chimiques très différentes (**Figure 39**). De ces propriétés physico-chimiques, résulte souvent un potentiel d'applications prometteuses notamment dans le domaine biomédical. Dans ce contexte, l'équipe ChemBioPharm s'intéresse tout particulièrement à la synthèse et à l'étude des propriétés biologiques et/ou physico-chimiques des NLs.

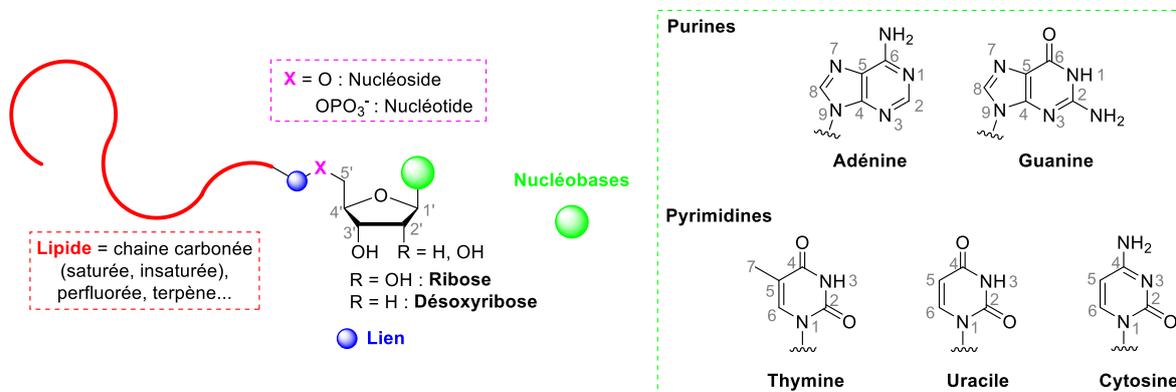


Figure 39 : Structure générale d'un NL

II.1. Quelques généralités sur les nucléolipides naturels

Dans la nature, il existe une grande variété de nucléolipides avec des structures et des rôles divers suivant l'architecture du squelette carboné. La complexité des structures du monde vivant illustre leur potentiel et les multiples possibilités de modifications structurales visant notamment à moduler les propriétés d'autoassemblages. Nous allons présenter ici quelques exemples de NLs naturels en fonction de la nature de la partie acide nucléique qui les constitue : nucléobase, nucléoside, nucléotide, oligonucléotide.

II.1.a. Les nucléobases lipidiques naturelles

La famille des nucléobases lipidiques ne présente à notre connaissance qu'un seul groupe de composés naturels qui sont les agelasines. Ils sont issus d'une éponge marine, l'*agelas* sp. qui leur a donné leur nom. Ces composés naturels ne possèdent donc pas de motif ose puisque le lipide, un motif diterpène est directement relié à une adénine en position N-7. Ces nucléolipides sont des sels de puriniums dialkylés avec 9 structures isolées à ce jour allant de l'agelasine A à I (**Figure 40**). Les

agelasines sont connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, cytotoxiques, et inhibitrices de la Na,K-ATPase.²⁰⁷

II.1.b. Les nucléosides lipidiques naturels

Les nucléolipides présentant une unité nucléoside sont en nombre plus important dans la nature. Plusieurs familles sont à citer notamment les tunicamycines qui ont été extraites de bactéries *Streptomyces lysosuperficus* pour la première fois en 1971.²⁰⁸ Leurs structures comportent un motif uridine relié à une longue chaîne grasse insaturée par un groupement aminodialdose. Ce groupement déséquilibre la balance hydrophile/lipophilie puisqu'ils sont solubles notamment dans la pyridine et l'eau à pH basique. Les tunicamycines comportent quatre composés qui diffèrent par le nombre de carbones portés par le lipide (**Figure 40**). Ces nucléolipides naturels sont connus pour leurs propriétés antibiotiques mais ils présentent également des propriétés antifongiques, antimicrobiennes, antivirales et antitumorales. Ils sont notamment responsables de l'inhibition de la biosynthèse de peptidoglycanes dans les cellules eucaryotiques.²⁰⁹

II.1.c. Les nucléotides lipidiques naturels

La cytidine diphosphate diacylglycérol est le nucléolipide le plus omniprésent dans la nature. Sa structure est composée d'un nucléotide de type cytidine lié à deux chaînes lipidiques au moyen d'un motif ester de glycérol. Il est issu de la condensation entre l'acide phosphatidique et la cytidine-5'-triphosphate (**Figure 40**).²¹⁰ Ce composé est un agent de transfert du groupement phosphatidique à des protéines, des glycolipides et des lipoprotéines. Il permet également la formation de molécules qui composent des membranes cellulaires telles que la phosphatidylsérine, le phosphatidylinositol ou encore la cardiolipine par le transfert d'une fonction phosphatidique et deux dans le cas de la cardiolipine. Ce constituant ubiquitaire a plusieurs fonctions vitales en rendant possible la synthèse d'une grande variété de molécules naturelles aux fonctions diverses.²⁰⁷

²⁰⁷ Rosemeyer, H. *Chemistry and Biodiversity* **2005**, 2, 977-1063.

²⁰⁸ Takatsuki, A.; Arima, K.; Tamura, G. *J. Antibiot.* **1971**, 24, 215-223.

²⁰⁹ Tamura, G. *Ed. Japan Scientific Press, Tokyo, Japan, 1982.*

²¹⁰ Stryer, L. *Biochimie, F. Sieweg & Sohn, Braunschweig, 1979*, 318.

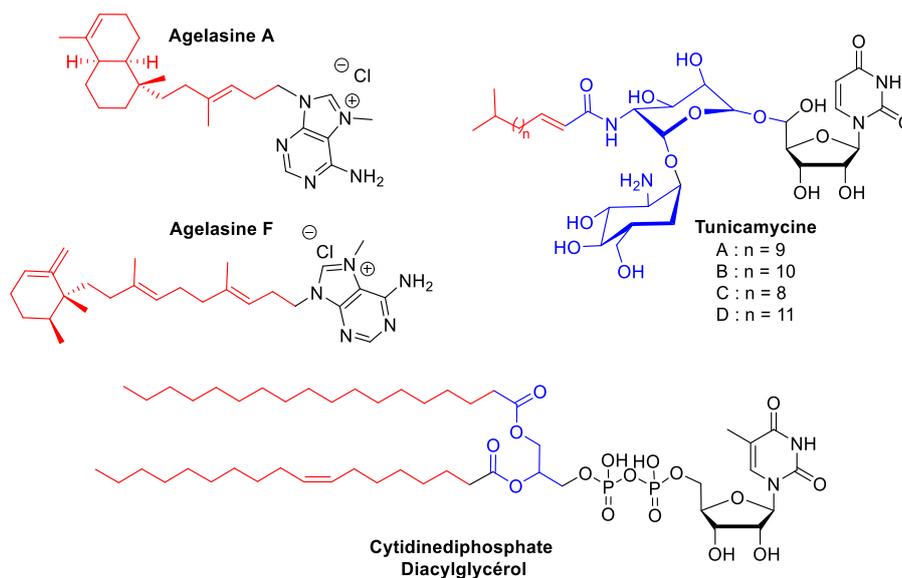


Figure 40 : Structures de NLs naturels

La richesse structurale des nucléolipides naturels est à l'origine de leurs différentes propriétés biologiques. La partie lipidique, le lien et l'acide nucléique jouent un rôle fondamental au niveau des propriétés biologiques et physico-chimiques du nucléolipide amphiphile par nature. Dans le contexte de la conception de nucléolipides capables de s'autoassembler, la modification de leurs structures notamment du lipide, du lien, du sucre ou encore de la nucléobase apparaît comme une stratégie prometteuse. En effet, des changements structuraux mineurs permettent de moduler l'amphiphilie d'un composé donné en formant des molécules bioinspirées. Ainsi dans un souci de compréhension de la relation entre une structure et ses propriétés d'autoassemblages voire de gélification, la synthèse organique, en permettant l'accès à de nombreux analogues, apparaît comme un outil d'intérêt.

II.2. Des autoassemblages variés pour les NLs

La capacité des NLs à s'autoassembler provient de différents types d'interactions intermoléculaires faibles possibles. Les nucléobases peuvent interagir *via* des liaisons H qui sont à l'origine de l'appariement canonique par complémentarité de bases. Ces interactions dites « Watson-Crick » permettent notamment la structuration en hélice de l'ADN. Par ailleurs, des interactions π - π sont également envisageables entre nucléobases. Le squelette osidique est propice aux liaisons H et la fonction phosphate des nucléotides étant chargée, elle génère des interactions ioniques. Les lipides, quant à eux, majoritairement des acides gras, vont engendrer des effets hydrophobes pour s'organiser en bicouche. (**Figure 41**).

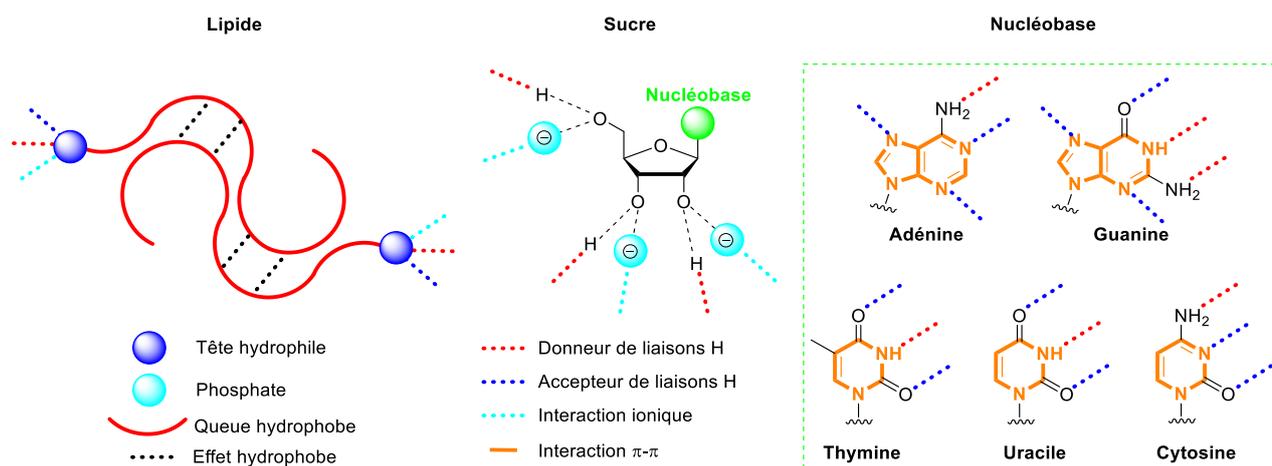


Figure 41 : Sites d'interactions faibles possibles sur les composantes des nucléolipides

Combinant les propriétés physico-chimiques des acides nucléiques et des lipides, les NLs conduisent à une grande variété d'édifices supramoléculaires tels que des liposomes, des bicouches lipidiques, des micelles, des fibres ou encore des nanotubes. La formation de ces architectures dépend évidemment de la composition structurale des NLs et peut avoir une multitude d'applications. Plusieurs exemples choisis arbitrairement illustrent ici cette diversité.

II.2.a. Exemples de nucléobases lipidiques

Il existe notamment des nucléobases lipidiques avec l'exemple des diNLs **51** portant des têtes thymines et **52** ayant des extrémités adénines qui s'autoassemblent respectivement en structures rectangulaires et en vésicules en milieu tampon.²¹¹

II.2.b. Cas des nucléosides lipidiques

Les nucléosides lipidiques permettent plus de variations structurales grâce au squelette sucre (ribose ou désoxyribose). Les composés **53** et **54** dérivés de la thymidine, par exemple, forment des cristaux liquides dans l'eau dont les images en MET ont révélé des fibrilles.²¹² Un autre exemple concerne une prodrogue développée par l'équipe de P. Couvreur, portant le squalène comme molécule anticancéreuse lipidique (le composé **55**). La variation de la position d'ancrage du principe actif

²¹¹ Morales-Reina, S.; Giri, C.; Leclercq, M.; Vela-Gallego, S.; de la Torre, I.; Castón, J.S.; Surin, M.; de la Escosura, A. *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 1082-1090.

²¹² Mulet, X.; Kaasgaard, T.; Conn, C.E.; Waddington, L.J.; Kennedy, D.F.; Weerawardena, A.; Drummond, C.J. *Langmuir* **2010**, *26*, 18415-18423.

lipidique et du type de nucléoside employé, a permis la formulation de nanoparticules dans l'eau. En fonction de la structure du NL, les images en microscopie ont révélé différents réseaux d'autoassemblages (lamelles, vésicules, carrés...).²¹³ Plusieurs exemples ont également rapporté l'utilisation de NLs chargés qui présentent des interactions ioniques en supplément. La DOTAU développée par P. Barthélémy et M. Grinstaff est un exemple intéressant car l'hydroxyle en position 5' a été transformé en cation ammonium, ce qui permet à cette molécule chargée d'être impliquée dans des interactions ioniques. En milieu aqueux, ce NL connu comme agent de transfection conduit à la formation de liposomes multi-lamellaires.²¹⁴

II.2.c. Autoassemblages issus de nucléotides lipidiques

Plusieurs systèmes nucléolipidiques ont été mis au point en s'inspirant des phospholipides notamment des lécithines qui sont des constituants majeurs des membranes plasmiques par leur organisation en bicouches. L'incorporation d'un groupement phosphate au sein du NL permet également un panel d'autoassemblages supramoléculaires très varié. Par exemple, la diC₁₆dC donne notamment des liposomes après hydratation d'un film lipidique. Ces nanoobjets sont notamment utilisés pour la reconnaissance d'ions Ag⁺.²¹⁵ Il est également possible de transformer un principe actif nucléoside en NL pour tirer profit des propriétés d'autoassemblage dans le domaine de la délivrance de médicaments. C'est le cas de la clofarabine, une déoxyadénosine notamment utilisée dans le traitement de leucémies lymphoblastiques aiguës chez les enfants.²¹⁶ Son couplage avec des analogues de lécithines a permis une nette amélioration des propriétés pharmacocinétiques-dynamiques du composé actif. Ici, l'introduction d'un nouveau centre asymétrique a conduit à des objets de topologie différente. Le NL **56** a conduit à la formation de micelles tandis que le NL **57** a permis la formation d'hélices observables en cryo-MET.²¹⁷

²¹³ Lepeltier, E.; Bourgaux, C.; Rosilio, V.; Poupæert, J.H.; Meneau, F.; Zouhri, F.; Lepetre-Mouelhi, S.; Desmaele, D.; Couvreur, P. *Langmuir* **2013**, *29*, 14795-17803.

²¹⁴ (a) Moreau, L.; Barthélémy, P.; El Maataoui, M.; Grinstaff, M.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7533-7539 ; (b) Chabaud, P.; Camplo, M.; Payet, D.; Serin, D.; Moreau, L.; Barthélémy, P.; Grinstaff, M.W. *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 466-472.

²¹⁵ (a) Ono, A.; Cao, S.; Togashi, H.; Tashiro, M.; Fujimoto, T.; Machinami, T.; Oda, S.; Miyake, Y.; Okamoto, L.; Tanaka, Y. *Chem. Commun.* **2008**, *0*, 4825-4827 ; (b) Alies, B.; Ouelhazi, M.A.; Noireau, A.; Gaudin, K.; Barthélémy, P. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 1692-1695.

²¹⁶ Lech-Maranda, E.; Korycka, A.; Robak, T. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2009**, *9*, 805-812.

²¹⁷ Sandin, P.; Bombelli Baldelli, F.; Castroflorio, B.; Müller, C.; Obermeier, J.; Karlsson, G.; Edwards, K.; Baglioni, P.; Berti, D. *New J. Chem.* **2014**, *38*, 5247-5253.

II.2.d. Un exemple d'oligonucléotides lipidiques

Enfin, les oligonucléotides connus pour leurs capacités à stocker et propager l'information génétique peuvent être couplés à des lipides pour donner des oligonucléotides lipidiques. Ce domaine en plein essor connaît plusieurs exemples. L'équipe de P. Barthélémy a récemment développé le bioconjugué **58** capable de s'organiser en micelles dans l'eau. Le lipide permet une meilleure internalisation cellulaire de l'oligonucléotide pour lui permettre d'entrer en action. Dans cet exemple, il s'agit de lutter contre l'antibiorésistance (**Figure 42**).²¹⁸

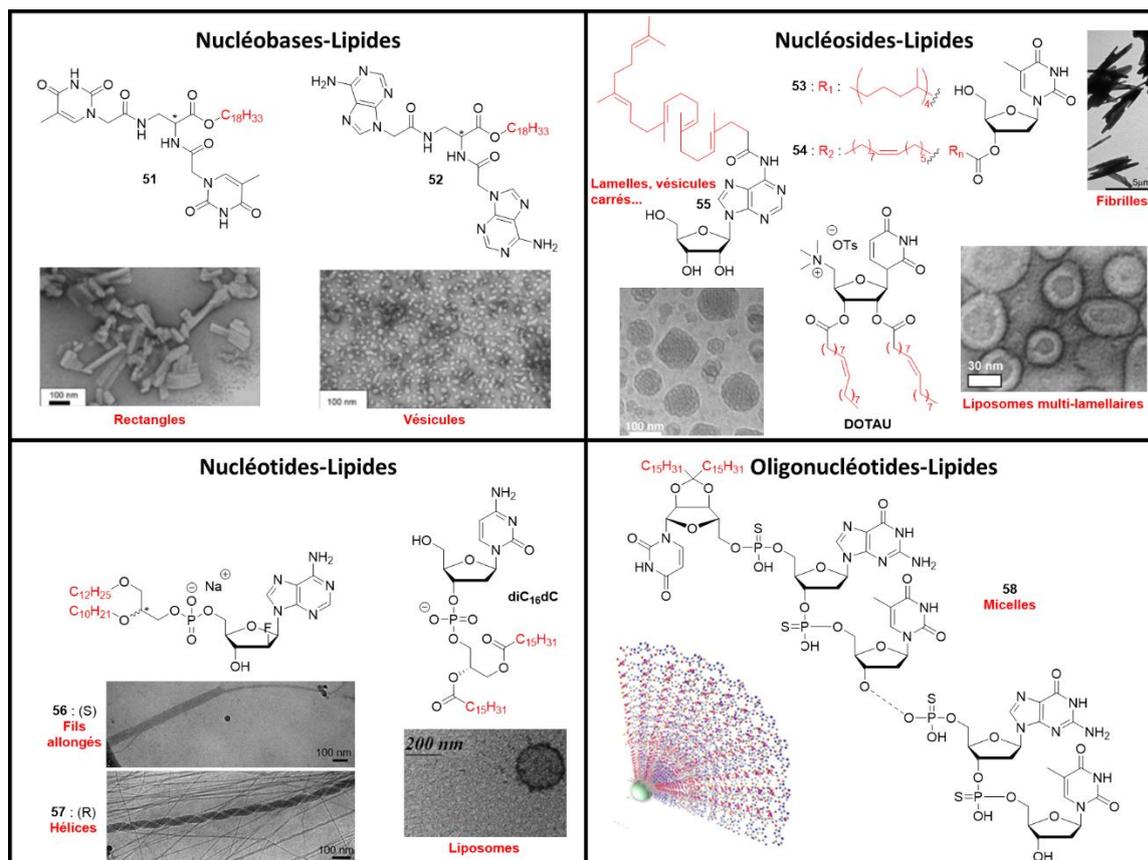


Figure 42 : Exemples de structures d'autoassemblages issus de NLs

Les diverses structures issues de l'autoassemblage des NLs possèdent un immense potentiel d'applications comme les quelques exemples précédents l'ont illustré.²¹⁹ Dans certains cas, ces autoassemblages supramoléculaires peuvent mener à la formation de matériaux de type gels présentant également un grand intérêt. En effet, les NLs ont démontré des capacités à construire des réseaux supramoléculaires piégeant une phase continue et conduisant à des LMWGs qui ont été définis et décrits précédemment. La modulation de la balance hydrophilie/lipophilie lors de la

²¹⁸ Kauss, T.; Arpin, C.; Bientz, L.; Nguyen, P.V.; Vialet, B.; Benizri, S.; Barthélémy, P. *Sci. Rep.* 2020, 10, 1-9.

²¹⁹ Walunj, M.B.; Dutta, S.; Srivatsan, S.G. *Architectures of Nucleolipid Assemblies and their Applications: Nanostructure Science and Technology* 2022, Springer, Singapore.

synthèse de NLs permet d'induire des interactions supramoléculaires dans un solvant ou des solvants ciblé(s). Ils peuvent alors mener à l'obtention d'hydrogels ou d'organogels.

II.3. Les NLs précurseurs d'hydrogels

Les NLs sont capables de former un réseau 3 D piégeant le milieu environnant pour former un gel supramoléculaire. Lorsque ce milieu environnant est aqueux, le système obtenu est un hydrogel. Les hydrogels de faible poids moléculaire sont attractifs pour leur biocompatibilité et ont de nombreuses applications en chimie, en biologie et en médecine notamment pour la culture de cellules, l'ingénierie tissulaire ou encore la libération de médicaments. Ce domaine a fait l'objet d'une quantité de recherches croissante de façon à développer des nucléolipides aux propriétés hydrogélifiantes modulables. Pour y parvenir, les recherches se sont focalisées sur la synthèse de NLs présentant une balance hydrophilie/lipophilie favorable avec l'eau afin de permettre leur solubilisation tout en ayant un aspect hydrophobe avec au moins une chaîne lipidique permettant l'autoassemblage. Les différentes approches développées dans la littérature seront présentées ici, non pas de façon chronologique ni exhaustive mais de façon à essayer de dégager un rationnel entre la conception de ces composés et leurs propriétés physico-chimiques. Plusieurs exemples seront ainsi cités en tenant compte de l'augmentation de la complexité structurale, en partant de nucléosides lipidiques simples. En effet, parmi ceux-ci mais également des structures de type Bola-amphiphiles ou encore des hybrides GNLs (GlycosylNucléoLipides) ou des oligonucléolipides, très complexes, plusieurs types de NLs ont révélé des capacités hydrogélifiantes (*Figure 43*).

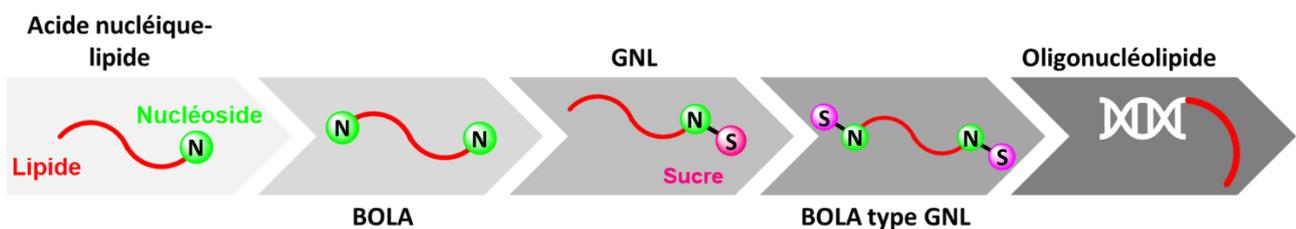


Figure 43 : Vers des NLs hydrogélifiants aux structures de plus en plus complexes

II.3.a. Les hydrogels issus de nucléosides lipidiques

La présence d'une unité sucre polaire en plus de la nucléobase permet un équilibre de la balance hydrophilie/lipophilie *via* de potentielles liaisons H. Cela apporte également des sites de fonctionnalisations supplémentaires. Plusieurs variétés de nucléosides lipidiques aux propriétés

gélifiantes ont été développées. L'équipe de B.H. Kim a notamment découvert des hydrogels à base de 2'-déoxyuridine et d'uridine lipidiques. Ces nucléosides ont été substitués par des groupements alkylbenzyles en position 5 via une réaction de type CuAAC. Avec le lien triazole, ils ont permis un gain en hydrophobie pour induire des propriétés amphiphiles. De plus, les groupements aromatiques (benzyle et triazole) ont entraîné une agrégation par interactions π - π favorisant la gélification. Ainsi, après un processus de chauffage/retour à température ambiante, le NL **59** avec une chaîne éthyle a été solubilisé à chaud pour former un hydrogel blanc et opaque avec une cmg de 0.2 % m/m.²²⁰

En revanche, une uridine possédant un groupement hydroxyle supplémentaire, se retrouvant plus hydrophile a nécessité une chaîne butyle plus longue pour former un hydrogel qui est plus translucide avec une cmg de 1 % m/m. Les images prises en MEB ont révélé deux réseaux de fibres différents puisque l'hydrogel issu du NL **59** a présenté des fibres larges de 30-50 nm tandis que l'hydrogel avec le NL **60** a exposé un réseau plus dense avec de fines fibres de 10-30 nm (**Figure 44**).²²¹ Cet exemple illustre l'importance et la difficulté de la maîtrise de l'équilibre hydrophilie/lipophilie pour la formation d'un gel puisque chaque modification structurale a un impact.

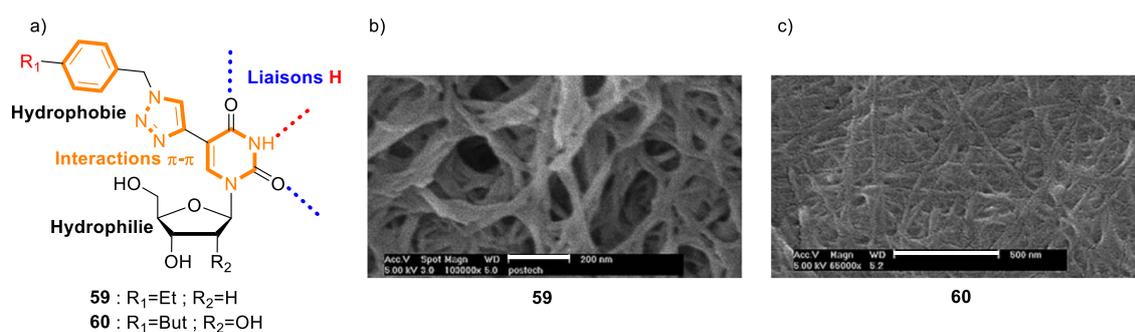


Figure 44 : a) Structures et interactions des NLS 5-alkylbenzyles b) images MEB de l'hydrogel du NL 59 (échelle 200 nm) c) images MEB de l'hydrogel du NL 60 (échelle 500 nm)²²¹

Le NL **61** présentant une adénine a conduit à un réseau de fibres de 30-50 nm observé par MEB. La formation du gel a nécessité l'utilisation d'ultrasons car le chauffage n'a pas suffi à solubiliser le composé. Ceci illustre bien que le procédé de gélification soit également dépendant de la structure et donc à adapter au cas par cas, complexifiant d'autant le développement de gels supramoléculaires (**Figure 45**).²²²

²²⁰ Park, S.M.; Lee, Y.S.; Kim, B.H. *Chem. Commun.* **2003**, 23, 2912-2913.

²²¹ Park, S.M.; Shen, Y.; Kim, B.H. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 6, 610-612.

²²² Park, M.P.; Kim, B.H. *Soft Matter* **2008**, 4, 1995-1997.

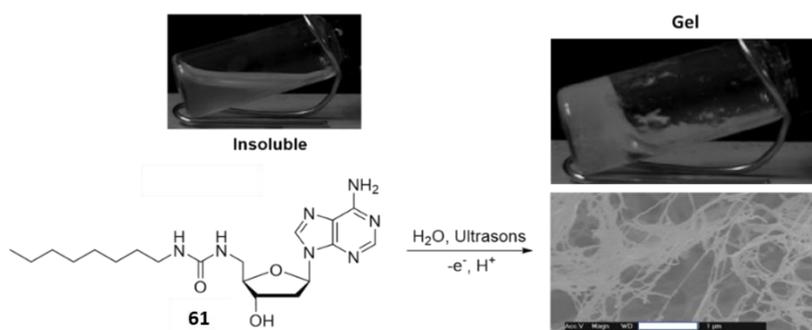


Figure 45 : Gélification de l'eau avec le NL 61 aux ultrasons avec image en MEB (échelle 1 μm)²²²

II.3.b. Les nucléotides lipidiques hydrogélifiants

Le passage des nucléosides au nucléotides rajoute les liens phosphates polaires, sièges de liaisons ioniques, connus pour leur influence sur les propriétés d'autoassemblages précédemment citées mais également pour leur affinité avec l'eau.

Plusieurs exemples ont été rapportés notamment celui du NL **62** portant une tête phosphatidylcholine en position 5'. Cette extrémité polaire bioinspirée augmente les affinités avec l'eau et permet la solubilité du NL. Le composé **62** a ainsi permis la formation d'un réseau de fibres hélicoïdales entremêlées avec un diamètre de l'ordre de 4 nm et des cavités pour l'eau de 1 à 10 μm de diamètre. Le réseau tridimensionnel observé repose sur des effets hydrophobes pour une longueur de chaîne de 16 jusqu'à 20 carbones et des interactions π - π au niveau de la nucléobase (**Figure 46**).²²³

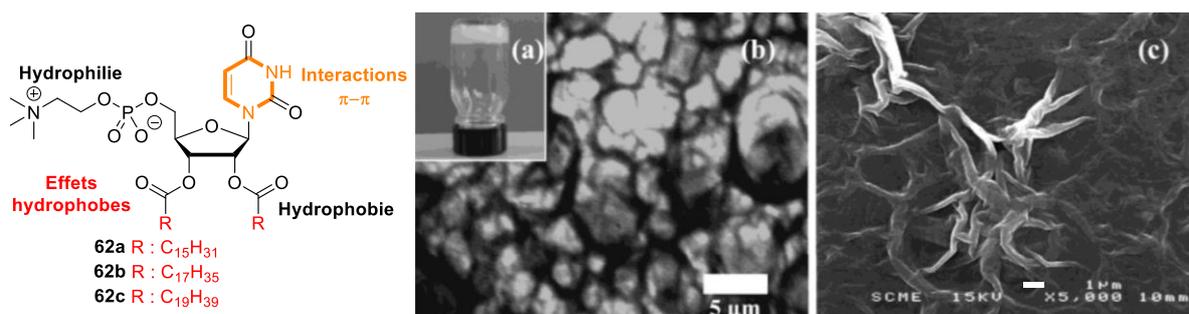


Figure 46 : Structure des NLs hydrogélifiants et interactions a) photo du gel à 6 % m/m b) image MET (échelle 5 μm) c) image MEB (échelle 1 μm)²²³

Les diC₁₆dC et diC₁₆dG sont des nucléotides lipidiques simples bicaténaires. La partie lipidique peut en effet être très variée, simple chaîne carbonée, bicaténaire, aromatique ou plus complexe encore. Dans tous les cas, elle joue également un rôle dans les processus de gélification. Les diC₁₆dC et diC₁₆dG présentent des propriétés gélifiantes en milieu aqueux qui varient en fonction de la présence de NaCl

²²³ Moreau, L.; Barthélémy, P.; El Maataoui, M.; Grinstaff, M.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7533-7539.

ou non. En effet, la diC₁₆dG a uniquement formé un gel dans l'eau alors que la diC₁₆dC a permis la gélification d'une solution de NaCl (**Figure 47**).²²⁴

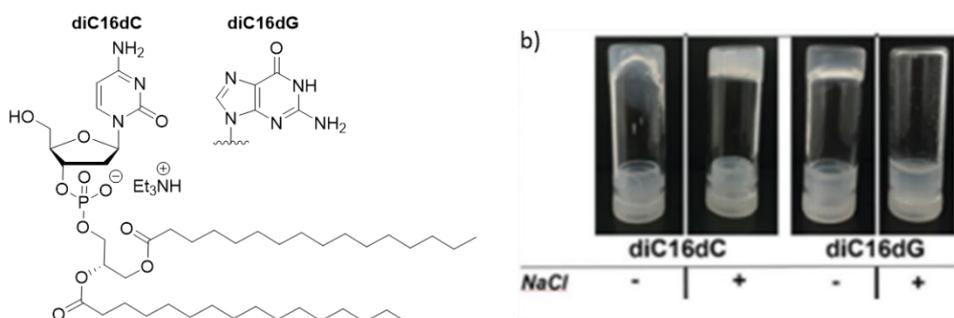


Figure 47 : a) Structure de la diC₁₆dC et diC₁₆dG b) Photos des gels dans l'eau ou présence de NaCl (154 mM)²²⁴

II.3.c. Les structures de type Bola-amphiphiles précurseurs d'hydrogels

Pour aller plus loin, des structures plus complexes de type « Bola-amphiphile » composées de deux acides nucléiques reliés entre eux par une chaîne lipidique ont été développées. La présence d'une deuxième tête polaire apporte un gain en hydrophilie ce qui améliore la solubilité du NL dans l'eau. De telles structures existent à l'état naturel puisqu'elles sont notamment présentes dans les membranes d'archées, des microorganismes unicellulaires procaryotes.²²⁵

Ainsi Shimizu *et al.* ont rapporté la capacité du Bola-amphiphile hétérotopique **63** portant deux nucléobases différentes adénine et thymine à gélifier dans de l'éthanol aqueux. Des études par FT-IR et RMN ¹H ont montré que le réseau de nanofibres observé serait la conséquence de liaisons H au niveau des nucléobases et des liens amide qui permettent alors le rapprochement des chaînes lipidiques entre elles pour conduire à des effets hydrophobes (**Figure 48**).²²⁶

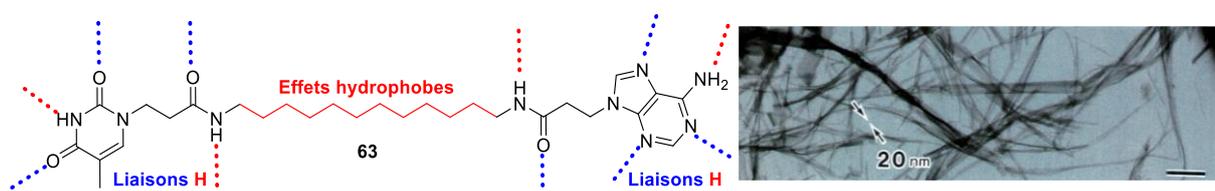


Figure 48 : Structure du Bola amphiphile hétérotopique **63** et image en microscopie électronique à transmission avec filtrage d'énergie (MEBEC)²²⁶

²²⁴ Alies, B.; Ouelhazi, M.A.; Patwa, A.; Verget, J.; Navailles, L.; Desvergnès, V.; Barthélémy, P. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 4888-4894.

²²⁵ Fuhrhop, J.H.; Wang, T. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2901-2937.

²²⁶ Shimizu, T.; Iwaura, R.; Masuda, M.; Hanada, T.; Yase, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5947-5955.

A titre d'exemple, des nucléotides-lipides de type Bolas-amphiphiles ont également été développés afin d'apporter un gain supplémentaire en solubilité *via* la combinaison phosphates/nucléobases. Ainsi le NL **64** a permis une gélification de l'eau avec une chaîne lipidique de 16 à 20 carbones en solution alcaline. Cela souligne la nécessité de contrebalancer le gain en polarité induit par les deux têtes hydrophiles afin de conserver un caractère amphiphile avec des effets hydrophobes. La combinaison supplémentaire de liaisons H et d'interactions π - π a permis la formation d'un réseau de fibres entremêlées avec un diamètre de 10 à 30 nm et une longueur de quelques μ m (**Figure 49**).²²⁷

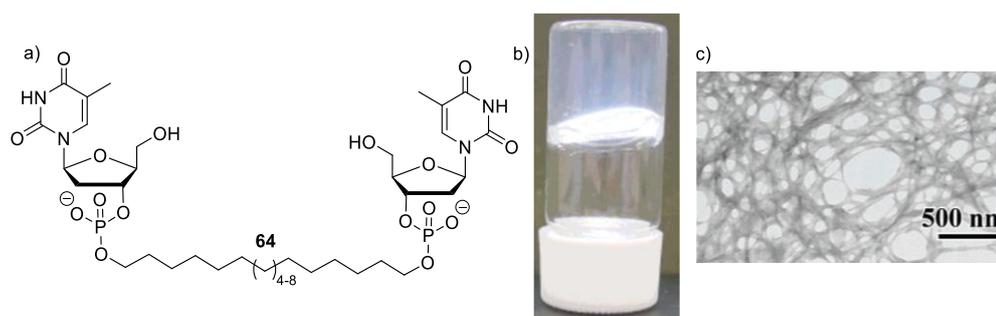


Figure 49 : a) Structure du NL 64 b) Photo de l'hydrogel à cmg : 0.2 % m/m c) image MEBEC du réseau²²⁷

Plusieurs stratégies ont permis aux scientifiques de découvrir des nucléolipides aux propriétés hydrogélifiantes, particulièrement en modulant la balance hydrophilie/lipophilie. Cette conception se base sur l'incorporation de groupements fonctionnels capables d'interagir *via* des liaisons H mais aussi des interactions ioniques comme avec les phosphates qui vont améliorer la polarité du NL. Dans le même temps, l'ancrage de lipides nécessite souvent une étude structurale pour déterminer la longueur du lipide permettant la gélification.

Dans un contexte d'application biologique ou biomédicale, la problématique de la biocompatibilité et biodégradabilité des NLs de synthèse se pose également, d'autant plus que la diversité et la complexité structurales s'accroissent.

II.3.d. Les GlycoNucléoLipides (GNLs) hydrogélifiants

Dans le but d'augmenter leur affinité avec l'eau, l'introduction d'une tête hydrophile de type sucre au sein des NLs s'est imposée étant donné le caractère très hydrophile de ces biomolécules. La combinaison d'un NL et d'un sucre constitue ainsi la famille des GNLs. La synthèse de GNLs a principalement utilisé la réaction de Huisgen pour coupler aisément les différentes parties de la molécule.

²²⁷ Iwaura, R.; Yoshida, K.; Masuda, M.; Yase, K.; Shimizu, T. *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 3047-3053.

L'équipe de P. Barthélémy est reconnue pour sa contribution au développement des GNLs. Le GNL **65** a été le premier composé synthétisé.²²⁸ Dans l'eau à 80 °C, le GNL s'est avéré soluble dans une gamme de concentrations de 2.5 % m/m à 10 % m/m et a formé un gel thermoréversible et stable pendant plusieurs semaines. En revanche, son analogue de type glycolipide, GL **66** synthétisé en parallèle, s'est avéré insoluble dans l'eau, mettant en évidence l'importance du squelette nucléoside et validant le concept des GNLs. (*Figure 50*).

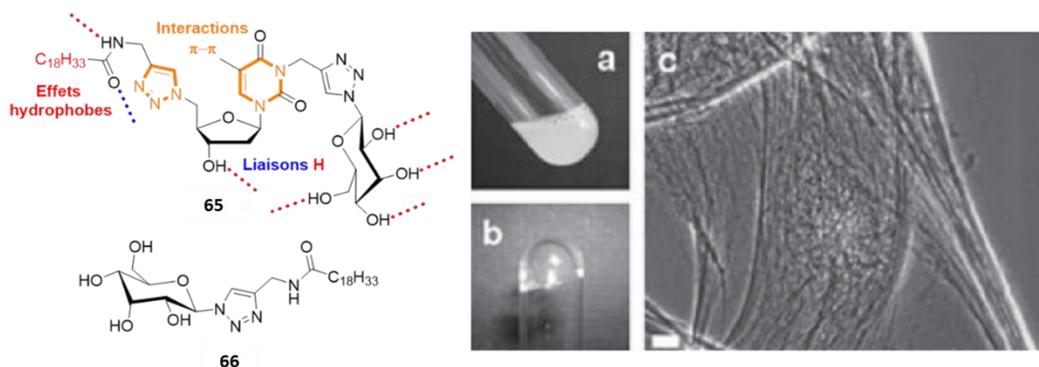


Figure 50 : Structure du GL 66 et GNL 65 et interactions a) photo suspension du GL 66 b) photo hydrogel de GNL 65 c) photo fibres entremêlées du GNL en microscopie optique (échelle 5 μ m)²²⁸

Des études sur des GNLs bicaténaires visant à mimer les membranes plasmiques n'ont pas conduit à la formation d'hydrogels.²²⁹ En revanche le remplacement de la chaîne carbonée par une chaîne fluorée a permis la découverte d'une autre classe de GNLs hydrogélifiants, les GlycosylNucléolipides Fluorés (GNFs) possédant une chaîne fluorée hautement hydrophobe et stable chimiquement et biologiquement. Deux GNFs ont alors été synthétisés dans les mêmes conditions que les GNLs avec une tête polaire monosaccharide dans le cas de **67** et disaccharide de type lactopyranoside pour **68**. Les GNFs se sont avérés des gélificateurs performants avec des concentrations minimales de gélification (cmg) plus faibles étant respectivement de 0.1 % et 2.5% m/m, le tout dans des milieux de culture cellulaire (DMEM). De plus les images en MET ont dévoilé une nette différence entre les deux réseaux puisque l'hydrogel issu de **67** a montré des nanofibres droites tandis que l'autoassemblage causé par **68** a présenté des fibres hélicoïdales. La taille et la polarité de la partie sucre aurait donc un impact crucial sur l'organisation du réseau supramoléculaire (*Figure 51*).²³⁰

²²⁸ Godeau, G.; Bernard, J.; Staedel, C.; Barthélémy, P. *Chem. Commun.* **2009**, 5127-5129.

²²⁹ Latxague, L.; Ziane, S.; Chassande, O.; Patwa, A.; Dalila, M.J.; Barthélémy, P. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 12598-12600.

²³⁰ Godeau, G.; Brun, C.; Arnion, H.; Staedel, C.; Barthélémy, P. *Tet. Lett.* **2010**, 51, 1012-1015.

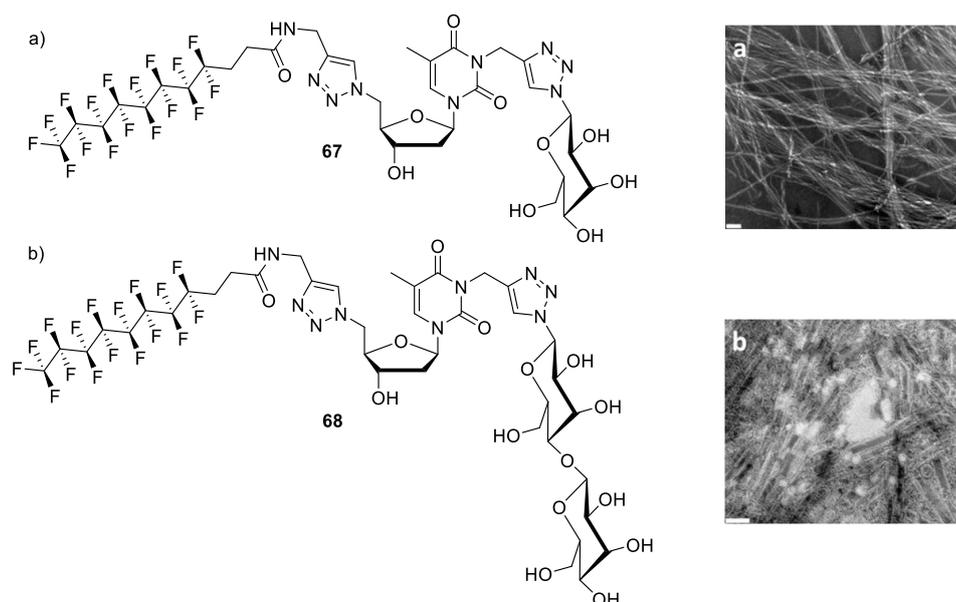


Figure 51 : a) GNF 67 et image de l'hydrogel en MET (échelle 100 nm) b) GNF 68 et image de l'hydrogel en MET (échelle 100 nm)²³⁰

II.3.e. Les Bola-amphiphiles de type GNLS précurseurs d'hydrogels

Le développement des structures de type « Bola-amphiphile » s'étant avéré intéressant pour l'obtention de molécules capables de stabiliser des hydrogels²²⁵ plusieurs types de bolas ont été synthétisés dont le GlycosylNucléoside Bola-Amphiphile (GNBA) **69**. La solubilisation à chaud du GNBA **69** dans l'eau a conduit à la formation d'un hydrogel à 1% m/V après retour à température ambiante. Le réseau très dense résultant a montré des nanofibres encore plus petites que le réseau engendré par le GNF **67** avec une largeur variant de 6 à 9 nm. Les propriétés mécaniques du gel ont été mesurées par rhéologie dévoilant un module élastique de 30 kPa à 1 rad/s beaucoup plus élevé que pour le l'hydrogel issu du GNF **67** (1.8 kPa dans les mêmes conditions). De ce fait le gel issu du GNBA **69** est plus élastique que celui issu du GNF **67** sûrement en raison de la multiplicité d'interactions possibles et s'est, de plus, avéré thixotropique (**Figure 52**).²³¹

²³¹ Latxague, L.; Ramin, M.A.; Appavoo, A.; Berto, P.; Maisani, M.; Ehret, C.; Chassande, O.; Barthélémy, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4517-4521.

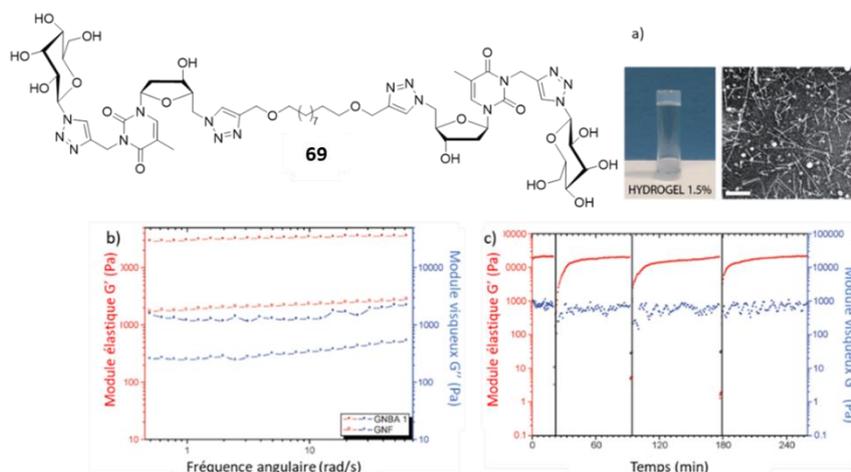


Figure 52 : a) Photo du gel de GNBA 69 et MET (échelle 200 nm) b) Modules rhéologiques de GNBA 69 et GNF 67 c) Courbe de thixotropie du GNBA 69²³¹

Le GNBA 70 analogue a également été synthétisé *via* la même stratégie de double « *click* » mais avec des liens carbamates et non éthers. Ces fonctions ont permis d'améliorer les propriétés mécaniques de l'hydrogel ($G' = 57$ kPa à 1 rad/s pour une concentration de 4 % m/V) et de conserver sa thixotropie. Cette différence provient vraisemblablement des liaisons H générées par les liens carbamates qui renforceraient d'autant plus la structure du réseau supramoléculaire (**Figure 53**).²³²

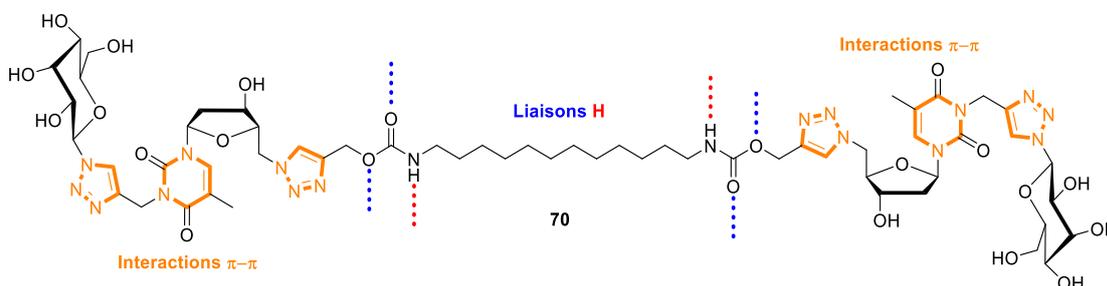


Figure 53 : Structure du GNBA 70 et interactions par liaisons H

II.3.f. Des hydrogels issus d'oligonucléotides lipidiques

Les oligonucléotides lipidiques sont des composés qui connaissent un intérêt important pour leurs applications biomédicales²³³ mais également pour les assemblages supramoléculaires²³⁴ issus d'une telle complexité structurale. Le nombre d'unités nucléotides apporte un caractère très hydrophile qui est déterminant pour la solubilité dans l'eau mais est également à l'origine d'interactions supramoléculaires notamment par liaisons H et interactions $\pi-\pi$, conduisant à des structures variées

²³² Latxague, L.; Gaubert, A.; Maleville, D.; Baillet, J.; Ramin, M.A.; Barthélémy, P. *Gels* **2016**, *2*, 1-9.

²³³ Tran, P.; Weldemichael, T.; Liu, Z.; Li, H. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 1-21.

²³⁴ Gissot, A.; Camplo, M.; Grinstaff, M.W.; Barthélémy, P. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1324-1333.

(hélices, tiges boucles, G4 ...). L'ancrage d'un lipide sur une telle structure module la balance hydrophilie/lipophilie et peut induire un changement drastique des propriétés de l'oligonucléotide. C'est le cas de l'oligonucléotide lipidique **71** qui est à notre connaissance le seul capable de faire gélifier une solution tampon de PBS (« *phosphate buffer saline* »). Cet hydrogel est la conséquence d'interactions entre les micelles formées par les bioconjugués entre eux qui conduit à un réseau de nanofibres entremêlées avec un diamètre de 10 à 20 nm (**Figure 54**).²³⁵

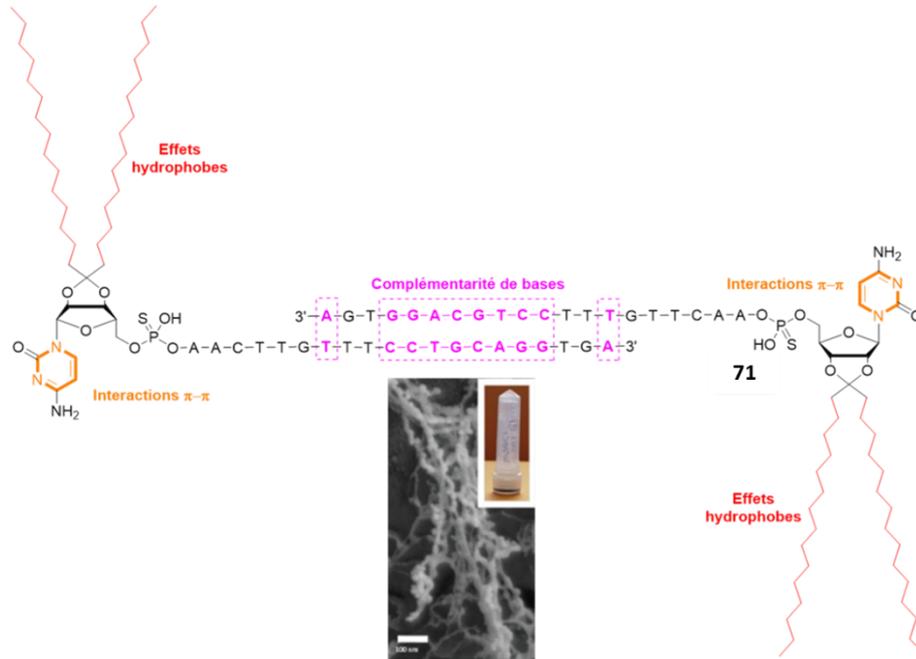


Figure 54 : Structure, interactions, photo et image cryo-MEB (échelle 100 nm) de l'hydrogel issu de l'oligonucléotide lipidique **71**²³⁵

La régulation de la balance hydrophilie/lipophilie a permis la découverte d'une large gamme de NLs aux propriétés hydrogélifiantes. L'eau étant polaire par nature, plusieurs stratégies visant à y solubiliser le NL ont été mises en avant notamment *via* des fonctions hydroxyles libres, des groupements ionisés comme les phosphates, en ajoutant des molécules hautement polaires comme des sucres (GNLs) ou encore en doublant les fonctions hydrophiles avec les Bolas-amphiphiles. D'autres méthodes permettent également de s'affranchir de ces problèmes de solubilité notamment par l'hydrolyse d'un lien lipide-nucléoside de type ester induisant des interactions électrostatiques.²³⁶ D'autre part, les autoassemblages supramoléculaires à l'origine des hydrogels sont principalement dus aux effets hydrophobes des lipides permettant l'agrégation. La conception de NLs aux capacités hydrogélifiantes est donc assez logiquement réalisée en les rendant plus hydrophiles. L'implication

²³⁵ Benizri, S.; Gaubert, A.; Soulard, C.; Gontier, E.; Svahn, I.; Vacher, G.; Barthélémy, P. *Biomater. Sci.* **2021**, *9*, 3638-3644.

²³⁶ Nuthanakanti, A.; Srivatsan, S.G. *Nanoscale Adv.* **2020**, *2*, 4161-4171.

récurrente de plusieurs fonctions chimiques telles que les triazoles, les carbamates, les esters ou encore les amides, est à noter.

Notre objectif étant la conception de NLs non pas hydro- mais oléogélifiants, le paragraphe suivant va essayer de mettre en évidence si de grands principes se dégagent également de la formation d'organogels dans des solvants aux polarités très variées. Il s'agit d'essayer d'analyser si dans ce cas, comme pour les hydrogels, des fonctions chimiques se distinguent également pour leur implication positive.

II.4. Les Nucléolipides organogélifiants

Comme dans le cas des hydrogels, nous pouvons classer les familles en fonction de la nature du NL : nucléobase-lipide, nucléoside-lipide, nucléotide-lipide. Contrairement aux hydrogels, la conception de NLs capables de stabiliser des gels organiques a nécessité des stratégies prenant en compte la nature des différentes phases continues. Les exemples suivis choisis illustrent les capacités de NLs à faire gélifier un solvant organique donné en modulant la balance hydrophilie/lipophilie afin de permettre la solubilisation et d'engendrer une agrégation et illustre également comment, de la même façon, une variation de la phase continue peut avoir un effet déterminant sur le processus de gélification.²³⁷ Au vu des données de la littérature, il apparaît évident que le problème est plus complexe que pour les hydrogels.

II.4.a. Les nucléobases lipidiques organogélifiantes

Lors de la conception de nucléobases lipidiques, la stratégie consistant à incorporer des blocs connus pour leurs capacités gélifiantes dans des solvants organiques a porté ses fruits. Dans le cas du NL **72**, l'incorporation d'une unité cholestérol connue pour présenter de bonnes capacités gélifiantes¹⁷² a conduit à l'obtention de divers gels. L'incorporation de ce stérol sur l'uracile au moyen d'un bras aromatique rend le NL majoritairement hydrophobe, conduisant à la formation d'un réseau de fibres hélicoïdales (diamètre entre 20-40 nm) piégeant des solvants apolaires et aprotiques comme le cyclohexane, le benzène, le toluène, le *p*-xylène et l'octane. Les groupements constituant ce NL (carbamate + nucléobase) permettent la formation de liaisons H, favorisant alors la gélification dans le butanol (*Figure 55*).²³⁸

²³⁷ Pal, A.; Dey, J. *Langmuir* **2011**, *27*, 3401-3408.

²³⁸ Snip, E.; Shinkai, S.; Reinhoudt, D.N. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *4*, 2153-2156.

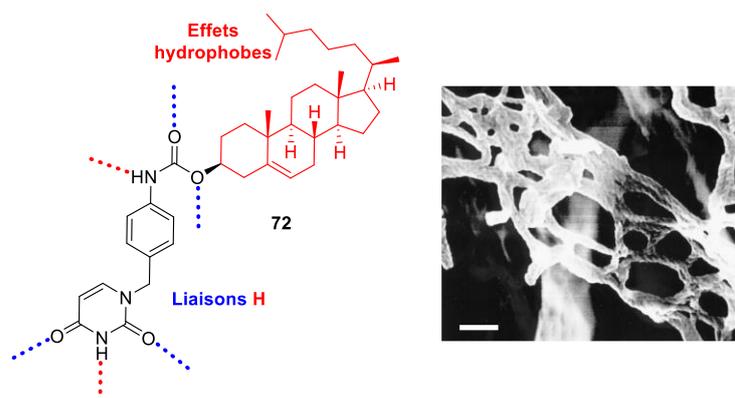


Figure 55 : Structures et interactions du NL 72, image MEB de l'organogel (échelle 100 nm)²³⁸

L'aciclovir, antiviral bien connu a été relié à une double chaîne stéaryle par un lien *1,4*-ester-amide (composé **73**), ce qui a conduit à l'obtention d'un gel dans le toluène à 2 % m/m. La présence de la guanosine et du lien *1,4*-ester-amide hydrophiles a nécessité l'incorporation de deux longues chaînes lipidiques pour favoriser la solubilisation dans ce solvant (**Figure 56**).²³⁹

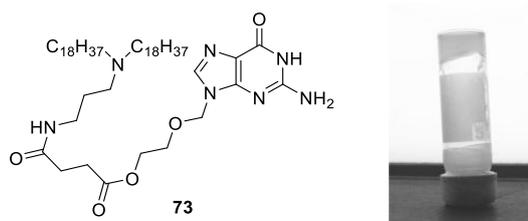


Figure 56 : Structure du NL 73 et photo de l'organogel à 2 % m/m dans le toluène²³⁹

Des systèmes plus complexes ont nécessité l'ajout d'un deuxième solvant pour obtenir une gélification. Par exemple, le NL **74** ne forme pas de gels dans un solvant unique mais en ajoutant de l'eau à sa suspension dans le THF, une solubilisation a opéré. Le NL a ainsi permis la gélification du mélange dans des proportions THF : H₂O de 2/1 à 2/3. La structure du gel a pu être observée par MEB mettant en évidence des nanofibres d'un diamètre moyen de 25 à 80 nm ainsi que des cavités faites par les enchevêtrements qui permettent de piéger la phase continue. Une étude par RMN ¹H dans le THF-D₈ en présence de quantités variables de D₂O a mis en évidence l'implication de liaisons H au niveau de l'adénine mais également la participation de l'eau dans l'autoassemblage supramoléculaire. De ce fait, l'eau permet la solubilisation du NL mais également son agrégation et c'est le THF qui est piégé au sein du réseau. L'acide oléanolique qui est connu pour ses propriétés organogélifiantes²⁴⁰ est vraisemblablement à l'origine d'effets hydrophobes. Le rôle clé de l'eau est

²³⁹ Rosemeyer, H.; Stürenberg, E.-M.; Herdewijn, P. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2007**, 26, 995-999.

²⁴⁰ Hu, J.; Lu, J.R.; Ju, Y. *Chem. Asian J.* **2011**, 6, 2636-2647.

mis en évidence par les études de rhéologie, montrant des modules qui augmentent avec la quantité d'eau ($G' = 9.2$ kPa à THF : H₂O 2/1 ; $G' = 37$ kPa à THF : H₂O 2/3). (**Figure 57**).²⁴¹

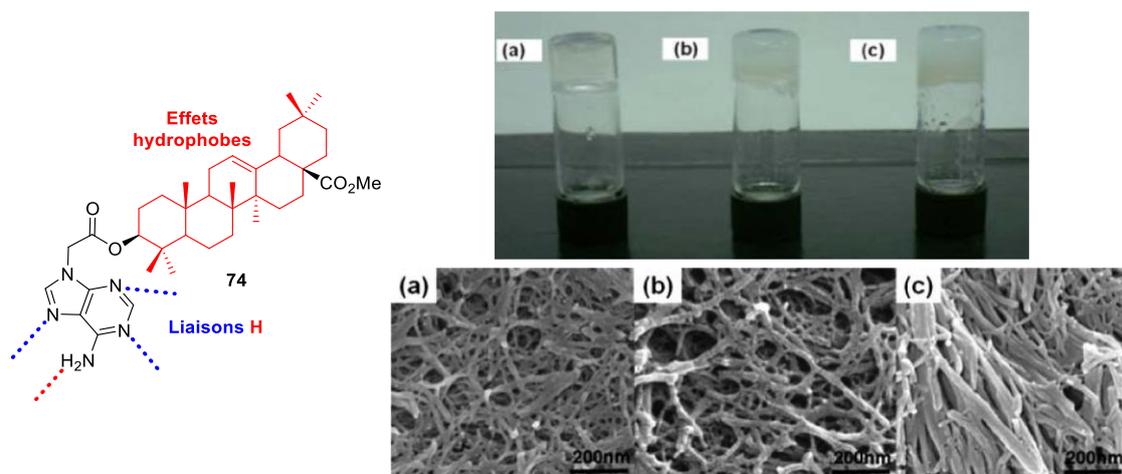


Figure 57 : Structure et interaction du NL 74 Photos de l'organogel et image MEB (échelle 200 nm) a) THF : H₂O 2/1 b) THF : H₂O 1/1 c) THF : H₂O 2/3²⁴¹

II.4.b. Des organogels issus de nucléosides-lipides

Les nucléosides permettant des variations structurales plus importantes, ces deux dernières décennies, de très nombreux NLs aux propriétés gélifiantes dans des solvants organiques ont été rapportés. En 2003, l'équipe de B.H. Kim a synthétisé des NLs avec une tête thymidine portant des chaînes carbonées allant de 8 à 18 carbones *via* une grande variété de liens simples en position 5' : ester **75**, amide **76**, carbamate **77** et urée **78**. Un dernier groupe a été celui des thymidines **79** alkylés en position N-3. Les propriétés gélifiantes de cette banque d'hybrides moléculaires ont été évaluées dans une vingtaine de solvants : aliphatiques et cycliques apolaires, aromatiques, polaires aprotiques et polaires protiques. Les NLs ont exposé des propriétés gélifiantes très variées à la concentration de 2 % m/m (**Tableau III**).

²⁴¹ Lu, J.; Hu, J.; Liu, C.; Gao, H.; Ju, Y. *Soft Matter* **2012**, 8, 9576-9580.

	75	76	77	78	79
Benzène	75a, 75c				79b, 79c, 79d
Toluène			77c		79b, 79c
CCl ₄	75b, 75c				79a
THN	75b, 75c				
Hexane	75b, 75c				
Cyclohexane	75b, 75c				
Pentane					
Heptane				78b, 78c	
Octane				78c	

Tableau III : Essais de gélification des NLs 75 à 79 (rouge : précipitation, insoluble, gel partiel, soluble, vert : gel)

Il a été montré que le passage d'un solvant à un autre modifiait la structure du réseau 3 D formé par les NLs. Le gel formé par le composé **79a** a notamment formé des fibres dans le tétrachlorométhane alors que celui issu de **79c** a formé des lamelles plates dans les solvants aromatiques. Le NL au lien amide **76c** construit un réseau tissé dans l'octane. Cette étude a souligné l'influence de la délicate balance hydrophilie/lipophilie sur la gélification puisque le simple fait de modifier le lien lipide-nucléoside a des conséquences importantes sur les propriétés physico-chimiques des gels obtenus (*Figure 58*).²⁴²

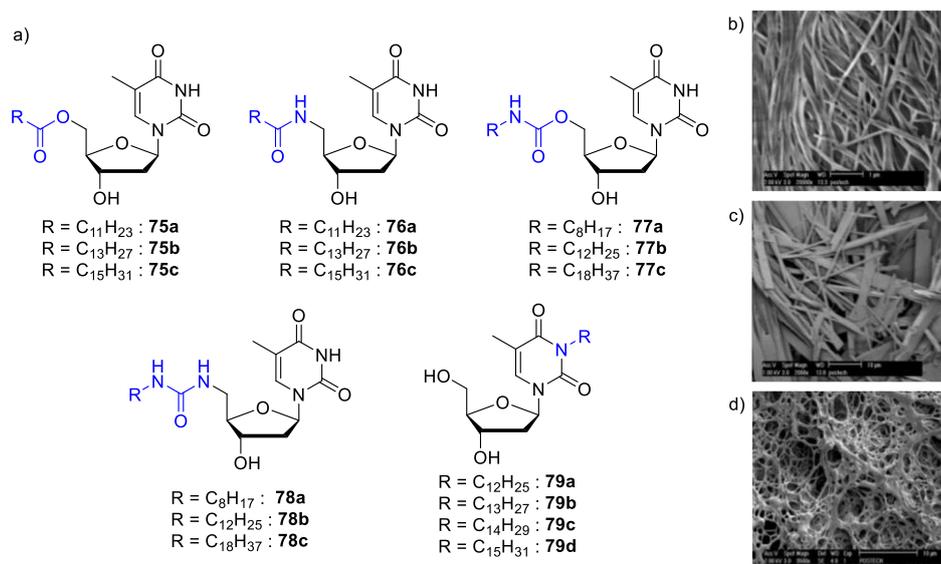


Figure 58 : a) Structures des différents liens de NLs organogélifiants b) photos MEB 79a dans CCl₄ (échelle 1 μm) c) 79c dans le toluène (échelle 10 μm) d) 76a dans l'octane (échelle 10 μm)²⁴²

²⁴² Yun, Y.J.; Park, S.M.; Kim, B.H. *Chem. Commun.* **2003**, 2, 254-255.

Au cours des dernières années, l'association d'un nucléoside à un ou plusieurs lipides par un lien ester a été effectuée sur les 5 nucléosides.²⁴³ L'efficacité des synthèses par réaction de Steglich avec ou sans protection en fonction des positions modifiées a rendu ces esters d'autant plus attractifs.²⁴⁴ Ils se démarquent par leurs capacités de gélification et leurs propriétés mécaniques.

En série thymidine, une étude a reporté l'influence de la longueur de chaîne (C₁₂ à C₁₈) mais aussi du nombre de chaînes carbonées. En effet la thymidine **80** substituée uniquement en position 3' ne présente pas les mêmes propriétés que son analogue **81** disubstitué en position 3' et 5'. Le composé **80**, moins hydrophobe, a la capacité de faire gélifier le DMSO en présence de 20 % d'eau alors qu'il est insoluble dans l'eau seule et ne forme pas de gel dans le DMSO seul. L'ajout d'eau provoque la gélification instantanée et le matériau formé s'est avéré thermoréversible et stable durant plusieurs mois.

La gélification de ce mélange varie en fonction de la longueur du lipide puisque plus il est long plus la concentration de gélification minimale est faible, indiquant qu'une chaîne longue augmente les effets hydrophobes aidant à la gélification. En revanche la présence d'une insaturation avec la chaîne oléique empêche la gélification. Par la suite, des analyses ont été effectuées sur le composé **80c** à chaîne palmitique. Les images par MEBEC ont montré de longs bâtons entremêlés caractérisant son réseau. Le composé **81**, dont la balance hydrophilie/lipophilie est plus en faveur de l'hydrophobie, permet une gélification dans des solvants organiques comme le DMSO et MeCN en l'absence totale d'eau. Une structure en rubans torsadés avec une largeur de 110 nm à 150 nm a alors été observée par imagerie MEBEC (*Figure 59*).

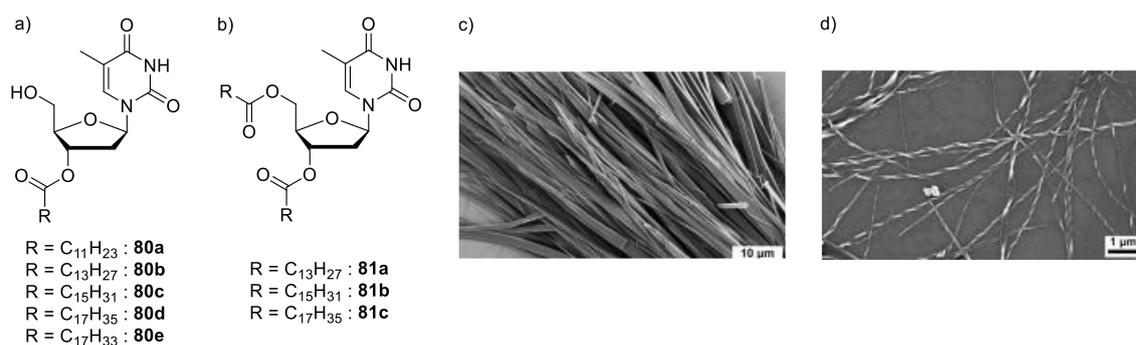


Figure 59 : Structure des thymidines a) monosubstituées 80 b) disubstituées 81 ; images MEBEC c) 80c dans DMSO/H₂O 80/20 d) 81b dans DMSO²⁴⁵

Les études par diffraction de poudre d'un monocristal du composé **80c** isolé ont montré des interactions par liaisons H entre l'oxygène en position 4 et N3-H mais également entre l'oxygène en

²⁴³ Nuthanakanti, A. *New J. Chem.* **2019**, *43*, 13447-13456.

²⁴⁴ Neises, B.; Steglich, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 522-524.

²⁴⁵ Nuthanakanti, A.; Srivatsan, S.G. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 22864-22874.

position 4' et l'hydrogène issu de l'alcool en position 5'. Ces liaisons H permettent la formation d'un réseau 1 D qui évolue en réseau 2 D par effets hydrophobes entre les chaînes lipidiques indépendamment de leurs longueurs. L'étude par RMN ^1H dans le DMSO- d_6 en présence d'eau a révélé un décalage des pics correspondants aux N3-H et 5'-OH témoignant de la formation des liaisons H observées par rayons X. La structure du gel est donc en accord avec celle du monocristal issu de **80c** (Figure 60).

La RMN ^1H a également permis de comprendre le rôle de l'eau dans la gélification. En effet en présence de $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO-}d_6$ (20/80), le pic résiduel de HDO passe de 3.32 à 3.87 ppm supposant la formation de liaisons H à travers HDO et donc H_2O . Enfin, la caractérisation des gels issus de **80c** et **81b** par rhéologie montrent un gel beaucoup plus élastique en présence d'un seul lipide. En effet $G'(\mathbf{80c}) = 17\,020$ Pa alors que $G'(\mathbf{81b}) = 217$ Pa. Le module de viscosité est environ 10 fois plus faible confirmant l'état de gel : $G''(\mathbf{80c}) = 2593$ Pa alors que $G''(\mathbf{81b}) = 30$ Pa.²⁴⁵

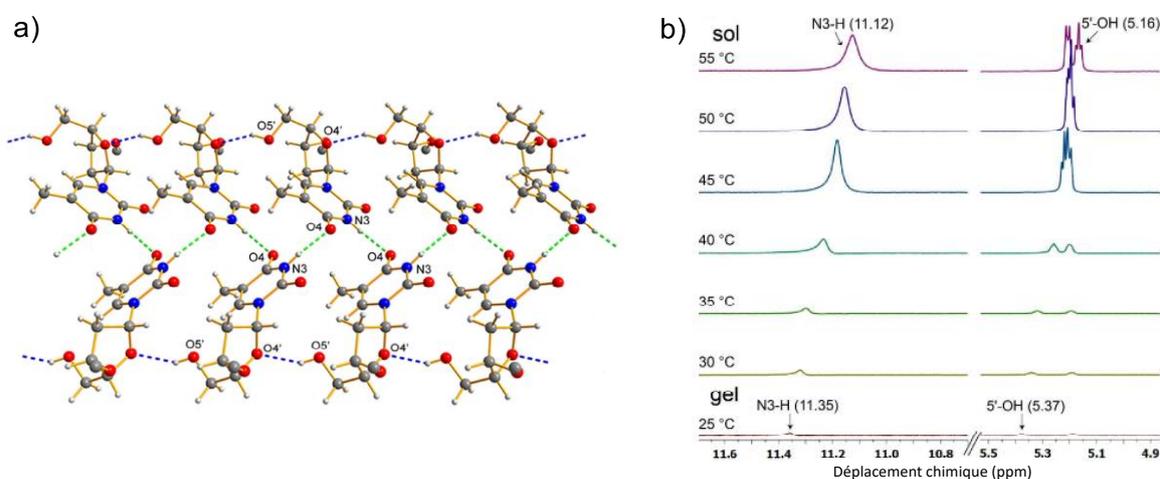
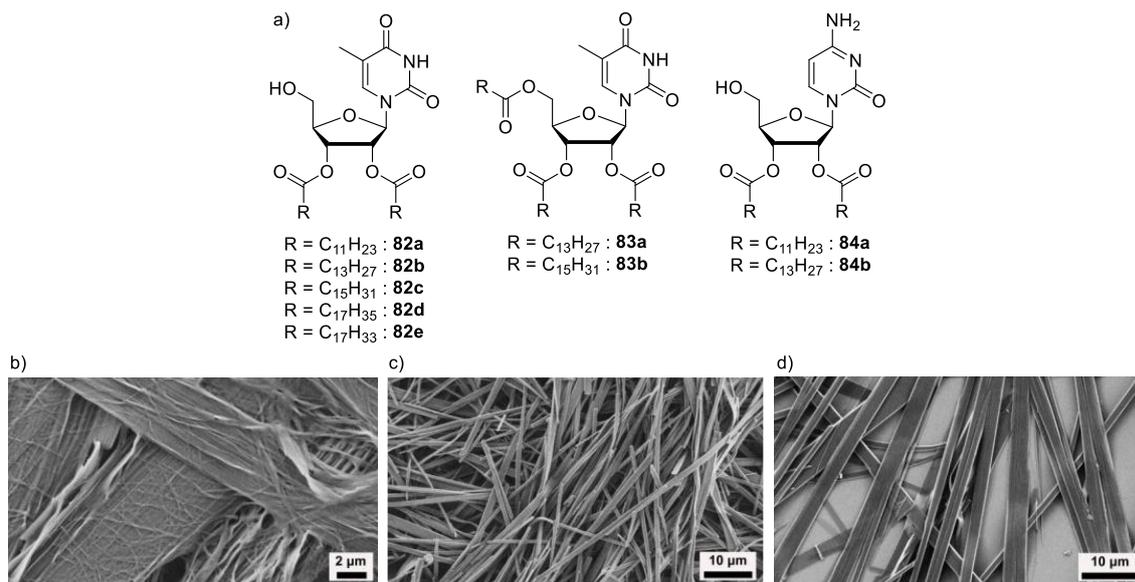


Figure 60 : a) Structure RX de **80c** (chaînes palmitiques enlevées) b) RMN ^1H de **80c** dans DMSO- $d_6/\text{H}_2\text{O}$ 95/5 avec rampe de température²⁴⁵

Des NLs similaires aux propriétés organogélifiantes ont également été découverts. Parmi eux, différentes nucléobases ont été utilisées notamment la ribothymidine (ou 5-méthyluridine) et l'uridine. Les résultats se sont avérés être similaires aux NLs portant une thymidine puisque les organogels obtenus sont thermoréversibles et présentent des propriétés mécaniques équivalentes. Les interactions permettant la formation du gel sont également de la même nature. De plus, la concentration gélificatrice minimale diminue également avec des lipides à chaînes de plus en plus longues. Ici encore, la balance hydrophilie/lipophilie se montre cruciale puisque le passage du NL **82** disubstitué au NL **83** trisubstitué inhibe le processus de gélification. A l'inverse, en augmentant l'hydrophilie du NL **82** en incorporant une cytidine, le NL **84** ne forme plus de gel. La balance hydrophilie/lipophilie, difficile à caractériser et à quantifier, est donc un paramètre essentiel à prendre

en compte dans la conception d'un gélificateur puisque la moindre modification structurale peut altérer les propriétés gélifiantes du composé obtenu.

Les images par MEBEC ont révélé différentes structures en fonction de la nature du NL et du solvant. En effet, les nanoobjets issus du NL **82b** à la chaîne myristique ont présenté des fibrilles enchevêtrées en bâtons plus larges dans le DMSO alors qu'avec 2 carbones de plus, le réseau issu du NL **82c** est composé de tiges et de fibres dans le DMF et aussi l'isopropanol. Avec une chaîne stéarique, l'autoassemblage du NL **82d** a principalement conduit à des fibres et des longs bâtons dans le DMF, le DMSO ou encore l'isopropanol (*Figure 61*).



*Figure 61 : a) Structures des NLs ribothymidine et cytidine ; images MEBEC b) 82b dans le DMSO c) 82c dans le DMF c) 82d dans le DMSO*²⁴³

Les NLs **85** dérivés de l'uridine présentent également les mêmes caractéristiques que ceux cités précédemment excepté le composé **85a** avec une chaîne octyle qui ne permet pas la gélification. Les réseaux supramoléculaires de leurs gels observés par imagerie en MEBEC ainsi que les interactions entre chaque NL analysées par DRXP (Diffraction des Rayons X sur Poudre) et confirmées par RMN ¹H sont également semblables aux organogels issus de la thymidine et de la ribothymidine (*Figure 62*).²⁴⁶

²⁴⁶ Nuthanakanti, A.; Walunj, M.B.; Torris, A.; Badiger, M.V.; Srivatsan, S.G. *Nanoscale* **2019**, *11*, 11956-11966.



Figure 62 : a) Structure de NLs uridines b) image MEBEC de 85c c) photos des gels de la gauche vers la droite : 85b dans le MeOH, 85c dans le DMSO, 85c dans le MeOH, 85d dans le DMSO 85d dans le MeOH²⁴⁶

D'autres exemples plus complexes ont mis en avant la diversité des modifications structurales qui peut être apportée sur un squelette nucléosidique permettant de conduire à un organogel. Par la même occasion, ces études ont souligné l'immense « terrain de jeu » possible en se focalisant sur la régulation de la balance hydrophilie/lipophilie.

Par exemple, l'équipe de D. Montesarchio a développé des NLs variés avec une unité guanine. Les modifications structurales sur la partie sucre ont conduit à deux organogélificateurs, les NLs **86** et **87** qui ont permis la gélification du méthanol, de l'éthanol et de l'acétonitrile. Le composé **86** a la particularité de présenter une chaîne triéthylène glycol qui apporte des interactions par effets hydrophobes différentes et de potentielles liaisons H *via* les atomes d'oxygènes. La variation de cette chaîne oligoéthylène glycol de par la répétition de son motif n'a pas conduit à des organogels illustrant encore une fois la grande influence des moindres variations de la balance hydrophilie/lipophilie. Le NL **87** diffère lui par une tête polaire de type acide glutamique qui augmente l'hydrophilie de l'hybride. Ce groupement peut alors induire des liaisons H intermoléculaires aidant à la construction du gel (**Figure 63**).²⁴⁷

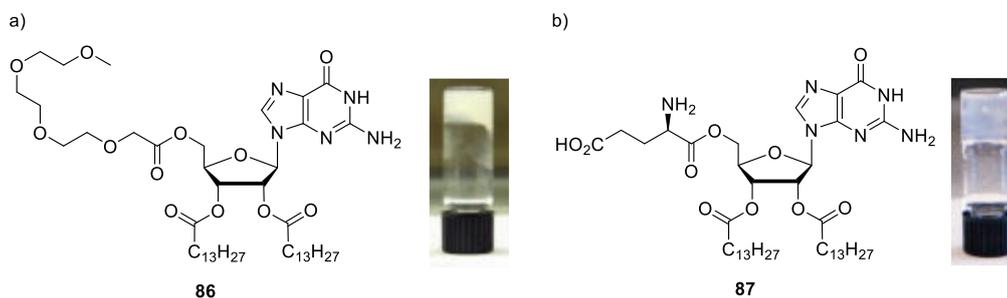


Figure 63 : a) Structure du NL 86 et photo du gel à 6 % m/m dans MeCN b) Structure du NL 87 et photo du gel à 6 % m/m dans EtOH²⁴⁷

²⁴⁷ Simeone, L.; Milano, D.; De Napoli, L.; Irace, C.; Di Pascale, A.; Boccalon, M.; Tecilla, P.; Montesarchio, D. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 13854-13865.

L'avantage des NLs organogélificateurs portant une guanosine est que leur réseau tridimensionnel résulte des effets hydrophobes issu des lipides mais peut bénéficier également des propriétés d'autoassemblages intrinsèques de la guanine, à savoir son aptitude à former des dimères, des G-quadruplexes, des rubans ou encore des hélices.²⁴⁸

L. Meng *et al.* ont travaillé sur la conception de NLs portant un bras adamantane pour apporter de l'hydrophobie et induire des effets hydrophobes. Afin d'équilibrer l'amphiphilie de la molécule, un lien de type 1,4-ester-amide a été incorporé au NL. Le NL **88** obtenu, a finalement conduit à la gélification du dichlorométhane et de l'acétonitrile.

Le NL **88** a alors formé un réseau de fleurs torsadées qui résulterait des liaisons H entre guanines, de liaisons H au niveau des fonctions amides et d'effets hydrophobes induits par le squelette adamantane. Des structures comportant plusieurs adamantanes n'ont pas conduit à des résultats probants pour la gélification, illustrant de nouveau l'importance de l'équilibre hydrophilie/lipophilie pour chaque système étudié. De plus les adamantanes induisant de l'encombrement stérique pourraient affaiblir les liaisons H entre guanines conduisant à des interactions insuffisantes pour la gélification (**Figure 64**).²⁴⁹

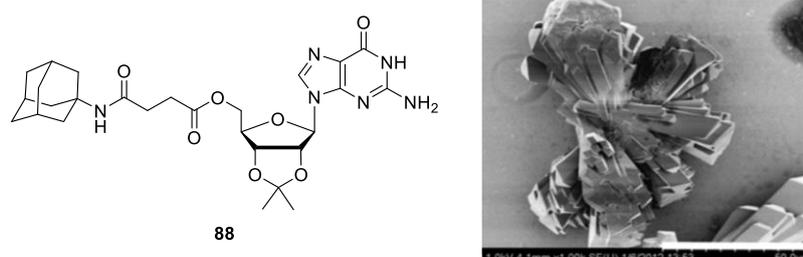


Figure 64 : Structure du NL 88 et image MEB du gel dans MeCN (échelle 50 μm)²⁴⁹

Les organogels issus de NLs ont été largement explorés ces dernières années. La balance hydrophilie/lipophilie a été modulée *via* l'incorporation de divers groupements hydrophiles (amide, urée, ester, carbamate, acide aminé...) et hydrophobes (chaines carbonées saturées, adamantane, oligoéthylène glycol). Cette stratégie a non seulement permis la découverte de plusieurs NLs aux propriétés gélifiantes mais également d'en modifier leurs autoassemblages ainsi que leurs propriétés mécaniques. Ces nombreux bioconjugués se sont révélés prometteurs dans plusieurs domaines très variés et innovants comme la dépollution avec la reconnaissance sélective d'ions mercure²⁴⁵, l'administration de médicaments²³⁹ ou encore la conception de capteurs. La possibilité de variations structurales par la synthèse organique reste immense pour étudier l'influence de la structure sur les propriétés des potentiels gels obtenus et moduler leurs propriétés physico-chimiques en fonction des diverses applications visées.

²⁴⁸ Davis, J.T.; Spada, G.P. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 296-313.

²⁴⁹ Meng, L.; Liu, K.; Mo, S.; Mao, Y.; Yi, T. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 1525-1532.

II.4.c. Des interactions π - π via des hétéroaromatiques

L'incorporation d'aromatiques pour générer des interactions π - π a fait partie de la démarche rationnelle pour concevoir des NLs aux propriétés organogéliifiantes. En 2016, l'équipe de Srivatsan a mis au point la synthèse de NLs classiques portant en plus un hétéroaromatique de type benzofurane **89** ou benzothiophène **90** sur la nucléobase. Ces NLs ont formé des gels thermoréversibles et stables plusieurs mois dans le DMSO. Comme dans les cas précédents, une longueur de chaîne minimale s'est avérée nécessaire pour permettre la gélification, et ce, en l'absence d'insaturation (**Figure 65**).

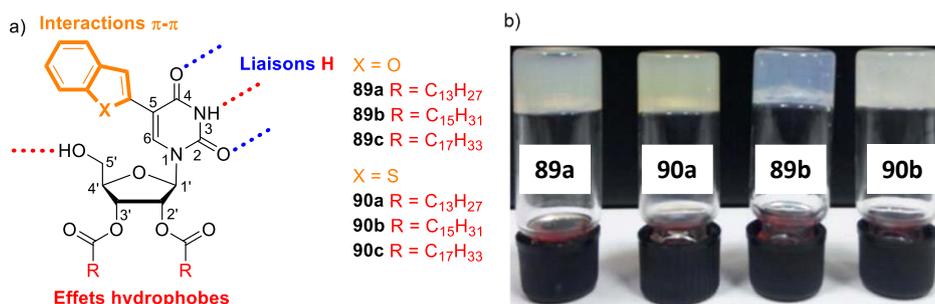


Figure 65 : a) Structures des NLs portant des hétéroaromatiques c) Photos de gels dans le DMSO²⁵⁰

En rhéologie, l'organogel issu de **89b** ($G' = 2480$ Pa ; $G'' = 930$ Pa) a présenté des propriétés mécaniques légèrement plus faibles qu'en série benzothiophène ($G' = 4130$ Pa ; $G'' = 1780$ Pa). L'observation par MEBEC a montré des réseaux constitués de rubans torsadés et de fibres. Les interactions supramoléculaires responsables de ces réseaux ont été analysées sur les composés **89a** et **90a** par DRXP des monocristaux isolés après avoir appliqué la méthode de diffusion de vapeur.

En série benzofurane, plusieurs interactions entrent en jeu notamment des liaisons H intermoléculaires entre N3-H et O2 mais aussi O4. L'interaction de l'alcool en position 5' avec un autre oxygène en position 5' a été mise en évidence ainsi que des liaisons H intramoléculaires entre H6 et O5'. Un phénomène de « π - π stacking » entre les unités benzofuranes a également été montré, toutes ces interactions permettant de former un plan dans lequel se situent les nucléosides et les benzofuranes. L'alignement des chaînes carbonées dans la même direction est assuré, quant à lui, par des effets hydrophobes.

Dans le cas du composé **90a**, le benzothiophène et le nucléoside ne sont pas dans le même plan. Les auteurs ont fait l'hypothèse du rôle de l'encombrement stérique induit par la taille de l'atome de soufre (**Figure 66**).²⁵⁰

²⁵⁰ Nuthanakanti, A.; Srivatsan, S.G. *Nanoscale* **2016**, 8, 3607-3619.

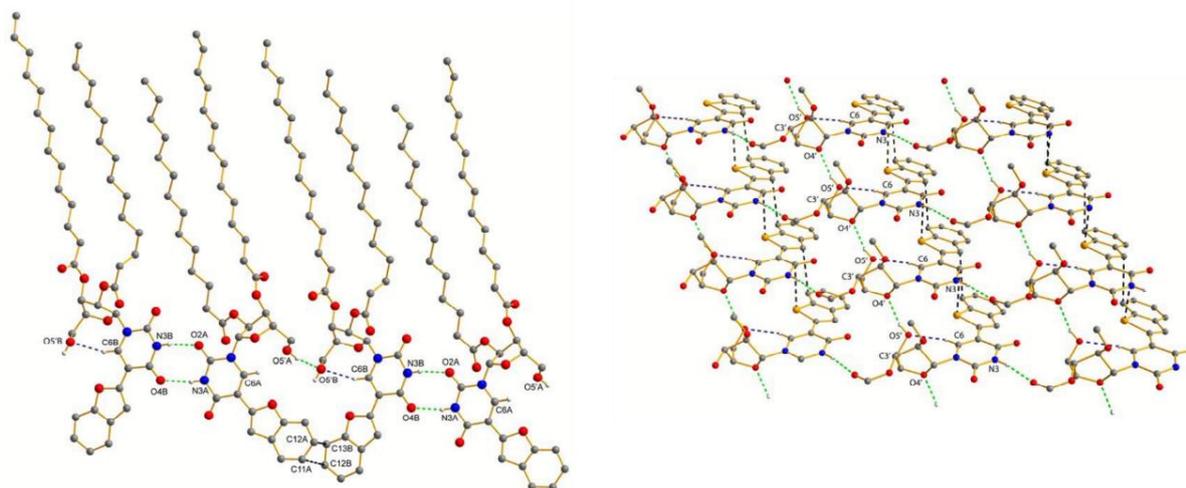


Figure 66 : De la gauche vers la droite : DRXP de 89a et 90a²⁵⁰

L'incorporation de cycles hétéroaromatiques a permis un accroissement du π - π « *stacking* » rigidifiant le réseau et améliorant donc les propriétés mécaniques du gel. Ces groupements étant également fluorophores, ils ont ouvert de nouvelles possibilités en termes d'applications.

Les exemples choisis visent à montrer qu'il y a un intérêt important à développer des organogels compte tenu de la variété des domaines d'application. Nous avons montré que les NLs sont de bons candidats pour de tels matériaux. A nouveau, les mêmes fonctions chimiques (amide, carbamate, urée, ester, hétéroaromatique) que dans le cas des NLs hydrogélifiants sont retrouvées. Malgré la quantité de travaux publiés dans le domaine des NLs et des gels supramoléculaires, aucun NL présentant des propriétés gélificatrices dans un milieu huileux n'a, à notre connaissance, été rapporté à ce jour.

III. Découverte d'un gélificateur en milieu huileux

Dans le contexte de NEOMAY, la conception d'une molécule capable de faire gélifier une phase huileuse est nécessaire. La richesse des propriétés des NLs citées précédemment en fait une famille d'hybrides moléculaires fascinante et dont le potentiel est sans doute encore loin d'avoir été exploité. Les exemples de la littérature ont rapporté le développement de plusieurs liens chimiques entre le lipide et le nucléoside ayant souvent un rôle primordial dans l'assemblage supramoléculaire. Au cours de ces dernières années, plusieurs NLs aux propriétés hydrogélifiantes et/ou organogélifiantes ont été développés en modulant la balance hydrophilie/lipophilie du composé étudié.

Dans le cadre de NEOMAY, la conception d'un NL capable de gélifier en milieu huileux et la recherche d'un rationnel entre la structure et ses propriétés gélifiantes ont été effectuées en s'inspirant

de la littérature. Contrairement au cas des hydrogels où la stratégie était basée sur un apport hydrophile notamment avec des sucres, ici, un apport lipophile sera nécessaire pour améliorer l'affinité du NL avec l'huile. C'est sur cette hypothèse de base que nos recherches se sont appuyées. Le deuxième point important est le lien entre le lipide et le nucléoside. Dans la littérature, plusieurs liens (éther, acétal, alkyl, ester, amide, carbamate, urée, triazole) ont été rapportés souvent obtenus aux moyens de réactions simples, dans des conditions douces avec de bons rendements et potentiellement transposables à grande échelle.

III.1. Conception bioinspirée d'un NL lipophile

III.1.a. L'organocatalyse bioinspirée

Le développement de molécules aux propriétés gélifiantes basées sur le squelette nucléolipidique impose des conditions de synthèses douces, efficaces et compatibles avec les deux familles de biomolécules. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à des méthodes de synthèse bioinspirées qui présente un intérêt évident dans le cadre du développement d'une chimie dite « douce », terme qui a été introduit par J. Livage. La Nature est une source d'inspiration inépuisable pour des procédés de synthèse performants.

Le concept de biomimétisme fait l'objet de plusieurs définitions parmi lesquelles celle de J. M. Benyus, une pionnière du mouvement. Elle le décrit ainsi : « démarche d'innovation, qui fait appel au transfert et à l'adaptation des principes et stratégies élaborés par les organismes vivants et les écosystèmes... ».²⁵¹ De manière plus large, la bioinspiration est la démarche qui consiste à observer la Nature pour y trouver les réponses à nos questions sans forcément la mimer précisément. En résumé et comme Léonardo de Vinci l'écrivait déjà au XVIème siècle : « Prenez vos leçons dans la nature, c'est là qu'est notre futur ».

En chimie, cette notion de bioinspiration connaît un véritable essor depuis quelques décennies notamment dans le domaine de la catalyse.²⁵² Dans la Nature, les réactions catalytiques, le plus souvent en présence d'enzymes, sont particulièrement complexes et performantes. La complexité structurale, la spécificité et la potentielle sensibilité des enzymes ne permet pas une transposition aisée au laboratoire. En revanche, la connaissance des processus biochimiques a permis au fil du temps de mettre en évidence le rôle de petites molécules organiques souvent nécessaires à l'activité enzymatique et présentant parfois une activité catalytique propre : les cofacteurs. Dans le cadre d'une

²⁵¹ Benyus, J.M. *Biomimicry : Innovation Inspired by Nature* **1997**.

²⁵² Bond, J.E.; Gorun, S.M.; Stibrany, R.T.; Schriver, G.W.; Vanderspurt, T.H. *Act. Dioxygen Homogeneous Catal. Oxid.* **1993**, *5th*, 199-208.

démarche vers une chimie plus douce et bioinspirée, une approche consiste à s'affranchir des catalyses métalliques pour exploiter l'organocatalyse et notamment des organocatalyseurs inspirés de cofacteurs naturels.

La Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NADH) et sa forme phosphatée (NADPH) sont des cofacteurs d'enzymes impliqués dans plusieurs réactions enzymatiques du corps humain.²⁵³ Ces composés ont notamment inspiré le chimiste Arthur Hantzsch sur la conception de composés réducteurs de type dihydropyridines largement exploités depuis, les esters de Hantzsch.²⁵⁴

L'organocatalyse existe dans la Nature pour des transformations de biomolécules. Aussi, son application à la synthèse de NLs, hybrides naturels, a paru attractive et pertinente.

III.1.b. Vers un nouveau lien 1,4-dicétone issue de la réaction de Stetter bioinspirée

Parmi les réactions bioinspirées organocatalysées, celles catalysées par les carbènes *N*-hétérocycliques (NHC) tiennent une place importante. Ces catalyseurs ont d'abord été rapportés dans le cadre des réactions homo et hétéro benzoïnes/acyloïnes. Initialement catalysée par des ions CN⁻, la condensation benzoïne a été découverte en 1832 par F. Wöhler.²⁵⁵ Sur le plan mécanistique, c'est en 1903 que A. Lapworth a démontré le passage par un intermédiaire de type acyl anion.²⁵⁶ Les NHCs entrent en jeu en 1943 lorsque Ukai et al. ont mis en évidence la possibilité de remplacer la catalyse aux cyanures par des sels de thiazolium.²⁵⁷ Plus tard, R. Breslow a confirmé le passage par un intermédiaire de type énaminol, équivalent d'une espèce acyl anion, communément appelé intermédiaire de Breslow depuis.²⁵⁸

Il s'avère que ces composés *N*-hétérocycliques sont des analogues structuraux de la thiamine, un cofacteur isolé des *Saccharomyces cerevisiae*.²⁵⁹ Son analogue thiamine diphosphate (ThDP), issu de la vitamine B1, est impliqué dans plusieurs réactions métaboliques notamment la biosynthèse du 2-acétolactate (**Figure 67**).²⁶⁰ Le mécanisme mettant en jeu l'enzyme acétolactate synthase a été validé en 2004 par une étude structurale des intermédiaires dont la co-cristallisation a confirmé les hypothèses mécanistiques de A. Lapworth et R. Breslow et l'existence de l'intermédiaire énaminol.²⁶¹

²⁵³ Goodman, R.P.; Calvo, S.E.; Mootha, V.K. *J. Biol. Chem.* **2018**, *293*, 7508-7516.

²⁵⁴ (a) Wang, P.-Z.; Chen, J.-R.; Xiao, W.-J. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 6936-6951 ; (b) Wu, H.; Wang, Z.; Tao, L. *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 7290-7296 ; (c) Zheng, C.; You, S.-L. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2498-2518.

²⁵⁵ Wöhler, F.; Liebig, J. *Ann. Pharm.* **1832**, *8*, 249.

²⁵⁶ Lapworth, A. *J. Chem. Soc.* **1903**, *83*, 995.

²⁵⁷ Ukai, T.; Tanaka, R.; Dokawa, T. *J. Pharm. Soc. Jpn* **1943**, *63*, 296-300.

²⁵⁸ Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3719-3726.

²⁵⁹ Sundström, S.; Lindqvist, Y.; Schneider, G.; Hellmand, U.; Ronne, H. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 23346-23352.

²⁶⁰ Mizuhara, S.; Handler, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 571-573.

²⁶¹ Pang, S.S.; Duggleby, R.G.; Schowen, R.L.; Guddat, L.W. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 2242-2253.

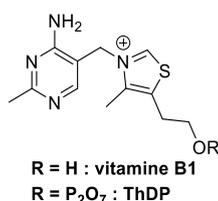


Figure 67 : Structure de la vitamine B1 et de la ThDP

Quelques années après, H. Stetter a développé la synthèse de 1,4-dicétones utilisant des catalyseurs issus de sels d'azoliums et mimant la réactivité de la ThDP.²⁶² La réaction dite de Stetter met en jeu un aldéhyde **91** avec un accepteur de Michael **92** et conduit au produit d'addition 1,4 **93**. La condensation acyloïne/benzoïne entre aldéhyde est alors une réaction concurrente à la réaction de Stetter conduisant à l' α -hydroxycétone **94** (Schéma 14).

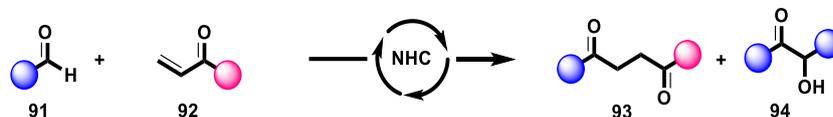


Schéma 14 : Equation générale de la réaction de Stetter et de la condensation acyloïne/benzoïne

Le premier exemple décrit par H. Stetter a utilisé une cétone α,β -insaturée (énone) comme accepteur de Michael. Sur le plan mécanistique, le sel de thiazolium **95** (précatalyseur), analogue de la thiamine est déprotoné en milieu basique pour former le carbène *N*-hétérocyclique NHC **96** (catalyseur), dont l'état singulet est stabilisé par des effets électroniques (interactions π -donneur et σ -accepteur) des hétéroatomes lui conférant un caractère nucléophile. Il est donc capable d'attaquer une espèce électrophile comme l'aldéhyde **97**. Le sel de thiazolium **98** résultant de l'addition 1,2 sur l'aldéhyde génère une espèce de type énaminol par transfert 1,2 H. Ce composé **99**, appelé intermédiaire de Breslow a alors un caractère nucléophile.

Ainsi, le carbène a inversé la réactivité électrophile du carbone de l'aldéhyde en le rendant nucléophile, c'est la réactivité de type "Umpolung" définie par D. Seebach en 1979.²⁶³ **99** peut alors attaquer l'énone **100** (accepteur de Michael) électrophile lors d'une addition de type 1,4 pour induire la formation de l'intermédiaire **101** qui subit un transfert 1,4 H pour conduire à **102**. La 1,4-dicétone **103** est enfin formée de manière irréversible et le carbène, espèce catalytique active, est régénéré lors de la dernière étape du cycle catalytique. C'est cette étape irréversible qui rend la réaction de Stetter efficace en déplaçant les équilibres et en limitant la formation du produit de benzoïne/acyloïne **106**. En effet, l'intermédiaire **99** peut également réagir sur un équivalent d'aldéhyde **97** pour former un

²⁶² Stetter, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1976**, *21*, 695-736.

²⁶³ Seebach, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *91*, 259-278.

intermédiaire **104** qui subit alors un transfert 1,2 H. L'intermédiaire **105** conduit au produit acyloïne/benzoïne **106** par une réaction de rétrobenzoïne/acyloïne (*Schéma 15*).

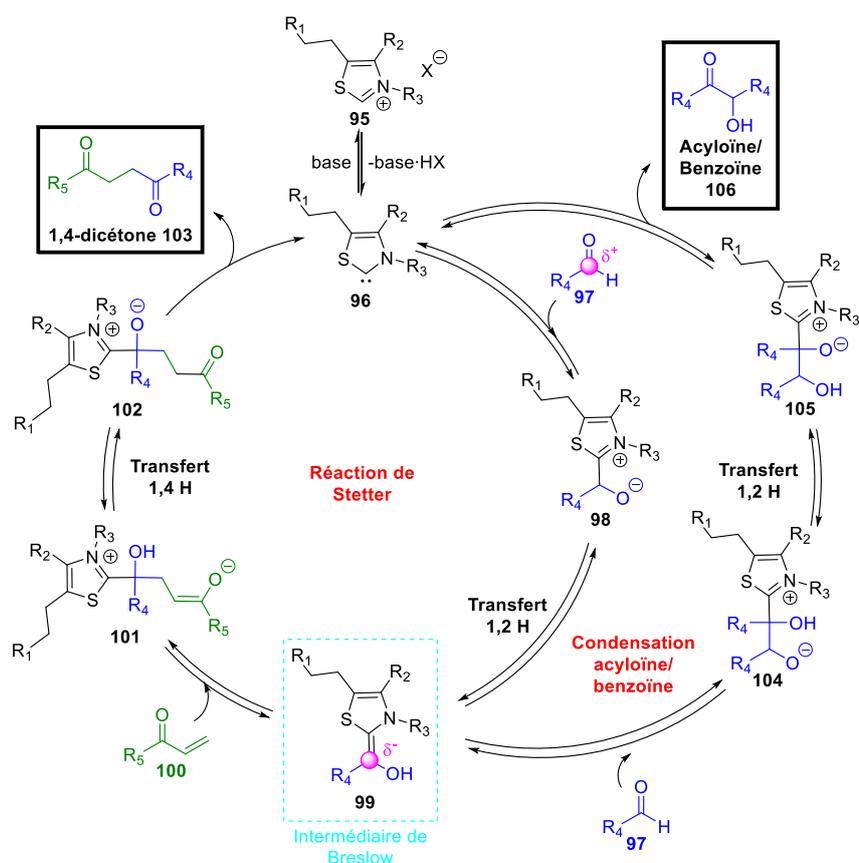


Schéma 15 : Mécanisme de la réaction de Stetter et de la condensation acyloïne/benzoïne

III.1.c. La réaction de Stetter : une réaction biomimétique

Le mécanisme de ces deux réactions faisant intervenir une espèce analogue de la ThDP comme précatalyseur en fait des réactions bioinspirées. La biosynthèse du 2-acétolactate suit le même mécanisme avec une décarboxylation. De plus, il a été montré que la réaction de Stetter intervient également dans la biosynthèse de la prodigiosine, un composé naturel. L'enzyme impliquée, issue de *PigD* est isolée des *Serratia marcescens* (bactérie peu virulente).²⁶⁴ Le mécanisme est similaire à celui de la biosynthèse du 2-acétolactate impliquant la décarboxylation d'un pyruvate, excepté l'attaque nucléophile sur un accepteur α,β -insaturé **107** aboutissant à la formation de la 1,4-dicéto 3-acétyloctanal **108**, précurseur de la prodigiosine (*Schéma 16*). La première étape de la biosynthèse de la prodigiosine étant une réaction de Stetter, cela en fait une réaction biomimétique.

²⁶⁴ Williamson, N.R.; Simonsen, H.T.; Ahmed, R.A.A.; Godet, G.; Slater, H.; Woodley, L.; Leeper, F.J.; Salmond, G.P.C. *Molecular Microbiology* **2005**, *56*, 971-989.

Il est à noter qu'à ce jour, le débat demeure autour des notions proches de bioinspiration et de biomimétisme.

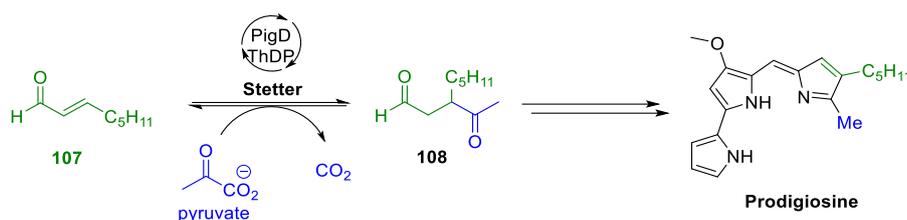


Schéma 16 : Biosynthèse de la prodigiosine

Plus récemment, la réaction de Stetter a été développée au moyen d'enzymes portant la ThDP et appelées « stetterases ».²⁶⁵ La réaction de Stetter a été largement exploitée en synthèse totale²⁶⁶ et développée également en synthèse asymétrique.²⁶⁷ Cet intérêt a nécessité la conception rationnelle de sels d'azoliums (thiazolium, imidazolium, triazolium...) précurseurs de carbènes. Outil de choix en synthèse organique, cette réaction présente de nombreuses caractéristiques de la chimie dite « click » (économie d'atomes, facilité de purification etc.), aussi, il a été choisi de l'étendre à une approche de bioconjugaison pour synthétiser des hybrides NLs. En effet le lien 1,4-dicétone devrait constituer un nouveau lien lipide-nucléoside parmi ceux déjà développés. De plus, un tel lien, précurseur d'hétéroaromatiques (pyrrole, furane, thiophène) qui pourraient être à l'origine d'interactions π - π , présente un intérêt supplémentaire dans la conception de molécules susceptibles de s'autoassembler.

III.1.d. Application à la synthèse d'un NL

La réaction de Stetter a aussi été récemment utilisée au laboratoire comme étape de bioconjugaison entre un nucléoside, la thymidine et une partie lipidique.²⁶⁸ L'étape clé de la réaction de Stetter a donc nécessité la préparation des deux partenaires énone et aldéhyde. Des travaux antérieurs ont mis en évidence la difficulté d'obtention de nucléosides portant une énone.²⁶⁹ De ce fait, l'énone devait être portée par la chaîne lipidique et l'aldéhyde par le nucléoside. La position 5' étant plus réactive, elle a été fonctionnalisée en aldéhyde et l'alcool en position 3' a été benzylé afin d'ajouter de potentielles interactions par π - π stacking tout permettant un gain en lipophilie. En effet, des travaux du laboratoire avaient montré que la substitution du nucléoside par un noyau benzylique permettait une meilleure

²⁶⁵ Beigi, M.; Waltzer, S.; Zarei, M.; Müller, M. *J. Biotech.* **2014**, *191*, 64-68.

²⁶⁶ (a) Izquierdo, J.; Hutson, G.E.; Cohen, D.T.; Scheidt, K.A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11686-11698 ; (b) Que, Y.; He, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, *37*, 5917-5925

²⁶⁷ (a) DiRocco, D.A.; Rovis, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 10402-10405 ; (b) Wu, J.; Zhao, C.; Wang, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 4706-4709.

²⁶⁸ Hamoud, A.; Barthélémy, P.; Desvergnès, V. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 1760-1769.

²⁶⁹ (a) Saussieau, L. Stage de Master 2 **2015** ; (b) Debiais, M. Stage de Licence 3 **2015**.

solubilité en milieu huileux.²⁷⁰ De plus, la nucléobase n'a pas été modifiée afin de conserver ses interactions caractéristiques pour la formation d'un potentiel gel (*Schéma 17*).

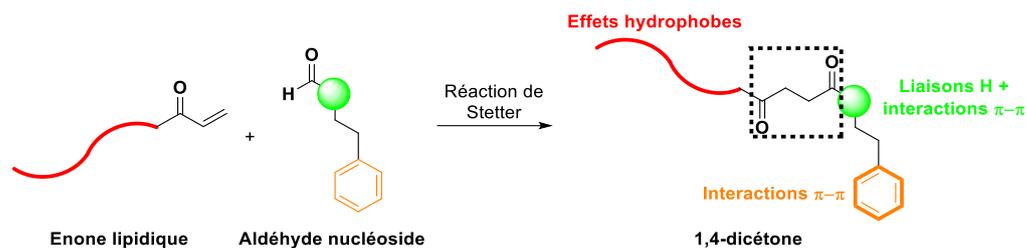


Schéma 17 : Stratégie de synthèse du NL oléogélificateur

Concernant la synthèse, l'alkylation des positions 3' et 5' n'étant pas sélective, la protection de l'alcool en position 5' (plus réactif) s'est montrée primordiale afin de pouvoir benzyle l'alcool en position 3'.²⁷¹ Pour cela, la thymidine a été protégée sélectivement en position 5' en éther silylé dans des conditions classiques. L'alcool **109** a ensuite été benzylé par réaction de Williamson sous activation microondes dans le THF avec NaH pour base. Cette réaction adaptée de la littérature, a été menée en deux temps. Dans un premier temps, la déprotonation de l'alcool **109** pendant 2 min aux microondes à 40 °C puis l'ajout du composé électrophile, le bromure de benzyle avant une deuxième activation aux microondes à 40 °C pendant 1 h. Le composé benzylé **110** a ensuite été déprotégé en présence de TsOH·H₂O (acide paratoluène sulfonique monohydrate) pour régénérer l'alcool libre **111**.

La position 5' a été allylée dans les mêmes conditions que pour la benzylation aux microondes. Une fois l'éther d'allyle **112** isolé, une coupure oxydante par réaction de Lemieux-Johnson dans des conditions développées par W. Yu et *al.* a permis d'obtenir l'aldéhyde **113** souhaité.²⁷²

En parallèle le partenaire énone lipidique a été synthétisé à partir d'une chaîne grasse arbitrairement choisie en C₁₂. Disponible commercialement sous forme d'aldéhyde, la dodécanal a subi une séquence vinylation puis oxydation de Swern pour obtenir l'énone **117** correspondante.²⁷³

Une fois les deux partenaires aldéhyde et énone obtenus, la réaction de Stetter a été réalisée en présence d'un sel de thiazolium **114**²⁷⁴ et de la DBU comme base. Expérimentalement la formation de l'intermédiaire de Breslow est très visuelle puisque le milieu devient orange à mesure qu'il se forme. Cette étape organocatalysée bioinspirée, biomimétique et convergente a alors permis la

²⁷⁰ Cunha, A.; Prévot, G.; Mousli, Y.; Barthélémy, P.; Crauste-Manciet, S.; Dehay, B. Desvergnès, V. *ACS Omega*, **2020**, 5, 5815-5823.

²⁷¹ Teste, K.; Colombeau, L.; Hadj-Bouaza, A.; Lucas, R.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Champavier, Y. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 1490-1495.

²⁷² Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z. *Org. Lett.* **2004**, 6, 3217-3219.

²⁷³ (a) Omura, K.; Sharma, A.K.; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 957-962 ; (b) Huang, S.L.; Omura, K.; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 3329-3331 ; (c) Omura, K.; Swern, D. *Tetrahedron* **1978**, 34, 1651-1660.

²⁷⁴ (a) Labarre-Laine, J.; Beniazza, R.; Desvergnès, V.; Landais, Y. *Org. Lett.* **2013**, 15, 4706-4709 ; (b) Labarre-Laine, J.; Perinan, I.; Desvergnès, V.; Landais, Y. *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 9336-9341.

formation d'un NL **115** avec un nouveau lien, la 1,4-dicétone avec un rendement global de 12 % limité qui s'explique par le faible rendement de l'étape clé non optimisée mais où aucun produit de condensation acyloïne a été observé (*Schéma 18*).

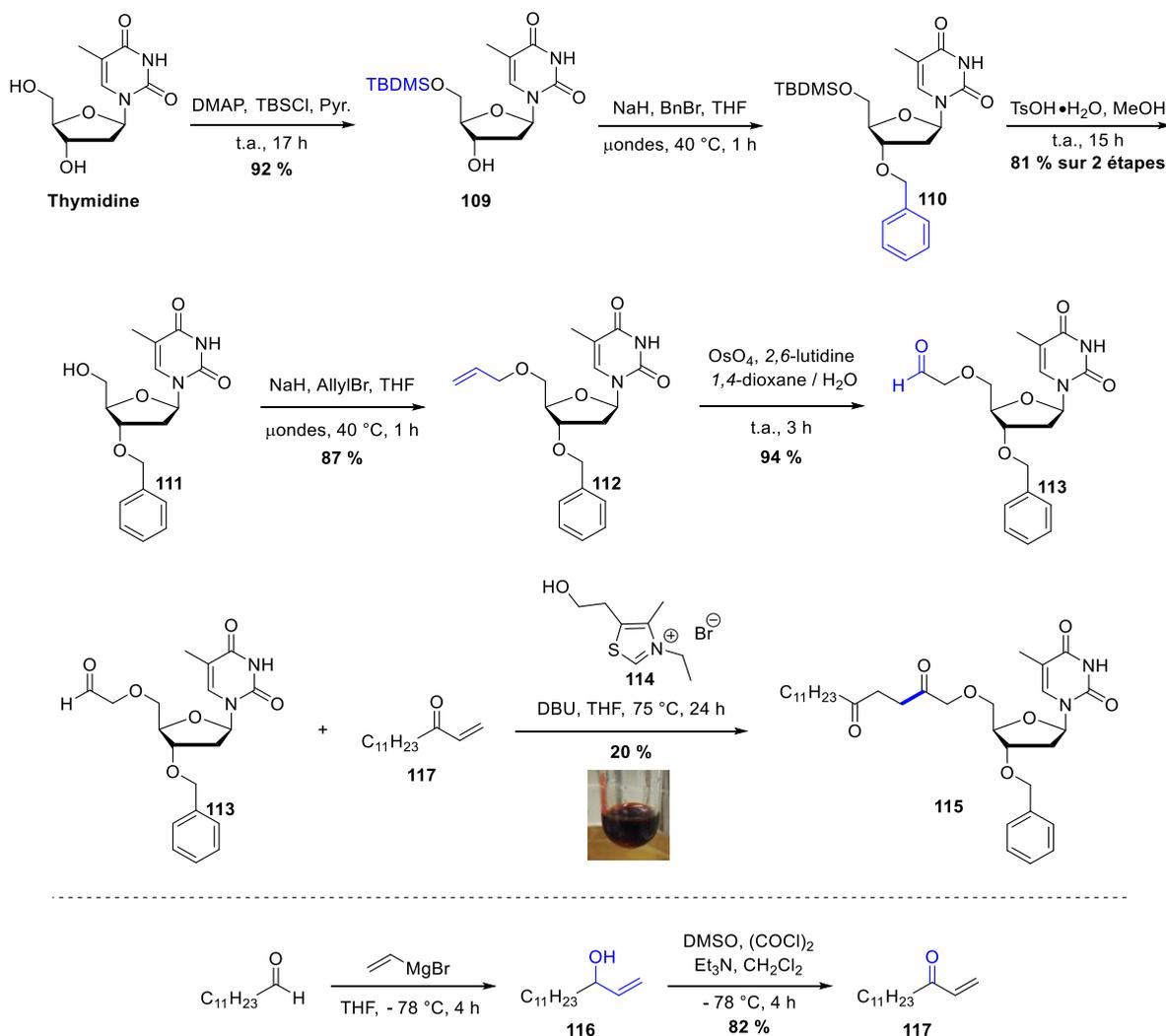


Schéma 18 : Synthèse du NL avec un lien 1,4-dicétone en 5' et un benzyle en 3'

La synthèse de ce NL par A. Hamoud²⁷⁵ a abouti à la découverte du premier LMWG nucléolipidique dans l'huile. En effet, lors d'essais de formulation, G. Prévot un ancien doctorant de l'équipe, a mis en évidence la capacité de ce composé à faire gélifier le Miglyol 812N[®] (rappel : une huile composée de triglycérides à chaînes moyennes (TCM)). Un protocole de gélification a alors été décrit où le composé **115** était solubilisé dans l'huile à 5 % m/m au thermomixer (THX) (800 rpm, 70 °C, 15 min). Le retour à température ambiante avait alors permis la formation du gel qui avait été confirmée en retournant l'ependorf après 4 minutes. Cet oléogélificateur originel non cytotoxique devait être le premier candidat pour le projet NEOMAY. Aussi ce travail de thèse a débuté par sa synthèse à plus

²⁷⁵ Hamoud, A. *Conception et Synthèse bioinspirées de nucléolipides pour l'élaboration de biomatériaux*, Université de Bordeaux 2018. Travaux non publiés.

grande échelle pour évaluer s'il présentait les qualités physico-chimiques requises pour le projet. Sur un plan fondamental, il s'agissait également de comprendre et maîtriser parfaitement le processus de la gélification au niveau moléculaire.

III.2. Tentatives de mises au point du processus de gélification du NL au lien 1,4-dicétone

III.2.a. Optimisation de la benzylation en position 3'

Dès les premières étapes de synthèse, des problèmes de reproductibilité sont apparus. En effet la réaction de benzylation en position 3' a posé des difficultés en termes de rendement. Une optimisation a alors été menée en modifiant notamment le temps de réaction sous activation microondes, la stoechiométrie des réactifs, l'appareil et le temps d'agitation après réaction sous activation microondes. Aucun de ses paramètres n'a montré d'influence sur la complétion de la réaction ou sur le rendement (*Tableau IV*).

Eq. NaH/BnBr	Solvant	T (°C)	Temps (min) activation/réaction	Ratio RMN 110/109	Rqs
2.5/2.5	THF	40	2/60 + 5 min après μ ondes	1/0.58	
2.5/2.5	THF	40	2/60 + 90 min après μ ondes	1/0.83	
2.5/2.5	THF	40	2/60 + 120 min après μ ondes	1/0.69	
2.5/2.5	THF	40	2/120	1/2.52	
2.5/2.5	THF	40	2/150	1/2.21	
2.5/2.5	THF	40	2/60	1/3.64	Autre μ ondes
2.5/2.5	THF	40	2/60	1/2.91	Autre BnBr
3.5/3.5	THF	40	2/60	1/3.23	

Tableau IV : Optimisation de la benzylation en position 3'

Les conditions ont alors été modifiées en réalisant la réaction « à la paillasse » dans des conditions de benzylation classiques soit dans le DMF, du NaH à 0 °C pendant 30 min avant de faire réagir le

milieu en présence du bromure de benzyle à température ambiante pendant 24 h. Cette stratégie n'a donné que le produit N-benzylé **118** en position N-3 avec une conversion très faible évaluée par en RMN ^1H du brut réactionnel (*Schéma 19*).

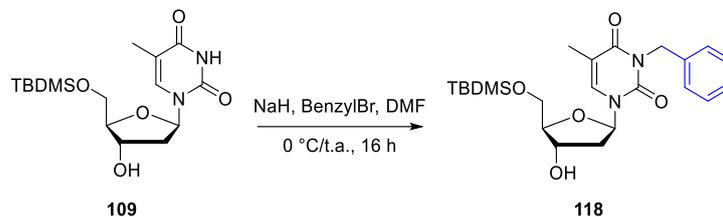


Schéma 19 : Benzylation sélective en position N-3 dans les conditions classiques

En se basant sur la littérature, une stratégie de benzylation plus douce a alors été mise en œuvre en utilisant le réactif de Dudley **120** qui a été synthétisé au préalable.²⁷⁶ Celui-ci a été obtenu en deux étapes depuis la 2-chloropyridine. La première étape consiste à benzyle la 2-chloropyridine en présence d'alcool benzyle, de KOH et de l'éther couronne 18-crown-6. L'intermédiaire **119** a ensuite été traité avec du triflate de méthyle pour conduire efficacement au sel de pyridinium **120** appelé réactif de Dudley (*Schéma 20*).

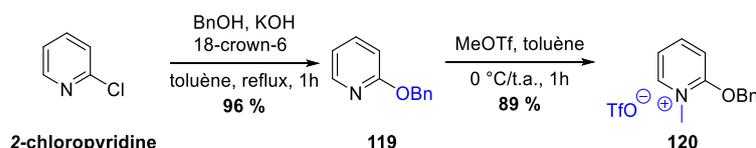


Schéma 20 : Synthèse du réactif de Dudley

L'alcool **109** a alors été mis en réaction avec **120** dans les conditions décrites dans la littérature (MgO, DCE)²⁷⁶ ne conduisant malheureusement au composé attendu **110** qu'avec un faible rendement de 16 % pour une conversion non totale. (*Schéma 21*).

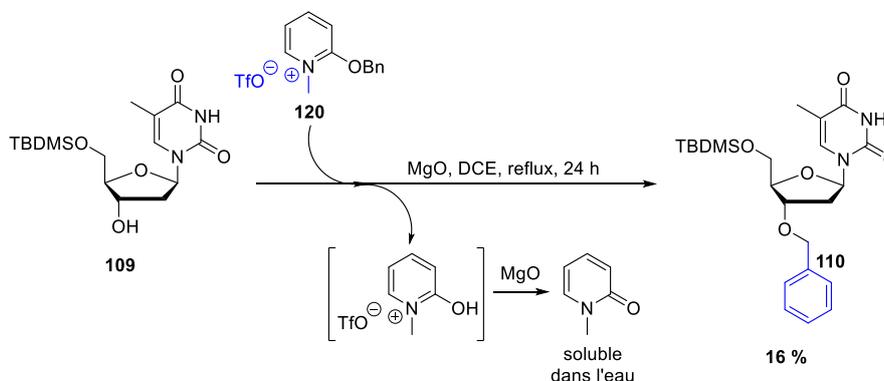


Schéma 21 : Benzylation avec le réactif de Dudley

²⁷⁶ Poon, K.W.C.; House, S.E.; Dudley, G.B. *Synlett* **2005**, 3142-2144.

Face à ces résultats décevants, une deuxième optimisation a été réalisée en conditions « microondes » faisant varier notamment le temps d'activation pour la déprotonation. En effet, l'allylation en position 5' et la benzyltion en position 3' étaient décrites avec le même temps de déprotonation, soit 2 min aux microondes alors que les deux positions n'ont pas la même réactivité. Après plusieurs essais, le temps d'activation avec NaH a été optimisé à 4.5 min donnant après réaction le produit **110** avec un rendement de 88 %. L'isolation du partenaire aldéhyde **113** n'a ensuite nécessité aucune optimisation supplémentaire.

III.2.b. Optimisation de la préparation du partenaire énone

Malgré la description de sa synthèse, l'obtention de l'énone lipidique a également présenté quelques problèmes. Initialement synthétisée par oxydation de Swern de l'alcool allylique brut **116** et décrite avec un rendement de 82%, la reproduction de ces conditions n'a donné l'énone qu'avec 15 % de rendement. D'autres conditions d'oxydation classiques d'alcools vinyliques ont été testées notamment avec MnO₂ ou encore le Dess-Martin-Périodine **122** (DMP) synthétisé au préalable (*Schéma 22*).²⁷⁷

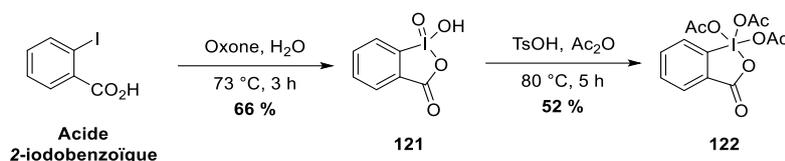


Schéma 22 : Synthèse de l'IBX et du DMP

L'oxydation en présence de DMP n'a malheureusement pas permis la formation de l'énone **117**. Enfin, les dernières tentatives ont étudié l'oxydation en présence de SIBX, IBX stabilisé par des acides aromatiques, qui nous a été fourni par l'équipe du professeur S. Quideau (ISM, Bordeaux). Plusieurs essais ont été menés entraînant la formation de l'énone avec un rendement correct de 80 % dans un mélange THF/DMSO, protocole décrit par l'équipe de S. Quideau.²⁷⁸ En parallèle, une purification rigoureuse de l'alcool allylique intermédiaire **116** a finalement permis l'obtention de l'énone **117** avec un rendement similaire (*Tableau V*).

²⁷⁷ (a) Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538 ; (b) Ireland, R.E.; Liu, L. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2899.

²⁷⁸ Ozanne, A.; Pouységu, L.; Depernet, D.; François, B.; Quideau, S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2903-2906.

Conditions	Rendement
Oxydation de Swern sur 127 brut	15 %
MnO ₂	38 %
DMP	0 %
SIBX, THF, t.a.	34 %
SIBX, THF, 60 °C	14 %
SIBX, THF/DMSO, t.a.	80 %
SIBX, toluène, 80 °C	4 %
Oxydation de Swern sur 116 purifié rigoureusement	81 %

Tableau V : Optimisation de l'oxydation de l'alcool allylique 118

III.2.c. Optimisation de la purification de la 1,4-dicétone

La réaction de Stetter n'a pas été optimisée en tant que telle mais la purification de la 1,4-dicétone **115** a nécessité une modification des conditions. La purification décrite par A. Hamoud impliquait une double purification sur gel de silice d'abord, qui ne permettait pas de s'affranchir d'une impureté qu'il fallait alors enlever par une recristallisation faisant perdre beaucoup de composé (rendement de 20 %). L'optimisation du système d'éluant effectuée au début de ce travail de thèse a conduit à une purification avec un mélange acétone/toluène plus adapté pour le composé et qui a permis d'isoler le produit avec un rendement de 34 % et un rendement global amélioré de 16 % sur 6 étapes depuis la thymidine.

III.2.d. Un processus de gélification difficilement reproductible

L'oléogélificateur **115** obtenu, des problèmes de reproductibilité de gélification ont été rencontrés. Malgré des spectres RMN ¹H et des spectres de masse identiques, le NL **115** obtenu après optimisation de la synthèse n'a donné, expérimentalement aucun gel comparativement à celui obtenu précédemment. La synthèse a alors été répétée, mais cela n'a eu aucun impact. Nous avons donc investigué de nouveau l'étape qui avait été modifiée, c'est à dire la purification.

De cette manière, il a alors été établi que le système de purification de la 1,4-dicétone influence de façon drastique la gélification du composé indépendamment des autres paramètres. Sans en comprendre la cause, une combinaison de deux purifications a permis de conserver le rendement de 34 % tout en permettant au NL **115** de faire gélifier la phase huileuse. Ainsi la 1,4-dicétone a été purifiée sur gel de silice avec AcOEt/pentane puis une seconde fois avec acétone/toluène comme éluant. Enfin, si le produit n'est pas solide, une précipitation dans le pentane a été effectuée.

Une fois mis dans l'huile, le composé a permis la gélification du Miglyol 812 N[®] avec un protocole de gélification lui aussi différent de celui décrit dans la thèse précédente qui s'était avéré non répétable. Finalement, il a fallu 3 cycles au THX (800 tpm, 70 °C, 20 min) pour permettre au composé de se solubiliser. Après 2 h de retour à température ambiante, l'huile finit par gélifier donnant un oléogel blanc opaque à 5 % m/m. Le temps de gélification conditionnera une éventuelle utilisation ultérieure. La concentration minimale de gélification (cmg) a été déterminée en diluant successivement le NL à différentes concentrations, la cmg a alors été observée à 4 % m/m (**Figure 68**).

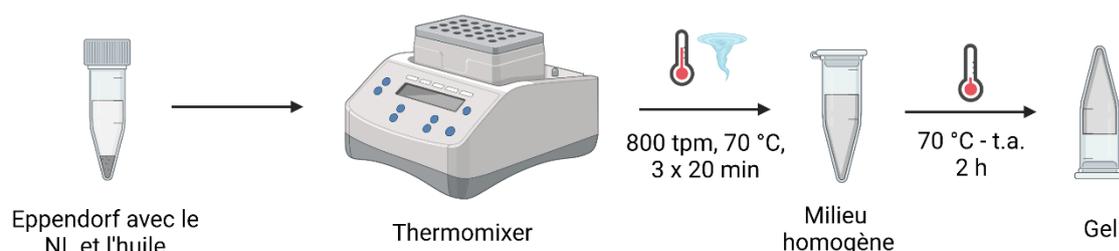


Figure 68 : Protocole de gélification au THX

En résumé, cet exemple illustre parfaitement les difficultés de reproductibilité de certains processus de gélification évoqués dans la littérature.¹⁶⁴ Après sa délicate mise au point en collaboration avec Bérange Dessane, ce protocole précis a été reproduit plusieurs fois et celui-ci s'est finalement avéré parfaitement répétable. Ce travail qui devait juste reproduire des résultats précédemment obtenus a cependant demandé plusieurs mois de mise au point et a permis d'appréhender en pratique les subtilités rapportées dans la littérature au sujet de l'obtention de gels.

III.3. Caractérisation de l'oléogel

III.3.a. Observations en microscopie optique

Lors du retour à température ambiante après solubilisation du NL, la gélification semble suivre un processus en 2 étapes. Tout d'abord des points de nucléations apparaissent puis ils s'étendent petit à petit pour s'entremêler et former ensuite un gel opaque. Au niveau microscopique, les images reportées ici par B. Dessane ont révélé un réseau cristallin fibrillaire. Les fibres constituant le réseau ont une longueur de quelques dizaines de micromètres pour une épaisseur de l'ordre du micromètre (*Figure 69*).

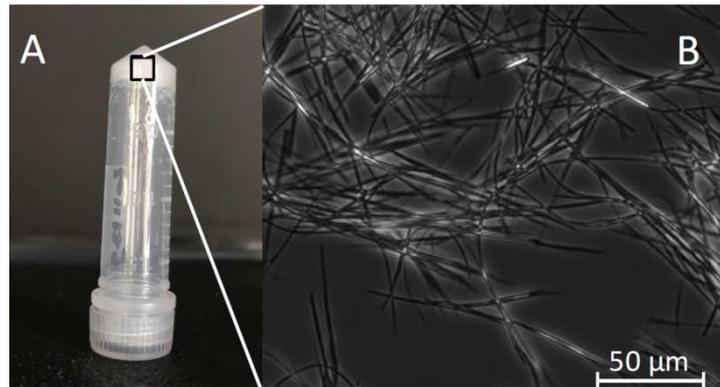


Figure 69 : a) Photo de l'oléogel à base du NL 115 dans le Miglyol 812 N® à 5% m/m b) Observation en microscopie optique du réseau cristallin fibrillaire du gel sur la photo (échelle 50 µm)

III.3.b. Propriétés mécaniques

L'évaluation de la rigidité et des propriétés mécaniques de l'oléogel a été réalisée par mesures des paramètres rhéologiques. Cette étude a été réalisée par B. Dessane sur des échantillons d'oléogels du NL **115** à 5 % m/m dans le Miglyol 812N®. Dans un premier temps, la LVER du gel a été déterminée. Pour rappel, elle représente la zone dans laquelle les modules d'élasticité et de viscosité sont indépendants du pourcentage de déformation appliquée. Dans cette zone, G' et G'' ne varient pas ou très peu jusqu'à un pourcentage de déformation où les valeurs chutent et les deux courbes finissent par se croiser à 0,5 % de déformation appliquée pour donner un G'' supérieur au G' . A l'échelle macroscopique, cela se traduit par un effondrement du gel qui est alors devenu liquide. La LVER a alors été définie à un pourcentage de déformation d'environ 0,01 % (*Figure 70*). Cette faible valeur souligne une résistance à la déformation et donc une faible élasticité du gel. Ces données coïncident avec les observations en microscopie optique présentant un réseau cristallin donc cohérent avec un gel cassant.

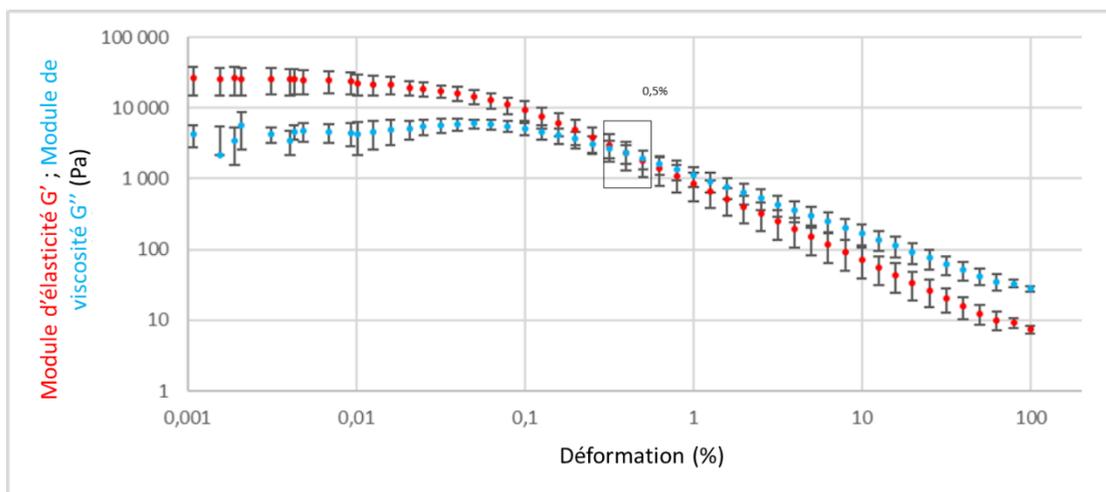


Figure 70 : Evolution des modules d'élasticité et de viscosité en fonction de la déformation appliquée pour l'oléogel issu du NL 115 dans le Miglyol 812N® à 5% m/m

Les modules ont pu être mesurés en fonction de la fréquence en se plaçant dans la LVER de l'oléogel soit à 0,01 % de déformation. Le module d'élasticité G' évalué à 81,3 kPa est supérieur au module de viscosité G'' qui est de 10 kPa confirmant le caractère solide du gel. Les deux courbes montrent une légère variation dans les valeurs de G' et G'' indiquant une dépendance à la fréquence.

Le comportement thixotropique du matériau a également pu être évalué par rhéologie en alternant des conditions dans la LVER sur un temps long (30 min) permettant la formation du gel puis une déformation brutale sur une courte durée (2 min) visant à casser le gel. Cela a permis d'évaluer la capacité du gel à retrouver son état macroscopique après une déformation et ce de manière reproductible tout en conservant ses propriétés mécaniques. Les courbes montrent une légère diminution après la première perturbation indiquant un affaiblissement du gel. Les modules rhéologiques deviennent ensuite réguliers après plusieurs perturbations successives. L'oléogel semble donc avoir un caractère thixotropique (**Figure 71**). La thixotropie indique que ce gel peut récupérer ses propriétés élastiques ($G' > G''$) après relâchement d'une force de cisaillement supérieure à celle nécessaire pour atteindre le point de rupture du gel. Ceci peut présenter un intérêt dans le cadre d'applications biomédicales notamment. De plus s'il se montre extrudable, il pourra également être injectable.

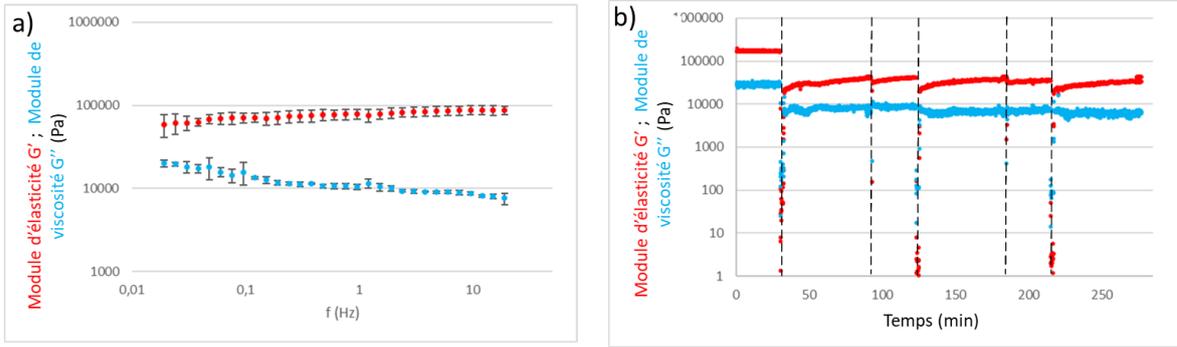


Figure 71 : Evolution des modules d'élasticité et de viscosité en fonction a) de la fréquence à une déformation appliquée de 0.01 % b) du temps sur plusieurs cycles de déformations pour l'oléogel issu du NL 115 dans le Miglyol 812N® à 5% m/m

Enfin la température de transition de l'état gel à l'état solution dite $T_{gel/sol}$ a été mesurée. Pour cela, le gel a été placé dans sa LVER à 0,01 % de déformation appliquée et les modules ont été évalués en fonction de la température de 25 à 85 °C avec une rampe de 5 °C/min. Les courbes diminuent au fur et à mesure que la température augmente pour arriver à un point de croisement où le gel va se fluidifier et devenir liquide se caractérisant par le passage de $G' > G''$ à $G' < G''$. La température de transition est alors observée à 74.4 °C (Figure 72).

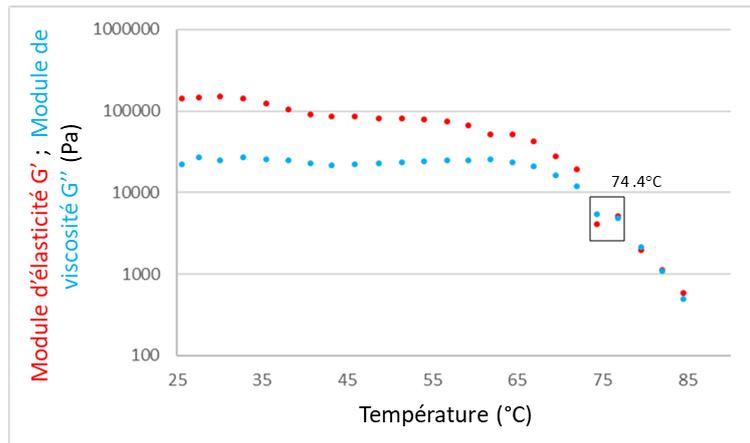


Figure 72 : Evolution des modules d'élasticité et de viscosité en fonction de la température à une déformation appliquée de 0.01 % pour l'oléogel issu du NL 115 dans le Miglyol 812N® à 5% m/m

III.4. Etude des interactions moléculaires mises en jeu lors de la gélification

Dans l'objectif de mieux comprendre les paramètres à l'origine de la gélification, autrement dit les interactions responsables de la formation du réseau et de sa stabilisation, des études ont été effectuées par les Dr. Antoine Loquet et Brice Kauffmann (Institut de Chimie et de Biologie des Membranes et des Nano-objets CBMN, UMR 5248) respectivement par RMN du solide et DRX.

III.4.a. Analyses par RMN du solide

L'étude par RMN a été réalisée dans le but de comparer le spectre RMN ^{13}C du NL **115** en solution dans le CDCl_3 et à l'état de gel dans le Miglyol 812N[®] dans des conditions de rotation à l'angle magique. Pour cela, deux types de transfert de polarisation ont été mis en œuvre pour l'oléogel. Le premier, ^1H - ^{13}C « *Cross Polarization* » (CP) permet de définir les parties dites « rigides » de la structure et le deuxième type ^1H - ^{13}C « *Intensive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer* » (INEPT) révèle les parties dites « mobiles » de la molécule. Les spectres ont ensuite été superposés en éliminant le spectre du Miglyol 812N[®]. Les premières observations sur spectre CP montrent sans ambiguïté que la nucléobase et la chaîne lipidique sont dans la phase « rigide » de la structure car ces parties ont uniquement été observées en CP. Concernant la partie mobile en INEPT, elle confirme l'état dynamique de l'huile qui est mobile et ne présente aucun groupement caractéristique du NL **115** qui est bloqué dans une topologie définie par les interactions supramoléculaires (**Figure 73**).

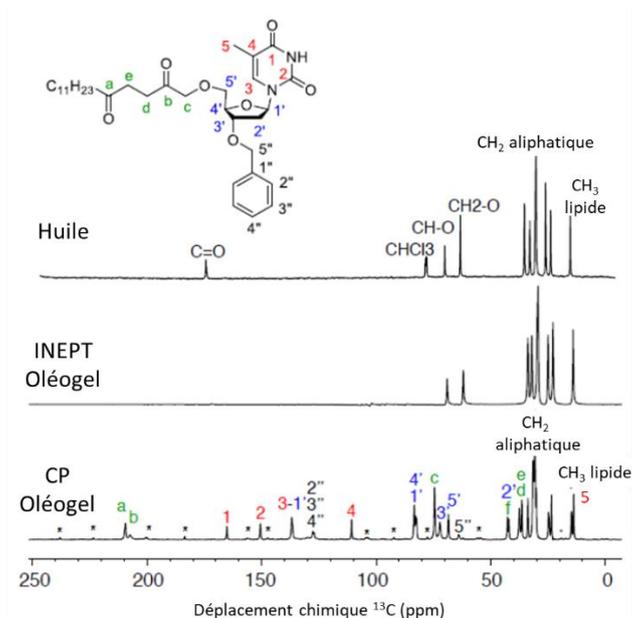


Figure 73 : Spectres RMN ^{13}C du Miglyol 812N[®] et du gel à 5 % m/m par INEPT et CP

De façon surprenante, la comparaison entre le spectre CP et le spectre RMN en solution montre des différences notables dans la région illustrant les fonctions carbonyles issues de la 1,4-dicétone, soit environ 200 ppm. En effet, la contribution des fonctions $\text{C}=\text{O}$ ne serait pas équivalente en solution et à l'état de gel. Alors qu'en solution 2 pics quasiment identiques sont visibles, à l'état gélifié, un des deux pics est 4 fois plus élevé que l'autre. Cette différence entre les 2 contributions des carbonyles a conduit à l'hypothèse de l'existence d'une forme céto-énolique sur l'un des deux $\text{C}=\text{O}$ (**Figure 74**). Concernant la partie aromatique, la RMN du solide ne permet pas de conclure avec certitude sur de possibles interactions π - π .

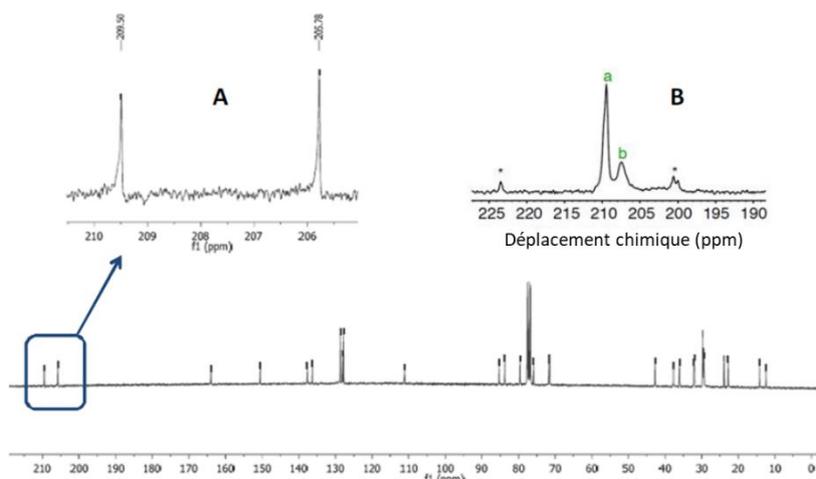


Figure 74 : Zoom sur les carbonyles de la 1,4-dicétone a) sur le spectre RMN ^{13}C du NL 115 en solution b) sur le spectre RMN ^{13}C par CP à l'état de gel

III.4.b. Structure par diffraction aux rayons X

L'hypothèse de ce potentiel équilibre céto-énolique a nécessité une analyse plus aboutie de la structure. C'est pour cela que la cristallographie aux rayons X a été réalisée afin de décrypter la structure supramoléculaire de l'oléogel à l'échelle atomique. Pour cela des cristaux isolés depuis le gel ont été analysés. Dans un premier temps, les interactions observées entre nucléobases et entre lipides ont confirmé les analyses par RMN du solide. La formation de l'architecture supramoléculaire semble alors être dirigée par des liaisons H/interactions π - π entre nucléobases et des effets hydrophobes entre les chaînes carbonées (*Figure 75*).

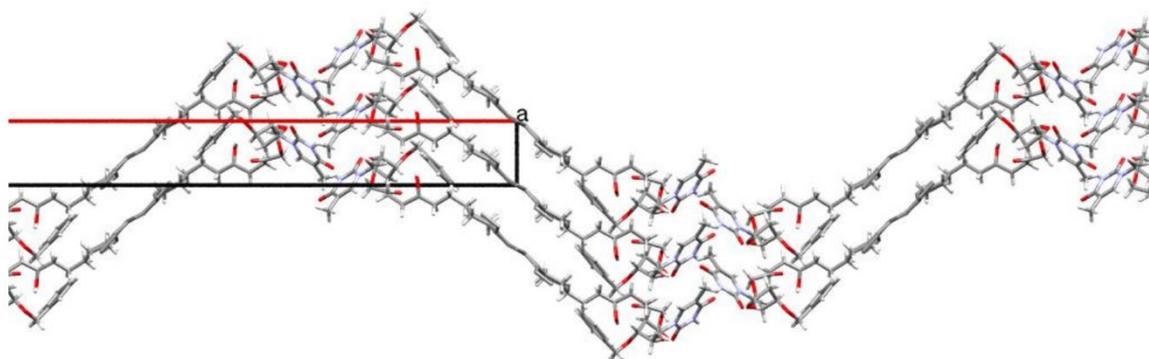


Figure 75 : Organisation supramoléculaire des cristaux de NLs 115 observée par DRX

Des analyses par DRX poussées, effectuées par Dr. B. Kauffmann au synchrotron de Grenoble ont permis de mettre en évidence la forme énol, confirmant l'hypothèse d'équilibre céto-énolique. La

structure résolue (CCDC 2085181) montre l'énol sur le carbonyle distal (du côté de la chaîne grasse) mais il existe statistiquement de façon équivalente sur l'autre carbonyle (**Figure 76**).

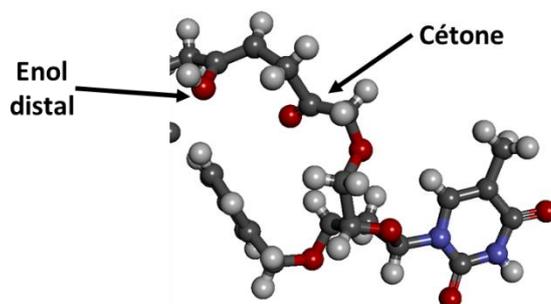


Figure 76 : Structure RX du NL 115 dans le Miglyol 812N® avec les chaînes carbonées enlevées par simplification

En dépit de la présence des fonctions énols dans l'huile, la structure RX et les données de la maille ne permettent pas de conclure clairement sur un rôle de cet énol dans le processus de gélification. Cependant, compte tenu du rôle crucial des liaisons H dans la formation de gels physiques, nous émettons l'hypothèse que ce groupement a forcément une influence au cours du procédé de gélification. La fonction énol n'étant pas observée en solution mais uniquement dans l'huile à l'état de gel, sa formation peut néanmoins jouer un rôle primordial dans la stabilisation de l'édifice supramoléculaire (**Schéma 23**).

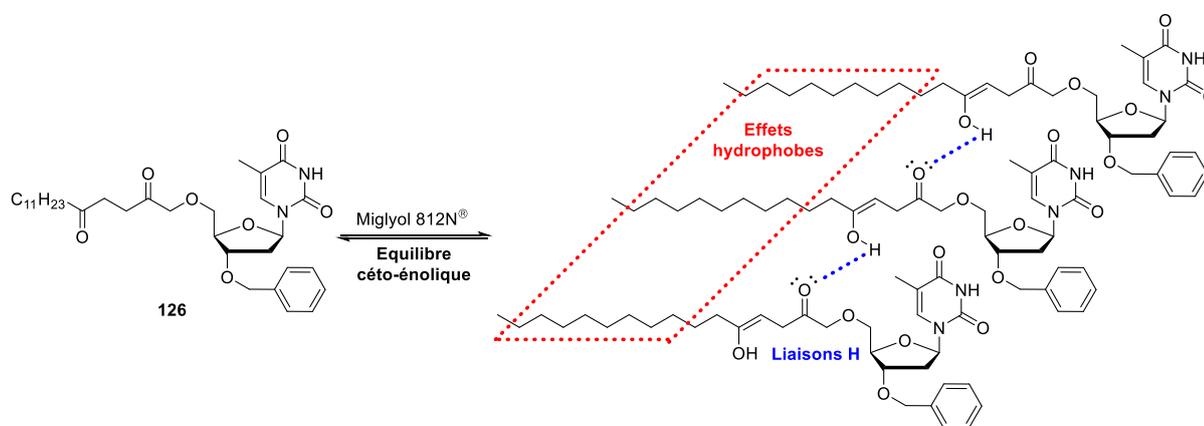


Schéma 23 : Équilibre céto-énolique dans l'huile menant aux liaisons H supposées responsables de la formation du gel (les interactions entre nucléobases ne sont pas représentées ici)

A notre connaissance, le NL **115** portant une fonction 1,4-dicétone est le premier LMWOG (« *Low Molecular Weight Oleogelator* »). Obtenu à la suite d'une réaction d'organocatalyse bioinspirée, la réaction de Stetter, il présente des propriétés d'autoassemblages uniques qui pourraient en faire un candidat de choix dans le cadre du projet NEOMAY. De plus, ses propriétés mécaniques pourraient en faire un biomatériau d'intérêt pour la médecine régénérative.²⁷⁹ De façon à mieux comprendre

²⁷⁹ Camarero-Espinosa, S.; Rothen-Rutishauser, B.; Foster, E.J.; Weder, C. *Biomater. Sci.* **2016**, *4*, 734-776.

quelles spécificités structurales font de cette structure un oléogélificateur supramoléculaire, une étude structurale a été effectuée. L'influence de chaque position et substituant ainsi que le lien 1,4-dicétone ont été étudiés de façon à essayer d'établir un rationnel entre la structure moléculaire et les propriétés d'autoassemblages observées dans l'huile.

CHAPITRE 3

Vers un rationnel structure – propriétés gélicatrices

La découverte par sérendipité de ce NL aux propriétés oléogélificatrices a mené les recherches de l'équipe vers la compréhension des paramètres clés à l'origine de la gélification. Dans le but de définir l'influence de la structure moléculaire sur la gélification dans l'huile, une première étude structurale préliminaire a permis de mettre en évidence le rôle majeur du lien 1,4-dicétone. La détermination d'un rationnel structure-activité reste encore aujourd'hui un défi compte tenu des différents paramètres qui entrent en jeu. Ainsi, une approche moléculaire préliminaire a permis de déterminer le rôle de chaque partie du NL **115** dans le processus de gélification. Cela a impliqué la synthèse de plusieurs analogues structuraux. Le lien 1,4-dicétone a été modifié dans un premier temps par un lien éther pour le composé **123** et ester pour **124**. En parallèle les composés **111**, **125** et **126** ont respectivement été dépourvus de chaîne lipidique, de nucléobase et de groupement benzyle. Après application du même protocole de gélification que celui du NL oléogélificateur **115**, aucun n'a montré une capacité à former un gel dans le Miglyol 812N[®]. Ce résultat indique l'importance du groupement benzyle mais aussi de la chaîne lipidique, de la nucléobase et du lien 1,4-dicétone sur la gélification. Une modification de la position du groupement benzyle en position N-3 a été effectuée pour conduire au composé **127** qui n'a lui non plus pas conduit à la formulation d'un gel témoignant de l'importance du groupement benzyle sur le squelette désoxyribose. Enfin, les positions du lipide et du benzyle ont été interverties mais le NL **128** a été isolé sous forme d'huile (*Figure 77*).

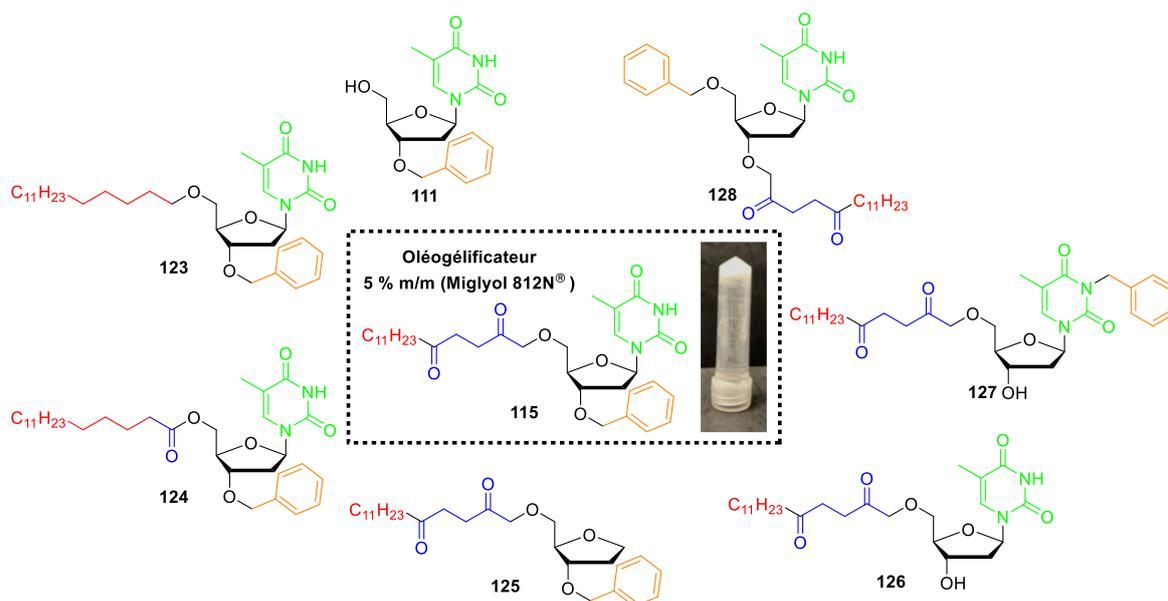


Figure 77 : Etude structurale préliminaire autour du NL 115

Cette première étude structurale réalisée par A. Hamoud²⁷⁵ et complétée avec les composés **124** et **128** au cours de ma thèse a montré l'importance de chaque bloc moléculaire du NL **115** pour permettre la gélification du Miglyol 812N[®]. Les analyses effectuées par les Dr. Antoine Loquet et Dr. Brice Kauffmann ont révélé un équilibre céto-énolique au sein de la 1,4-dicétone. Nous supposons alors qu'un lien carboné portant une partie C=O acceptrice de liaisons H et une partie donneuse de liaisons

H comme le OH de l'énol pourrait avoir un intérêt pour comprendre le rôle crucial de la 1,4-dicétone. Pour vérifier cette hypothèse, plusieurs liens ont été ciblés en modifiant notamment la distance entre la fonction donneuse et le groupement accepteur de liaisons H.

D'autres modifications structurales ont également été effectuées de façon à déduire leur impact sur la gélification. La longueur de la chaîne lipidique ainsi que sa nature ont été étudiées pour en déduire l'impact sur les effets hydrophobes étant donné que le choix initial de la chaîne C₁₂ était arbitraire. Enfin, les interactions π - π ont été modulées en faisant varier la nature du groupement aromatique ainsi que sa position.

Pour mener cette étude, nous avons fait le choix de rester dans le Miglyol 812N[®] en ne modifiant qu'un paramètre à la fois ; ceci dans un but de cohérence concernant un potentiel lien rationnel entre la structure et ses capacités à gélifier dans l'huile. De plus, le Miglyol 812N[®] est l'huile qui devait être utilisée pour la formulation ultérieure pour l'application du projet NEOMAY. Cette étude vise donc à moduler les propriétés physicochimiques des potentiels oléogels obtenus afin d'optimiser leurs capacités à solubiliser/disperser les substances actives lipophiles d'intérêt et à être formulés sous forme de nanoémulsion.

I. Impact du lien Nucléoside-Lipide : liaisons H

La présence de l'équilibre céto-énolique pour la 1,4-dicétone en milieu huileux a donc été, dans un premier temps, à l'origine de notre hypothèse selon laquelle il aurait un rôle dans la gélification. Cet équilibre qui n'a pas été observé en solution suppose la possibilité d'établissement de liaisons H intermoléculaires au niveau du lien nucléoside-lipide. Même si ces interactions n'ont pas été observées par DRX et RMN du solide, il était primordial d'éclaircir l'impact de ce lien sur l'assemblage supramoléculaire. Pour cela, la synthèse de plusieurs liens a été planifiée afin de placer directement un donneur et un accepteur de liaisons H entre le nucléoside et le lipide. La capacité de ces différents composés à former un gel en milieu huileux a ensuite été étudiée. La nature du lien a aussi été modifiée de même que la distance entre les deux fonctions complémentaires pour en déduire une éventuelle influence (*Figure 78*).

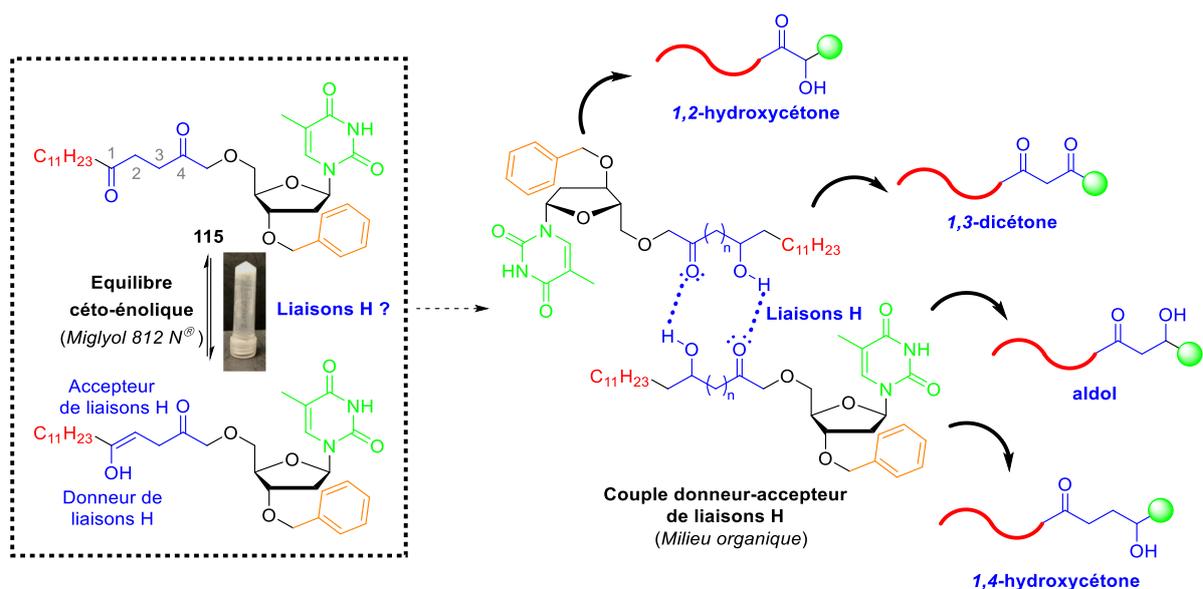


Figure 78 : Vers différents couples donneurs-accepteurs de liaisons H sur le lien lipide-nucléoside

Ces différentes approches synthétiques et l'étude des propriétés physico-chimiques des composés obtenus qui ont constitué la première moitié de ma thèse sont rapportées dans la suite de ce chapitre.

I.1. Conception d'un lien 1,2-hydroxycétone

I.1.a. Etat de l'art

Dans un premier temps, un lien 1,2-hydroxycétone a été visé afin d'observer l'influence de la présence d'un couple donneur-accepteur de liaisons H étant en α l'un par rapport à l'autre. Par analogie avec les travaux sur la réaction de Stetter, nous avons souhaité tester la faisabilité d'une réaction acyloïne croisée catalysée par un NHC. Cette réaction a été largement développée en version intramoléculaire.²⁸⁰ En revanche, sur une version intermoléculaire, plusieurs produits secondaires sont possibles rendant cette réaction délicate. En effet, la réaction acyloïne croisée peut mener à l'obtention de quatre produits différents soit deux dimères et deux produits issus du couplage croisé. Dans le cas présent, les aldéhydes utilisés étant aliphatiques, ils présentent des protons en α ce qui peut également induire des réactions d'aldolisation. Pour des aldéhydes aromatiques, ce souci ne se pose pas et la catalyse est souvent plus efficace car ils ont une meilleure réactivité (*Schéma 24*).

²⁸⁰ (a) Zhang, G.; Yang, S.; Zhang, X.; Lin, Q.; Das, D.K.; Liu, J.; Fang, X. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 7932-7938 ; (b) Shirke, R.P.; Reddy, V.; Anand, R.V.; Ramasastry, S.S.V. *Synthesis* **2016**, *48*, 1865-1871.

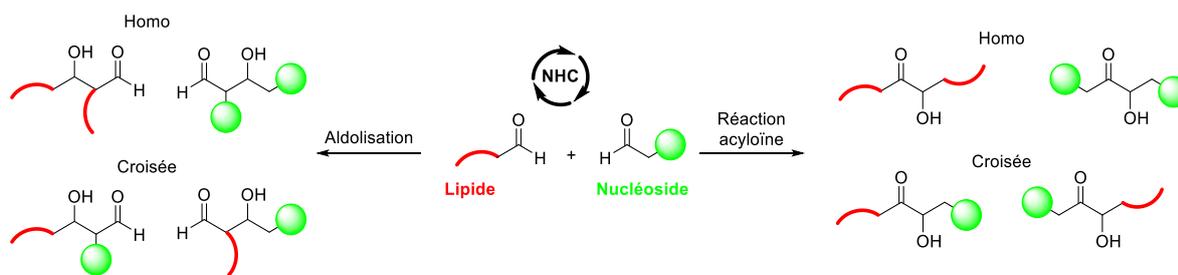
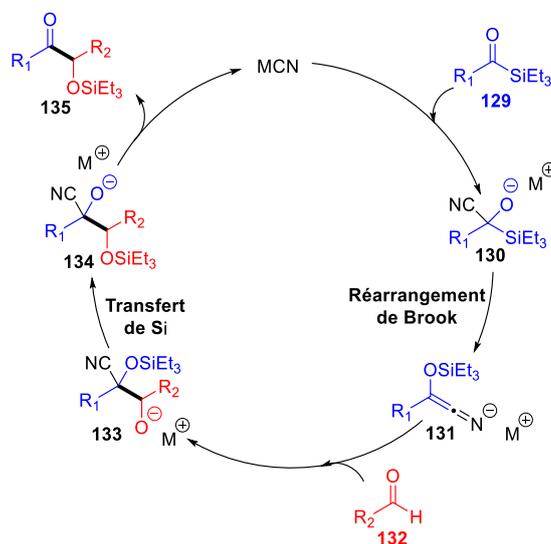


Schéma 24 : Produits issus de l'organocatalyse au NHC entre deux aldéhydes énoles

Pour contourner ces problèmes de sélectivité, des catalyseurs aux structures variées (triazolium, imidazolium, thiazolium, oxazolium...) ont été développés dans le but d'induire la sélectivité désirée.²⁸¹ Le développement d'un catalyseur spécifique au couplage du lipide avec le nucléoside nécessiterait un travail très conséquent. Une autre stratégie rapportée dans la littérature et impliquant un acylsilane a démontré une certaine sélectivité en faveur du produit de couplage croisé. Cet exemple rapporté par l'équipe de K.A. Scheidt utilise un partenaire acylsilane **129** et une catalyse au cyanure pour générer la formation d'un intermédiaire **130** qui subit un réarrangement de Brook. L'aldéhyde **132** peut alors réagir avec l'analogie de l'intermédiaire de Breslow **131** ainsi généré. Après une migration 1,4 du groupement silylé sur **133** donnant l'intermédiaire **134**, le cyanure est régénéré et le produit **135** issu d'un couplage croisé est obtenu (*Schéma 25*). Cette approche nécessitant la synthèse assez contraignante d'un acylsilane et utilisant une catalyse au cyanure n'a pas été notre choix.²⁸²


 Schéma 25 : Mécanisme proposée pour la réaction croisée silyl-acyloïne²⁸³

²⁸¹ (a) Menon, R.S.; Biju, A.T.; Nair, V. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 444-461 ; (b) Gaggero, N.; Pandini, S. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 6867-6887 ; Delany, E.G.; Connon, S.J. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 780-786 ; (c) Ji, H.; Xu, J.; Ren, H. *Synthesis* **2019**, *51*, 2191-2197 ; (d) Barik, S.; Biju, A.T. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 15484-14495.

²⁸² (a) Brook, A.G.; Duff, J.M.; Jones, P.F.; Davis, N.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 431-434 ; (b) Clark, C.T.; Milgram, B.C.; Scheidt, K.A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3977-3980 ; (c) Kondo, J.; Inoue, A.; Ito, Y.; Shinokubo, H.; Oshima, K. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 3361-3369.

²⁸³ Linghu, X.; Johnson, J.S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2534-2536.

I.1.b. Stratégie de synthèse

L'équipe de K.A. Scheidt qui a rapporté les études sur la variante de type Sila-Stetter²⁸⁴ a développé une autre synthèse de cétole utilisant le thiazolium O-silylé **136**. Après déprotection, cet éther silylé **136** génère l'intermédiaire de Breslow (analogue d'ion acylé) **137** qui attaque à son tour l'aldéhyde **138** de manière totalement sélective pour conduire au produit d'acyloïne croisée **141** après un transfert 1,2-H et régénération du carbène. (*Schéma 26*).²⁸⁵

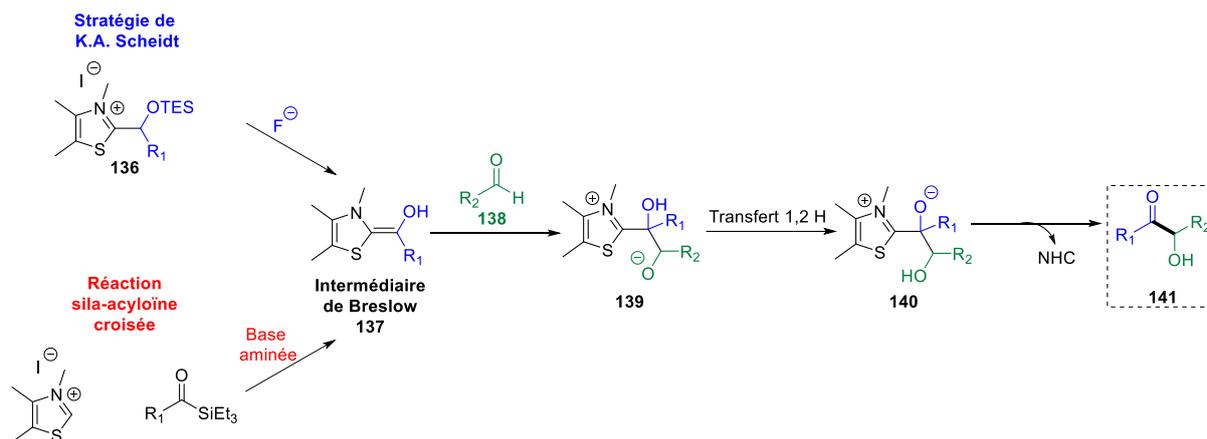


Schéma 26 : Mécanisme de la réaction acyloïne croisée développée par K.A. Scheidt

Cette stratégie attractive a été appliquée à la synthèse du NL visé. Pour cela, le sel de thiazolium O-silylé **145** a été synthétisé au préalable en y branchant le lipide plutôt que le nucléoside par souci de simplicité. Le tétradécanal **142** a ainsi d'abord été synthétisé par oxydation du tétradécanol au PCC. Le 4,5-diméthylthiazole a ensuite été déprotoné en présence de *n*-BuLi pour réaliser une attaque nucléophile sur l'aldéhyde **142** et générer l'alcool **143** qui a ensuite été protégé en éther silylé **144** et quaternarisé par traitement au iodométhane (MeI) pour enfin conduire au sel de thiazolium O-silylé **145** avec un bon rendement global de 83 % sur 4 étapes (*Schéma 27*).

²⁸⁴ Mattson, A.E.; Bharadwaj, A.R.; Scheidt, K.A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2314-2315.

²⁸⁵ Mathies, A.K.; Mattson, A.E.; Scheidt, K.A. *Synlett* **2009**, *3*, 377-383.

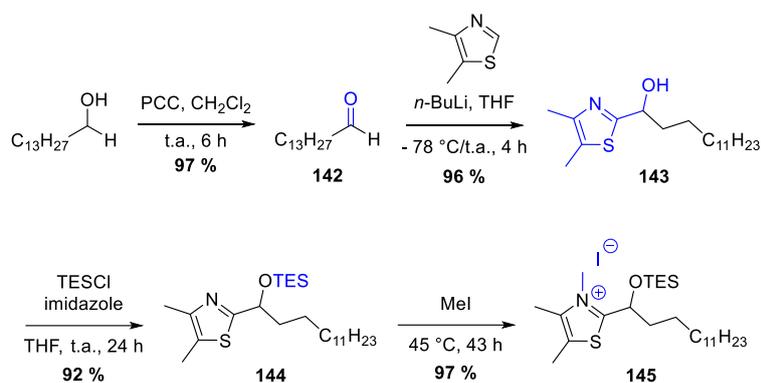


Schéma 27 : Synthèse du sel de thiazolium O-silylé lipidique

Le sel de thiazolium O-silylé **145** résultant a ensuite été utilisé pour les essais de réaction d'acyloïne croisée. L'étape clé a été réalisée dans les conditions classiques proposées par l'équipe de K.A. Scheidt dans l'isopropanol (iPrOH) avec CsF comme source d'ions fluorures. Cet essai n'a malheureusement pas fonctionné, vraisemblablement en raison de la faible solubilité de l'aldéhyde **113** dans le solvant. Les conditions ont alors été modifiées sans succès en rajoutant du THF dans le milieu pour aider à la solubilisation. Un dernier essai a alors été réalisé dans le dichlorométhane avec le fluorure de tétrabutyl ammonium (TBAF) comme source d'ions fluorures. Malgré une meilleure solubilité, la réaction n'a malheureusement pas conduit non plus au produit **146** espéré (*Schéma 28*).

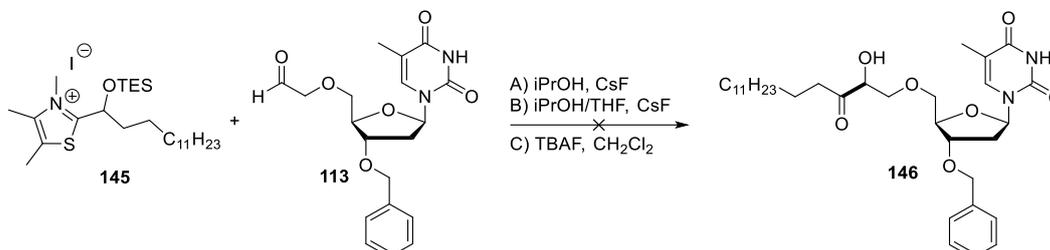


Schéma 28 : Essais de synthèse de la 1,2-hydroxycétone NL 146

Malgré la coloration orange typique indiquant la formation de l'intermédiaire de Breslow lors de l'ajout d'une source d'ions fluorures, le produit d'acyloïne croisée **146** n'a pas été détecté en RMN ¹H. Nous avons alors tenté la préparation d'un sel de thiazolium O-silylé branché au nucléoside et non plus au lipide mais la synthèse n'a malheureusement pas abouti. Nous avons supposé que les conditions d'addition du 4,5-diméthylthiazole n'étaient pas adaptées pour l'aldéhyde nucléosidique **113** qui s'est vraisemblablement dégradé. Les spectres RMN ainsi que les suivis par CCM donnant des résultats compliqués à exploiter, nous n'avons pas poursuivi cette approche.

I.2. Vers des liens 1,3-dicétone et aldol

Contrairement à un analogue de type 1,4-dicétone, la particularité de l'équilibre céto-énolique d'un lien 1,3-dicétone réside sur un équilibre en solution plus en faveur de l'énol. Les protons en α des deux carbonyles (pKa \sim 9) sont beaucoup plus acides que ceux en α d'une 1,4-dicétone (pKa \sim 15-20) d'où la présence de la forme énol à 40 % pour la 1,3-dicétone. La présence de la fonction énol serait donc plus probable et la formation de liaisons H intermoléculaires également. Ceci pourrait avoir un impact sur la gélification de l'huile (*Schéma 29*). La conception d'un lien aldol, présentant les mêmes fonctions carbonyle et hydroxyle, a également été envisagée.

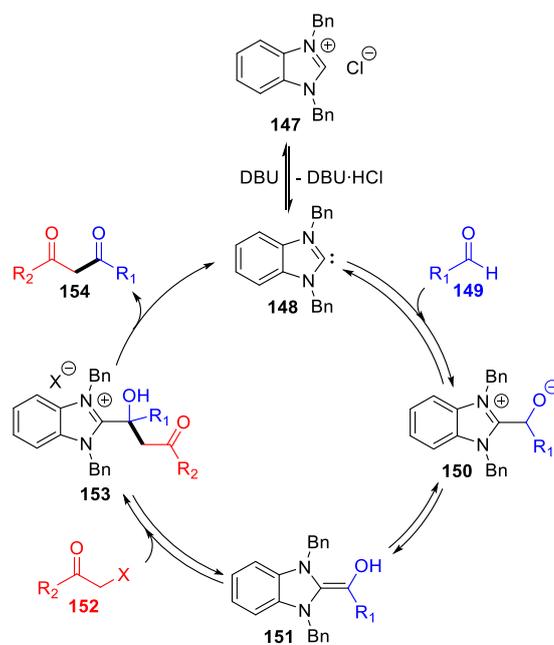


Schéma 29 : Équilibre céto-énolique d'une 1,3-dicétone

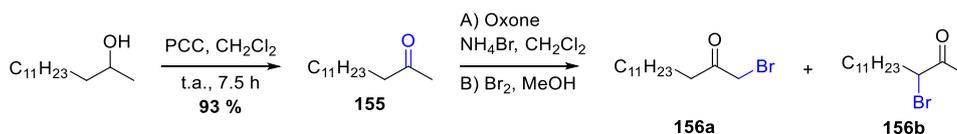
I.2.a. Conception d'une 1,3-dicétone par réactivité de type Umpolung

Encore aujourd'hui, la synthèse de 1,3-dicétones à partir d'un aldéhyde aliphatique et énolisable reste un défi. Une stratégie similaire à celle utilisée pour les 1,4-dicétones basée sur la réactivité des NHCs nous a semblé attractive pour l'obtention d'une 1,3-dicétone. En effet, en 2011, S. Singh *et al.* ont reporté la synthèse de cette fonction par une acylation nucléophile de cétones α -halogénées catalysée par un NHC. Le mécanisme est similaire à une réaction de Stetter excepté qu'il fait intervenir une cétone α -halogénée à la place d'une cétone α,β -insaturée. Le sel de benzimidazolium **147** reporté comme le précatalyseur le plus efficace, est déprotoné sous l'action de la DBU générant le carbène **148** qui attaque l'aldéhyde **149** du milieu pour donner l'intermédiaire de Breslow **151**. Celui-ci attaque la cétone α -halogénée **152** pour conduire à la formation irréversible de la 1,3-dicétone **154** (*Schéma 30*).²⁸⁶

²⁸⁶ Singh, S.; Singh, P.; Rai, V.K.; Kapoor, R.; Yadav, L.D.S. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 125-128.


 Schéma 30 : Mécanisme d'acylation de cétone α -halogéné

Pour appliquer cette réaction à la synthèse de NLS, il a fallu dans un premier temps préparer la cétone α -halogénée. Pour cela, le tétradécan-2-ol a été oxydé avec du PCC pour donner la tétradécan-2-one **155**. Ensuite plusieurs conditions de bromation ont été essayées menant chacune à un mélange de cétones α -monobromées régioisomères **156a** et **156b**. En effet la bromation oxydante en présence NH_4Br et d'oxone n'a montré aucune sélectivité²⁸⁷ tout comme des conditions plus classiques en présence de Br_2 dans le méthanol. Les deux composés **156a** et **156b** étant très proches sur CCM, leur séparation n'a pas été possible (*Schéma 31*).


 Schéma 31 : Synthèse de cétones α -bromées

Le mélange des deux composés a alors été utilisé lors de l'étape clé dans l'espoir de séparer la 1,3-dicétone potentiellement formée des autres sous-produits. Avant cela, le pré-catalyseur, chlorure de 1,3-dibenzylbenzimidazolium a été préparé par traitement du benzimidazole avec du chlorure de benzyle à 2 reprises.²⁸⁸ La tentative d'obtention de la 1,3-dicétone **157** dans les conditions décrites, c'est-à-dire avec la DBU comme base et le THF comme solvant n'a pas conduit au produit souhaité

²⁸⁷ Macharia, A.K.; Napunni, R.C.; Marri, M.R.; Peraka, S.; Nama, N. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 191-195.

²⁸⁸ Narouz, M.R.; Osten, K.M.; Unsworth, P.J.; Man, R.W.Y.; Salorinne, K.; Takano, S.; Tomihara, R.; Kaappa, S.; Malola, S.; Dinh, C.-T.; Padmos, J.D.; Ayoo, K.; Garrett, P.J.; Nambo, M.; Horton, J.H.; Sargent, E.H.; Häkkinen, H.; Tsukuda, T.; Crudden, C.M. *Nature Chem.* **2019**, *11*, 419-425.

et les spectres RMN, difficilement exploitables, ne nous ont pas permis de savoir quel produit s'était formé (*Schéma 32*).

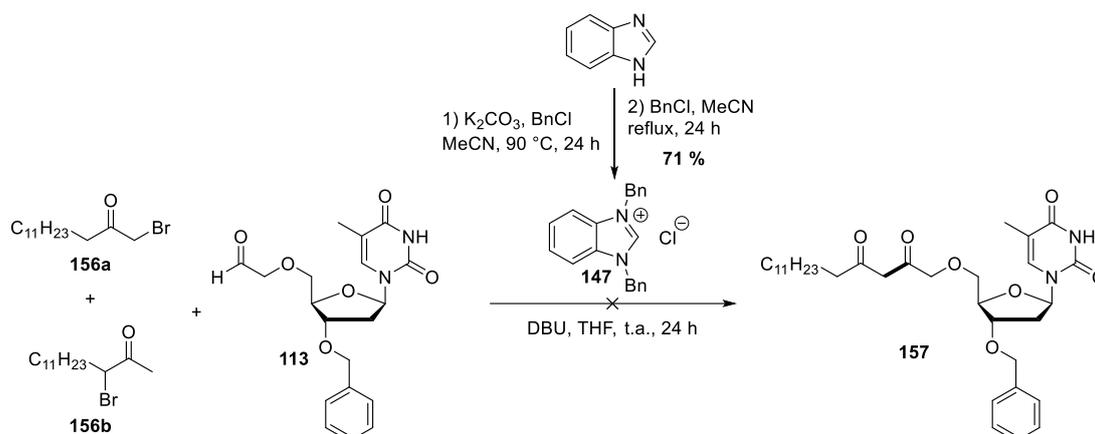


Schéma 32 : Essai de synthèse du NL au lien 1,3-dicétone par réactivité de type Umpolung

I.2.b. Vers un lien 1,3-dicétone depuis un chlorure d'acyle

Une stratégie plus classique a alors été tentée en passant par un chlorure d'acyle. En effet, la synthèse d'une telle fonction se fait communément de plusieurs manières notamment par condensation de Claisen en présence d'une base forte pour former un énolate à partir d'une cétone. La C-acylation se réalise ensuite en présence d'un chlorure d'acyle pour former la 1,3-dicétone.²⁸⁹ Pour appliquer cette réaction, la préparation du chlorure d'acyle sur le nucléoside a été visée. Dans ce but, des essais d'alkylation du composé **111** ont été effectués en présence de bromure d'acétate de méthyle et NaH comme base. Une activation aux microondes à plusieurs temps d'activation ainsi qu'une réaction classique à la paillasse ont été tentées mais l'alkylation n'a pas été sélective puisque le produit de disubstitution **158** en position N-3 et 5' a été obtenu avec des rendements assez faibles (*Schéma 33*).

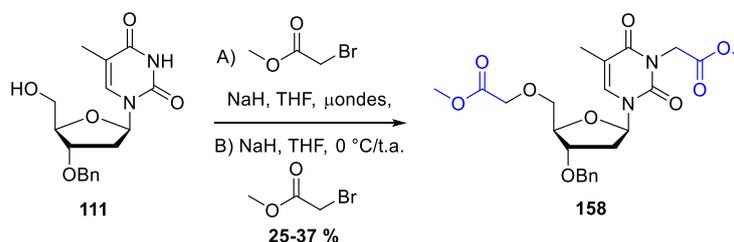


Schéma 33 : Alkylation non sélective avec un bromure d'acétate de méthyle en position N-3 et 5'

²⁸⁹ Casey, M.; Donnelly, J.A.; Ryan, J.C.; Ushioda, S. *ARKIVOC* **2003**, 310-327.

La position N-3 du nucléoside **110** a alors été protégée par un groupement *tert*-butoxycarbonyle en présence de Boc_2O et DMAP comme catalyseur. Une fois le composé **159** N-3 protégé, il a pu être déprotégé en alcool **160** de façon à effectuer l'alkylation. Cette dernière ne fonctionnant à nouveau pas sous activation aux microondes (sûrement en raison d'une instabilité de la fonction ester) a été effectuée dans des conditions de synthèse de Williamson classique. Après 30 min de réaction à 0°C avec NaH dans le THF, le bromure d'acétate de méthyle a été ajouté à la solution d'alcoolate. L'éther **161** a été isolé après 19 h de réaction avec un rendement global de 56 % en 3 étapes. Les étapes suivantes devaient permettre de saponifier l'ester de méthyle en présence de LiOH puis de former le chlorure d'acyle. Malheureusement la saponification n'a pas conduit à l'obtention de l'acide **162** (*Schéma 34*).

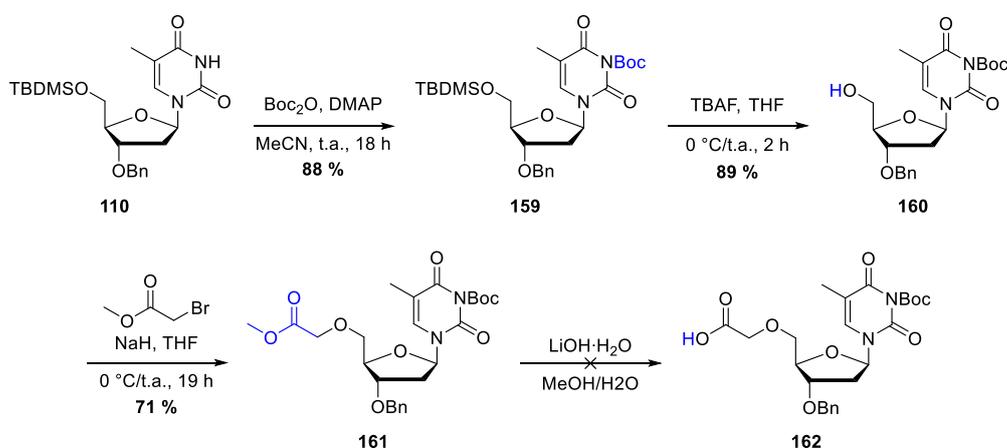


Schéma 34 : Essai d'activation de l'ester de méthyle en position 5'

Nous avons alors légèrement modifié la stratégie en remplaçant le bromure d'acétate de méthyle choisi arbitrairement par un bromure d'acétate de *tert*-butyle. En effet, une étude récente a rapporté la possibilité de former un chlorure d'acyle spécifiquement depuis un ester de *tert*-butyle sans passer par un acide carboxylique. Deux mécanismes ont été proposés faisant intervenir le départ d'un cation *tert*-butyle. Une première voie (voie A) propose l'activation de l'ester **163** par le chlorure de thionyle SOCl_2 pour conduire à l'intermédiaire **163a** et au départ du cation *tert*-butyle formant l'intermédiaire **163b**. La chloration est enfin effectuée par HCl. A l'inverse, la deuxième voie propose l'activation de l'ester par ajout de HCl et la chloration de l'acide formé par SOCl_2 pour mener au chlorure d'acyle **164**. (*Schéma 35*).²⁹⁰

²⁹⁰ Greenberg, J.A.; Sammakia, T. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 3245-3251.

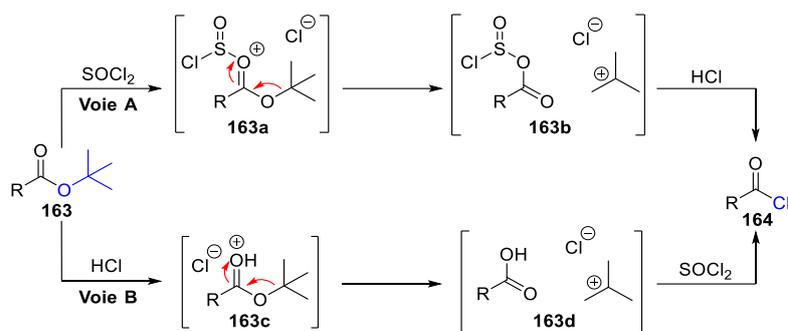


Schéma 35 : Mécanismes proposées d'activation d'un ester de tert-butyle en chlorure d'acyle

Pour tester cette approche, l'ester de *tert*-butyle **165** a donc été incorporé en position 5' sur l'alcool **160** dans les mêmes conditions que précédemment. L'activation en chlorure d'acyle **166** a été effectuée par traitement au SOCl₂. Des essais de synthèse de la 1,3-dicétone **167** ont été effectués par déprotonation sélective de la cétone lipidique **155** en présence de LDA générée *in situ*. Le chlorure d'acyle **166** a ensuite été ajouté au milieu. Cette réaction a également été essayée par déprotonation au LiHMDS mais cela n'a donné aucun résultat. Une autre condition en l'absence de base forte faisant intervenir MgBr₂•OEt₂ avec la base de Hünig n'a pas non plus conduit à un résultat probant (*Schéma 36*).²⁹¹

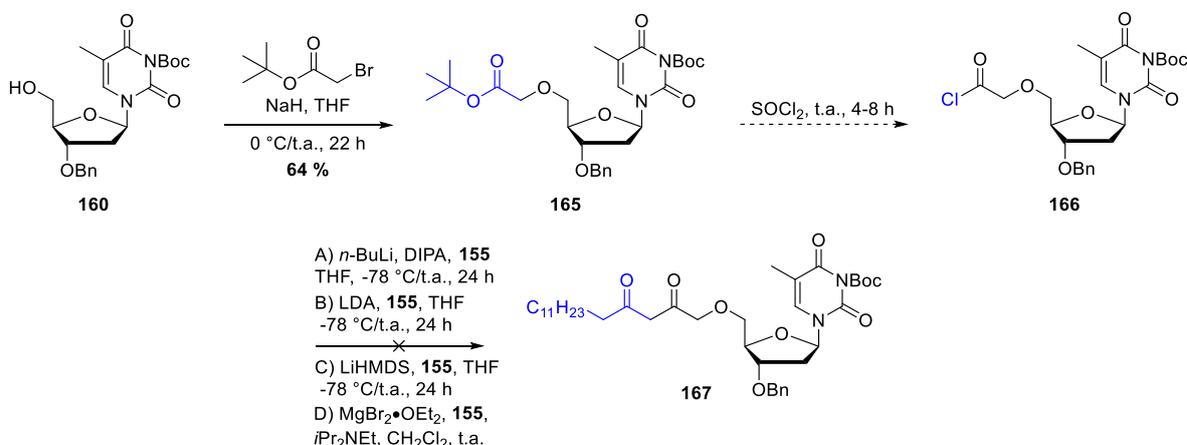


Schéma 36 : Tentatives de synthèses de la 1,3-dicétone depuis l'ester de tert-butyle

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces échecs notamment le fait que l'énolate terminal issu de la cétone lipidique **155** ne se forme pas de manière sélective. En effet, la régiosélectivité et la chimiosélectivité de l'énolate formé est difficile à contrôler. De plus, la formation du chlorure d'acyle **166** n'a pu être confirmée ni par RMN ni par IR, une potentielle dégradation du nucléoside a pu avoir lieu étant donné les conditions difficiles imposées par l'agent de chloration.

²⁹¹ Aderibigbe, S.O.; Coltart, D.M. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 9770-9777.

I.2.c. La 1,3-dicétone par activation d'amide

Plus récemment, l'équipe de S. Lee a rapporté la synthèse de 1,3-dicétones *via* l'activation de liaisons C-N d'un amide **168** et C-H d'une cétone **169** en présence de LiHMDS.²⁹² Cette méthode douce présentant un exemple avec une cétone aliphatique énoisable a été envisagée comme une stratégie de synthèse alternative (*Schéma 37*).

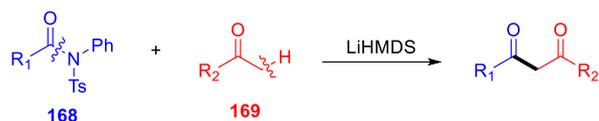


Schéma 37 : Stratégie d'une 1,3-dicétone par activation d'un amide et d'une cétone

Pour mettre en œuvre cette voie de synthèse, l'amide secondaire et la cétone ont dû être préparés. Nous avons choisi de synthétiser la *N*-phényl-*N*-tosyl amide lipidique d'une part et la cétone sur le nucléoside d'autre part. L'aniline fraîchement distillée a ainsi été protégée par un groupement tosyl en présence de Et₃N.²⁹³ En parallèle, le chlorure d'acyle **171** a été préparé par chloration au SOCl₂ de l'acide tridécanoïque. La *N*-tosylaniline **170** et le chlorure d'acyle **171** ont ensuite été couplés pour obtenir l'amide secondaire **172** avec un rendement correct de 64 % (*Schéma 38*).

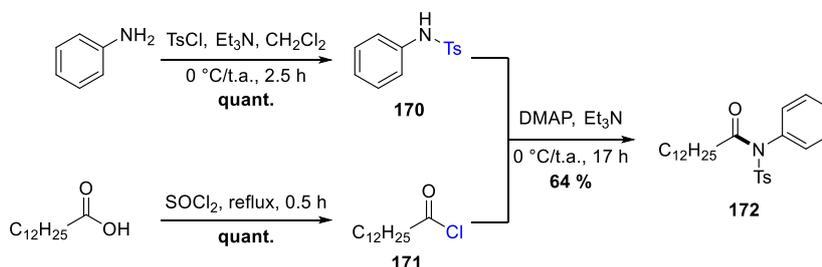


Schéma 38 : Synthèse de l'amide secondaire lipidique

La préparation de la cétone **173** a été tentée par réaction de Wacker. Cette réaction de catalyse au palladium permet l'oxydation d'un groupement alcène en cétone. En partant du nucléoside **112**, plusieurs conditions ont alors été mises en œuvre afin d'obtenir de manière sélective la cétone **173**, produit Markovnikov.²⁹⁴ Cependant aucun essai ne s'est avéré efficace, l'obtention du mélange aldéhyde / cétone **173** étant systématique. Nous ne sommes malheureusement pas parvenus à isoler

²⁹² Chen, J.; Xia, Y.; Lee, S. *Org. Chem. Front.* **2020**, 7, 2931-2937.

²⁹³ Sultane, P.R.; Mete, T.B.; Bhat, R.G. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 261-264.

²⁹⁴ (a) Chaudhari, D.A.; Fernandes, R.A. *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 2113-2121 ; (b) Dandawate, M.; Choudhury, R.; Krishna, G.R.; Reddy, D.S. *Tetrahedron Lett.* **2020**, 61, 152525-152526.

la cétone après plusieurs tentatives de purification. Le couplage entre l'amide **172** et la cétone **173** n'a donc pas pu être réalisé (*Schéma 39*).

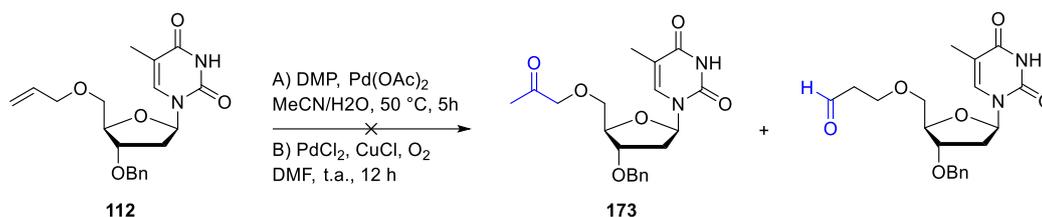


Schéma 39 : Tentatives d'oxydations de Wacker

I.2.d. Aldolisation

Suite aux échecs de synthèse du lien *1,3*-dicétone entre le lipide et le nucléoside, le lien aldol contenant un donneur et un accepteur de liaisons H a été envisagé. Ce lien présente un intérêt dans le cadre la conception de NLs capables de faire gélifier de l'huile grâce à des liaisons H intermoléculaires. Dans le but d'incorporer ce lien, la réaction d'aldolisation a été tentée par génération de l'énolate *in situ* sur la cétone **155** en présence d'une base forte. L'aldéhyde **113** est ensuite ajouté au milieu. Plusieurs conditions ont alors été mises en œuvre, en modifiant particulièrement la base utilisée, LDA, génération *in situ* de LDA, LiHMDS mais aucune de ces conditions n'a abouti à la formation sélective de l'aldol **174** visé. Les spectres RMN du brut réactionnel ont montré de nombreux produits secondaires qui n'ont pas pu être identifiés (*Schéma 40*).

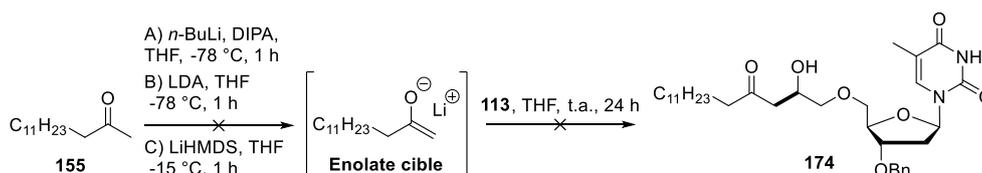


Schéma 40 : Essais d'aldolisation

Suite aux multiples essais réalisés et aux échecs rencontrés, les synthèses de *1,3*-dicétone et d'un aldol nucléolipidiques ont été abandonnées. Sans que nous puissions avancer une hypothèse à cela, les stratégies visées ne se sont pas avérées efficaces pour la synthèse des composés visés.

I.3. Vers un lien de type 1,4-hydroxycétone

A titre comparatif, le lien 1,4-hydroxycétone analogue à la 1,4-dicétone était également attractif car il comporte un alcool potentiellement donneur de liaisons H et une cétone acceptrice de liaisons H. Nous avons donc décidé de synthétiser le composé **177** par addition nucléophile d'un énolate sur un époxyde. Pour cela, nous avons voulu synthétiser l'époxyde **175** par oxydation au *m*-CPBA du nucléoside 5'-allylé **112**. Malgré plusieurs essais en changeant notamment le pot de *m*-CPBA, la formation de l'époxyde n'a pas été observée. En parallèle, la cétone **176** avait été efficacement préparée par oxydation de l'alcool précurseur au PCC (*Schéma 41*).

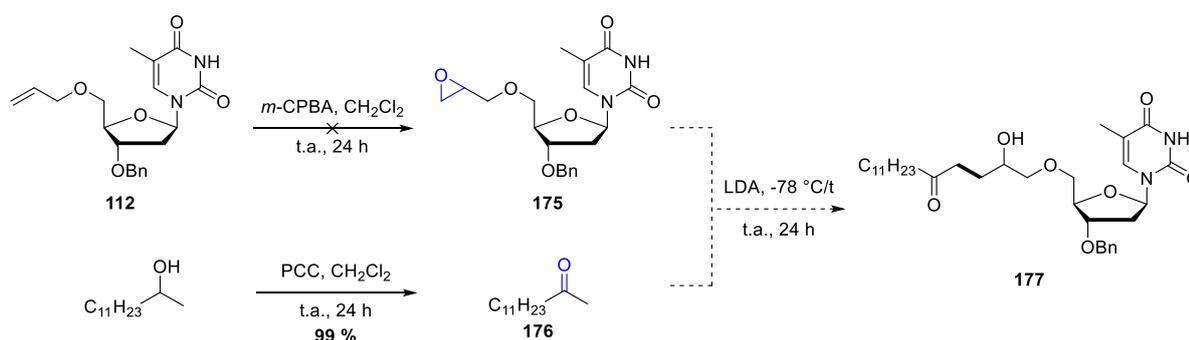


Schéma 41 : Voie de synthèse de la 1,4-hydroxycétone en passant par un époxyde

La stratégie a alors été modulée en partant cette fois de la 1,4-dicétone **115** pour réduire une des deux fonctions carbonyles. Pour cela, la réaction a été mise en œuvre en présence NaBH_4 comme agent réducteur sur un temps très court de 10 minutes pour éviter la réduction de la deuxième fonction carbonyle. Cependant, malgré les précautions prises, la 1,4-dicétone a été entièrement réduite en 1,4-diol. Le produit **178** n'est pas le produit cible mais il peut s'avérer intéressant dans la modulation des propriétés gélificatrices du NL **115**. En effet, il serait intéressant d'investiguer l'influence de la présence de deux fonctions hydroxyles donneuses de liaisons H sur la gélification. Le NL **178** obtenu après purification avec un bon rendement de 95 % a présenté l'aspect d'une huile (*Schéma 42*).

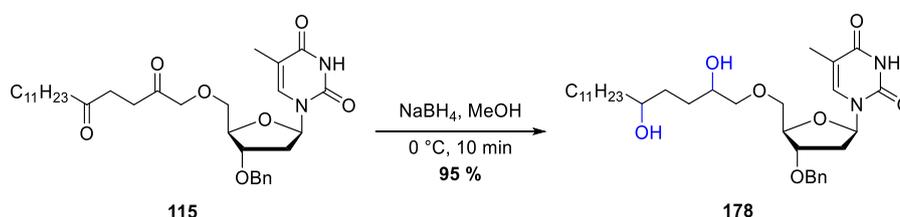


Schéma 42 : Synthèse du 1,4-diol par réduction au NaBH_4

En résumé malgré nos efforts, nous n'avons malheureusement pas obtenu de composés pour effectuer au moins un essai de gélification dans le Miglyol 812N[®]. La spécificité structurale du NL **115** a rendu la modification du lien *1,4*-dicétone difficile. En effet, les substrats étant aliphatiques, ils sont moins réactifs. De plus, la présence de positions énolisables de part et d'autre des carbonyles étudiés n'a pas facilité la tâche. Malgré des approches mettant en œuvre des réactions parfois simples, la modulation structurale de lien entre le nucléoside et le lipide s'est avérée infructueuse et nous avons continué notre étude en nous intéressant à la modification de la chaîne grasse.

II. Etude de l'influence de la chaîne lipidique

Les publications traitant de LMWGs issus de NLs rapportent le rôle crucial de la longueur de chaîne sur la gélification. En effet, les chaînes carbonées sont le siège des effets hydrophobes et des interactions de VdW qui permettent souvent un arrangement supramoléculaire en deux dimensions. De plus, dans le cas du NL **115**, la longueur de la chaîne carbonée C₁₂ avait été choisie de manière arbitraire. La modification de la longueur du lipide employé ainsi que de sa nature paraît primordial pour compléter l'étude structurale.

II.1. Synthèse de différentes énones lipidiques

II.1.a. Synthèse d'énones depuis l'amide de Weinreb

Les lipides sont disponibles commercialement sous différentes formes. Suivant la nature de la fonction terminale de ces derniers, la synthèse de l'énone ne passe pas par la même stratégie. En effet pour former l'énone **117**, le produit de départ est un aldéhyde mais les lipides aux chaînes carbonées plus longues sont souvent disponibles sous forme d'acides carboxyliques. La synthèse d'énones à partir d'acides gras nécessite une autre voie de synthèse qui passe par l'amide de Weinreb.²⁹⁵

D'un point de vue mécanistique, l'amide de Weinreb **179** est obtenu après traitement avec le sel d'amine correspondant. L'addition nucléophile s'effectue ensuite avec un réactif de Grignard en passant par un intermédiaire tétraédrique **180** sp³ stable à basse température. Cette stabilisation est due à la coordination du magnésium par la fonction carbonyle et le groupement *N*-méthoxy. L'hydrolyse de ce complexe conduit ensuite à la formation du produit d'addition **181** (*Schéma 43*).

²⁹⁵ Nahm, S.; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3815-3818.

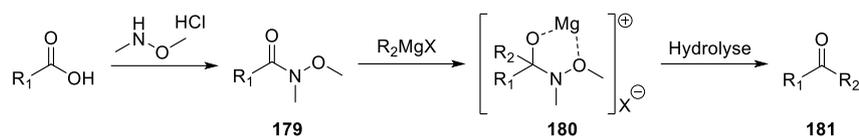


Schéma 43 : Addition nucléophile d'un réactif de Grignard sur un amide de Weinreb

Ce procédé a alors été appliqué à la synthèse de différentes énonés lipidiques en faisant varier la longueur de chaîne et la nature. L'acide palmitique, stéarique et une chaîne perfluorée ont donc été respectivement transformés en amides de Weinreb **182**, **183** et **184**. Le choix des acides gras aux chaînes C₁₆ et C₂₀ se justifie par la volonté d'augmenter la lipophilie. Cela peut permettre d'améliorer les affinités avec le milieu huileux mais également d'accroître les effets hydrophobes et interactions de VdW en vue de former un oléogel. En parallèle, la chaîne perfluorée est connue pour conduire à une amélioration drastique de la lipophilie du NL une fois greffée dessus. Cette chaîne s'est avérée particulièrement efficace dans le cadre des hydrogels à base de GNF.²²⁹ Les amides de Weinreb ont ensuite été traités avec le réactif de Grignard à -78 °C. Les énonés **185**, **186** et **187** ont été obtenues avec des rendements sur 2 étapes relativement faibles mais suffisants pour l'étape ultérieure (*Schéma 44*).

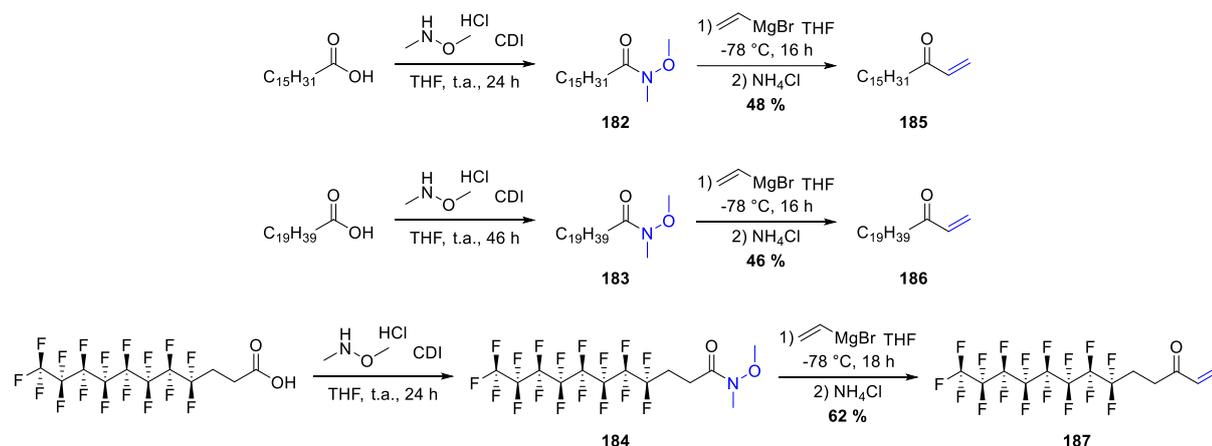


Schéma 44 : synthèse d'énonés lipidiques depuis des amides de Weinreb

Ce résultat peut s'expliquer par une réaction secondaire lors du traitement avec le réactif de Grignard. Deux possibilités peuvent conduire au même sous-produit. D'une part la captation d'un atome d'hydrogène du groupement méthoxy par l'organomagnésien mixte peut entraîner la formation d'un intermédiaire énaminate **188**, qui, après hydrolyse donne le méthylamide **190**. D'autre part ce produit secondaire peut également être obtenu par énolisation du substrat en intermédiaire **189** qui serait plus rapide que l'addition nucléophile sur le carbonyle (*Schéma 45*).²⁹⁶

²⁹⁶ Bouffroua, H.; Seville, L.; Gigant, N.; Drège, E.; Joseph, D. *New J. Chem.* **2018**, *42*, 12403-12411.

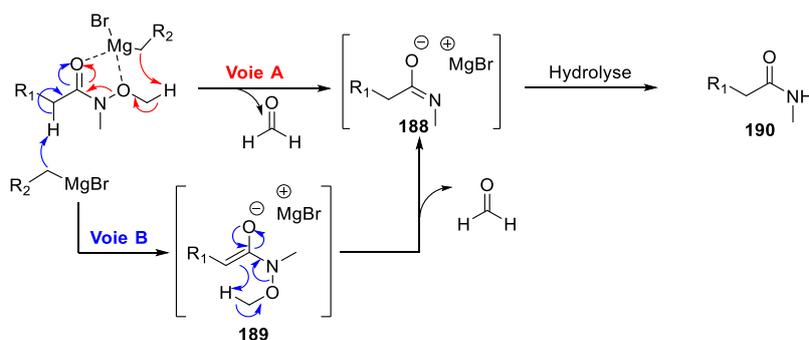


Schéma 45 : Mécanismes de la formation du méthylamide comme produit secondaire

Dans le cas des énonés synthétisées ici, ce sous-produit n'a pas été observé. En revanche, malgré plusieurs ajouts du bromure de vinylmagnésium, les réactions de vinylation n'ont jamais été complètes. De plus, au vu de la longueur des chaînes carbonées employées, il est possible que des problèmes de solubilité aient empêché de bonnes conversions.

II.1.b. Synthèse d'énonés par vinylation-oxydation

Concernant les lipides disponibles sous formes d'alcool ou d'aldéhyde comme le dodécanal utilisé pour la synthèse du NL **115**, une séquence vinylation-oxydation a été utilisée pour l'obtention des énonés. Ainsi des chaînes carbonées plus courtes ont été visées afin de potentiellement définir une longueur de chaîne carbonée minimale à partir de laquelle, la gélification du Miglyol 812N[®] est possible. Les chaînes C₇ et C₈ ont alors été ciblées. Le lipide C₇ disponible sous forme d'alcool a été oxydé dans un premier temps en présence de PCC. Les aldéhydes **191** et **192** (préalablement purifiés) ont ensuite été vinylés en présence d'un réactif de Grignard à faible température. Une fois les alcools allyliques **193** et **194** isolés, une oxydation de Swern a été réalisée pour obtenir les énonés **195** et **196**. Ces réactions ont donné des rendements globalement assez faibles, qui s'expliquent par la volatilité des composés souvent perdus par évaporation malgré les précautions prises (Schéma 46).

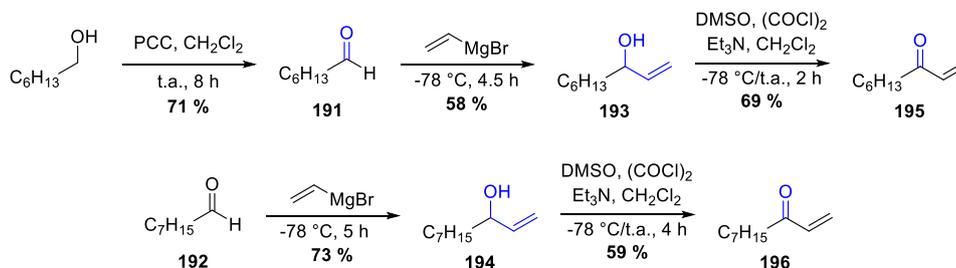


Schéma 46 : Vinylation-oxydation d'aldéhydes lipidiques

II.1.c. Synthèse d'énones par substitution

Enfin, quelques lipides sont également disponibles sous d'autres formes tels que les alcools secondaires ou tertiaires. Dans de tels cas, les stratégies de préparation d'énones présentées précédemment ne peuvent pas s'appliquer. Ici le cholestérol a été choisi comme partenaire lipidique pour être relié au squelette nucléosidique. Ce dernier est notamment connu comme oléogélifiant notamment dans l'huile de paraffine.¹⁷² Il représente donc un lipide candidat attractif dans le cadre de la conception de NLs oléogélifiants. L'objectif a donc été d'ancrer le cholestérol au nucléoside par un lien 1,4-dicétone. Pour cela, l'alcool secondaire du cholestérol a pu être transformé aisément en acrylate **197** avec un rendement de 80 %.²⁹⁷

En parallèle, l' α -tocophérol a également été choisi comme groupement lipophile à incorporer au nucléoside par réaction de Stetter. Non seulement, ce corps gras pourrait améliorer les affinités du NL avec le Miglyol 812N[®] mais il pourrait également apporter ses propriétés antioxydantes à la formulation. En effet, la vitamine E fait partie des principes actifs du cahier des charges de la formulation du projet NEOMAY. La brancher directement au nucléoside permettrait la conception d'un potentiel NL de type « *drug conjugate gelator* » et permettrait potentiellement une libération prolongée de l' α -tocophérol au sein de la formulation. Cette approche a notamment fait l'objet d'un dépôt de brevet qui sera plus détaillée au chapitre 4. L' α -tocophérol, possédant une fonction phénol, a été aisément transformé en accepteur **198** avec un rendement de 98 % (*Schéma 47*).²⁹⁸

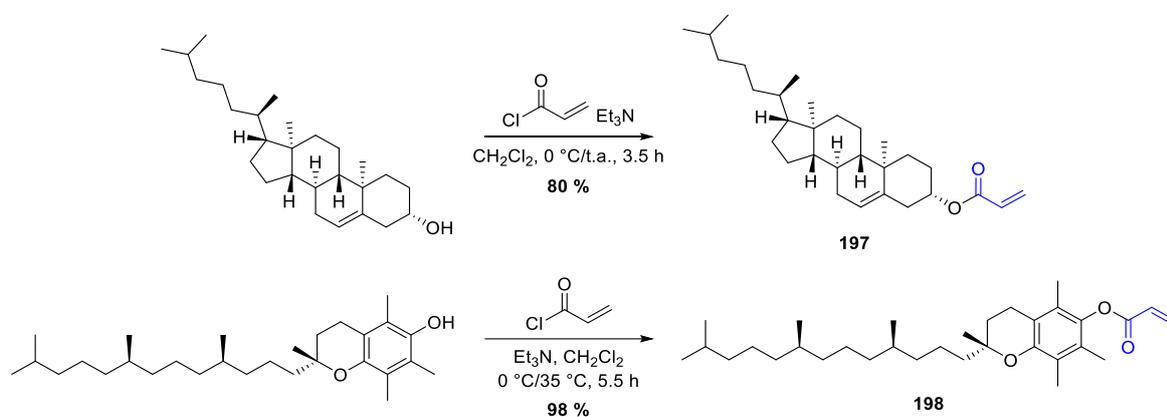


Schéma 47 : Fonctionnalisation du cholestérol et de l' α -tocophérol en énone

²⁹⁷ Chen, H.; Farizyan, M.; Ghiringhelli, F.; van Gemmeren, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59,12213 –12220.

²⁹⁸ Sun, Y.; Bao, Y.; Jiang, X.; Tan, S.; Yin, M.; Yang, C.; Zhou, L.; Zhang, Z. *J. Mater. Chem. B*, **2018**, 6, 458-468.

Les différents ester et cétones α,β -insaturées lipidiques **185**, **186**, **187**, **195**, **196**, **197** et **198** ont donc été obtenues *via* trois voies différentes. La première implique le passage par un amide de Weinreb dans le cas des acides gras, la deuxième passe par une séquence vinylation-oxydation et la troisième par acylation.

II.2. Application de la réaction de Stetter à différents partenaires énonés et acrylates lipidiques

II.2.a. Variation du lipide

La synthèse des NLs aux liens *1,4*-dicétones a pu être réalisée à partir des différentes énonés lipidiques obtenues. Le partenaire aldéhyde **113** est le même pour chaque couplage et les réactions ont été mises en œuvre dans les mêmes conditions que la synthèse du NL **115**. Ainsi, le même sel de thiazolium a été employé comme précatalyseur en quantité sous-stœchiométrique de 30 mol % et en présence de DBU pour former le carbène *in situ*, espèce active. La formation de l'intermédiaire de Breslow a été observée dans chacun des cas puisqu'au moment de l'ajout de la base, le milieu réactionnel s'est instantanément coloré en orange. L'ajout du lipide a ensuite été effectué pour permettre la formation du lien *1,4*-dicétone.

Ces réactions ont toutes été effectuées à 75 °C dans un tube de Schlenk et aucun produit de condensation benzoïne n'a été observé. Les NLs **199** à **202** ont été obtenus avec des rendements allant de 21 % à 49 %. Le NL **203** portant le cholestérol a été isolé avec un rendement très faible de 4 %. La réaction de Stetter impliquant un accepteur sous la forme d'un acrylate aliphatique, moins bon accepteur de Michael, est connue pour être moins efficace ce qui explique le faible rendement observé. En revanche, l'acrylate **198** a permis l'obtention de la *1,4*-dicétone **204** avec un meilleur rendement de 29 %, qui peut s'expliquer par une meilleure réactivité due à la nature aromatique de l' α -tocophérol (*Schéma 48*).

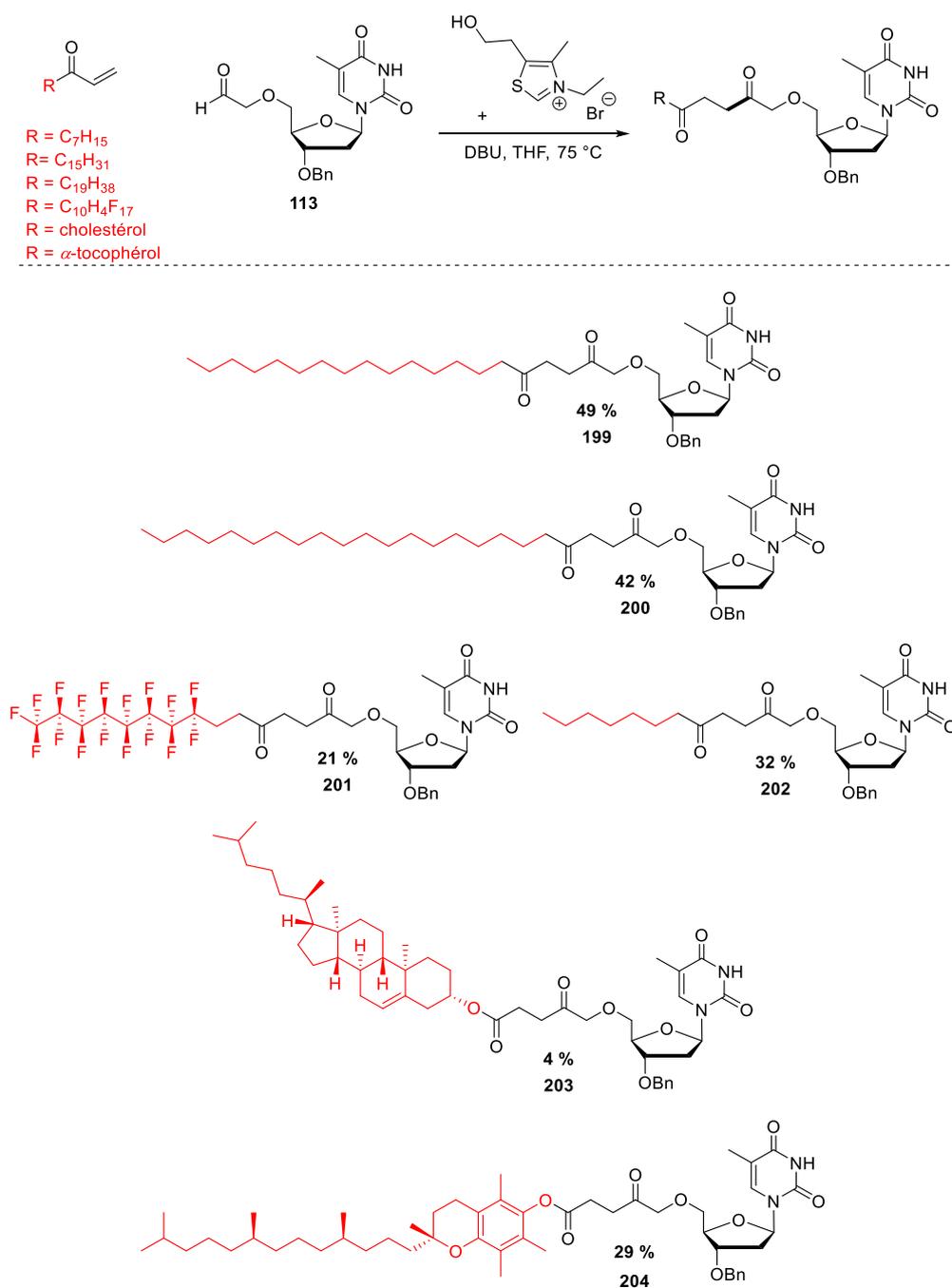


Schéma 48 : Synthèse des NLs aux différents lipides par réaction de Stetter

II.2.b. Variation de la position du lien 1,4-dicétone

En parallèle, la position du lien 1,4-dicétone a été modifiée afin d'en observer la potentielle influence sur la gélification. En effet, la longueur de la chaîne terminale est réduite et en éloignant la fonction 1,4-dicétone du nucléoside, le degré de liberté de la structure est augmenté. Cette modification structurale pourrait donc conduire à un réseau supramoléculaire avec un topologie totalement

différente et donc un oléogel aux propriétés mécaniques modulées. Pour parvenir à l'obtention d'un tel NL, un nouveau partenaire aldéhyde a alors été synthétisé.

L'alcool **111** a été alkylé sous activation aux microondes en présence de 8-bromooctène. Cette longueur de chaîne a été choisie de manière à éloigner de plusieurs carbones la fonction 1,4-dicétone par rapport au NL **115**. Après optimisation, la synthèse du nucléoside alkylé **205** a été réalisée pendant 15 h à 200 W et 40 °C pour obtenir un rendement correct de 83 %. L'alcène terminal a ensuite été oxydé dans les conditions classiques de Lemieux-Johnson. L'aldéhyde **206** a pu être engagé dans la réaction de Stetter avec l'énone **196** pour obtenir le NL **207** avec un rendement de 67 %. Le rendement du couplage est plus élevé que les réactions précédentes, ceci est potentiellement dû au fait que l'aldéhyde est plus éloigné du nucléoside ce qui tend à diminuer de façon significative la gêne stérique. (*Schéma 49*).

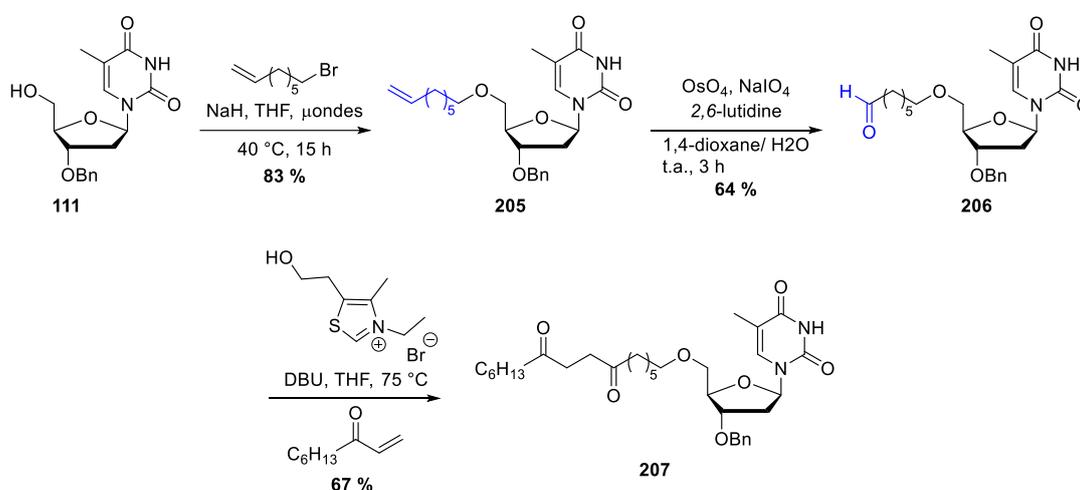


Schéma 49 : Synthèse du NL avec un lien 1,4-dicétone décalé sur la chaîne lipidique

II.3. Essais de solubilisation et de gélification

Une fois ces 7 NLs aux chaînes lipidiques variées entre nos mains, l'influence de ce paramètre a pu être étudiée au cours d'essais de solubilisation dans le Miglyol 812N[®]. D'autres essais qui ne seront pas mentionnés ont également été réalisés dans l'huile de soja composée de triglycérides à chaînes longues. Ces huiles sont notamment utilisées dans des applications pharmaceutiques. Néanmoins, dans le cadre de la formulation de la nanoémulsion *w/o/w* du projet NEOMAY, il nous a semblé préférable de ne pas changer d'huile et de se focaliser sur le Miglyol 812N[®] dans l'objectif de la formulation de la nanoémulsion envisagée.

La solubilité de la molécule oléogélificatrice dans l'huile a été évaluée empiriquement par dissolution à chaud (80 °C) en visant des pourcentages potentiels cibles pour former un oléogel entre 1 et 5%. La

parfaite dissolution de la molécule a été appréciée macroscopiquement par l'obtention d'une solution limpide et l'absence de recul de solubilité a été vérifiée lors du retour à température ambiante. Il a été possible de bien distinguer macroscopiquement un défaut de dissolution par rapport à un phénomène de cristallisation signant le processus de gélification (**Figure 79**).

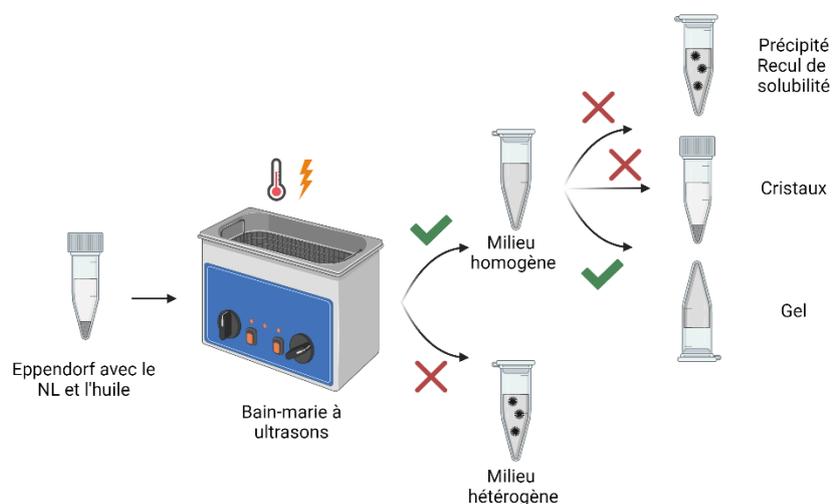


Figure 79 : Résultats des essais de solubilisations

Dans le cas présent, ce protocole a été appliqué sur chaque NL avec des concentrations massiques de 1 à 5 % m/m et des phénomènes différents ont été observés. Le NL **199** à la chaîne palmitique C_{16} s'est avéré soluble à 1% m/m mais un précipité est apparu à partir d'une concentration de 2 % m/m. Ce précipité est d'autant plus présent que la concentration en NL est élevée (**Figure 80**). Contrairement au résultat imaginé, l'augmentation de la longueur de chaîne lipidique n'a pas conduit à une amélioration des propriétés de solubilité du gélificateur comparé au NL **115**. En effet, un recul de solubilité par précipitation a été observé. Autrement dit, la longueur de chaîne a un impact évident sur la gélification et la chaîne carbonée C_{12} choisie arbitrairement en première instance, est suffisante pour apporter des effets hydrophobes permettant la gélification.

Nous avons donc supposé intuitivement que le Miglyol 812N[®], étant un mélange de TCMs (C_8 - C_{12}), aurait moins d'affinités avec les NLs comportant des chaînes plus longues. Les résultats des essais de solubilité du NL **200** semblent correspondre à cette hypothèse. Ce dernier n'est pas soluble à partir de 3 % m/m dans l'huile et sa solubilité maximale a été évaluée à 2 % m/m (**Figure 80**), ce qui rend difficile l'établissement d'un rationnel autour d'un composé et ses propriétés gélifiantes. Dans le cas présent, le NL ayant une chaîne C_{20} a présenté une meilleure solubilité.

Par ailleurs, en se penchant sur les échantillons à des concentrations plus élevées, nous avons remarqué qu'il ne s'agissait pas d'une simple précipitation puisque des cristaux en suspension étaient visibles. Cette cristallisation laisse supposer que les interactions supramoléculaires entre chaque NL restent insuffisantes pour piéger l'huile et former un gel. De plus, elle est accompagnée d'une

précipitation puisque nous avons même observé l'apparition de deux phases. Une hypothèse serait que le NL **200** formerait un réseau par effets hydrophobes mais que la longueur du lipide étant beaucoup plus élevée, la balance hydrophilie/lipophilie n'est pas favorable à sa stabilité dans le temps. (*Figure 80*).



Figure 80 : Photos des essais de solubilisation des NLs aux chaînes C₁₆ (haut) et C₂₀ (bas) dans le Miglyol 812N[®] de 1% à 5% m/m (de la gauche vers la droite)

Les essais de solubilité du NL **202** de longueur C₈ ont confirmé le rôle déterminant de la longueur de la chaîne et la nécessité d'un lipide avec une chaîne en C₁₂ pour la gélification. En effet, ce dernier a présenté une solubilité maximale à 1 % m/m. A partir de 2 % m/m, des cristaux blancs et massifs ont été observés (*Figure 81*). Nous en avons déduit que le NL à la chaîne C₈ permet plus d'affinités avec l'huile que les NLs **199** et **200** aux chaînes longues. Ce résultat est cohérent avec les affinités supposées entre des chaînes carbonées de même nature, moyennes (C₈-C₁₂) dans le cas présent. La non gélification observée pourrait alors s'expliquer par l'insuffisance d'effets hydrophobes en présence d'une chaîne plus courte de 4 carbones par rapport au NL **115**. De ce fait, la longueur de chaîne C₁₂ bien que choisie par hasard semble être une longueur de choix pour la gélification du Miglyol 812N[®].



Figure 81 : Photos des essais de solubilisation du NL à la chaîne C₈ dans le Miglyol 812N[®] de 1% à 5% m/m (de la gauche vers la droite)

Enfin, le remplacement du lipide par une chaîne perfluorée pour moduler la lipophilie avec le NL **201** n'a pas permis l'obtention d'un autre oléogel. Au contraire, le composé soluble à 1 % m/m laisse même apparaître une solution trouble à partir de 2 % m/m jusqu'à un déphasage visible distinctement à partir de 4 % m/m. La chaîne perfluorée augmentant drastiquement la lipophilie, il est possible que le NL **201** soit en réalité encore plus lipophile que l'huile, d'où l'apparition de deux phases. Ceci pourrait également coïncider avec l'augmentation de la viscosité observée pour ces échantillons (*Figure 82*).



Figure 82 : Photos des essais de solubilisation du NL à la chaîne perfluorée dans le Miglyol 812N[®] de 1% à 5% m/m (de la gauche vers la droite)

Le NL **207** pour lequel le lien 1,4-dicétone est « décalé », a été isolé sous forme de gomme et n'a pu conduire qu'à quelques essais de solubilisation démontrant de réelles affinités avec l'huile puisqu'il est soluble à une concentration d'au moins 10 % m/m. Par conséquent la position du lien 1,4-dicétone n'a pas été plus approfondie. De façon générale, les composés non solides se sont avérés difficiles à exploiter et n'ont pas conduit à l'obtention de gels.

Le NL **203**, isolé sous forme d'une gomme également mais en trop faible quantité pour effectuer des essais de solubilité et gélification n'a pas été approfondi. Le NL **204**, quant à lui, relié à l' α -tocophérol est une gomme soluble jusqu'à 4 % m/m dans le Miglyol 812N[®]. Même si cet hybride n'a montré aucune capacité de gélification, il a pu être formulé en nanoémulsion en vue d'en étudier ses potentielles propriétés antioxydantes par libération prolongée de la vitamine E. L'intérêt d'une telle formulation, même en dehors du contexte de NEOMAY, a conduit à un dépôt de brevet qui sera plus détaillé au chapitre 4.²⁹⁹ En résumé, il semble donc que la chaîne carbonée de taille C₁₂ soit la plus adéquate pour permettre au Miglyol 812N[®] de gélifier.

²⁹⁹ Klufts-Edel, A.; Crauste-Manciet, S.; Desvergnès, V. FR2105088 15.05.2021, PCT/EP2022/063064 13.05.2022.

III. Influence de la nature du groupement aromatique : interactions π - π

La gélification du NL **115** en milieu huileux fait intervenir de manière non ambiguë des effets hydrophobes et des interactions de VdW entre chaque chaîne carbonée. Il a été démontré par l'étude structurale préliminaire au laboratoire que le groupement benzyle en position 3' avait un rôle majeur dans la gélification. En effet, en son absence ou sa présence en position N-3, aucune gélification n'a été observée. Nous supposons donc qu'il intervient par des interactions π - π intermoléculaires durant le processus de gélification. Cependant, cette hypothèse n'a pas pu être confirmée avec certitude par les analyses par DRX et RMN du solide. La modification du groupement aromatique a été envisagée de façon à tenter d'élucider son rôle et la présence des interactions π - π .

III.1. Synthèse du NL-3'-2-méthylnaphtalène

Dans un premier temps, la modification du groupement benzyle par un groupement plus gros et légèrement plus aromatique a été ciblée. L'aromaticité peut être définie par un facteur qui se base sur des calculs magnétiques, c'est le facteur NICS « *Nucleus-Independent Chemical Shift* ». Plusieurs fois redéfini, il définit l'aromaticité par une valeur négative au centre du cycle considéré. En effet, en augmentant l'aromaticité, il y aura potentiellement plus d'interactions π - π et donc une énergie plus forte pour conduire à la construction d'un réseau supramoléculaire capable de piéger de l'huile.

En parallèle, la lipophilie du NL cible serait améliorée et il aurait donc potentiellement encore plus d'affinités avec le Miglyol 812N[®]. Le groupement 2-méthylnaphtalène a ainsi été choisi. En effet, le naphthalène est plus aromatique (NICS (0) = -9.98) que le benzène (NICS (0) = -9.70).³⁰⁰ Par son encombrement stérique théoriquement deux fois plus élevé que pour le groupement benzyle, nous supposons qu'il va rigidifier la structure du NL en milieu huileux et altérer la rotation de la liaison C-C entre le naphthalène et le méthyle relié au nucléoside. De ce fait, en bloquant cette rotation, les noyaux aromatiques pourraient avoir tendance à se superposer par recouvrement π - π et générer un processus précurseur à la gélification.

Sur le plan de la synthèse, l'alcool **109** a été alkylé aux microondes avec le bromure de 2-méthylnaphtalène. En se basant sur les conditions de benzylation en position 3', le temps de déprotonation au NaH a été respecté, soit 4.5 minutes. En revanche, le temps de réaction a été optimisé à 2 h. Le bromure de 2-méthylnaphtalène étant moins électrophile que le bromure de benzyle et plus

³⁰⁰ Noorizadeh, S.; Dardab, M. *Chem. Phys. Letters* **2010**, *493*, 376-380.

volumineux, il est moins réactif. Le composé **208** a ensuite été désilylé avec du TBAF. Contrairement au composé benzylé en 3', ici le substrat est peu soluble dans le méthanol. Par conséquent une déprotection par catalyse acide n'a pas été envisageable alors que dans le THF avec une source d'ions fluorures, la déprotection a fonctionné avec un très bon rendement de 93 %. L'alcool **209** a ensuite été allylé efficacement sous conditions microondes avec un temps de réaction augmenté à 2 h. Le partenaire aldéhyde **211** a été obtenu par oxydation de Lemieux-Johnson de l'éther **210**. Enfin la réaction de Stetter entre l'énone **117** et l'aldéhyde **211** a été effectuée dans les mêmes conditions que précédemment avec le même sel de thiazolium **114** comme précatalyseur. Le NL **212** portant un groupement 2-méthylnaphtalène a été obtenu avec un rendement légèrement plus faible de 33 % qui pourrait s'expliquer par la gêne stérique induite par l'encombrement du groupement aromatique même si la différence est peu significative (*Schéma 50*).

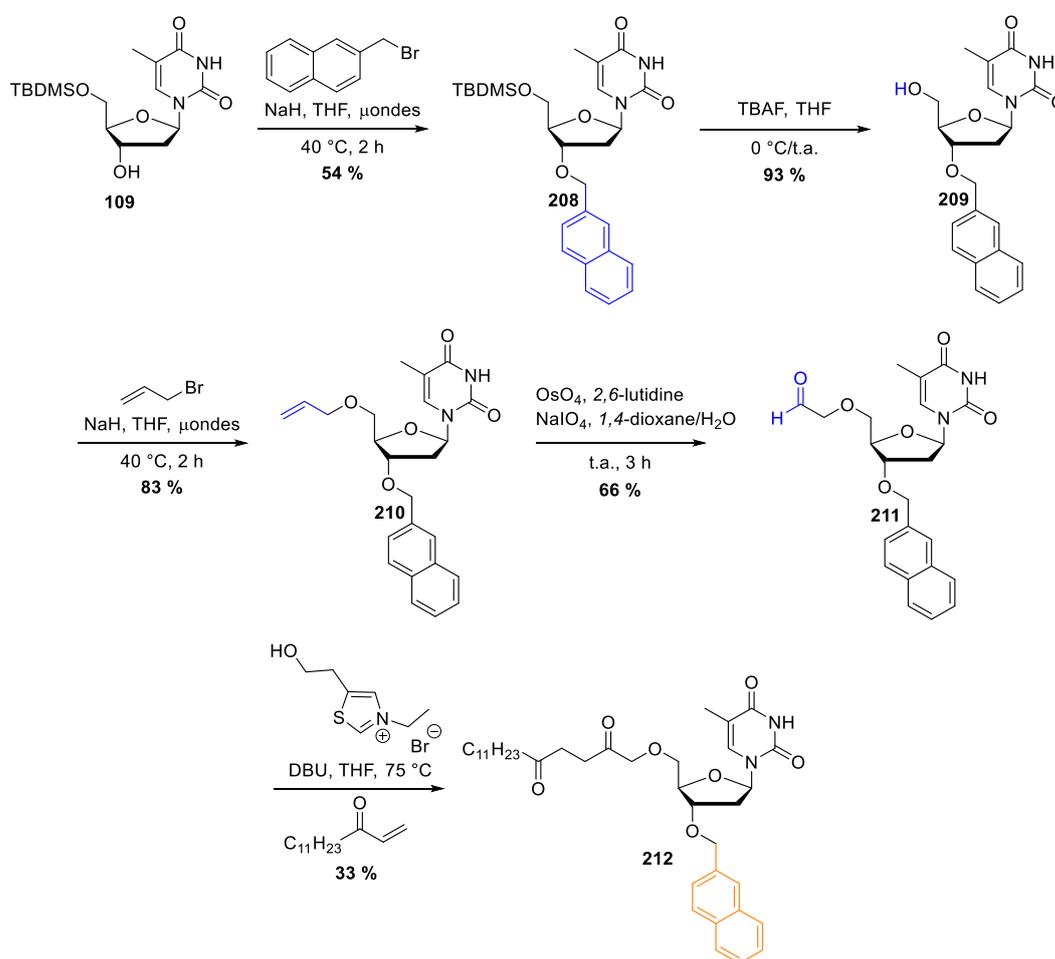


Schéma 50 : Synthèse du NL portant un groupement 2-méthylnaphtalène en position 3'

III.2. Préparation du NL 3'-indole

Un intérêt plus particulier a été porté au cas du groupement indole. Sur le plan de la gélification, ce groupement devrait permettre de moduler les interactions π - π par son aromaticité mais également d'apporter potentiellement des liaisons H *via* son groupement azoté NH libre. Par ses caractéristiques il offre de nouvelles possibilités pour la balance hydrophilie/lipophilie. Par ailleurs, ce groupement est reconnu pour avoir un intérêt comme promoteur pour le passage des membranes cellulaires. Cela a notamment été mis en évidence chez les *Escherichia coli* (bactérie commune aux mammifères présente dans les intestins) pour la pénétration de composés sans l'assistance de protéines transporteuses.³⁰¹ Cette propriété supramoléculaire présenterait un intérêt évident dans le cadre du projet NEOMAY.

III.2.a. Greffage de l'indole par synthèse de Williamson

Dans l'objectif de modification pas à pas de la structure originelle du NL **115**, nous avons voulu substituer l'alcool **109** par un 3-bromométhylindole. Cependant ce composé n'étant disponible que chez des fournisseurs de synthèse à façon, nous avons fait le choix d'utiliser le 3-bromoéthylindole plus accessible.

Avant d'effectuer la substitution nucléophile du nucléoside sur ce groupement aromatique, l'indole a été protégé par un groupement *tert*-butoxycarbone pour limiter les réactions secondaires. Pour cela, le 3-bromoéthylindole a été protégé en présence du Boc₂O et de DMAP pour obtenir efficacement l'indole adéquatement protégé **213**.³⁰² L'excès de *tert*-butoxycarbone a été enlevé par traitement à l'imidazole.³⁰³ La synthèse de Williamson a ensuite été essayée dans les mêmes conditions d'activation aux microondes que précédemment. Malgré plusieurs tentatives en augmentant notamment le temps de réaction, le produit de substitution **214** n'a jamais été observé (*Schéma 51*).

³⁰¹ Piñero-Fernandez, S.; Chimere, C.; Keyser, U.F.; Summers, D.K. *J. Bacteriol.* **2011**, *193*, 1793-1798.

³⁰² Fuentes, L.; Hernández-Juarez, M.; Terán, J.L.; Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. *Synlett* **2013**, *24*, 878-882.

³⁰³ Basel, Y.; Hassner, A. *Synthesis* **2001**, *4*, 550-552.

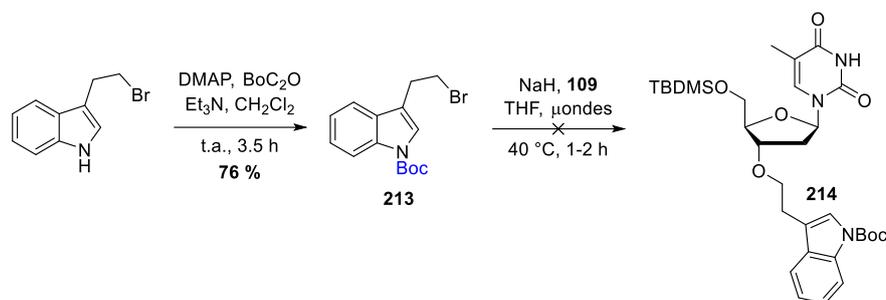


Schéma 51 : Essais de substitution du nucléoside à l'indole par synthèse de Williamson

Les spectres RMN ^1H du produit brut obtenu après traitement ont dévoilé la présence de groupements éthyléniques inattendus sur le produit d'arrivée. Nous avons donc supposé que l'alcoolate formé après déprotonation au NaH n'a pas permis une substitution nucléophile mais a conduit à une élimination de HBr. Cela expliquerait la formation des groupements éthyléniques sur les intermédiaires **215** et **216** observés en RMN ^1H (Figure 83).

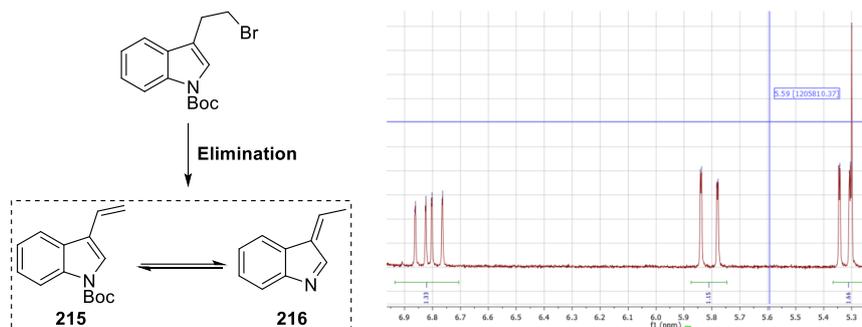


Figure 83 : Élimination du brome sur le 3-éthylindole et spectre RMN ^1H des groupements éthyléniques

La substitution a également été essayée à la paillasse dans des conditions plus douces par une déprotonation de l'alcool à $0\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 30 min suivi de l'ajout du composé électrophile **213** mais là encore aucun produit de substitution nucléophile n'a été observé. En supposant que le composé **213** n'est pas assez électrophile pour permettre son greffage sur le nucléoside, nous avons voulu améliorer l'électrophilie du groupement indole en y mettant un meilleur nucléofuge. Pour cela, le 3-carboxaldéhyde indole a été protégé par un groupement Boc puis l'aldéhyde réduit en présence de NaBH_4 pour donner l'indole **217**. L'activation de l'alcool a ensuite été tentée par plusieurs moyens notamment une réaction d'Appel pour le bromer³⁰⁴, une tosylation ou encore une méthylation³⁰⁵ mais aucune condition n'a permis d'introduire un bon groupement partant pour avoir un partenaire électrophile **218** (Schéma 52).

³⁰⁴ Christiansen, M.A.; Butler, A.W.; Hill, A.R.; Andrus, M.B. *Synlett* **2009**, 653-657.

³⁰⁵ Chianelli, D.; Kim, Y.-C.; Lvovskiy, D.; Webb, T.R. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5059-5068.

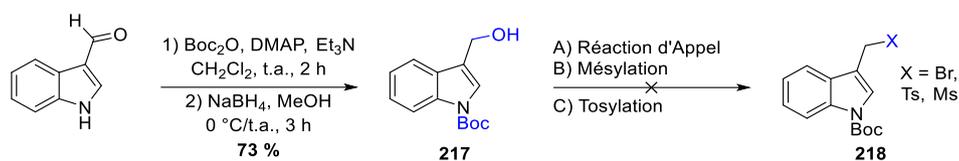


Schéma 52 : Tentatives de synthèse d'un indole plus électrophile

III.2.b. Couplage de l'indole par estérification

Les stratégies d'insertion du groupement indole en position 3' du nucléoside par un lien éther n'ayant pas abouti, nous avons décidé d'estérifier la position 3' avec l'acide 3-indole-acétique commercialement disponible. Avant de le coupler au nucléoside, il a été protégé efficacement sous forme de Boc avec un rendement de 97 %.³⁰⁶ La saponification de l'ester **219** pour donner l'acide **220** n'a malheureusement pas abouti (*Schéma 53*).

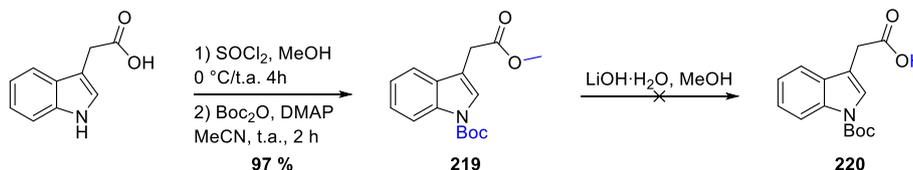


Schéma 53 : Préparation de l'acide 3-indole-acétique protégé

L'alcool **109** a finalement été simplement estérifié en présence de l'acide 3-indole-acétique dans les conditions de Steglich avec l'EDC (1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide) comme agent de couplage et de la DMAP pour conduire au composé **221** avec un rendement de 97 %. L'indole **221** a ensuite été protégé sous forme de Boc pour empêcher toutes les réactions secondaires possibles lors des étapes suivantes. Le composé **222** adéquatement protégé, a alors été désilylé en position 5' en présence de TBAF. Cependant l'allylation de l'alcool **223** n'a pas abouti au produit **224** désiré. Nous avons supposé que les conditions imposées par les microondes étaient incompatibles avec l'ester de méthyl indole (*Schéma 54*).

³⁰⁶ Knör, S.; Khrenov, A.V.; Laufer, B.; Saenko, E.L.; Hauser, C.A.E.; Kessler, H. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4329-4339.

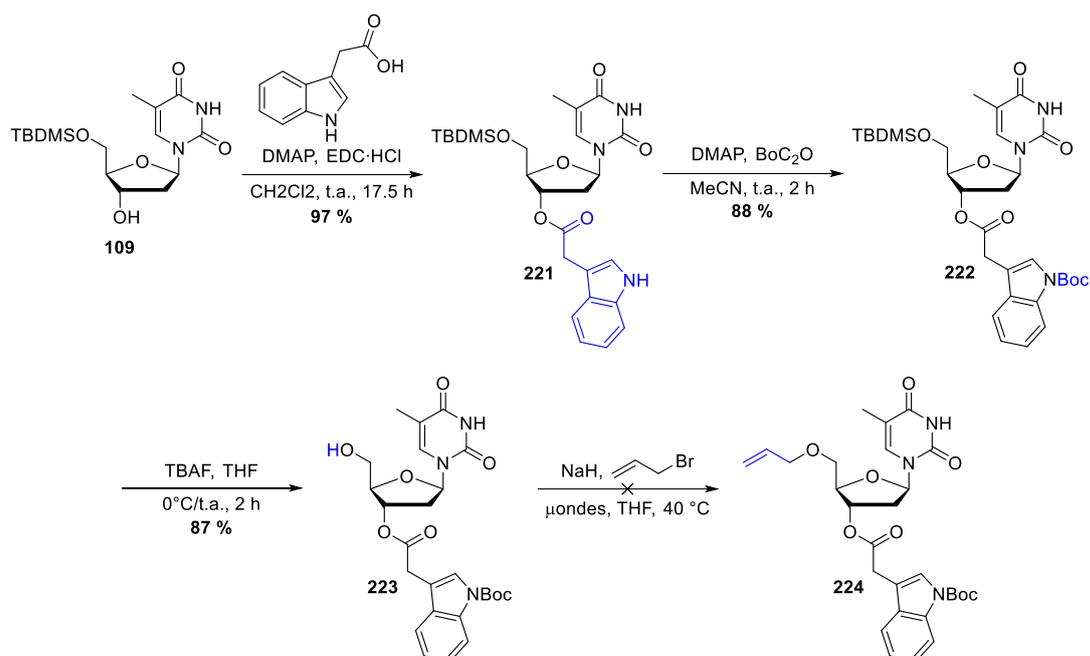


Schéma 54 : Tentative de synthèse du NL 3'-acétateindole par estérification en 3' puis allylation 5'

La voie de synthèse a donc été adaptée en privilégiant l'allylation en position 5' avant l'estérification de l'indole en 3'. Pour cela, l'alcool en position 3' a été protégé et celui en 5' a été allylé. Une séquence de protection-déprotection du composé **109** a donc été mise en œuvre, d'abord par protection de l'alcool en 3' en éther de *tert*-butyldiphényl silyle. La position 5' a ensuite été déprotégée en condition acide pour donner aisément l'alcool **225** avec un rendement de 61 % sur 3 étapes. Il a ensuite été allylé pour conduire au nucléoside allylé **226** avec un rendement de 64 % après réaction aux microondes. Une fois la position 5' allylée, nous avons pu travailler sur la position 3' en déprotégeant d'abord l'éther de silyle au TBAF. L'alcool **227** a alors été estérifié dans les conditions de Steglich pour mener aisément à l'ester **228** avec un rendement de 95 %. L'indole a ensuite été protégé efficacement par un groupement Boc et le composé **224** a été oxydé par réaction de Lemieux-Johnson pour conduire au partenaire aldéhyde **229** avec un rendement de 53 % (*Schéma 55*).

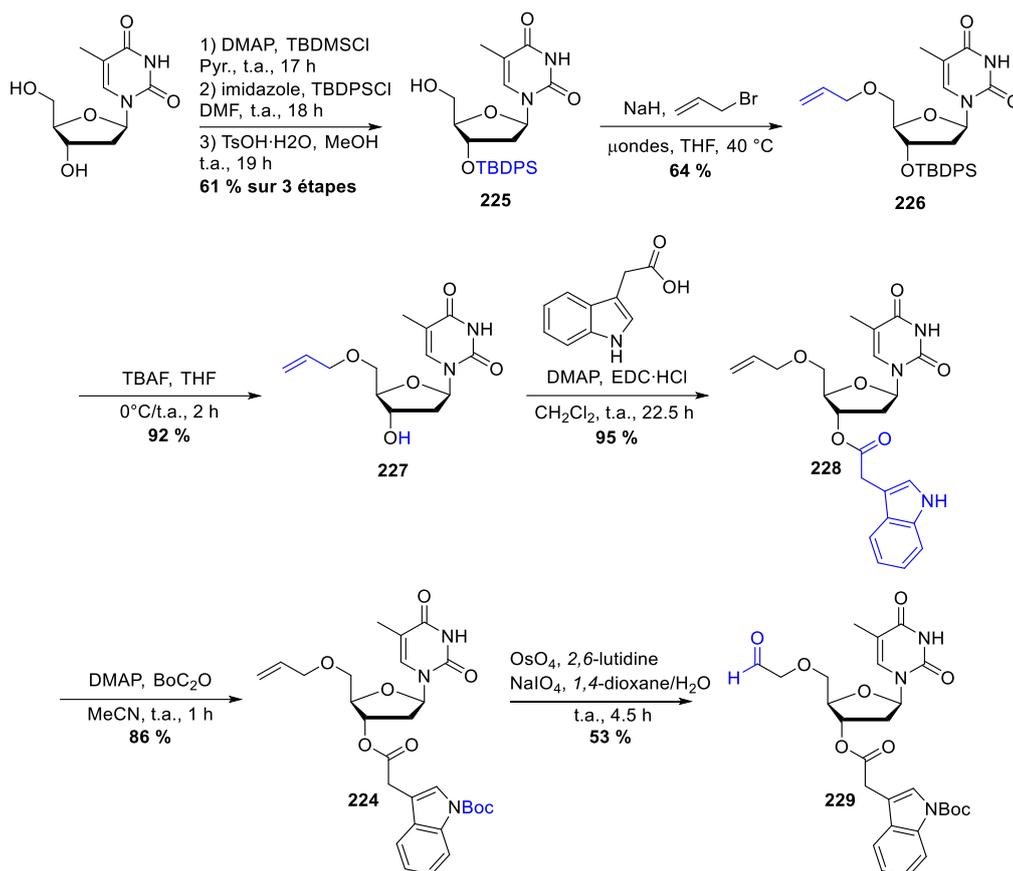


Schéma 55 : Synthèse du nucléoside partenaire aldéhyde 3'-3-acétateindole

L'aldéhyde **229** enfin obtenu, a été mis en réaction avec l'énone **117** dans les conditions usuelles de Stetter conduisant à la 1,4-dicétone **230** avec un rendement satisfaisant de 43 %. Enfin, le groupement Boc du produit d'addition 1,4 **230** a été déprotégé par traitement au TFA pour donner le produit d'intérêt **231** (Schéma 56). Celui-ci a alors été précipité dans le pentane pour conduire à une poudre jaune dans le but d'effectuer des essais de solubilisation et de gélification.

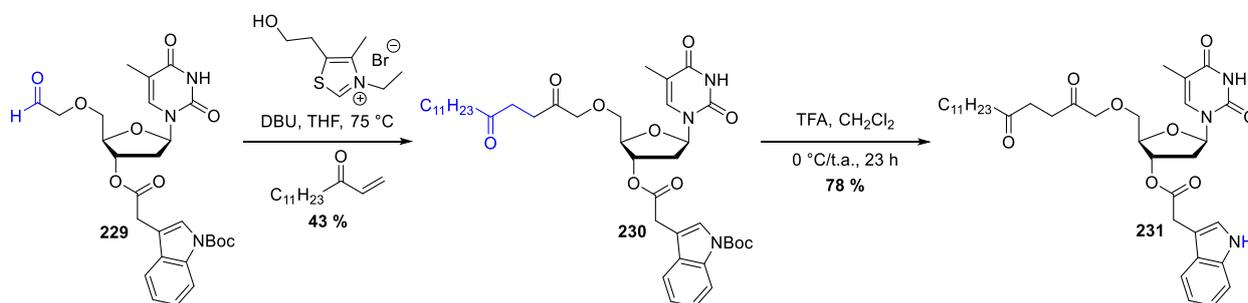


Schéma 56 : Synthèse du NL portant un groupement indole en position 3'

III.3. Elaboration de l'analogue lipide-benzyle inversé

Après avoir modifié la nature du groupement aromatique et en tenant compte de l'incorporation du groupement aromatique initial en position 3', nous avons jugé nécessaire d'installer le bras benzyle en position 5'. Par conséquent, la position 3' a été branchée au lipide par le lien 1,4-dicétone usuel. L'objectif était d'évaluer l'influence de l'inversion des positions de l'aromatique et du lipide, sur les propriétés gélificatrices de la molécule nucléolipidique.

Concernant la synthèse, la benzylation a été réalisée en position 5' cette fois par synthèse de Williamson aux microondes sur l'alcool **225** adéquatement protégé. Ici un temps de déprotonation de 2 min a été suffisant. Le produit benzylé **232** obtenu avec un rendement de 66 % a ensuite été désilylé pour conduire à l'alcool **233**. Les réactions d'allylation puis d'oxydation s'en sont suivies en position 3' dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment pour donner le partenaire aldéhyde **235** en position 3' avec des rendements satisfaisants (*Schéma 57*).

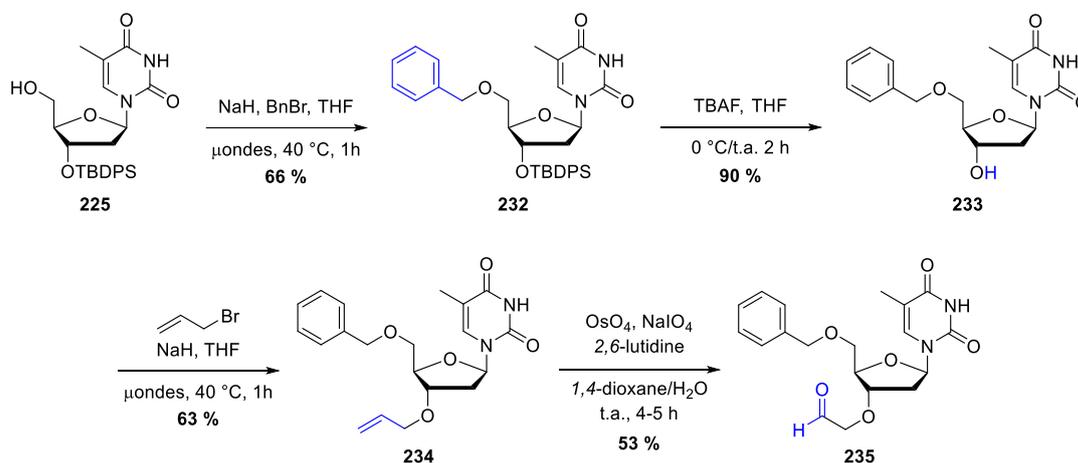


Schéma 57 : Synthèse du partenaire aldéhyde en position 3'

La réaction de couplage organocatalytique entre l'aldéhyde **235** préalablement préparé et l'énone **117** a enfin été réalisée dans les conditions usuelles. Le NL **236** a été obtenu avec un rendement moyen de 36 % similaire aux réactions de couplages précédentes (*Schéma 58*). Il a été isolé sous forme d'huile orange-brune que nous ne sommes pas parvenus à faire précipiter pour permettre les futurs essais de solubilisation et gélification. Cet aspect macroscopique différent du NL **115** laisse supposer un comportement différent en milieu huileux.

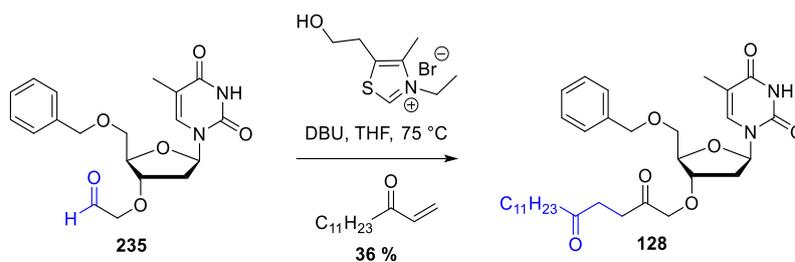


Schéma 58 : Synthèse du NL avec le lipide et le benzyle en positions inversées

III.4. Essais de solubilisation et gélification

Tout comme lors de la modification du paramètre lipidique, l'influence du groupement aromatique a été étudiée par des essais de solubilisation et de gélification des NLs **128**, **212** et **231**. Pour cela, le même protocole a été appliqué. Différents comportements ont été observés pour les trois composés. Le NL **128** portant un groupement 2-méthylnaphtalène n'a révélé aucune affinité avec le Miglyol 812N[®] y compris à 1 % m/m. Le composé précipite et la quantité du précipité a augmenté avec la concentration (**Figure 84**) remettant en question notre hypothèse d'éventuelles interaction π - π supplémentaires bénéfiques.

Le NL **231** portant un groupement indole n'a pas permis la formation d'un oléogel. Il s'est avéré soluble jusqu'à 2 % m/m dans le Miglyol 812N[®] avec une légère coloration jaune qui peut s'expliquer par la teinte jaune du NL employé. Au-delà, l'hybride a précipité (**Figure 84**). Aucun essai supplémentaire n'a pu être effectué par manque de matière. Il est possible que la présence du groupement NH de l'indole, hydrophile par nature, déséquilibre suffisamment la balance hydrophilie/lipophilie pour conduire à une solubilité moindre dans l'huile.



Figure 84 : Photos des essais de solubilisation des NLs greffés par un 2-méthylnaphtalène (haut) et un indole (bas) dans le Miglyol 812N[®] de 1% à 5% m/m (de la gauche vers la droite)

Enfin, le NL **128** s'est montré facilement soluble dans le Miglyol 812 N[®]. En revanche, contrairement à l'analogue nucléolipidique **115**, il n'est pas cristallin et n'a pas conduit à l'obtention d'un gel. Ces observations ont mis en évidence l'importance de la position du lipide et de l'aromatique pour fournir un assemblage supramoléculaire. Ces essais ont également permis d'affirmer que le groupement benzyle en position 3' était nécessaire pour la gélification du NL **115**. Des isomères de position ne se comportent donc pas du tout de la même façon d'un point de vue supramoléculaire.

IV. Etude d'un effet cumulatif de groupes 1,4-dicétones

Les modifications structurales précédemment décrites n'ont pas expliqué le rôle précis de chaque substituant dans la gélification du Miglyol 812 N[®] mais ils ont mis en évidence leur rôle crucial puisqu'aucune des modifications apportées n'a conduit à la formation d'un gel. Cette étude semble aller dans le sens d'une spécificité de la 1,4-dicétone. Nous avons alors opté pour le développement de deux NLs portant chacun deux fonctions 1,4-dicétones. De cette manière, nous supposons que deux équilibres céto-énoliques seraient possibles au sein d'une même molécule. Ces équilibres augmenteraient alors les probabilités d'avoir une fonction énol et donc des interactions par liaisons H et permettrait alors éventuellement une modulation des propriétés physico-chimiques.

IV.1. Synthèse d'une double 1,4-dicétone en 5'

Dans un premier temps, notre intérêt s'est porté sur la synthèse d'un NL portant deux fonctions 1,4-dicétones sur la même chaîne lipidique. La conception d'un tel hybride moléculaire permettrait de doubler les liaisons H dans une même direction. En se basant sur les propriétés du NL **115**, ce potentiel d'interactions supplémentaires pourrait rigidifier la structure 3 D obtenue après un réarrangement supramoléculaire en milieu huileux. Tout comme les structures précédentes, la stratégie de développement de cette molécule a été conçue de manière à conserver le nombre d'atomes de carbones sur la chaîne latérale du NL, soit 16 carbones au total (*Figure 85*).

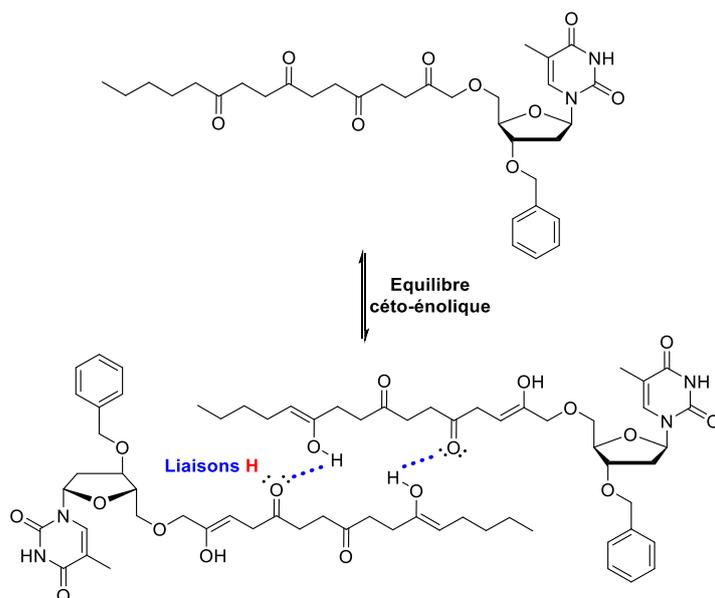


Figure 85 : Liaisons H au sein d'un NL portant deux fonctions 1,4-dicétones en 5'

Un partenaire énone capable de fournir la première 1,4-dicéto au niveau de nucléoside puis la deuxième qui sera liée au lipide a alors été préparé. Le butane-1,4-diol a été choisi comme composé de départ et a été désymétrisé pour fonctionnaliser un côté en énone et l'autre en aldéhyde par la suite. Ainsi le butane-1,4-diol a été monoprotégé sous forme d'éther de *tert*-butyle silyle.³⁰⁷ L'alcool **236** a ensuite été oxydé dans les conditions de Swern avec un rendement de 79 % puis l'aldéhyde **237** a été vinylé en présence du réactif de Grignard. L'alcool allylique **238** a enfin été oxydé efficacement en énone **239** à nouveau dans les conditions de Swern (*Schéma 59*).³⁰⁸

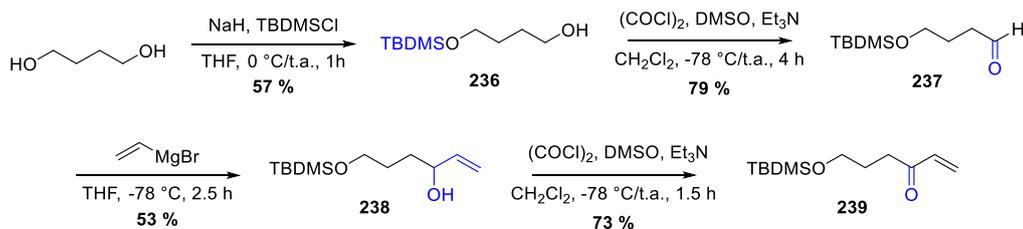


Schéma 59 : Synthèse de l'énone depuis le butane-1,4-diol

La première énone **239** a ensuite subi une réaction de Stetter avec le nucléoside aldéhyde **113** en présence du sel de thiazolium **114**. La 1,4-dicéto **240** a été obtenue avec un rendement moyen de 35 % et l'éther de silyle a été déprotégé avec l'acide paratoluène sulfonique monohydraté pour

³⁰⁷ Kang, E.J.; Cho, E.J.; Ji, M.K.; Lee, Y.E.; Shin, D.M.; Choi, S.Y.; Chung, Y.K.; Kim, J-S.; Kim, H-J.; Lee, S-G.; Lah, M.S.; Lee, E. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6321-6329.

³⁰⁸ McClure, C.K.; Jung, K.-Y. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2326-2332.

conduire à l'alcool **241** avec un rendement de 66 %. Malheureusement, le composé **241** n'a pas pu être oxydé en aldéhyde **242**, nécessaire à la suite de la séquence synthétique.

En parallèle l'énone lipidique correspondante a été préparée depuis l'hexanol. Ce dernier a été oxydé au PCC pour mener à l'hexanal **243**. Une séquence vinylation-oxydation de Swern a conduit à l'alcool allylique **244** puis à l'énone **245**. Le lipide visé ayant une chaîne carbonée très courte, sa volatilité a limité les rendements des réactions puisque des pertes par évaporation ont été constatées (*Schéma 60*).

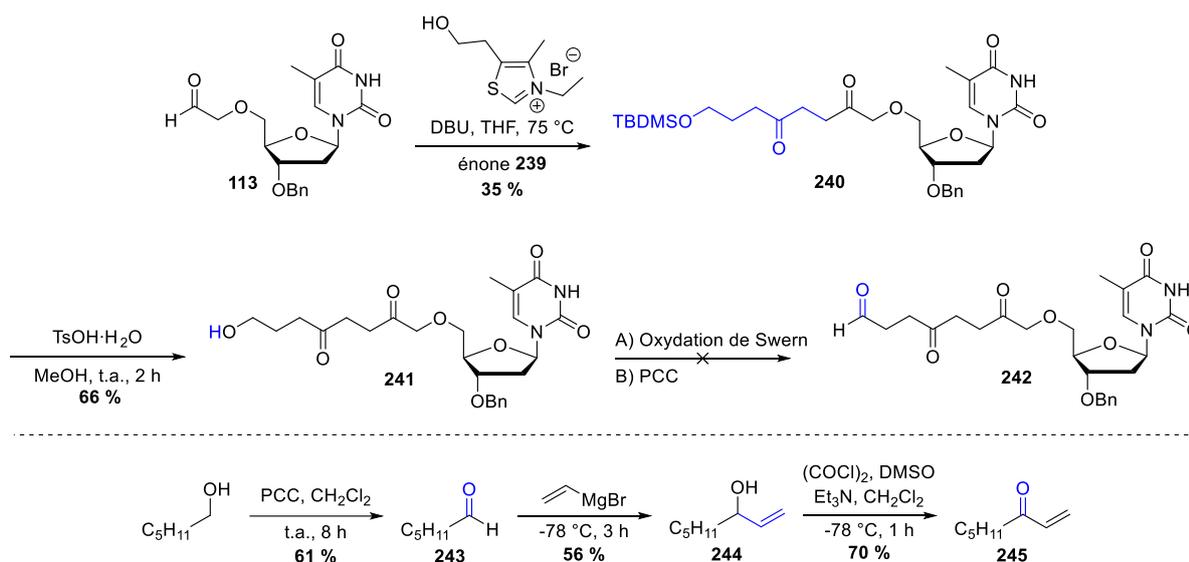


Schéma 60 : Tentatives de préparation du deuxième partenaire aldéhyde et synthèse de l'énone correspondante

L'étape d'oxydation de l'alcool **241** n'ayant pas fonctionné, nous ne sommes pas parvenus à la synthèse du NL clé. Malgré plusieurs synthèses permettant d'accumuler l'alcool **241**, nous n'en avons jamais eu suffisamment pour essayer plusieurs conditions d'oxydations en parallèle. La préparation de la 1,4-dicétone sur le lipide a alors été envisagée. Pour cela, l'énone **245** a fait l'objet d'une réaction de Stetter avec l'aldéhyde **237**. La déprotection de l'alcool issu du bloc 1,4-butanediol a ensuite été effectuée efficacement sur le brut réactionnel pour donner la 1,4-dicétone **246** avec l'alcool libre (37 % de rendement sur 2 étapes). Les étapes suivantes nécessitaient la préparation de l'énone sur le bras lipidique en vue de la coupler avec l'aldéhyde **113**. Cependant l'oxydation de l'alcool en aldéhyde **247** s'est montrée à nouveau bloquante puisqu'elle n'a pas fonctionné et a conduit à la formation d'une multitude de sous-produits de dégradation non identifiées (*Schéma 61*). La synthèse du NL a alors été abandonnée au profit d'un autre hybride portant également 2 fonctions 1,4-dicétones.

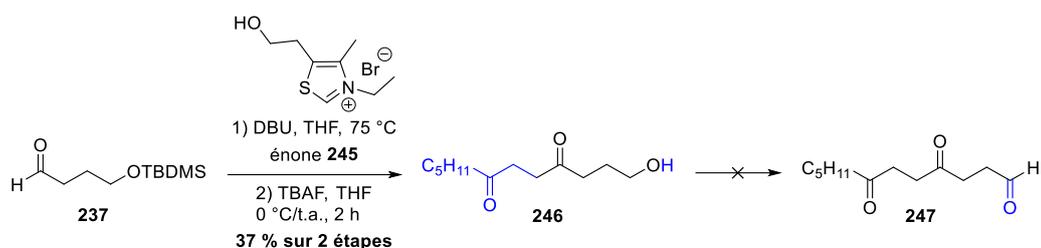


Schéma 61 : Voie alternative passant par le couplage sur le lipide

IV.2. Développement d'une double 1,4-dicétone 3'-5'

Le développement d'un autre NL portant deux fonctions 1,4-dicétones a alors été entrepris. Cette fois, la stratégie visée a été d'incorporer deux lipides sur les deux positions 5' et 3' en supprimant le groupement aromatique. L'avantage d'une telle structure est qu'elle porte les deux fonctions 1,4-dicétones dans deux directions. Dans le cas de deux équilibres céto-énoliques, cela ouvre la possibilité de liaisons H selon deux axes différents (*Figure 86*).

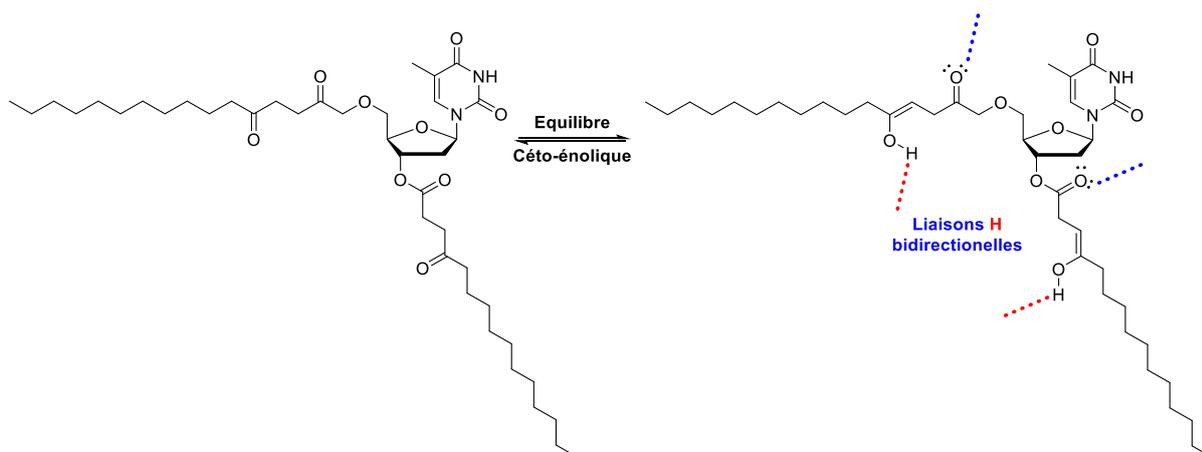


Figure 86 : Potentielles liaisons H issus du NL avec deux lipides aux liens 1,4-dicétones

IV.2.a. Double Stetter

Pour accéder à un tel NL, une voie de synthèse rapide et efficace a été de réaliser chaque réaction simultanément sur la position 3' et la position 5'. La première étape devait permettre d'allyler les deux positions, seulement la thymidine étant insoluble dans le solvant de réaction qui est le THF, cette voie a été adaptée. En 2019, H. Yang et son équipe ont reporté la synthèse du composé **248** par allylation aux microondes du composé **109**. Ils ont supposé qu'en augmentant le temps de réaction à 12 h, le NaH était capable de désilyler la position 5' qui est ensuite allylée en même temps que la

position 3'.³⁰⁹ La réaction a alors été appliquée à l'alcool **109** mais aucune conversion en thymidine bis-allylée n'a été observée, seul le composé allylé en position 3' a été obtenu (*Schéma 62*). Cette voie de synthèse qui aurait pu s'avérer efficace a alors été abandonnée.

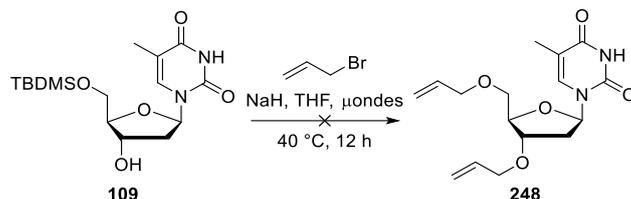


Schéma 62 : Tentative de synthèse de nucléoside bis-allylé

IV.2.b. Réactions de Stetter en deux temps

La synthèse de ce composé a été ajustée en prenant le parti d'incorporer le lipide en position 3' dans un premier temps puis d'agir sur la position 5' ensuite. Ce choix se justifie par la réactivité plus faible de l'alcool en position 3' par rapport à celui en 5'. Ainsi, nous avons supposé qu'il serait plus aisé de fonctionnaliser la position 3' avant d'avoir greffé le lipide en position 5' pour éviter toute gêne stérique. L'alcool **109** a donc été allylé en position 3' par réaction assistée aux microondes. Le composé **249** résultant a été transformé en aldéhyde par coupure oxydante avec un bon rendement de 73 % sur 2 étapes. Le substrat **250** a alors été couplé à l'énone **117** par réaction de Stetter dans les conditions usuelles. La position 3' substituée, le composé **251** a été désilylé au TBAF pour fournir l'alcool **252** avec un rendement de 84 %. Comme dans le cas de l'allylation en 5' avec un indole en position 3', la réaction d'allylation aux microondes ou à la paillasse n'a malheureusement pas permis la formation du produit **253** escompté (*Schéma 63*).

³⁰⁹ Wang, L.; Wang, M.; Guo, L.-X.; Sun, Y.; Zhang, X.-Q.; Lin, B.-P.; Yang, H. *Macromolecules* **2019**, *52*, 649-659.

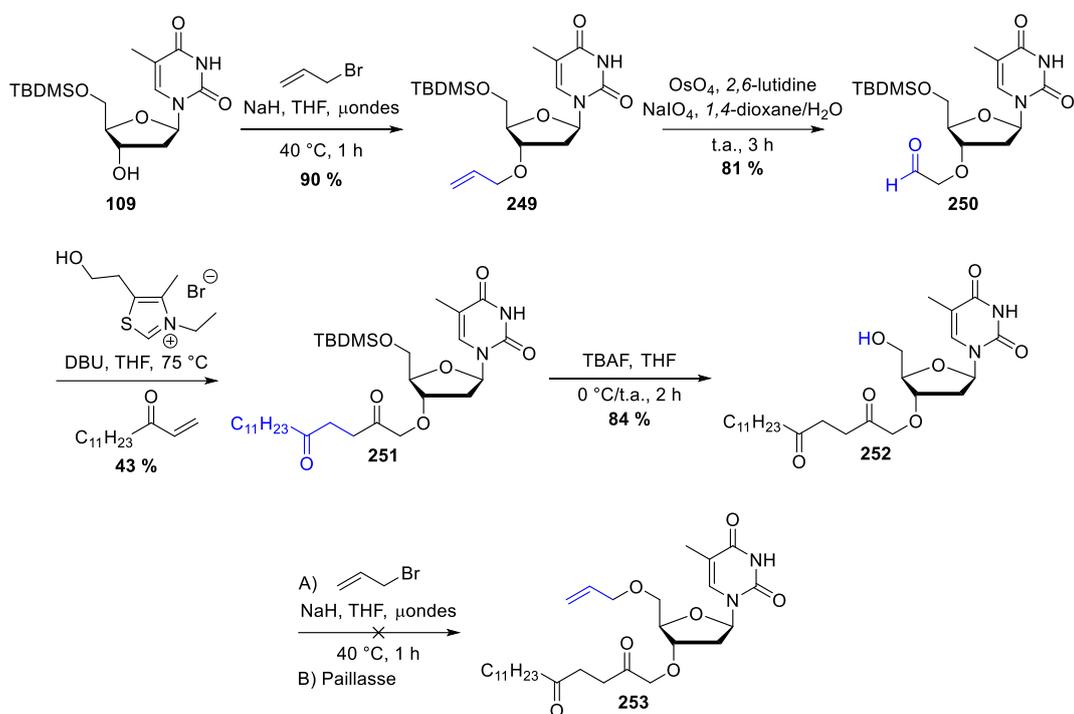


Schéma 63 : Tentative de synthèse du NL lipidisé en 3' et en 5'

La voie de synthèse a donc nécessité une nouvelle adaptation de façon à former l'éther d'allyle en position 5' et avoir un aldéhyde en position 3'. Nous nous sommes alors dirigés vers la protection de l'aldéhyde pour permettre d'agir ensuite sélectivement sur la position 5'. Pour y parvenir, l'aldéhyde **250** a été protégé sous forme d'acétal de méthyle en présence d'orthoformiate de méthyle et d'acide paratoluène sulfonique sec. La charge catalytique en acide a suffi à la désilylation en position 5' et a permis d'obtenir l'alcool **254** avec 83 % de rendement. L'alcool **254** a ensuite été allylé sous conditions microondes pour conduire aisément au produit **255** avec 79 % de rendement. En revanche la déprotection de l'acétal en milieu acide a été laborieuse puisque plusieurs conditions ont été testées notamment en présence d'acide paratoluène sulfonique monohydraté à chaud, de HCl dilué, concentré, de BCl_3 sans parvenir à régénérer l'aldéhyde. C'est en présence d'une quantité de TFA conséquente (30 eq) que l'acétal a finalement pu être clivé pour conduire efficacement à l'aldéhyde **256** avec 74 % de rendement (*Schéma 64*).

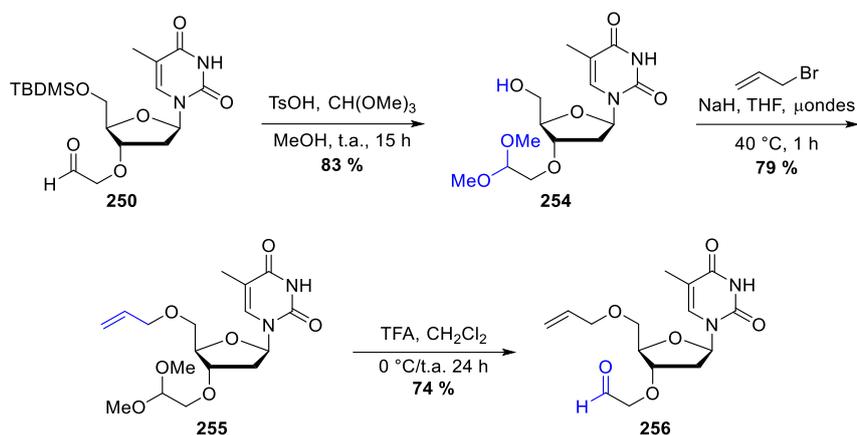


Schéma 64 : Synthèse du partenaire aldéhyde pour la synthèse du composé lipidisé en 3' et 5'

Le partenaire aldéhyde **256** a ensuite été engagé dans la réaction de Stetter avec l'énone **117** pour donner la 1,4-dicéto **253** avec un rendement de 44 % conforme aux rendements des réactions précédemment décrites. Une coupure oxydante de Lemieux-Johnson a permis l'obtention du deuxième aldéhyde **257** qui a ensuite été couplé à l'énone **117**. Ce deuxième couplage n'a pas abouti au NL **258** portant deux lipides *via* des liens 1,4-dicétones mais au produit d'élimination de type « interne » redox **252** avec un rendement de 12%. Cette réactivité déjà observée et décrite s'explique par le mécanisme ci-dessous (*Schéma 65*).²⁶⁸

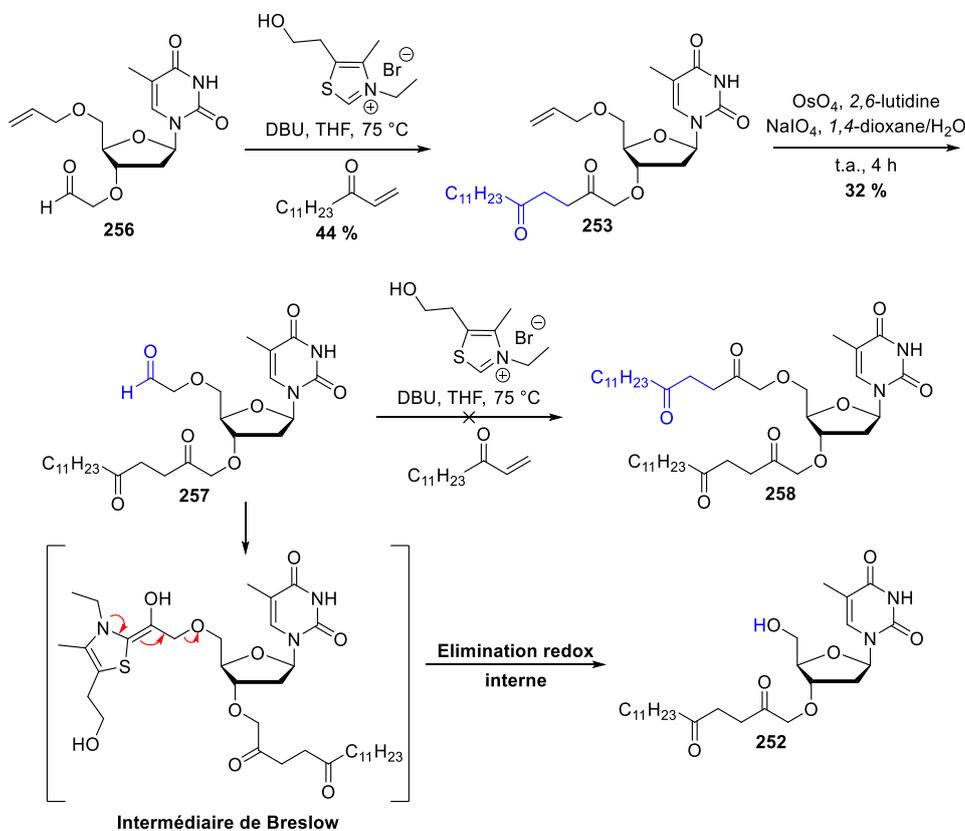


Schéma 65 : Synthèse du NL doublement lipidisé par des lien 1,4-dicétones en 3' et 5' et mécanisme de l'élimination redox interne

Malgré les différents essais réalisés, la synthèse de ces NLs présentant deux fonctions 1,4-dicétones a été abandonnée. De manière générale, elles nécessitaient beaucoup d'étapes dont la réaction de Stetter avec de faibles rendements, pour des propriétés physico-chimiques incertaines. De plus, bien qu'intéressante sur le plan fondamental pour mieux comprendre les interactions supramoléculaires de l'autoassemblage, la synthèse de tels produits ne convient pas au projet NEOMAY qui nécessite un NL obtenu avec peu d'étapes et de bons rendements pour l'utiliser à grande échelle.

IV.3. Limites de la 1,4-dicétoxe en formulation

En dépit des variations structurales explorées autour du NL **115**, les 12 hybrides synthétisés n'ont permis la découverte d'aucune nouvelle molécule aux propriétés oléogélificatrices. Nous avons pu en tirer quelques informations cruciales telles que la nécessité d'une longueur de chaîne C₁₂ en position 5' mais également l'importance du groupement benzyle en 3'. Par ailleurs, le lien 1,4-dicétoxe doit être en β de l'oxygène en position 5'. Toutes ces indications montrent le caractère unique et aléatoire de ce NL aux propriétés oléogélificatrices découvertes par sérendipité. Par conséquent, à ce stade, l'oléogel issu du NL **115** était le seul candidat disponible pour concevoir la nanoémulsion gélifiée du projet NEOMAY.

IV.3.a. Définition et généralités sur les nanoémulsions

Par définition, une émulsion est la dispersion d'un liquide dans un autre liquide avec lequel il n'est pas miscible. La dispersion d'une phase discontinue dans une autre phase continue conduit spontanément à un mélange hétérogène.³¹⁰ A titre d'exemple, il existe les émulsions dispersant l'eau dans l'huile Hydrophile/Lipophile (H/L) et inversement l'huile dans l'eau Lipophile/Hydrophile L/H. Des systèmes plus complexes d'émulsions double ou multiple font intervenir deux dispersions. Dans le cadre de notre projet NEOMAY, la double dispersion est une émulsion H/L/H. Les phases n'ayant par nature aucune affinité entre elles, il est nécessaire d'ajouter un agent de surface afin de stabiliser les interfaces et permettre la dispersion de gouttelettes d'une phase dans une autre.

Par leur caractère amphiphile, ils permettent de diminuer les tensions interfaciales et donc d'améliorer la stabilité et l'homogénéité de l'émulsion. Les tensioactifs sont classés en fonction de leur HLB

³¹⁰ Lohith, K.D.; Sarkar, P. *Envir. Chem. Lett.* **2018**, *16*, 59-70.

(balance hydrophilie/lipophilie). Pour une HLB élevée (> 10), le tensioactif tend à être hydrophile et inversement pour une HLB faible (< 6), il est considéré comme lipophile. Classiquement pour obtenir une émulsion avec une répartition granulométrique la plus fine possible, il est utilisé un mélange d'agents de surfaces aux HLB complémentaires (**Figure 87**).

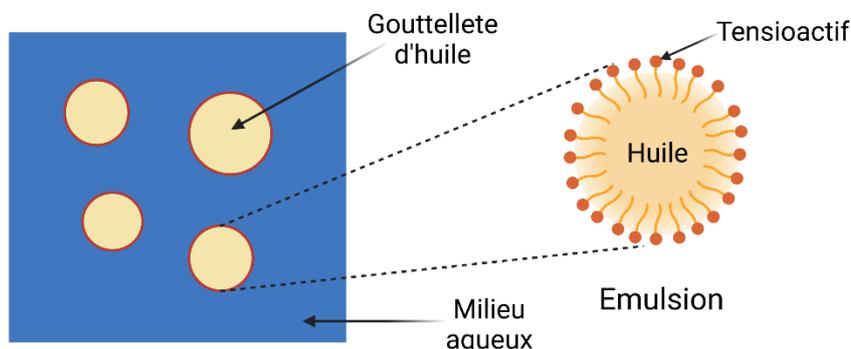


Figure 87 : Représentation d'une émulsion huile dans eau L/H

Suivant la taille des gouttelettes formées au sein de l'émulsion et leur stabilité, plusieurs types de formulations sont distinguées (**Tableau VI**). Parmi elles, les nanoémulsions apparaissent comme un véhicule de principes actifs attractif. En effet, la pharmacopée recense une majorité de principes actifs existants comme lipophiles et leur transport et délivrance est un défi majeur. Les nanoémulsions et plus particulièrement les NEs L/H ou encore H/L/H présentent la capacité intéressante de pouvoir les encapsuler dans les phases huileuses. De plus, ces formulations jouent un rôle protecteur contre les réactions de dégradation *in vivo*, comme l'oxydation et l'hydrolyse, augmentant les capacités de délivrance en principe actif.³¹¹ Par ailleurs, l'avantage des NEs est leur stabilité dans le temps puisque la vitesse de sédimentation et donc, le risque de rapprochement globulaire et de déstabilisation est proportionnel à la taille des particules selon la loi de Stokes³¹² Plus la taille est faible, plus la vitesse est faible.

	Macroémulsion	Nanoémulsion	Microémulsion
Taille des globules	$> 1 \mu\text{m}$	$0.1 - 0.3 \mu\text{m}$	$< 0.1 \mu\text{m}$
Polydispersité (PdI)	élevée	faible	faible
Stabilité	instable	instable	stable

Tableau VI : Quelques caractéristiques des macroémulsions, nanoémulsions et microémulsions

³¹¹ Nicolaos, G.; Crauste-Manciet, S.; Farinotti, R.; Brossard, D. *Int. J. Pharm.* **2003**, 263, 165-171.

³¹² Samson, S.; Basri, M.; Fard MAsoumi, H.R.; Abedi Karjiban, R.; Abdul Malek, E. *RSC Advances* **2016**, 6, 17845-17856.

Tous ces avantages font des nanoémulsions un outil attractif pour le transport et la délivrance de principes actifs lipophiles. De plus, les nanoémulsions se sont déjà montrées efficaces dans des applications pharmaceutiques vectorisant des substances actives lipophiles avec une grande précision et pour des modes d'administration variés.³¹³ Des NLs portant un groupement benzyle ont déjà été encapsulés dans des NEs et l'incorporation du NL **115** pourrait donc faire gélifier les gouttelettes d'huile présentes dans la formulation.²⁷⁰ La gélification de la phase lipidique pourrait ainsi permettre d'augmenter la stabilité du système.

IV.3.b. Formulation du NL oléogélificateur

La doctorante galéniste et pharmacienne B. Dessane a réalisé des essais de formulation du NL **115** dans une nanoémulsion L/H afin d'évaluer sa capacité à faire gélifier des gouttelettes d'huile dans une formulation simple dans un premier temps. Le NL a donc été dispersé à 5 % m/m dans la phase huileuse, concentration à laquelle le Miglyol 812N[®] gélifie. La formulation de la NE a reposé sur les travaux antérieurs dans le laboratoire qui ont permis d'optimiser l'apport en tensio-actifs pour une réalisation en très faible quantité (1 g) d'émulsion.³¹⁴ La lécithine d'œuf et le polysorbate 80 (PS 80) ont respectivement été choisis comme tensioactifs lipophiles et hydrophiles. Chaque phase a été préparée séparément en solubilisant les agents de surfaces au bain marie à 70 °C. L'émulsion grossière est obtenue par inversion de phase par addition sous agitation de la phase aqueuse dans la phase huileuse. La réduction de la taille des globules à l'échelle nanométrique est obtenue par sonication pendant 8 minutes. (*Tableau VII*).

Composants	Pourcentage massique
Miglyol 812N [®]	20 %
Lécithines d'œufs	1.5 %
Polysorbate 80	2.5 %
NL 115	1 %
Eau purifiée	75 %

Tableau VII : Composition de la NE simple huile dans eau o/w avec le NL 115

³¹³ Tayeb, H.H.; Sainsbury, F. *Nanomedicine* **2018**, *13*, 2507-2525.

³¹⁴ Prévot, G.; Soria, F.N.; Thiolat, M.-L.; Daniel, J.; Verlhac, J.B.; Blanchard-Desce, M.; Bezard, E.; Barthélémy, P.; Crauste-Manciet, S.; Dehay, B. *Bioconjugate Chem.* **2018**, *29*, 4083-4089.

Le retour à température ambiante de la formulation a révélé une coloration rosâtre inattendue et l'apparition de deux phases distinctes signe d'une déstabilisation colloïdale. L'origine de cette couleur orange inhabituelle de la formulation qui est habituellement blanche et opaque a été investiguée. En chimie organique, une coloration inattendue peut être la conséquence d'une réaction secondaire non désirée. Un moyen simple et efficace de confirmer cette hypothèse est de réaliser une CCM de la nanoémulsion et de la comparer avec chaque composant présent au sein de la formulation y compris le Miglyol 812N[®]. Après révélation de la plaque CCM aux rayons ultraviolets ainsi qu'avec H₂SO₄ comme révélateur chimique une tâche supplémentaire est apparue sous le NL 115 confirmant la formation d'un produit secondaire plus polaire au sein de la NE. Pour connaître la nature de ce composé indésirable, nous avons supposé que le NL 115 devait réagir avec un tensioactif étant donné l'inertie chimique des phases dispersantes et dispersées vis-à-vis du NL.

Considérant les fonctions chimiques présentes sur chaque tensioactif, les lécithines d'œufs qui présentent une fonction amine libre ont attiré notre attention. Le NL 115 a alors été placé en présence de lécithines et une coloration orange foncé est apparue assez rapidement. Le milieu étant légèrement acide, nous avons soupçonné la formation de pyrrole par réaction de Paal-Knorr. La comparaison du profil CCM avec d'autres composés pyrroles analogues synthétisés au laboratoire a laissé peu de doute sur la nature du produit formé. Ce produit secondaire empêchant la gélification et la NE ne pouvant être réalisée sans lécithines, le composé 115 ne pouvait finalement pas être notre candidat. Aussi ce travail a été poursuivi de façon à synthétiser de nouveaux composés nucléolipidiques susceptibles de faire gélifier le Miglyol 812N[®] sans conduire à des réactions secondaires avec les excipients (**Figure 88**).

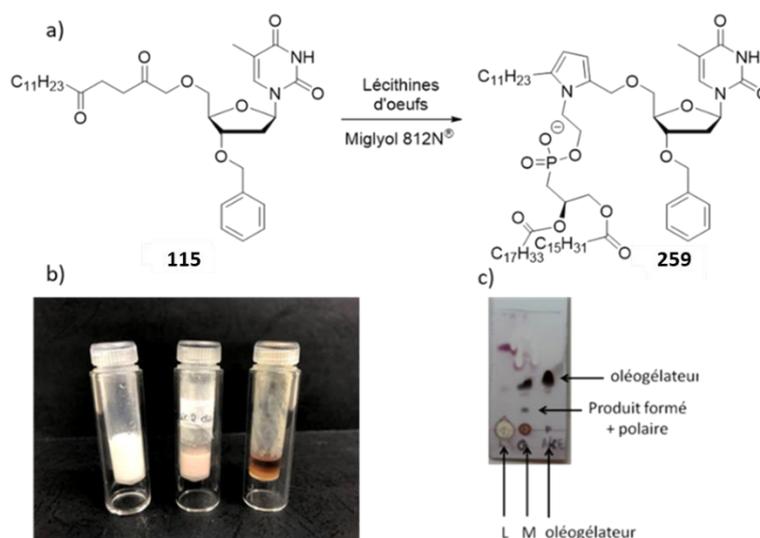


Figure 88 : a) Réaction de Paal-Knorr supposée b) Photos d'échantillons d'une NE simple sans NL 115, d'une NE avec NL 115, d'une phase huileuse avec NL 115 c) CCM révélée en UV après élution dans A/T 30/70 avec le Miglyol 812N[®] à gauche et la phase huileuse à droite

CHAPITRE 4
Découverte de nouveaux liens 1,4-dicarbonylés
prometteurs

I. Développement d'un lien 1,4-diester

Les limitations du NL **115** en formulation ont conduit à l'abandon de ce candidat oléogélificateur pour la NE multiple du projet NEOMAY. Par conséquent, le développement d'un nouveau NL aux propriétés oléogélificatrices s'est avéré nécessaire. Au vu de la difficulté à concevoir de façon rationnelle des LMWGs et de la sérendipité de leur découverte, il était nécessaire de se baser sur l'analyse des travaux précédents. Devant l'évidence que la 1,4-dicétone jouait un rôle crucial dans la gélification même s'il n'est pas clairement établi, il est donc apparu essentiel de concevoir un NL avec les mêmes capacités physico-chimiques que le NL **115** mais en s'affranchissant d'une fonction 1,4-dicétone pour éviter sa dégradation lors de la formulation au sein des NEs. D'autre part, le développement d'un LMWG issu d'une synthèse capable de fonctionner à plus grande échelle semble préférable dans le contexte du projet. Sur la base de ces prérequis, une stratégie alternative basée sur la conception d'un nouveau lien 1,4-dicarbonylé a alors été envisagée.

I.1. Synthèse de dérivés avec un lien 1,4-diester

I.1.a. Synthèse et propriétés gélifiantes

Dans ce contexte et compte tenu des précédents de la littérature rapportant le rôle de la fonction ester dans les processus de gélification, un simple lien 1,4-diester a été envisagé comme analogue structural le moins éloigné de la 1,4-dicétone. Par ailleurs, l'accès à un tel lien est possible par une réaction d'estérification plus aisée à mettre à œuvre que la réaction de Stetter et plus facilement exploitable à grande échelle. L'obtention du NL cible a été réalisée en seulement trois étapes en partant de l'alcool **111**. La première étape, plus efficace que l'estérification sélective de l'acide succinique, a consisté à ouvrir l'anhydride succinique par catalyse à la DMAP à reflux afin d'obtenir l'acide **260** portant un premier lien ester succinique en position 5' du nucléoside.³¹⁵ Le brut réactionnel a alors été engagé dans la réaction d'estérification avec le dodécanol afin de conserver le même nombre total d'atomes de carbones sur la chaîne grasse, soit 16 après l'oxygène en position 5'. Cette estérification de Steglich a été effectuée dans les mêmes conditions que celles déjà utilisées au laboratoire menant au 1,4-diester **261** avec un bon rendement de 65 % sur 2 étapes (*Schéma 66*).²⁷⁰

³¹⁵ Catry, M.A.; Madder, A. *Molecules* **2007**, *12*, 114-129.

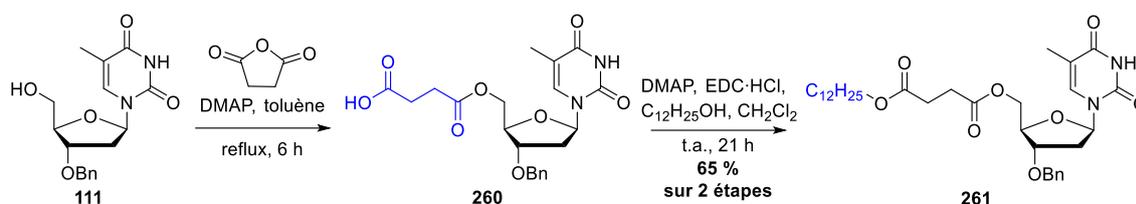


Schéma 66 : Synthèse du NL portant un lien 1,4-diester en 5'

Des essais de gélification ont ensuite été effectués sur le NL **261**. Le même protocole que pour le NL oléogélificateur **115** a alors été appliqué, soit un cycle de 20 min au THX à 70 °C et à 800 tpm. Différentes concentrations ont été essayées jusqu'à l'observation de la gélification du Miglyol 812N[®] avec une cmg d'abord évaluée à 12 puis à 16 % m/m. La formation de l'oléogel a ainsi été observée au bout de 21 h de repos à température ambiante, après 2 cycles au THX. Un gel blanc opaque a ainsi été obtenu à la concentration de 16 % m/m, présentant le même aspect que le NL **115** à 5 % m/m semblant indiquer que la concentration minimale de gélification n'impacte pas l'aspect. Les essais de gélification par concentration croissante ont révélé l'apparition de cristaux à partir de 9 % m/m de plus en plus visibles à l'œil nu jusqu'à atteindre l'aspect de gel à 16 % m/m où les cristaux sont suffisamment nombreux et denses pour s'entremêler et piéger l'huile (*Figure 89*).

Figure 89 : Photos de l'oléogel issu du NL 261 dans le Miglyol 812N[®] à 6, 8, 10, 12, 14, 15, 16 % m/m de la gauche vers la droite

Si l'hypothèse du rôle de la fonction énole pour le NL **115** est la bonne, cette concentration plus élevée de 16 % m/m pourrait s'expliquer par la plus faible propension d'un ester à générer un énole qu'une cétone. En effet, c'est surtout la réactivité d'énolate d'ester qui est connue en chimie particulièrement avec la condensation de Claisen (*Figure 90*).³¹⁶ Sur la base de cette seule différence structurale, nous nous attendions à ce que l'oléogel étudié présente un édifice supramoléculaire avec des propriétés mécaniques plus faibles que celui issu du NL **115**.

³¹⁶ Claisen, L.; Claparède, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 2460-2468.

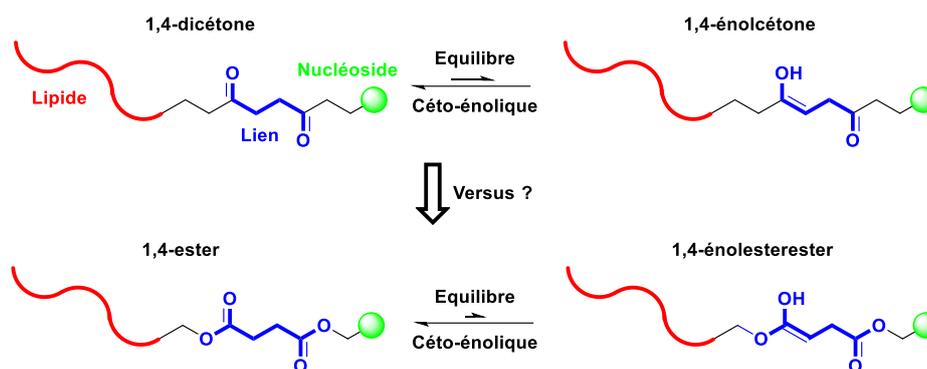


Figure 90 : Equilibre cétó-énolique supposé du lien 1,4-diester

I.1.b. Caractéristiques physico-chimiques et formulation

L'oléogel issu du NL **261** a alors été observé en microscopie optique par A. Willemaers lors de son stage de fin d'étude d'ingénieur de l'ENSCP afin d'obtenir des informations cruciales sur l'architecture de son réseau. Tout comme pour l'oléogel portant un lien 1,4-dicétone, des fibres ont été observées. Néanmoins, le réseau formé semble être beaucoup plus dense et les fibres qui le constituent sont plus longues. En effet, les fibres observées ont une longueur de plusieurs centaines de micromètres pour une épaisseur de l'ordre du micromètre. En parallèle, des cristaux aux formes rectangulaires sont également visibles. L'architecture issue de l'autoassemblage du NL **261** en milieu huileux présente donc deux types d'objets issus de l'arrangement supramoléculaire qui le distinguent de l'oléogel du NL **115** (Figure 91).

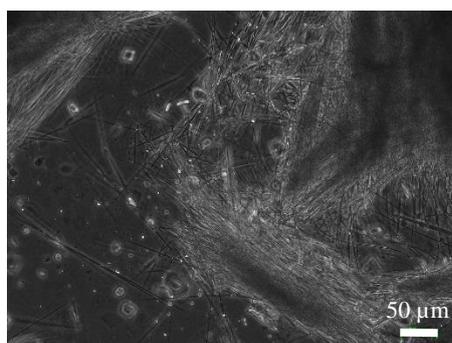


Figure 91 : Photo en microscopie optique du gel issu du NL 261 (Grossissement x10)

Pour évaluer sa capacité à être incorporé au sein de la NE multiple du projet NEOMAY, des essais de formulation avec ce composé ont également été faits par A. Willemaers. Dans un premier temps, sa capacité à gélifier en présence d'un principe actif a été évaluée. Pour cela des échantillons d'oléogels à 12 % m/m ont été préparés en y ajoutant 2.5 % m/m d' α -tocophérol, molécule antioxydante faisant partie du cahier des charges de la formulation de NEOMAY et à la concentration

souhaitée. Le même protocole de gélification a été appliqué et un milieu homogène a été observé après 2 cycles de THX. L'oléogel s'est formé avec succès après 72 h démontrant que la vitamine E n'empêche pas la gélification, ce qui est une nouvelle positive pour le projet. L'augmentation du temps de gélification peut s'expliquer par la présence de l' α -tocophérol.

Une nanoémulsion L/H a également été formulée en présence des lécithines d'œufs et du PS 80 (*Tableau VIII*). En présence des lécithines d'œufs, la phase huileuse gélifie en seulement 24 h, ce qui laisse supposer une influence positive du surfactant sur la gélification (*Figure 92*). La NE obtenue n'a pas révélé de coloration rosée signe d'une quelconque réaction secondaire et a présenté une répartition granulométrique monodisperse en « *Dynamic Light Scattering* » (DLS) avec un indice de polydispersité (PDI) de 0,118 pour un diamètre moyen des globules de 154 nm et un potentiel zêta de -29,4 mV.

Composants	Pourcentage massique
Miglyol 812N®	6.8 %
Lécithines d'œufs	1.2 %
Polysorbate 80	2.5 %
Eau purifiée	77.5 %
NL 261	12 %

Tableau VIII : Composition de la NE huile dans eau avec le NL 261



Figure 92 : Photos des phases huileuses gélifiées en présence d' α -tocophérol (à gauche) d' α -tocophérol et lécithines d'œufs (à droite)

Ces résultats prometteurs ont montré que le NL 261 est stable en formulation. De plus, la synthèse de ce composé est rapide et aisée à mettre en œuvre et la transposition d'échelle est facilement envisageable. En revanche, malgré nos efforts, les propriétés mécaniques de l'oléogel n'ont pas pu être évaluées par rhéologie, et ce même avec plusieurs modifications des paramètres d'acquisitions.

Nous avons supposé que les fibres constituant le gel étant très longues, la structure qui en résulte serait d'autant plus cassante. Sous la contrainte imposée par la géométrie du rhéomètre, l'échantillon serait alors trop fragile pour pouvoir obtenir des courbes reproductibles.

De plus, après 1 mois, une déstabilisation de l'oléogel a été observée. Cette déstructuration dans le temps du gel issu du NL **261** peut être le signe d'une dégradation par synérèse puisque deux phases sont apparues. Nous avons donc supposé que l'édifice supramoléculaire finît par éjecter l'huile de sa structure après un mois. Finalement, du fait de sa faible stabilité, cet oléogel n'a pas constitué le candidat attendu dans le cadre du projet NEOMAY.

I.2. Variation structurale autour du lien 1,4-diester

Nous avons donc continué notre recherche basée sur notre étude structurale qui s'appuie sur l'hypothèse du rôle crucial du lien 1,4-dicarbonylé consolidé par l'obtention de ce nouvel oléogel portant un lien lipide-nucléoside 1,4-diester. Néanmoins, au vu de son instabilité, une nouvelle prospection a été initiée afin de déterminer les paramètres structuraux nécessaires à la gélification. En effet, nous espérons que la connaissance fine de l'analogie et des différences entre les deux comportements supramoléculaires de la 1,4-dicétone et du 1,4-diester pourront nous orienter vers les principales causes structurales à l'origine de ces édifices supramoléculaires.

I.2.a. Variation de la chaîne lipidique

Dans un premier temps, la nature du lipide a été modifiée dans l'objectif de moduler les interactions par effets hydrophobes qui ont déjà été étudiées sur le composé nucléolipidique **115**. Pour cela, la chaîne en C₁₂ a été respectivement remplacée par une chaîne courte en C₈ et longue en C₁₆. En parallèle le cholestérol, lipide naturel de la famille des stéroïdes connu pour ses capacités gélifiantes a également été incorporé, de même que, l' α -tocophérol, antioxydant utilisé dans le cadre du projet NEOMAY. L'acide **260** a été obtenu à partir de l'alcool **111** et les différents 1,4-diester **262**, **263**, **264** et **265** esters ont été aisément synthétisés, à partir de cet intermédiaire commun, par couplage à l'EDC·HCl dans les conditions de Steglich (*Schéma 67*).

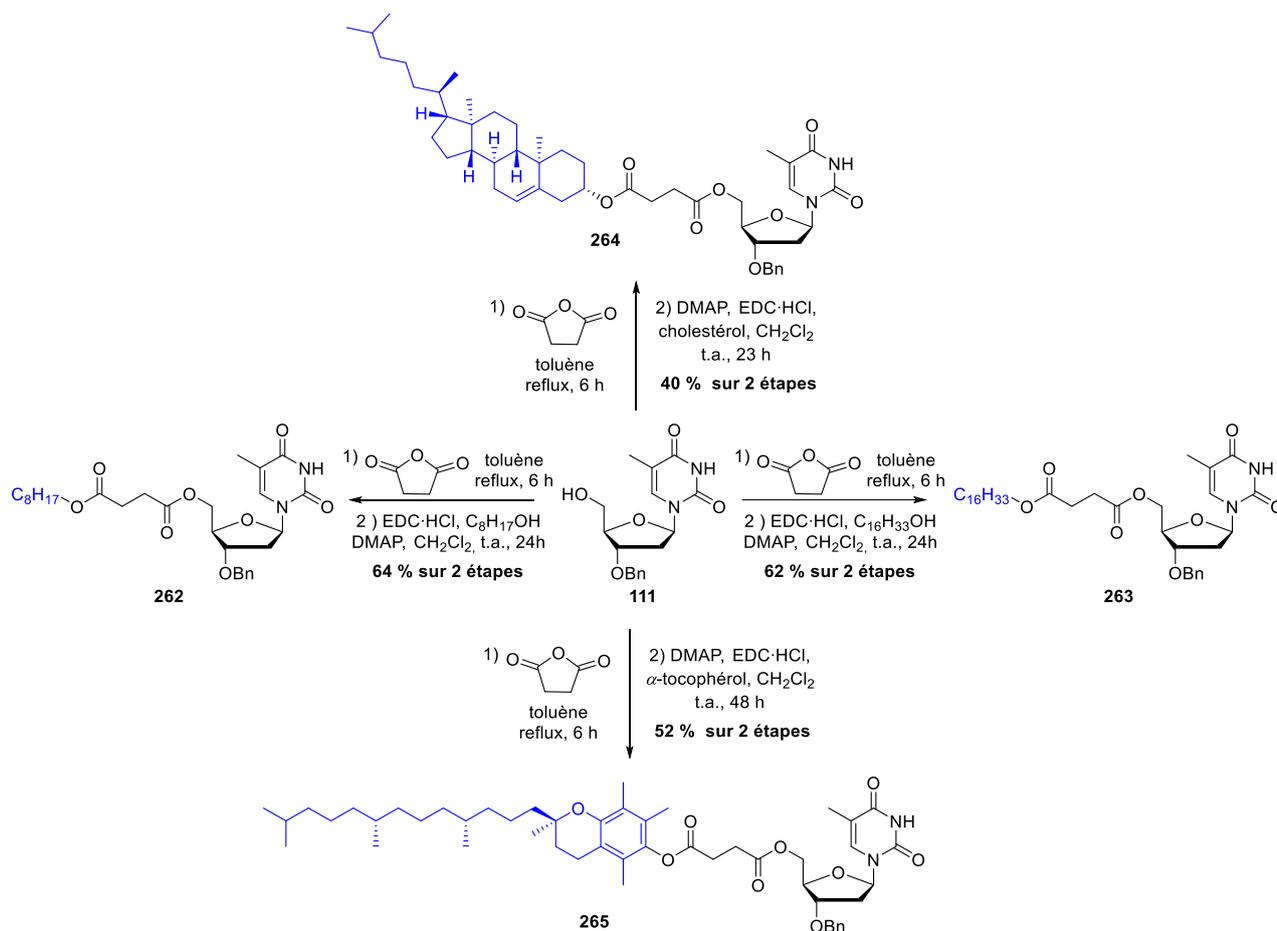


Schéma 67 : Synthèse de NLs 1,4-diester avec différents lipides

Les quatre NLs ont été isolés avec des rendements similaires au NL **261** excepté pour le NL **264** portant un cholestérol. Cette baisse significative peut s'expliquer par la réactivité plus faible de l'alcool secondaire du cholestérol. A cela s'ajoute la complexité structurale du squelette de stéroïde contrairement à une chaîne lipidique linéaire saturée. L'obtention du NL **265** présente également un rendement légèrement plus faible qui peut s'expliquer par l'encombrement stérique autour de la fonction phénol limitant l'estérification. La variation du paramètre lipidique a conduit à l'obtention de ces quatre nouveaux NLs sous forme de solides. Leur capacité à faire gélifier le milieu huileux sera rapportée ultérieurement dans ce manuscrit.

I.2.b. Inversion des groupements en position 3' et 5'

Une information clé, issue de l'étude sur la série 1,4-dicétone, est la nécessité que le lipide et l'aromatique soient respectivement en position 5' et 3' pour permettre la gélification. Pour vérifier si cette condition devait être respectée en série ester, l'ouverture de l'anhydride succinique a été effectuée en présence de l'alcool **233** afin d'ancrer le lien 1,4-diester en position 3'. L'acide **266** a

ensuite été estérifié en présence du dodécanol dans les conditions de Steglich pour conduire au 1,4-diester **267** avec un bon rendement de 71 % sur 2 étapes (*Schéma 68*).

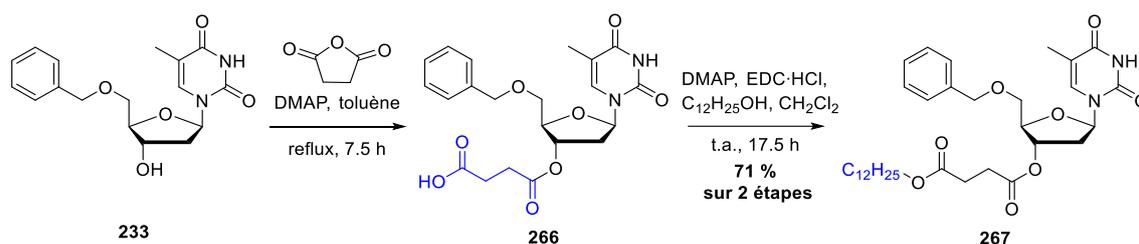


Schéma 68 : Synthèse du NL au lien 1,4-diester avec les positions de l'aromatique et du lipide inversées

Ce NL portant le lipide et le benzyle respectivement en 3' et en 5' a été isolé sous forme d'huile translucide comme le produit **236**. L'incorporation du groupement aromatique en position 3' et du lipide en 5' semble donc modifier significativement les propriétés physico-chimiques du NL et entraver sa capacité à gélifier. Jusqu'ici, aucune donnée physico-chimique ne nous a permis d'expliquer ce phénomène. Nous supposons qu'en positionnant la chaîne lipidique sur la même face du plan moyen du squelette furanose que la nucléobase, les interactions issues de ces deux blocs se font de manière complémentaire. Le groupement aromatique quant à lui, étant sur la face opposée serait éventuellement impliqué dans des interactions π - π .

I.2.c. Vers de multiples liens diesters

Tout comme en série 1,4-dicétones, l'impact de la distance entre les deux fonctions esters sur les propriétés gélificatrices du NL a été évalué. Pour cela, deux liens différents ont été envisagés, à savoir le 1,3-diester et le 1,5-diester. Par cette modification structurale, l'objectif est de définir au-delà de l'importance des deux carbonyles, celle du nombre de carbones entre ces fonctions. Jusqu'ici les synthèses d'autres dicétones n'ayant pas abouti, l'influence du nombre de carbones entre les deux fonctions n'a pas pu être étudiée. Avec un lien diester, ces modifications sont plus simples d'accès.

Pour obtenir un lien 1,3-diester, l'acide **268** a été synthétisé par ouverture de l'acide de Meldrum.³¹⁷ En parallèle, la synthèse du 1,5-diester, similaire à celle du 1,4, s'est effectuée avec l'anhydride glutarique pour permettre l'obtention de l'acide **270**. Les 1,4-diesters **269** et **271** ont ensuite été obtenus par couplage dans les conditions habituelles de Steglich avec le tridécanol et le undécanol respectivement (*Schéma 69*). L'ouverture de l'anhydride glutarique s'est avérée moins efficace et a conduit à l'ester **271** avec un rendement plus faible que pour les autres composés, soit 39 % sur 2 étapes.

³¹⁷ Duez, S.; Coudray, L.; Mouray, E.; Grellier, P.; Dubois, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 543-556.

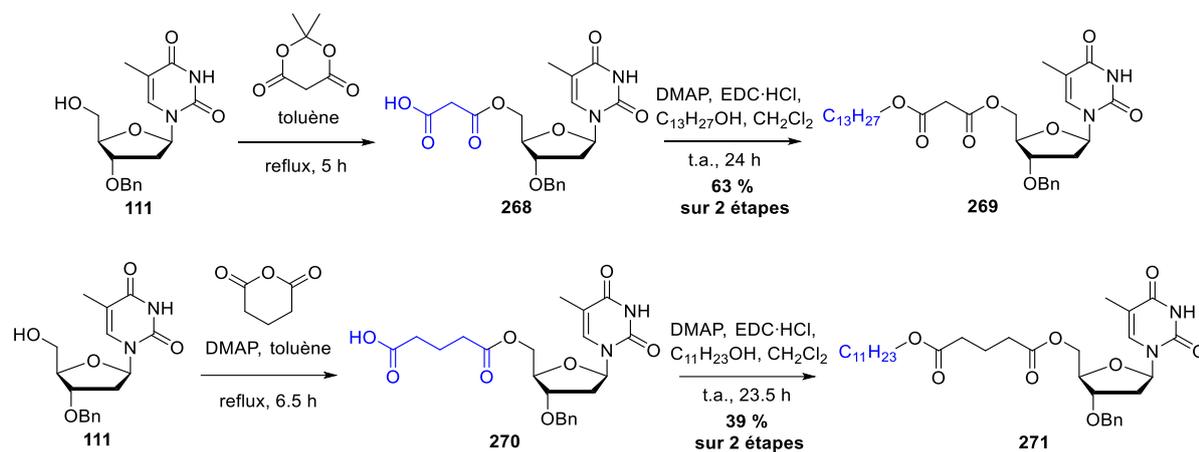


Schéma 69 : Synthèses de NLs aux liens 1,3 et 1,5-diesters

L'ester **271** a été isolé sous forme de solide dont les propriétés gélifiantes seront rapportées plus loin. L'ester **269**, en revanche, a présenté un aspect huileux. L'expérience sur les composés huileux précédents nous a montré qu'ils ne présenteraient pas d'intérêt en formulation puisqu'ils n'ont pas conduit à l'obtention d'un gel. Cette étude autour du lien 1,4-diester a permis la synthèse de plusieurs NLs dans des conditions douces et exploitables à grande échelle et dont les capacités à faire gélifier le Miglyol 812N[®] ont été déterminées et sont rapportées ci-dessous.

I.3. Essais de solubilité et de gélification

I.3.a. Solubilité des NLs aux liens diesters

A la suite de la caractérisation de ces composés nucléolipidiques, les solides, soit les molécules **262**, **263**, **264**, **265** et **271** ont pu être solubilisés en milieu huileux. De cette manière, il a été possible d'estimer les potentiels candidats oléogélificateurs pour le projet NEOMAY. La solubilité de chaque molécule oléogélificatrice dans l'huile a alors été évaluée empiriquement par dissolution à chaud (70-80°C, 37 kHz, 10 min) en visant des pourcentages potentiels cibles pour former un oléogel entre 1 et 5 %. La parfaite dissolution de la molécule a été appréciée macroscopiquement par l'obtention d'une solution limpide et l'absence de recul de solubilité a été vérifiée lors du retour à température ambiante. Il a été possible de bien distinguer macroscopiquement un défaut de dissolution par rapport à un phénomène de cristallisation signant le processus de gélification. Chacun des 5 candidats s'est alors montré soluble après 1 cycle.

Concernant la modification de la chaîne lipidique, un comportement similaire à la série dicétone est à noter. En effet, le NL **263** portant une chaîne palmitique soit 4 carbones de plus, n'a pas pu être dissout au-delà de 2% m/m. alors que son analogue gélifiant portant une chaîne C₁₂ forme un gel à 16 % m/m. Au-delà de cette concentration, se forme un précipité de plus en plus visible en augmentant

la concentration (**Figure 93**). Par conséquent, l'augmentation de lipophilie induite par la chaîne palmitique semble réduire les affinités du NL avec l'huile. Il ne nous a donc pas semblé nécessaire ni même pertinent de synthétiser un NL portant une chaîne stéarique (C₂₀).



Figure 93 : Photos des essais des échantillons du NL 263 dans le Miglyol 812N[®] à 1, 2, 3 et 5 % m/m de la gauche vers la droite

Le NL **262**, quant à lui, a révélé une affinité très élevée avec le Miglyol 812 N[®] puisqu'à 50 % m/m soit 1 : 1, il y est encore soluble. Ce résultat laisse supposer qu'une longueur de chaîne carbonée similaire à celle de la phase continue permet d'obtenir des solubilités très élevées. De même, les NLs **265** et **271** ont présenté la même solubilité dans le Miglyol 812 N[®], soit 50 % m/m. Malgré de meilleures solubilités qu'en série dicétone, ces NLs aux liens diesters n'ont pas permis la découverte de nouveaux oléogels.

En revanche, le NL **265** a pu faire l'objet d'un dépôt de brevet grâce à son potentiel en tant que prodrogue.²⁹⁹ En effet, plusieurs nanoémulsions à différentes concentrations ont pu être formulées et leurs propriétés antioxydantes ont également été évaluées en collaboration avec le Dr. M. Cario (GDR 3711 Cosm'actifs) qui a également montré que le NL **265** n'était pas cytotoxique. Cette étude a également fait l'objet de la conception d'autres NLs prodrogues qui incorporent d'autres composés antioxydants. L'objectif est alors de permettre une libération prolongée du principe actif *in vivo* grâce à l'hydrolyse enzymatique par les estérases.

I.3.b. Un cas particulier, le cholestérol

Le NL **264** portant une chaîne grasse de type cholestérol a conduit à la formation d'un oléogel. Le cholestérol est, par ailleurs connu pour gélifier en milieu huileux notamment dans l'huile de paraffine.^{172, 318} Ainsi en l'incorporant au nucléoside, les propriétés d'autoassemblage des deux blocs moléculaires se combinent pour donner des propriétés gélifiantes inédites. La concentration minimale de gélification a été déterminée en faisant varier la concentration m/m et elle a été estimée à 4 % m/m avec des cristaux visibles à l'échelle macroscopique. Nous avons supposé que ce composé gélifie

³¹⁸ Almeida, I.F.; Bahia, M.F. *Int. J. Pharm.* **2006**, *327*, 73-77.

suivant le même procédé que les LMWGs découverts précédemment. Autrement dit un processus de nucléation par cristallisation est observé puis le piégeage de l'huile conduit au gel (**Figure 79**). A l'échelle macroscopique, l'échantillon à 5 % m/m s'opacifie à température ambiante après solubilisation au BUS à 80 °C pendant 10 min. Le gel à 4 % m/m a pris en 1,25 h environ avec un aspect hétérogène. A 5 % m/m, le gel s'est formé instantanément aux ultrasons après 5 min mais a présenté un aspect hétérogène. En revanche, lorsqu'il est sorti avant ces 5 minutes, il forme un gel opaque et homogène en quelques minutes et qui est stable sur plusieurs mois (au minimum 6 mois) (**Figure 94**).



Figure 94 : Photos des oléogels issus du NL portant le cholestérol avec un lien 1,4-diester

Par ailleurs, la structure de cet oléogel a été observée par microscopie optique avec l'aide de la doctorante B. Dessane. Un réseau extrêmement dense composé de fibres très fines et ondulées a été observé (**Figure 95**). La complexité de la molécule issue du cholestérol apporte donc une structure d'oléogel inédite qui nécessitera l'évaluation de ses propriétés mécaniques par rhéologie. Par ailleurs le potentiel du lien 1,4-diester mis en évidence par la découverte de deux LMWGS innovants nous a incité à envisager la synthèse de NLs présentant plusieurs fonctions 1,4-diester.

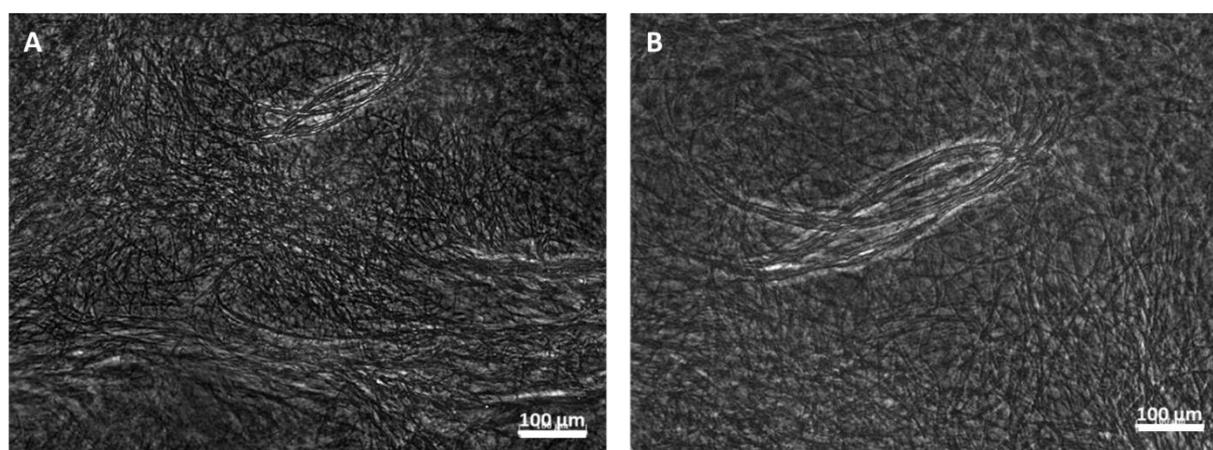


Figure 95 : Photo en microscopie optique de l'oléogel issu du NL portant une molécule de cholestérol avec un lien 1,4-diester

II. Développement de NLs aux structures combinant divers groupements carbonylés

II.1. Vers des liens céto-esters

Pour résumer brièvement la situation, trois NLs aux propriétés oléogélificatrices ont été décrits jusqu'ici dont deux ayant des structures très similaires et dont la seule différence réside au niveau du lien lipide-nucléoside. En effet, le NL **115** porte un lien 1,4-dicétone tandis que le NL **261** a un lien analogue de type 1,4-diester. De façon à combiner les propriétés physico-chimiques de ces deux oléogels, nous avons décidé de synthétiser un composé au lien hybride cétone-ester pour étudier l'effet sur les propriétés gélifiantes.

Pour y parvenir, la synthèse du NL portant la cétone au niveau du lipide et l'ester en position 5' du nucléoside a été entreprise. Ainsi l'acide **260** issu de l'ouverture d'un anhydride succinique a été transformé en amide de Weinreb **272**. La réduction de l'amide en aldéhyde se fait de manière sélective avec de l'hydrure de di-*iso*-butyl aluminium (diBAl-H).³¹⁹ Dans le cas présent, la formation de l'aldéhyde **273** n'a pas été observée malgré plusieurs essais y compris avec le LiAlH₄ comme agent réducteur. Les étapes suivantes consistant à effectuer une addition nucléophile du lipide en passant par un réactif de Grignard puis à oxyder l'alcool **274** résultant en cétone **275** n'ont donc pas pu être effectuées (*Schéma 70*).

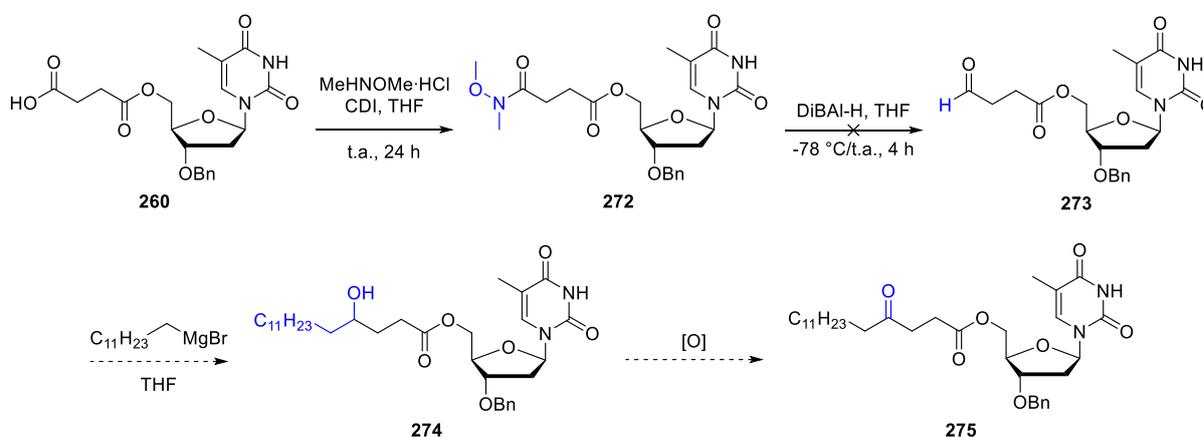


Schéma 70 : Tentative de synthèse du NL au lien 1,4-céto-ester depuis un réactif de Grignard

La synthèse de ce premier NL a donc été abandonnée pour se diriger vers l'autre lien en inversant la position des deux fonctions. La réaction de Stetter a alors été envisagée en faisant réagir un acrylate lipidique avec l'aldéhyde **113**. L'acrylate **276** a été préparé depuis l'undécanol en présence de chlorure d'acryloyle et de Et₃N. Il a alors été utilisé comme accepteur de Michael dans la réaction de

³¹⁹ Wernic, D.; DiMaio, J.; Adams, J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4224-4228.

Stetter avec le sel de thiazolium **114** comme précatalyseur. Le NL **277** a été obtenu avec une conversion faible et un rendement de 6 %, l'acrylate étant moins réactif qu'une énone classique (*Schéma 71*).

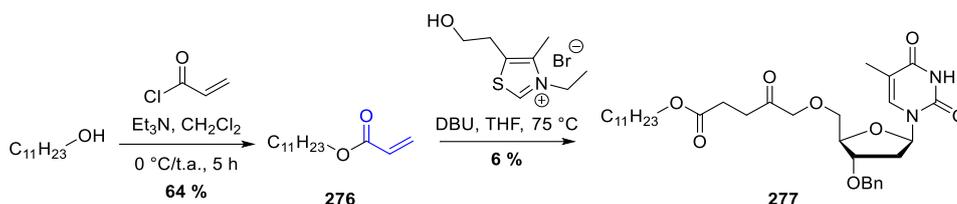


Schéma 71 : Synthèse du NL portant un lien 1,4-ester-cétone

Le composé a été isolé sous la forme d'une gomme inexploitable pour des essais de formulation. La stratégie visant à combiner les deux liens aux capacités gélificatrices n'a malheureusement pas permis d'aboutir à un nouvel oléogel. Jusqu'ici les NLs oléogélifiants ont laissé supposer le rôle majeur du lien de type 1,4-dicarbonyle dans la gélification. Comme lors de l'étude structurale autour du lien 1,4-dicétone, nous nous sommes penchés sur la synthèse de NLs portant deux lipides en 3' et 5' chacun avec un lien 1,4-diester.

II.2. Augmentation du nombre de fonctions 1,4-diester

II.2.a. Incorporation de deux liens 1,4-diester en 5'

Dans un premier temps, nous avons décidé de préparer un nucléolipide portant deux liens 1,4-diester sur la même chaîne lipidique en 5'. De cette manière, les deux groupements seraient orientés dans la même direction et pourraient moduler les propriétés physico-chimiques de l'oléogel issu du NL **261**. Pour cela, l'incorporation d'un lien éthylène glycol entre les fonctions 1,4-diester a été envisagée. L'éthylène glycol a été monoprotégé en éther de *tert*-butyle silyle **278** pour permettre une estérification sélective.³²⁰ L'acide **260** a ensuite été estérifié par l'alcool **278** brut dans les conditions de Steglich. L'ester **279** obtenu avec un rendement de 42 % sur 3 étapes a été traité avec du TBAF pour conduire efficacement à l'alcool terminal libre **280**. L'ouverture d'un deuxième anhydride succinique a ainsi pu être effectuée afin d'introduire la deuxième fonction 1,4-diester. Une dernière estérification de l'acide **281** ainsi obtenu a été réalisée avec l'hexanol et a conduit au NL **282** avec un bras portant deux fonctions 1,4-diester en position 5' et une longueur de chaîne de 16 atomes de carbone conforme au nombre d'atomes des autres molécules synthétisées (*Schéma 72*).

³²⁰ Qu, W.; Kung, M-P.; Hou, C.; Benedum, T.E.; Kung, H.F. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2157-2165.

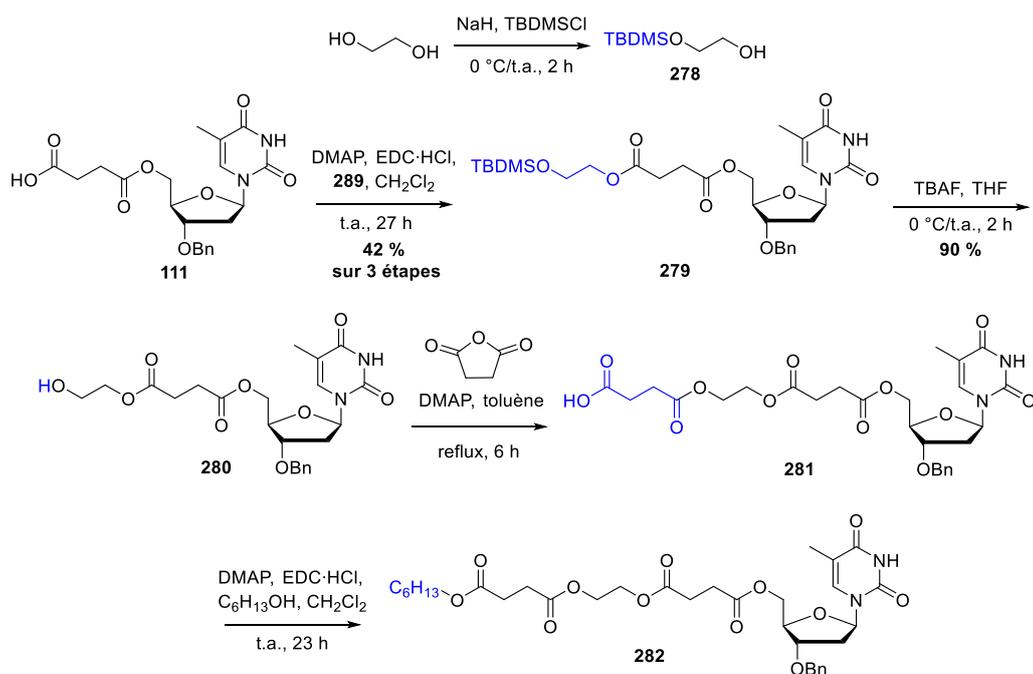


Schéma 72 : Synthèse du NL portant deux liens 1,4-diester en position 5'

Le NL **282** a malheureusement été isolé sous forme d'huile que nous ne sommes pas parvenus à faire précipiter. Par conséquent, l'utilisation de cette molécule semble compromise pour des futurs essais de formulation. Nous avons alors envisagé une autre cible synthétique.

II.2.b. Conception d'un NL avec un double lien 1,4-diester 3'-5'

Le deuxième NL avec deux groupements 1,4-diester ciblé est un nucléoside issu du couplage du dodécanol en position 3' et 5'. En effet, le remplacement du groupement benzyle par une deuxième chaîne lipidique peut apporter des propriétés lipophiles différentes au NL tout en doublant le nombre de fonctions 1,4-diester. L'intérêt serait d'améliorer l'affinité du NL avec le Miglyol 812N[®] et ses capacités gélificatrices. Pour cela, une synthèse très convergente a été réalisée où un bis-acide **283** a été synthétisé par ouverture simultanée de deux unités d'anhydrides succiniques en une étape depuis la thymidine. Le brut réactionnel a été immédiatement engagé dans une double estérification de Steglich pour fournir aisément le bis-1,4-diester **284** avec un rendement très satisfaisant de 60 % sur les 2 étapes (*Schéma 73*).

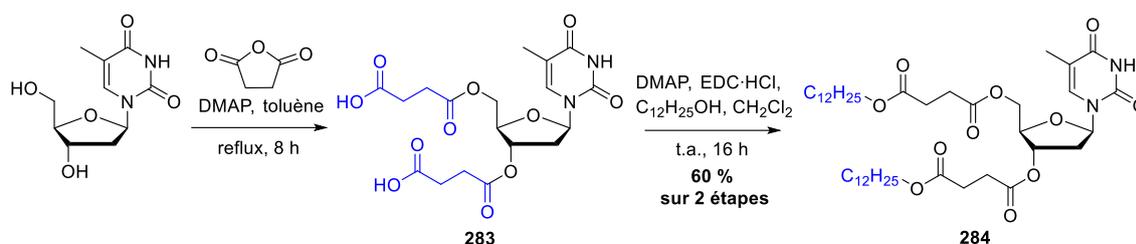


Schéma 73 : Synthèse du NL portant deux 1,4-diester en 3' et 5'

Ce double 1,4-diester a présenté l'avantage d'une synthèse efficace et il a également été isolé sous forme de solide et donc utilisé en formulation pour des essais de solubilité et gélification. Pour déterminer sa solubilité, plusieurs échantillons ont été préparés à des concentrations croissantes. Ils ont ensuite été mis au BUS (37 kHz, 80 °C, 10 min) puis laissés revenir à température ambiante pour estimer une solubilité maximale de 20 % m/m. Des essais à des concentrations plus élevées n'ont pas pu être effectués par manque de matière. En parallèle, après agitation au THX (800 tpm, 70 °C, 20 min) il est paru évident que cette structure possédait un potentiel gélificateur. En effet, ce dernier a permis l'obtention d'un gel partiel à partir de 13 % m/m et s'est avéré soluble en dessous de cette valeur (**Figure 96**). Autrement dit, les points de cristallisations observés ne suffisent pas à piéger toute l'huile pour former un gel homogène et stable.

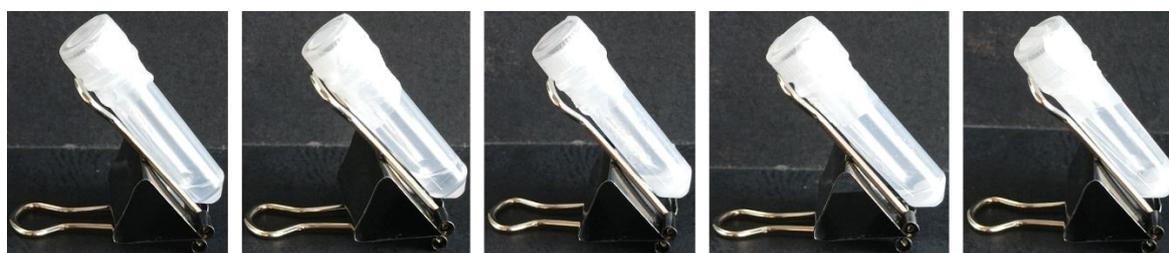


Figure 96 : Photos des essais de solubilité du NL 284 dans le Migyol 812N® à 9, 11, 13, 15 et 17 % m/m (de la gauche vers la droite)

Les images en microscopie optique l'illustrent particulièrement sur l'image de droite où une zone huileuse non gélifiée est observable en gris foncé. Autour de cette zone, un réseau très dense de bâtonnets (de quelques dizaines de micromètres) et de cristaux est visible. Ces images mettent en évidence l'hétérogénéité des échantillons issus du NL **284** et donc son aspect de gel dit partiel (**Figure 97**).

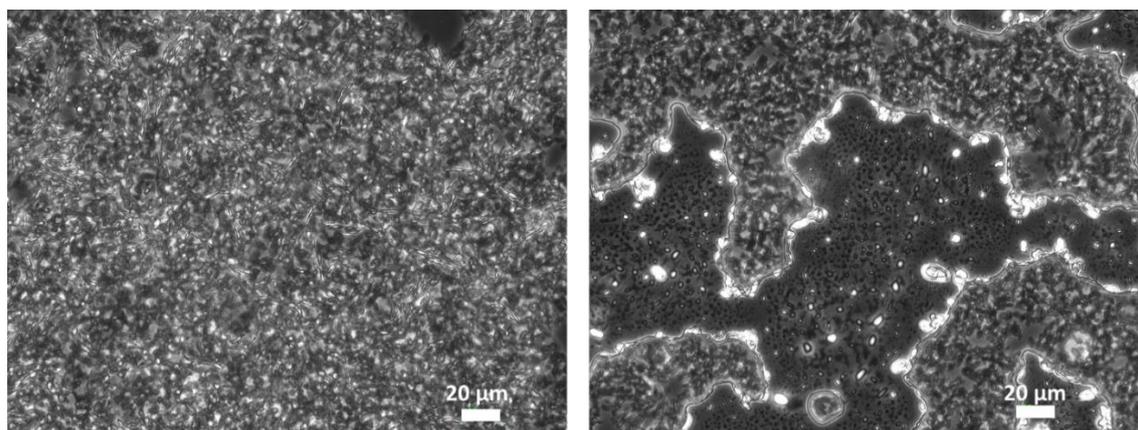


Figure 97 : Photos en microscopie optique des échantillons du NL 284 dans le Miglyol 812N[®] aux deux liens 1,4-diester en 3' et 5'

Aucun des deux composés obtenus n'a conduit à un nouvel oléogel. Cette stratégie a alors été mise de côté. Ces observations vont dans le sens d'un rôle crucial pour le groupement benzyle dans le cas des NLs portant un lien 1,4-diester également.

II.3. Etude autour du double 1,4-diester

II.3.a. Simplification structurale *via* des esters simples 3'-5'

Nous nous sommes alors intéressés à l'analogie structural développé par Strivatsan *et al.* en 2017.²⁴⁵²⁴⁵ Ce NL connu comme organogélificateur a été synthétisé depuis la thymidine en une étape d'estérification de Steglich simultanée en positions 3' et 5'. Il a été obtenu très aisément sous la forme d'une poudre et la synthèse fonctionne aussi bien à l'échelle du multi-grammes. Le NL **81b** a été solubilisé efficacement dans le Miglyol 812N[®] au BUS (37 kHz, 70 °C, 10 min) et a donné un gel opaque et blanc après 30 minutes de repos à une cmg de 15 % m/m (*Schéma 74*).

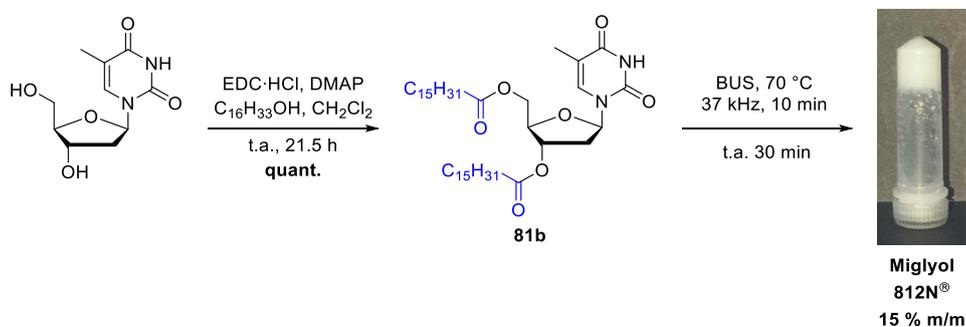


Schéma 74 : Synthèse du NL bis ester 3'-5' et gélification dans le Miglyol 812N[®]

Ce composé a donc présenté des propriétés gélifiantes en milieu huileux. Nous supposons que les liens 1,4-diester sur le NL **284** freinent la gélification et expliquent l'aspect de gel partiel observé. Les liens esters quant à eux, affichent un potentiel d'effets hydrophobes plus élevé que pour le NL **284**. En effet, les 4 carbones supplémentaires sur les chaînes grasses augmentent l'apport en effets hydrophobes ce qui stabilise potentiellement d'autant plus le réseau supramoléculaire et expliquerait l'obtention d'un oléogel homogène. Cette hypothèse a été renforcée à l'aide de calculs de log P sur le site SwissADME (*Swiss Institute of Bioinformatics*) qui recense plusieurs techniques de calculs notamment atomistique³²¹ ou par fragmentation³²². Les NLs **284** et **81b** ont montré des moyennes respectives de log P de 8,39 et 10,37. Ainsi, le NL **81b** est théoriquement plus lipophile que le NL **284**, ce qui pourrait justifier l'homogénéité du gel. L'observation du gel issu de **81b** en microscopie optique a montré des fibres torsadées (*Figure 98*).

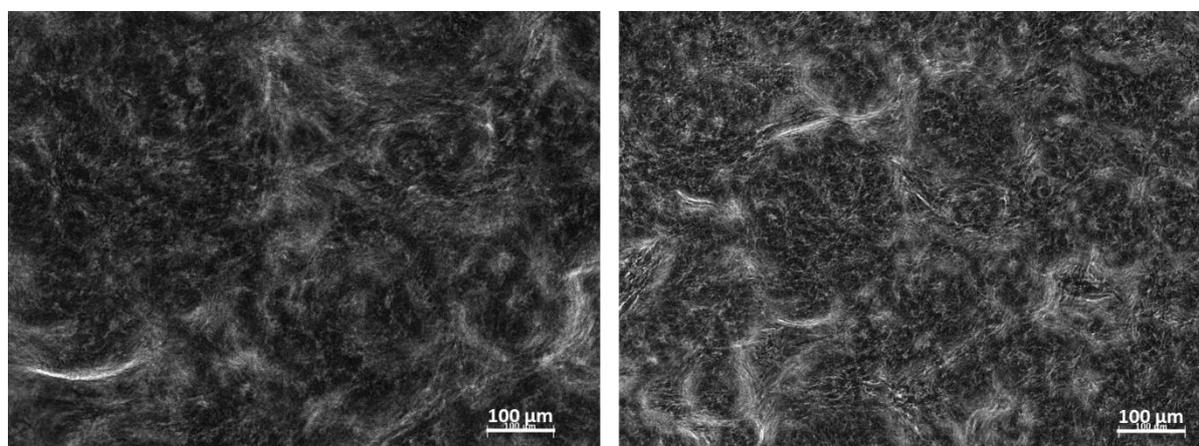


Figure 98 : Images en microscopie optique de l'oléogel issu du NL 81b à 15 % m/m

A ce stade et sans autre composé en mains, cet hybride, bien que connu, nous est apparu comme un candidat prometteur avec sa synthèse en une étape grandement efficace et des propriétés mécaniques qui devront être mesurées ultérieurement. Cependant, sa cmg est très élevée, 15 % m/m et une telle densité en molécule gélificatrice au sein d'une NE pourrait être un inconvénient pour la formulation du projet NEOMAY. En effet, comme la formulation d'une nanoémulsion considère les proportions de chaque phase (huileuse et aqueuses) en présence des tensioactifs et principes actifs, une concentration aussi élevée en molécule gélifiante limitera la quantité d'huile pour solubiliser les principes actifs, notamment l' α -tocophérol et la silibinine ce qui nuira à la conception d'une nanoémulsion homogène et stable.

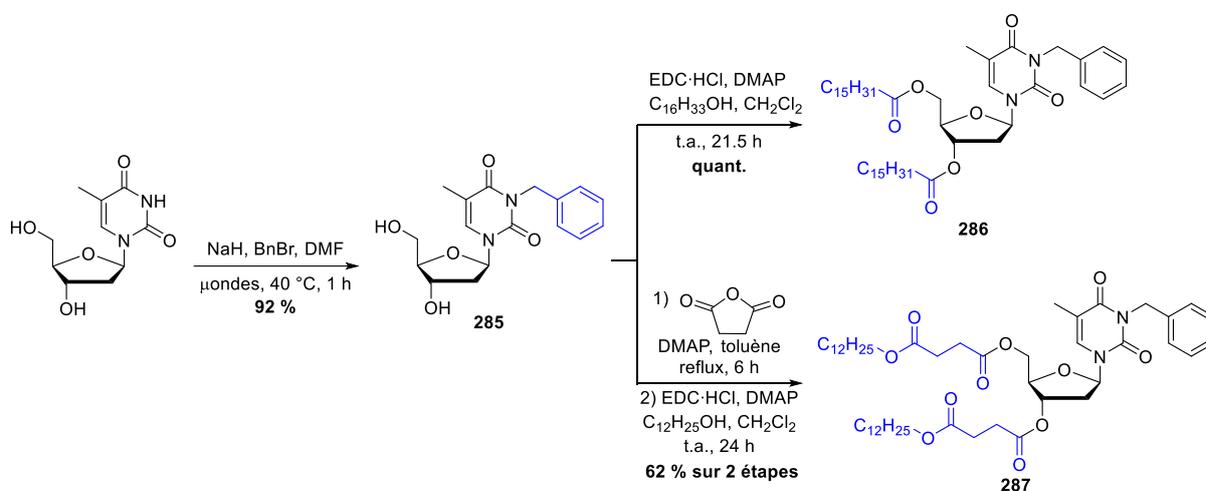
³²¹ Wildman, S.A.; Crippen, G.M. *J. Chem. Info. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 868-873.

³²² (a) Moriguchi, I.; Hirono, S.; Liu, Q.; Nakagome, I.; Matsushita, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 127-130 ; (b) Moriguchi, I.; Hirono, S.; Nakagome, I.; Hirano, h. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 976-978 ; (c) Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. *Adv. Dug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3-26.

II.3.b. Conception de NLs *N*-benzylés

Dans l'objectif d'abaisser cette concentration minimale de gélification, une stratégie complémentaire a été d'augmenter la lipophilie des NLs portant deux chaînes lipidiques. En effet, le NL **284** ne semble pas entièrement soluble dans le milieu huileux malgré une cristallisation certaine. En parallèle l'oléogel obtenu avec le NL **81b** nécessite une concentration élevée en composé nucléolipidique pour être obtenu. De ce fait, une amélioration de la lipophilie permettrait de fournir de meilleures affinités dans le Miglyol 812N[®]. De plus le groupement lipophile intégré à la structure pourrait être à l'origine d'interactions supplémentaires favorisant la construction d'un réseau supramoléculaire 3 D capable de piéger l'huile pour former un gel. Par conséquent et compte tenu des résultats précédents, le groupement benzyle est apparu comme une fonctionnalisation de choix. En effet, il permet un gain en lipophilie mais également un apport potentiel d'interactions par π - π « *stacking* ». Des analogues structuraux aux NLs **284** et **81b** ont donc été ciblés en fonctionnalisant la seule position réactive restante, soit la position N-3 de la nucléobase.

Sur le plan synthétique, nous nous sommes basés sur les résultats d'une étude citée précédemment mettant en avant une alkylation sélective en position N-3 aux microondes dans le DMF.²⁷¹ Pour cela, la thymidine a été activée dans un premier temps dans le DMF avec NaH pendant 6 min à 40 °C et 200 W. Ensuite le bromure de benzyle a été ajouté et une deuxième activation de 1 h a permis l'obtention de la thymidine *N*-benzyle **285** de manière totalement sélective et avec un bon rendement de 92 %. Ensuite, le NL **286** a été obtenu par simple estérification de Steglich simultanément sur les positions 3' et 5'. La séquence en 2 étapes s'est avérée très performante avec un rendement supérieur à 90 %. En parallèle, l'autre analogue nucléolipidique **287** a été synthétisé avec un bon rendement de 62 % sur deux étapes qui ont consisté à ouvrir deux unités d'anhydride succinique puis à former efficacement les 1,4-diester dans les conditions de Steglich (*Schéma 75*).



*Schéma 75 : Synthèse de NLs bis esters et 1,4-diester *N*-benzylés*

Le NL **286** a pu être isolé sous forme de solide. Après plusieurs essais de solubilité au BUS (80 °C, 37 kHz, 10 min) à des concentrations croissantes, il a révélé de très bonnes affinités avec le Miglyol 812N[®] mais aucune capacité à faire gélifier le milieu. En effet, il est soluble jusqu'à 50 % m/m dans l'huile soit 1 : 1 ce qui démontre bien le gain en lipophilie apporté par le groupement benzyle qui permet une nette amélioration de la solubilité. Là encore, ce résultat est cohérent avec la moyenne de log P calculée sur SwissADME qui est évaluée à 11,40, soit 10 fois plus lipophile que le NL **81b**. En revanche, l'absence de gélification souligne la nécessité de garder la nucléobase intacte et laisse supposer un rôle déterminant de l'azote libre en position N-3 de la nucléobase. En parallèle, le NL **287** n'a pas pu être isolé sous forme de solide mais d'huile. Nous supposons donc que l'ajout d'un groupement benzyle en position N-3 sur ces NLs permet d'augmenter la lipophilie expliquant les meilleurs résultats en solubilité mais il semble que ce groupement aromatique n'apporte pas des interactions supramoléculaires.

La découverte de cette deuxième génération de molécules oléogélifiantes au lien de type 1,4-dicarbonylé nous a conduit à poursuivre notre modification pas à pas et à synthétiser d'autres NLs contenant un lien 1,4-dicarbonylé différent mais déjà observé notamment chez les NLs organogélifiants et hydrogélifiants.

III. Développement d'un lien azoté déterminant

Après avoir obtenu l'oléogel issu du NL **261** portant un lien 1,4-diester, nous nous sommes focalisés sur la conception de NLs analogues portant d'autres liens 1,4-dicarbonylés. Dans le cadre de cette étude, il a notamment été jugé crucial d'incorporer d'autres couples 1,4-donneurs et accepteurs de liaisons H. La formation d'énol d'ester sur le diester 1,4 est peu probable, ce qui peut expliquer les cmg très élevées pour observer des gels sur cette série. En revanche, un lien de type 1,4-ester-amide présenterait directement un donneur de liaisons H avec le NH. En effet, l'énol d'amide étant difficilement envisageable, la source d'H pourrait venir directement du NH et l'ester serait accepteur de liaisons H. Un tel lien modifie également la position du donneur de liaisons H qui se retrouve en position 1,5 par rapport au carbonyle accepteur de l'ester (*Figure 99*).

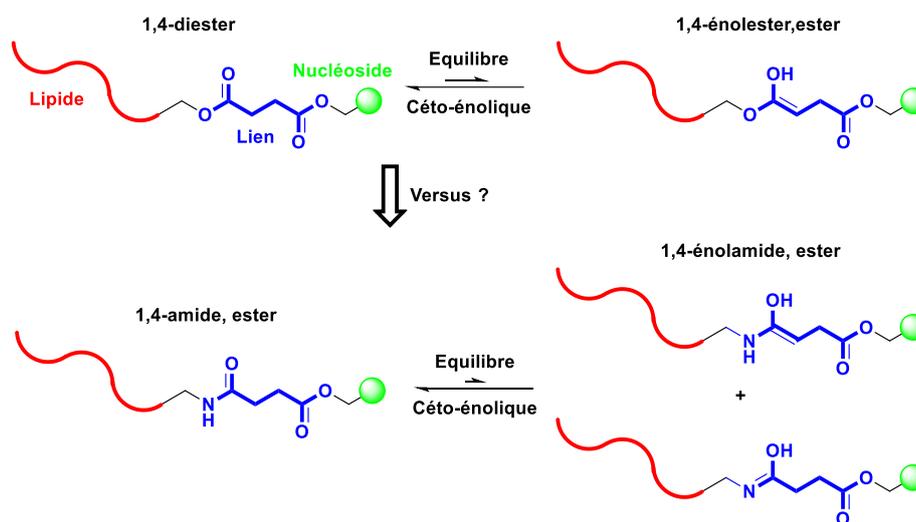


Figure 99 : Vers un nouveau couple donneur, accepteur de liaisons H

III.1. Le lien 1,4 amide-ester comme candidat prometteur

III.1.a. Synthèses de groupements carbonylés variés

A la suite de la découverte de l'oléogel nucléolipidique issu du NL **261** portant un lien 1,4-diester entre le lipide et le nucléoside, nous avons donc jugé primordial de modifier le lien en changeant l'hétéroatome afin d'en observer l'impact sur les propriétés gélifiantes du potentiel matériau résultant. Nous avons alors décidé de synthétiser d'une part un thioester et d'autre part un amide. En effet, un thioester constitue un autre groupement accepteur de liaisons H qui pourrait alors être comparé à l'ester. En parallèle, un amide lipidique aurait une influence marquée par son groupement NH donneur de liaisons H. En incorporant un tel lien, les possibles liaisons H intermoléculaires pourraient avoir un rôle clé dans la construction d'un édifice supramoléculaire solide, stable et capable de piéger l'huile au sein de ses interstices. De plus, le lien amide a largement été exploité dans le développement de biomolécules aux propriétés gélifiantes en milieu organique et aqueux.^{180, 205, 226, 228, 232, 242, 249}

Les synthèses ont été aisément effectuées dans les conditions de couplage de Steglich en partant de l'acide **260** issu de l'ouverture de l'anhydride succinique avec l'alcool **111**, avec EDC·HCl comme agent de couplage. Ainsi la dodécaneamine a été couplée à l'acide en l'absence de DMAP pour conduire au NL 1,4-amide-ester **289**.³²³ En parallèle, le NL 1,4-thioester-ester **288** a été obtenu dans

³²³ Kumar, P.; Østergaard, M.E.; Baral, B.; Anderson, B.A.; Guenther, D.C.; Kaura, M.; Raible, D.J.; Sharma, P.K.; Hrdlicka, P.J. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 5047-5061.

les mêmes conditions avec la DMAP et le dodécane-thiol (*Schéma 76*).³²⁴ Les deux NLs ont pu être isolés avec de bons rendements de l'ordre de 70 % sur 2 étapes.

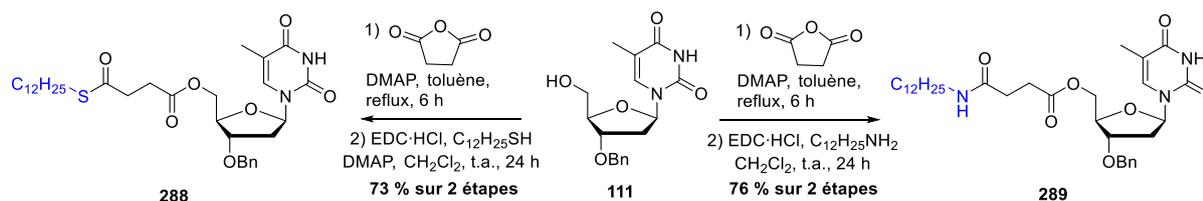


Schéma 76 : Synthèse des NLs au liens 1,4-amide-ester et thioester-ester

III.1.b. Un nouvel oléogélificateur prometteur

Le composé **288** incorporant un atome de soufre ayant l'aspect d'une huile jaunâtre et translucide n'a pu donner de suite en formulation. En revanche, le composé **289** a été isolé sous forme d'un solide blanc après précipitation dans le pentane. Par conséquent, ses propriétés gélifiantes en milieu huileux ont pu être évaluées. Pour cela, le NL **289** a été solubilisé dans le Miglyol 812N[®] au BUS (80 °C, 37 kHz, 10 min). Après un retour à température ambiante au repos, l'échantillon s'est légèrement opacifié au bout de 5 minutes en prenant en masse et a donné un oléogel à 5 % m/m.

Sa concentration minimale de gélification a ensuite été déterminée en réalisant plusieurs échantillons à des concentrations différentes. Des oléogels à des concentrations plus faibles ont alors été formés. Il est intéressant de noter que la cinétique de gélification s'est avérée dépendante de la concentration en composé nucléolipidique. Plus l'échantillon est concentré, plus la gélification intervient rapidement. Pour une concentration de 4 % m/m, le gel a été obtenu en 10 minutes, 30 minutes à 3 % m/m et environ 1 h à 2 % m/m. A 1 % m/m, nous avons distingué des points de cristallisation et une augmentation de la viscosité mais pas de gélification. Après plusieurs essais, la cmg a finalement été estimée à 1.5 % m/m (*Figure 100*).



Figure 100 : Photos de l'oléogel issu du NL 289 portant un lien 1,4-amide-ester à 1, 1,5, 2, 3, 4, 5 et 6 % m/m dans le Miglyol 812N[®]

³²⁴ Li, F.-Z.; Li, S.; Zhang, P.-P.; Huang, Z.-H.; Zhang, W.-B.; Gong, J.-X.; Yang, Z. *Chem. Commun.* **2016**, 52, 12426-12429.

Ces premiers essais ont rapidement désigné ce nouvel oléogel comme un candidat très prometteur notamment parce qu'il permet de moduler les concentrations et temps de gélification simultanément. Le contrôle de la gélification dans le temps par la concentration en NL est un atout majeur dans le cadre de la formulation de la NE du projet NEOMAY. En effet, il est important de prendre en compte qu'un temps de gélification court ne permettra pas l'incorporation de ce composé dans une NE car avec un système figé, la formulation ultérieure n'est plus envisageable. En revanche, si le composé gélifiant a une cinétique de gélification plus lente, la formulation de la NE pourra être effectuée dans le temps imparti. Par conséquent, en diminuant la concentration en NL **289** dans la NE, la gélification sera plus lente et laissera le temps pour mettre en œuvre la formulation galénique. Il est essentiel de noter que la synthèse de ce composé d'intérêt est particulièrement efficace (59 % de rendement sur 5 étapes) et nécessite uniquement des conditions douces avec peu d'étapes de purifications.

Ce nouvel oléogel a fait l'objet d'observation par microscopie optique avec l'aide de B. Dessane. Les images ci-dessous indiquent la formation d'un réseau de fibres torsadées de quelques centaines de micromètres de long et d'une largeur de l'ordre du micromètre (*Figure 101*).

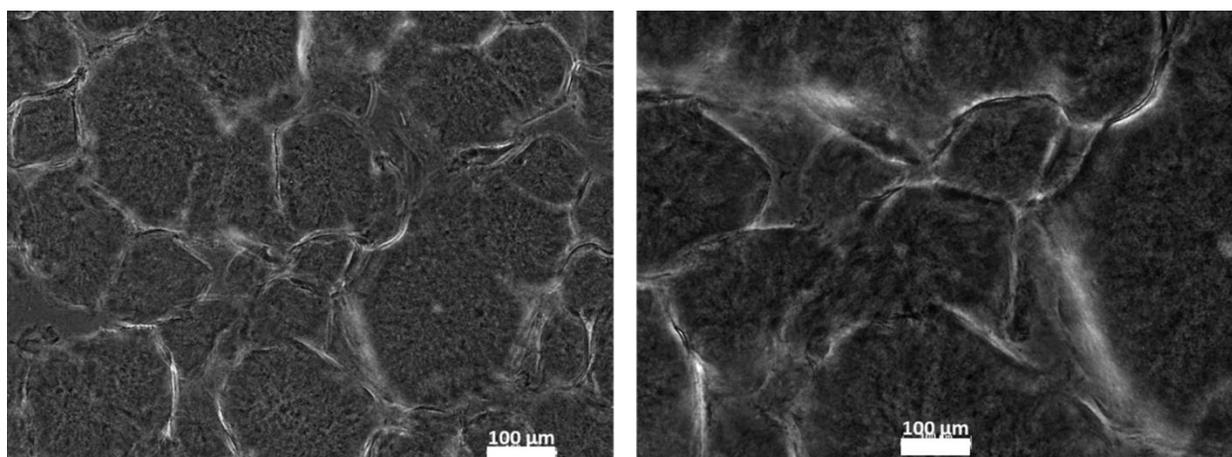


Figure 101 : Images en microscopie optique de l'oléogel issu du NL portant un lien 1,4-amide-ester

III.1.c. Evaluation des propriétés mécaniques

Ce nouvel oléogel en main, il était nécessaire d'évaluer ses propriétés physico-chimiques et plus particulièrement rhéologiques pour savoir s'il allait convenir à l'utilisation prévue dans le cadre de NEOMAY. Cette étude a été réalisée par B. Dessane sur des échantillons d'oléogels issus du NL **289** à 5 % m/m dans le Miglyol 812N[®] avec la géométrie plan unique de 20 mm et une distance initiale fixée à 0,150 mm. Dans un premier temps, la LVER du gel a été définie de 0,01 % à 1,5 % de déformation de cisaillement. La LVER a alors été définie à un pourcentage de déformation d'environ 0,1 %. Cette valeur plus élevée que pour l'oléogel issu du NL **115** souligne une meilleure résistance à la déformation et donc un gel plus élastique.

Les modules ont pu ensuite être mesurés en fonction de la fréquence en se plaçant dans la LVER de l'oléogel soit à 0,1 % de déformation. Le module d'élasticité G' évalué à 282 kPa est supérieur au module de viscosité G'' qui est de 56,1 kPa confirmant le caractère solide du gel. Les deux courbes montrent une légère variation dans les valeurs de G' et G'' indiquant une dépendance à la fréquence. Ces modules révèlent des propriétés mécaniques meilleures d'un facteur 10 en comparaison à l'oléogel issu du NL 115 ($G' = 81,3$ kPa ; $G'' = 10$ kPa).

Le comportement thixotropique du matériau a également pu être évalué par rhéologie en alternant des conditions dans la LVER sur un temps long (20 min) permettant la formation du gel puis une déformation brutale sur une courte durée (2 min) visant à casser le gel. Les courbes ont indiqué une diminution d'un facteur 10 après la première perturbation indiquant un affaiblissement du gel. Les modules rhéologiques deviennent ensuite réguliers après plusieurs perturbations successives. L'oléogel semble donc avoir un caractère thixotropique, nécessaire dans le cadre du projet NEOMAY pour son stockage en seringue et son application topique ultérieure (**Figure 102**).

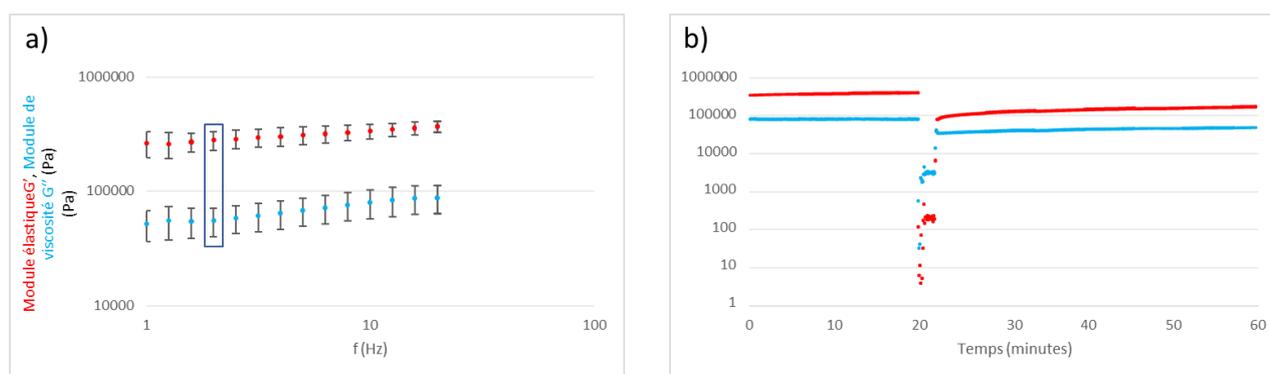


Figure 102 : Evolution des modules d'élasticité et de viscosité en fonction a) de la fréquence à une déformation appliquée de 0.1 % b) du temps pour l'oléogel issu du NL 289 dans le Miglyol 812N® à 5% m/m

Enfin la température de transition de l'état gel à l'état solution dite $T_{gel/sol}$ a été mesurée. Pour cela, le gel a été placé dans sa LVER à 0,1 % de déformation appliquée et les modules ont été suivis en fonction de la température de 25 à 85 °C avec une rampe de 5 °C/min. Les courbes diminuent au fur et à mesure que la température augmente pour arriver à un point de croisement où le gel va se fluidifier et devenir liquide se caractérisant par le passage de $G' > G''$ à $G' < G''$. La température de transition est alors observée à 79.5 °C (**Figure 103**).

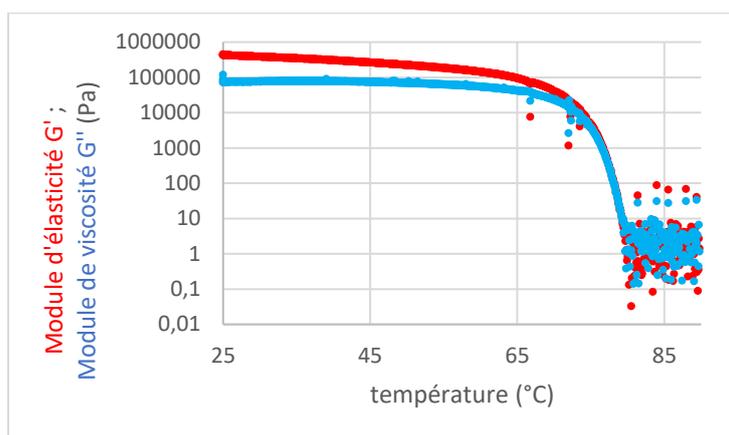


Figure 103 : Evolution des modules d'élasticité et de viscosité en fonction de la température à une déformation appliquée de 0.1 % pour l'oléogel issu du NL 289 dans le Miglyol 812N® à 5% m/m

L'évaluation des propriétés mécaniques de l'oléogel issu du NL **289** ont montré qu'il possède de meilleures caractéristiques l'oléogel issu du NL **115**. Cela pourrait être expliqué par un rôle déterminant du NH, donneur de liaisons H directement présent sur la structure et qui pourrait être impliqué dans des liaisons H permettant la rigidification du réseau supramoléculaire de l'oléogel.

III.2. Etude structurale autour du 1,4-amide-ester

La découverte de cet oléogélificateur a justifié une nouvelle étude structurale pour essayer de comprendre le rôle de chaque groupement et les interactions moléculaires mises en jeu lors de l'autoassemblage. Les dicarbonylés synthétisés présentent des structures très proches mais la présence d'un donneur de liaisons H issu de l'amide est un changement majeur. L'aspect quasiment translucide de l'oléogel qui en résulte laisse supposer un mécanisme de gélification différent et donc la découverte d'un NL avec des capacités gélifiantes qui diffèrent certainement du NL oléogélificateur au lien 1,4-dicétone. En partant du postulat de départ qui était que chaque partie : nucléobase, lipide et aromatique étaient nécessaires, une nouvelle étude structurale a été abordée de la même manière que les précédentes. Elle s'est notamment basée sur la modification de la chaîne lipidique, la position des groupements sur le nucléoside, la nature du groupement lipophile en position 3' et le nombre de fonctions 1,4-amide-ester.

III.2.a. Vers différentes longueurs de chaînes lipidiques

Dans un premier temps, la longueur de la chaîne lipidique a été le paramètre le plus simple à modifier. En effet, en augmentant le nombre de carbones, la lipophilie de la molécule devrait se trouver améliorée et la capacité à interagir *via* des effets hydrophobes accentuée. Ainsi un oléogel avec de meilleures propriétés mécaniques pourrait en résulter. A l'inverse, il était intéressant d'observer le comportement du NL analogue avec une chaîne carbonée plus courte afin de déterminer éventuellement une longueur de chaîne minimale nécessaire à la gélification. Enfin l'impact de la distance entre les deux fonctions carbonyles a également été évalué pour déterminer définitivement si le dérivé 1,4-dicarbonylé était incontournable. En se basant sur les résultats concernant le lien 1,4-diester, nous avons remarqué l'aspect huileux du NL **269** au lien 1,3-diester alors que le composé **271** portant un lien 1,5-diester était solide. Par conséquent, un lien 1,5-amide-ester a directement été visé.

Les NLs **290** et **291** ont été obtenus, comme les composés esters précédents, à partir du même intermédiaire acide **260** lui-même issu de l'ouverture d'anhydride succinique par l'alcool **111**. Un simple couplage peptidique utilisant EDC·HCl, l'octanaamine et l'hexadécanamine respectivement pour le NL **290** et **291** a ensuite été effectué. En parallèle l'acide **270** issu de l'ouverture de l'anhydride glutarique a été couplé à l'undécanamine dans les mêmes conditions pour obtenir le NL 1,5-esteramide **292**. Le rendement obtenu laisse apparaître une nette baisse dans le cas du composé **290** que nous avons attribuée à la mauvaise qualité de l'octanamine utilisée. Concernant la synthèse du NL **292**, le rendement de 13 % sur 2 étapes est cohérent avec celui observé lors de la réaction avec l'anhydride glutarique pour la synthèse du NL **271** (*Schéma 77*).

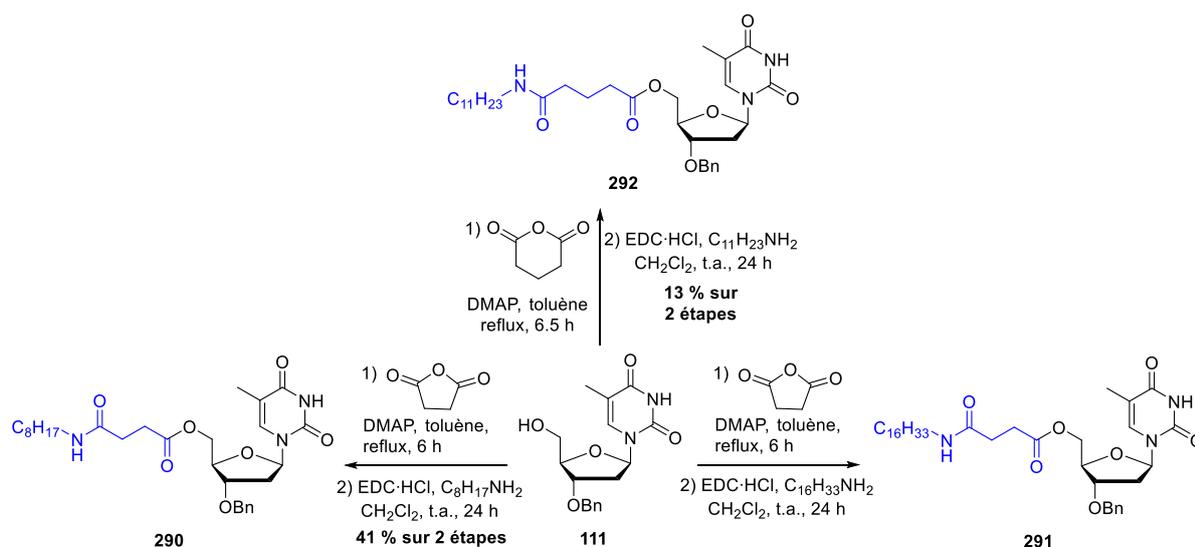


Schéma 77 : Synthèses de NLs aux liens amide-ester avec des lipides aux longueurs variées

Chacun de ces NLs a cependant été isolé sous forme d'une poudre blanche en quantité suffisante pour faire l'objet d'une évaluation des propriétés physico-chimiques. Pour cela, le protocole déjà décrit et utilisant le BUS, a été mis en œuvre. Après un retour à température ambiante, nous avons pu observer la formation d'oléogels dans les trois cas. Il est important de noter que pour la première fois, une modification de la longueur de chaîne lipidique n'a pas impacté la formation de gels. Ces observations, montrant que cette famille se comporte différemment des autres séries, nous ont conduits à explorer de nouvelles modifications du squelette nucléolipidique en présentant la découverte d'une nouvelle famille de nucléolipides aux propriétés oléogélificatrices. Dans les cas précédents, l'augmentation ou la diminution du nombre de carbones constituant la chaîne grasse aboutissait souvent à la précipitation du composé nucléolipidique en milieu huileux. De ce fait la chaîne carbonée C₁₂ apparaissait comme la longueur idéale pour les liens dicarbonylés précédents.

Dans le cas de l'étude autour du lien amide-ester, ce n'était vraisemblablement plus le cas et cela ouvrait des perspectives concernant le potentiel de gélification.

Lors de nos essais, le NL **291** a conduit à l'obtention d'un oléogel quasiment translucide à 2 et 3 % m/m. A partir de 4 % m/m, un gel blanc et opaque a été obtenu, signe d'une potentielle précipitation (*Figure 104*).



Figure 104 : Echantillons de gels du NL 291 1,4-amide-ester à la chaîne palmitique de 1 % m/m à 5 % m/m (de la gauche vers la droite)

Le passage d'une chaîne carbonée C₁₂ à C₁₆ a souvent eu pour conséquence une précipitation dans le Miglyol 812N[®] tant pour les NLs au lien 1,4-dicétone que pour celui portant un 1,4-diester. Nous supposons que cette précipitation s'explique par une affinité plus faible des chaînes palmitiques (chaînes longues en C₁₆) avec le Miglyol 812N[®] qui est un mélange de triglycérides à chaînes moyennes (C₆ à C₁₂). Elle semble confirmée par la déstabilisation des gels à 2 et 3 % m/m dans le temps qui évoluent en expulsant l'huile de leurs réseaux pour conduire à deux phases distinctes (*Figure 105*).



Figure 105 : Evolution des échantillons de gels du NL 291 1,4-amide-ester à la chaîne palmitique de 1 % m/m à 5 % m/m (de la gauche vers la droite)

Le manque d'affinité des NLs à chaînes longues dans le Miglyol 812N[®] est confirmée par la stabilité dans le temps des gels issus du NL **290**. Ce NL à la cmg de 3 % m/m et ayant une chaîne moyenne similaire à la phase continue, a conduit à un gel plus stable et plus homogène que le NL **291** (*Figure 106*). La formation de ces gels stables dans le temps semble confirmer le caractère inédit et prometteur de la famille des NLs portant un amide.



Figure 106 : Echantillons de gels issus du NL 290 1,4-amide-ester à la chaîne octyle de 1 % m/m à 5 % m/m (de la gauche vers la droite)

Enfin, le NL **292** a également présenté des propriétés oléogélifiantes remarquables puisque sa cmg a été évaluée à environ 2 % m/m. L'aspect des oléogels obtenus est similaire à ceux cités précédemment (*Figure 107*). Ce résultat nous donne une indication clé sur la nécessité d'un lien de type 1,4-dicarbonyle puisqu'ici le NL **292** présentant un lien 1,5-ester-amide gélifie aisément dans l'huile. De ce fait, la famille des NLs au lien amide-ester respectivement donneur et accepteur de liaisons H ne nécessite pas la présence spécifique de deux carbones entre eux. Par ailleurs, malgré une synthèse à faible rendement, le NL **291** pourrait constituer un candidat de choix pour le projet NEOMAY puisque le temps de gélification peut également être contrôlé *via* la concentration (30 min à 5 % m/m, 50 min à 4 % m/m, 70 min à 3 % m/m et 8 h à 2 % m/m).



Figure 107 : Echantillons de gels issus du NL 292 1,5-amide-ester de 1 % m/m à 5 % m/m (de la gauche vers la droite)

III.2.b. Inversion des positions du lipide et du benzyle

Compte tenu des premiers résultats probants fournis par la variation de la chaîne carbonée et du comportement un peu différent de cette série amide, il nous a semblé essentiel de modifier chacun des paramètres. En effet, en s'appuyant sur le fait que le lien de type 1,4-amide-ester permet des liaisons H qui seraient déterminantes pour la stabilisation du réseau formé par l'oléogel, nous avons voulu vérifier si leur apport était suffisant pour contrebalancer des modifications structurales qui étaient apparues délétères pour les autres familles et induire malgré tout la gélification. Les autres groupements pourraient permettre des interactions complémentaires non essentielles et pourraient peut-être faire l'objet de modifications structurales pour conduire à la conception de nouveaux oléogels avec des propriétés physico-chimiques différentes. Le potentiel de variations structurales nous est apparu plus riche et vaste que dans les familles précédemment décrites.

Nous avons d'abord envisagé l'inversion de la position entre le groupement benzyle et le lipide pour savoir si la gélification était dans ce cas indépendante de l'orientation de ces deux groupements. Par conséquent, après une ouverture de l'anhydride succinique par l'alcool **233** précédemment décrit, pour donner l'acide **266**, l'étape de couplage à l'EDC·HCl a été mise en œuvre et le NL **293** a été obtenu avec un bon rendement de 78 % sur 2 étapes (*Schéma 78*).

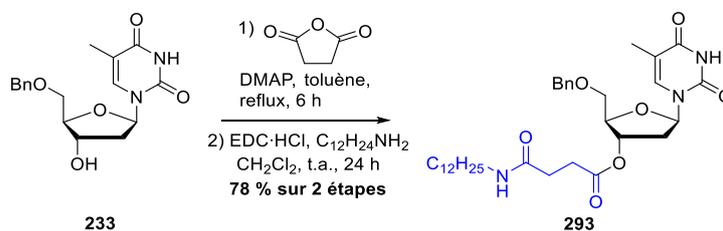


Schéma 78 : Synthèse du NL portant un lien 1,4-amide-ester en 3'

Le NL **293** a été isolé sous forme de poudre blanche après précipitation dans le pentane et ses propriétés gélifiantes ont pu être évaluées en suivant le protocole mis au point au BUS puis retour à température ambiante. Le composé s'est avéré soluble dans le Miglyol 812N[®] jusqu'à 2 % m/m puis, à partir de 3% m/m, des cristaux sont apparus de plus en plus nombreux en augmentant la concentration (**Figure 108**). Malgré l'observation de cristaux, la formation de gels hétérogènes a été observée. Elle s'est cependant avérée non reproductible sur plusieurs essais. Dans certains cas, des échantillons gélifiés se sont également montrés instables dans le temps. Ces observations confirment la nécessité pour le NL d'avoir le lipide en position 5' et le groupement lipophile en position 3' pour permettre la gélification, et ce qu'importe le lien étudié (1,4-dicétone, -diester, -ester-amide).



Figure 108 : Echantillons issus du NL 293 1,4-amide-ester en position 3' de 1 % m/m à 5 % m/m (de la gauche vers la droite)

III.2.c. Variation du groupement lipophile en position 3'

Pour aller plus loin, le groupement benzyle a été remplacé par une chaîne propyle. L'objectif était de trancher définitivement sur la nécessité d'un groupement aromatique. Le passage d'un groupement aromatique à aliphatique impliquerait l'absence de potentielles interactions π - π pour laisser place à des effets hydrophobes. Or, la présence et l'implication d'interactions π - π n'ont pas pu être clairement établies par les études par RMN du solide notamment. Nous avons alors choisi la chaîne propyle qui nous paraissait proche du benzyle en termes de longueur et d'encombrement stérique (valeur A : 2,2 kcal/mol pour le propyle et 3,0 kcal/mol pour le benzyle) pour établir une éventuelle comparaison.

L'incorporation du groupement propyle en position 3' s'est faite sur l'alcool **109**. Plusieurs conditions ont été testées notamment à la paillasse dans le DMF mais le produit observé était substitué en position N-3. Pour éviter la formation du produit secondaire **294**, la synthèse de Williamson a été effectuée en conditions microondes. Plusieurs paramètres ont été modifiés notamment le temps de réaction qui a été porté à 15 h et l'emploi d'iodure de propyle plutôt que le bromure. Le produit **295** a été obtenu sélectivement avec un rendement moyen de 50 % car l'iodure de propyle reste un moins bon électrophile que le bromure de benzyle et les conditions n'ont pas été optimisées (**Schéma 79**).

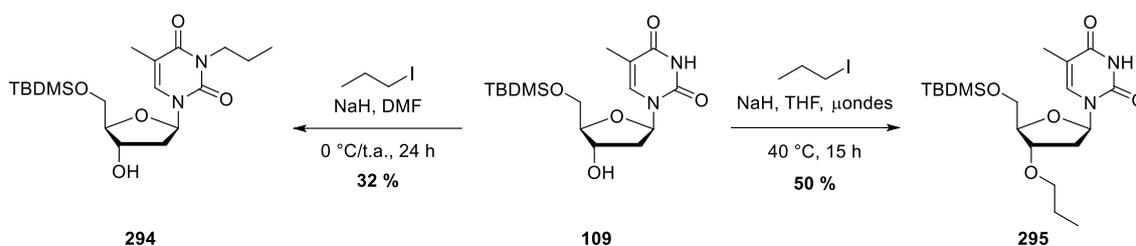


Schéma 79 : Incorporation du groupement propyle en 3' par synthèse de Williamson

L'éther silylé a ensuite été déprotégé par traitement au TBAF pour conduire à l'alcool **296** de façon quasi-quantitative. L'ouverture de l'anhydride succinique a été effectuée et l'acide **297** résultant a immédiatement été engagé dans l'étape clé de couplage avec la dodécanamine pour donner le NL **298** ciblé avec un excellent rendement de 88 % sur 2 étapes (*Schéma 80*).

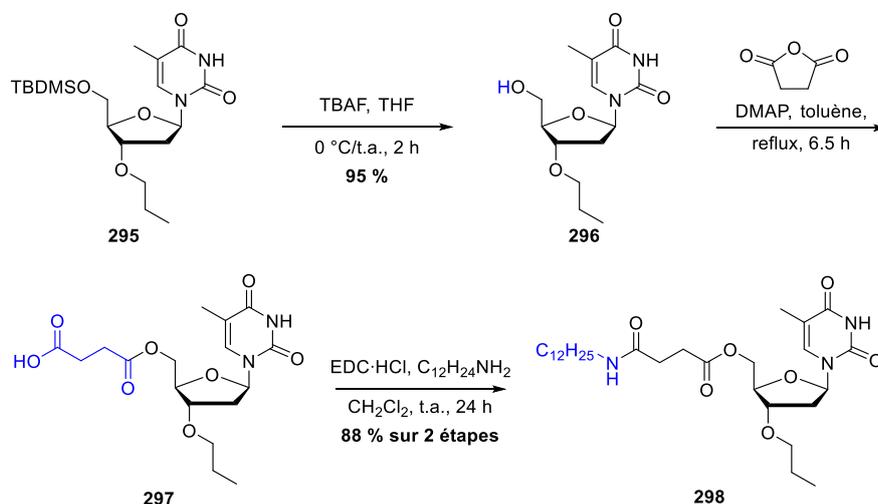


Schéma 80 : Synthèse du NL 298 propylé en position 3' avec un lien 1,4-amide-ester

Le NL **298** a été isolé sous forme de solide blanc après précipitation dans le pentane pour être solubilisé dans le Miglyol 812N[®] et évaluer ses propriétés gélifiantes. Il a révélé une capacité à former un gel stable et homogène à partir d'une concentration de 2 % m/m. Contrairement au NL **289** qui forme des gels blancs et supposés hétérogènes à partir de 6 % m/m, les essais de gélification réalisés jusqu'à des concentrations de 10 % m/m sur le NL **298** ont montré la formation de gels homogènes jusqu'à cette concentration (*Figure 109*). Ce résultat surprenant remet en cause le rôle incontournable jusqu'ici, du groupement benzyle et va dans le sens d'une absence d'interactions π - π pour ce groupement. En passant à une chaîne carbonée, de nombreux autres NLs aux groupements lipophiles variés en position 3' pourraient être synthétisés. Nous supposons donc que le groupement en position 3' permet un apport lipophile dont le rôle est de moduler la balance hydrophilie/lipophilie pour améliorer la solubilité du NL dans l'huile.



Figure 109 : Gels issus du NL 298 1,4-amide-ester propylé en position 3' de 1 % m/m à 10 % m/m (de la gauche vers la droite)

Les propriétés rhéologiques de ce nouvel oléogel à 5 % m/m dans le Miglyol 812N[®] ont pu être mesurées avec la géométrie plan unique de 20 mm et une distance initiale fixée à 0.150 mm. Dans un premier temps, la LVER du gel a été définie de 0,01 % à 5 % de déformation de cisaillement. La LVER a alors été définie à un pourcentage de déformation d'environ 0,1 %, valeur similaire à celle de l'oléogel issu du NL **289**.

Les modules ont pu ensuite être mesurés en fonction de la fréquence en se plaçant dans la LVER de l'oléogel soit à 0,1 % de déformation. Le module d'élasticité G' évalué à 16,2 kPa est supérieur au module de viscosité G'' qui est de 4,86 kPa confirmant le caractère solide du gel. Les deux courbes montrent une légère variation dans les valeurs de G' et G'' indiquant une dépendance à la fréquence. Ces modules révèlent des propriétés mécaniques plus faibles que celles évaluées pour les oléogels issus des NLs **115** et **289**. Cette observation pourrait laisser supposer que le benzyle en position 3' permet la formation d'un réseau supramoléculaire plus rigide et constitue donc un meilleur groupement que le propyle.

Le comportement thixotropique du matériau a également pu être évalué par rhéologie en alternant des conditions dans la LVER sur un temps long (20 min) permettant la formation du gel puis une déformation brutale sur une courte durée (2 min) visant à casser le gel. Les courbes ont indiqué une légère diminution des modules après la première perturbation indiquant un affaiblissement du gel. L'oléogel semble donc avoir un caractère thixotropique, nécessaire dans le cadre du projet NEOMAY pour son stockage en seringue et son application topique ultérieure (**Figure 110**). En parallèle, la $T_{sol/gel}$ a été estimée à environ 60 °C, des analyses supplémentaires seront réalisées pour confirmer cette évaluation.

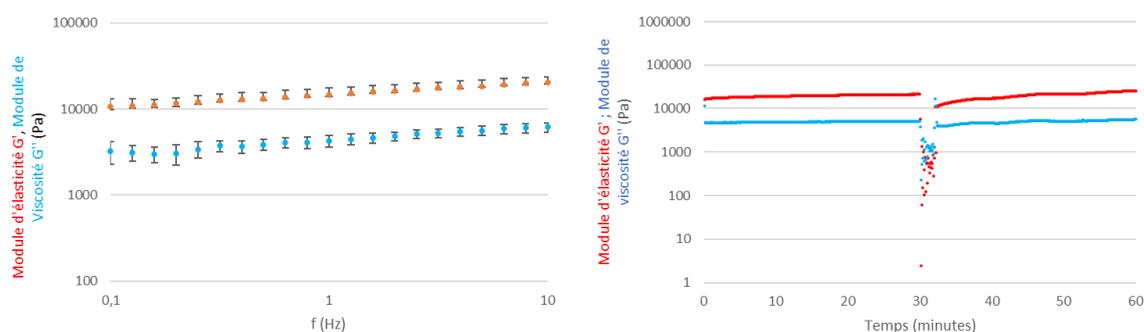


Figure 110 : Evolution des modules d'élasticité et de viscosité en fonction a) de la fréquence à une déformation appliquée de 0.1 % b) du temps pour l'oléogel issu du NL 298 dans le Miglyol 812N® à 5% m/m

L'évaluation des propriétés mécaniques de l'oléogel issu du NL **298** a montré qu'il possède de moins bonnes caractéristiques que les oléogels issus des NLs **115** et **289**. Cela pourrait être expliqué par un rôle déterminant du benzyle, qui pourrait être impliqué dans des recouvrements π - π permettant une rigidification du réseau supramoléculaire de l'oléogel tandis que le groupement propyle serait uniquement capable d'interagir par effets hydrophobes.

III.2.d. Conception d'un bis 1,4-amide-ester

Après avoir mis en évidence l'intérêt du lien 1,4-amide-ester pour sa capacité à faire gélifier le Miglyol 812N®, nous avons supposé qu'en multipliant les liens de ce type, les propriétés du matériau obtenu pourraient être décuplées. En se basant sur les résultats précédents, nous avons écarté le développement d'un NL portant deux fonctions 1,4-amide-ester en 5' et nous sommes focalisés sur la conception d'un NL présentant ce lien en position 3' et 5'. De plus, ce choix se justifie également par une synthèse nécessitant moins d'étapes. Le NL **299** a été obtenu par ouverture simultanée d'anhydride succinique en positions 3' et 5' pour conduire au bis-acide **283** intermédiaire qui a alors été couplé sans purification avec la dodécanamine sur les deux positions. Le composé **299** a été aisément obtenu avec un rendement satisfaisant de 52 % sur 2 étapes (*Schéma 81*).

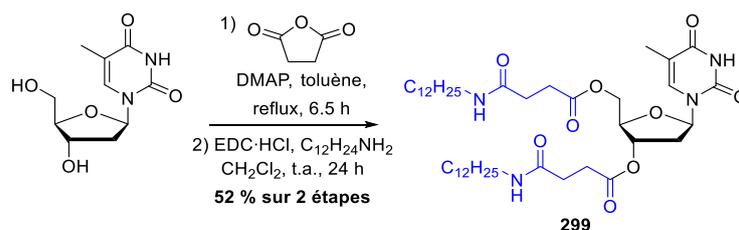


Schéma 81 : Synthèse d'un NL bis 1,4-amide-ester

Ce NL a été obtenu en deux étapes à partir de la thymidine et après une unique purification finale. Par ailleurs, son aspect poudreux a facilité son utilisation en formulation. Le NL **299** a formé un oléogel quasiment instantanément au BUS (37 kHz, 80 °C, 10 min) validant l'hypothèse que l'ajout d'un deuxième 1,4-ester-amide apporte des interactions supplémentaires, de type liaisons H, favorisant aussi l'autoassemblage. Il est possible qu'un effet cumulatif des deux couples donneurs-accepteurs de liaisons H facilitent la formation du réseau qui est observable après quelques minutes directement sous la contrainte. La cmg a été évaluée à 2 % m/m, ce qui a déjà été observé à plusieurs reprises sur les autres NLs au lien 1,4-ester-amide. Le gel à 5 % m/m gélifie immédiatement au BUS et semble hétérogène (*Figure 111*). Il est possible qu'il n'ait pas le temps de se dissoudre et que la présence des deux couples donneurs-accepteurs entraîne un autoassemblage précoce, avant la solubilisation complète du NL.



Figure 111 : Gels issus du NL 299 1,4-amide-ester en position 3' et 5' de 1 % m/m à 5 % m/m (de la gauche vers la droite)

Les images de microscopie optique effectuées avec B. Dessane ont révélé un réseau présentant une multitude de cristaux sphériques aux diamètres variés (1 μm – 100 μm) (*Figure 112*). C'est le seul NL aux propriétés gélifiantes dont le réseau n'est pas composé de fibres. Nous supposons donc que les potentielles interactions supplémentaires en position 3' permettent un autoassemblage supramoléculaire différent.

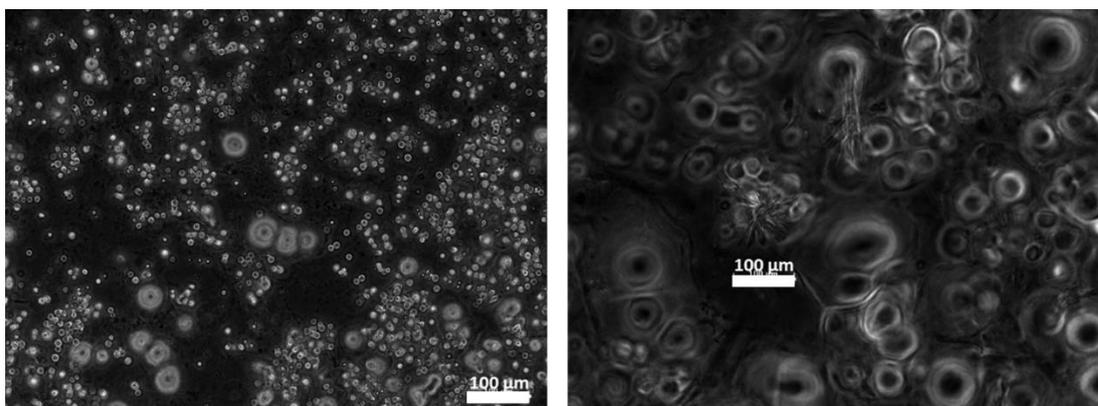


Figure 112 : Images en microscopie optique de l'oléogel issu du NL 299 portant un lien 1,4-amide-ester en 3' et 5'

Les échantillons présentés ci-dessus se sont malheureusement avérés instables dans le temps. Un déphasage a en effet été observé, un jour seulement après gélification y compris à 1 % m/m où le NL **299** était seulement solubilisé (**Figure 113**). Cette déstabilisation met en avant l'importance de l'équilibre hydrophilie/lipophilie. Jusqu'ici, le groupement en position 3' a montré un rôle d'apport en lipophilie et non en interactions supramoléculaires. De ce fait, nous supposons qu'en ajoutant les groupements potentiellement responsables de la gélification en position 3', la gélification pourrait être altérée. Cette observation pourrait notamment être cohérente avec le cas du NL **293** portant la fonction 1,4-amide-ester en position 3'. Par ailleurs, le NL **299** gélifiant trop vite (en quelques minutes), son incorporation à la formulation du projet NEOMAY était compromise.



Figure 113 : Echantillons issus du NL 299 1,4-amide-ester en position 3' et 5' de 1 % m/m à 5 % m/m 24 h après gélification (de la gauche vers la droite)

III.3. Influence de la position du groupement azoté

Les résultats obtenus à l'issue de l'étude structurale ont révélé le rôle crucial du lien amide-ester dans la gélification. En effet, le simple passage d'une fonction ester à amide a permis la découverte de toute une famille d'oléogels originaux nucléolipidiques. Cette fonction NH est à l'origine de la grande variété de propriétés physico-chimiques déjà rapportées dans la littérature pour les organogels et hydrogels nucléolipidiques. Dans l'objectif de mieux cerner le rôle majeur de ce groupement, nous avons, dans le cas de notre structure, étudié l'impact de sa position sur le lien lipide-nucléoside. Ainsi plusieurs structures nucléolipidiques ont été ciblées en faisant varier uniquement la position du NH sur la structure du NL d'origine **289**, en le plaçant notamment entre les deux fonctions carbonyles ou avant le lien dicarbonylé. (**Figure 114**).

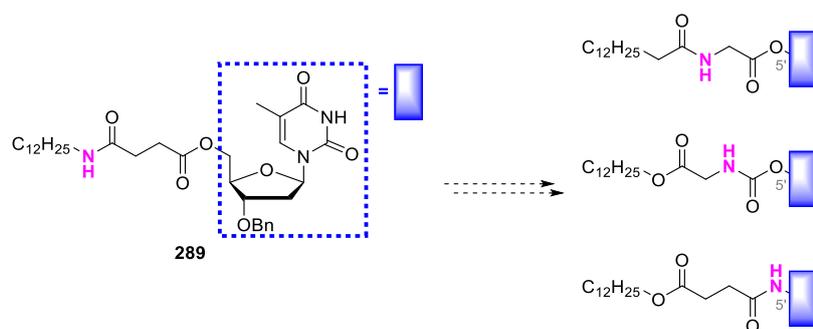


Figure 114 : Variations de la position du groupement NH sur le lien 1,4-dicarbonylé

III.3.a. Conception d'un lien 1,4-ester-amide

Dans un premier temps, la variation la plus triviale semblait être de placer l'amide en position 5'. En d'autres termes, l'objectif a été d'inverser la position de l'amide et de l'ester. Pour cela, l'alcool en position 5' du composé **111** a été remplacé par une amine. Nous avons alors sélectionné deux stratégies dans la littérature. La première stratégie ne nécessitant qu'une seule purification était d'activer l'alcool par un 3,4,5,6-tétrachlorophthalimide par réaction de Mitsunobu. En effet, ce groupement présente la caractéristique de pouvoir être clivé sélectivement dans des conditions douces. De plus, il rend souvent le produit cristallin, difficilement soluble dans un solvant organique mais isolable par simple filtration. Ensuite, l'amine libre devait être obtenue par simple clivage à l'éthylènediamine.³²⁵

La réaction a été appliquée à l'alcool **111** en présence de triphénylphosphine, d'azodicarboxylate de diéthyle (DEAD) et de 3,4,5,6-tétrachlorophthalimide. Un solide jaune a été isolé par filtration après réaction. En supposant qu'il s'agissait du composé **300** activé, la déprotection à l'éthylène diamine a été engagée dans le THF. Malgré plusieurs essais, aucune trace de l'amine **301** souhaitée n'a été obtenue (*Schéma 82*).

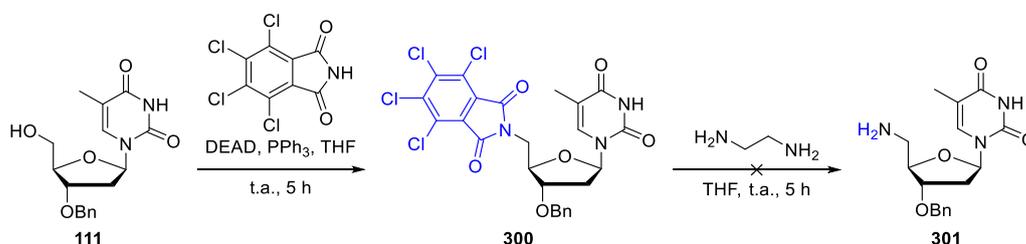


Schéma 82 : Tentative de synthèse de la 5'-amino,3'-O-benzylthymidine

³²⁵ Tetzlaff, C.N.; Schwöpe, I.; Bleczinski, C.F.; Steinberg, J.A.; Richert, C. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 4215-4218.

Par conséquent, une deuxième stratégie a été de passer par un azoture facilement introduit en position 5' par réaction d'Appel.³²⁶ Une réduction devait ensuite permettre de conduire à l'amine **301** libre. Pour cela, l'alcool **111** a été traité avec le tétrabromométhane, la triphénylphosphine et le sel d'azoture de sodium. Ainsi l'intermédiaire bromé en 5' est formé *in situ* et l'anion azoture peut alors attaquer la position 5' devenue électrophile. L'azoture **302** s'est formé aisément malgré une conversion incomplète. Un dernier traitement au ZnCl₂ a été effectué ensuite sur la nuit afin de faire précipiter l'oxyde de triphénylphosphine formé pendant la réaction.³²⁷ Après filtration et purification, l'azoture **302** a été isolé avec un rendement moyen de 47 % non optimisé. Diverses méthodes devaient nous permettre d'obtenir l'amine **301** libre. Les conditions classiques comme la réduction de Staudinger avec la triphénylphosphine ont été essayées mais le produit n'a pas été observé et nous ne sommes pas parvenus à enlever l'oxyde de triphénylphosphine.³²⁸ D'autres conditions de réduction notamment au LiAlH₄³²⁹ ou encore NaBH₄³³⁰ ont été employées conduisant à un produit en faible proportion et qui en RMN ¹H semblait correspondre à l'imine (*Schéma 83*).

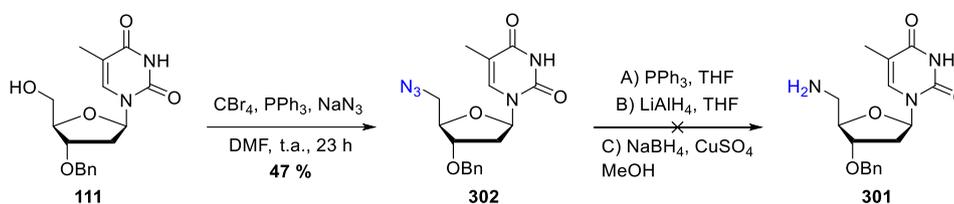


Schéma 83 : Tentatives de réduction de l'azoture en position 5'

Un dernier essai a été effectué par hydrogénation catalysée au palladium activé sur du charbon. Elle n'était pas le choix premier pour éviter la déprotection de l'éther de benzyle mais nous avons trouvé ces mêmes conditions décrites sur le même substrat dans la littérature.³³¹ Ces conditions ont permis l'obtention de l'amine libre **301** avec 90 % de rendement sans purification. Enfin, l'ouverture de l'anhydride succinique s'est effectuée avec l'amine dans des conditions douces.³³² L'acide **303** a finalement été couplé avec le dodécanol pour donner le produit d'intérêt **304** avec un rendement de 34 % sur 2 étapes (*Schéma 84*).

³²⁶ Said, H.; Guttroff, C.; El-Sagheer, A.H.; Richert, C. *Synlett* **2012**, 23, 2923-2926.

³²⁷ Batesky, D.C.; Goldfogel, M.J.; Weix, D.J. *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 9931-9936.

³²⁸ Oliver, M.; Le Corre, L.; Poinot, M.; Corio, A.; Madegard, L.; Bosco, M.; Amoroso, A.; Joris, B.; Auger, R.; Touzé, T.; Bouhss, A.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *Org. Biomol. Chem.* **2021**, 19, 58446-5866.

³²⁹ Bismuto, A.; Delcaillau, T.; Müller, P.; Morandi, B. *ACS Catal.* **2020**, 10, 4630-4639.

³³⁰ Surya Prakash Rao, H.; Siva, P. *Synth. Commun.* **1994**, 24, 549-555.

³³¹ Arzel, L.; Dubreuil, D.; Dénès, F.; Silvestre, V.; Mathé-Allainmat, M.; Lebreton, J. *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 10742-10758.

³³² Jung, Y.-H.; Jain, S.; Gopinath, V.; Phung, N.B.; Gao, Z.-G. *Bioorg. Med. Chem.* **2021**, 41, 1-7.

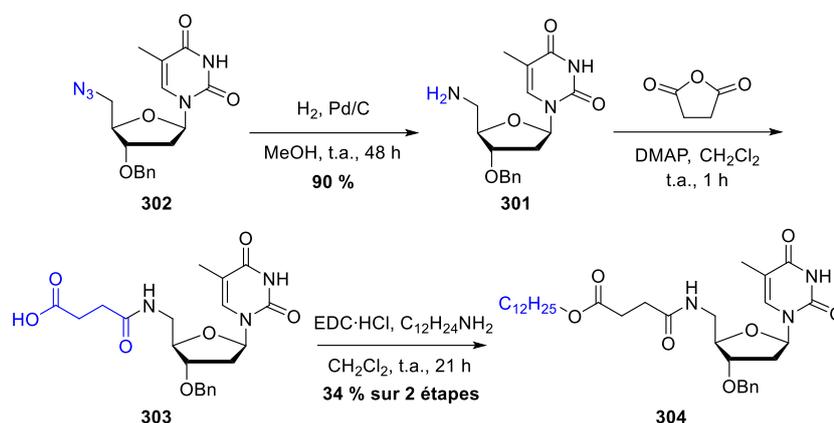


Schéma 84 : Projet de synthèse du NL portant un lien 1,4-ester-amide

Le NL **304** a été isolé sous forme de solide blanc après précipitation dans le pentane et a pu être solubilisé dans le Miglyol 812N[®] en suivant le protocole classique au BUS (37 kHz, 80 °C, 10 min). Il s'est montré soluble dans ces conditions mais après un retour une température ambiante, un recul de solubilité caractérisé par l'apparition d'un solide blanc en suspension, a eu lieu à partir de 2 % m/m (**Figure 115**). Le NL **304** n'est donc soluble dans le Miglyol 812N[®] qu'à 1 % m/m et ne présente aucune propriété gélifiante. Il semble donc qu'il y ait un réel intérêt dans la position du NH pour la solubilité et la gélification. Nous supposons qu'en possédant le NH en position 5', il y aurait peut-être trop de proximité avec le nucléoside et donc d'encombrement stérique pour permettre les potentielles liaisons H intermoléculaires qui seraient la cause majeure de la gélification qui a notamment lieu avec le NL **289**.

Figure 115 : Echantillons issus du NL 304 1,4-ester-amide de 1 % m/m à 5 % m/m dans le Miglyol 812N[®] (de la gauche vers la droite)

III.3.b. Synthèse d'un NL portant un lien 1,4-ester-carbamate

En déplaçant d'un cran le groupement NH entre les deux carbonyles, un carbamate est obtenu. Ainsi, le lien lipide-nucléoside visé est un 1,4-ester-carbamate. La première approche a consisté à synthétiser l'allyle carbamate **305**. Pour cela, une réaction avec l'isocyanate d'allyle a été effectuée à partir de

l'alcool **111** et en présence du diéthyléthérate de trifluorure de bore.³³³ Cet acide de Lewis va interagir avec la fonction isocyanate pour favoriser l'addition nucléophile de l'alcool dessus et permettre la carbamoylation. Après hydrolyse, le carbamate **305** a été obtenu avec un bon rendement de 78 %. Ensuite l'oxydation de l'alcène terminal en acide carboxylique a été tentée *via* différentes conditions alternatives à l'ozonolyse notamment par coupure oxydante catalysée par RuCl₃ et avec NaIO₄³³⁴ ou encore par oxydation catalytique au tétraoxyde d'osmium et en présence de l'oxone.³³⁵ Ces essais n'ont malheureusement pas mené à l'obtention de l'acide carboxylique **306** (*Schéma 85*).

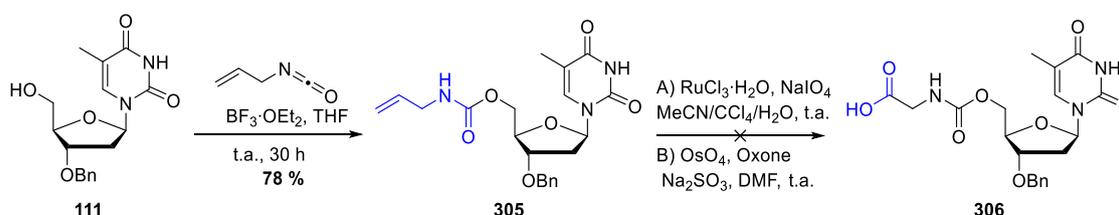


Schéma 85 : Tentatives d'oxydations d'alcène en acide carboxylique

La stratégie a alors été adaptée en passant par deux étapes. Dans un premier temps la fonction alcène a été oxydée en 1,2-diol en présence d'acide acétique, d'une quantité catalytique d'OsO₄ et stœchiométrique de *N*-oxyde de *N*-méthylmorpholine (NMO). Cette dihydroxylation d'Upjohn permet la régénération de OsO₄ par oxydation de OsO₃ issu de la dihydroxylation avec le NMO qui joue le rôle de co-oxydant.³³⁶ Le 1,2-diol **307** a ensuite été oxydé en deux temps. Un premier traitement au NaIO₄ a permis la coupure oxydante et la formation d'un intermédiaire de type aldéhyde. Ensuite une oxydation de type Pinnick a été réalisée en présence de KH₂PO₄ comme tampon pour permettre la formation *in situ* d'acide chloreux depuis le NaClO₂. HO₂Cl réagit ensuite sur l'aldéhyde pour former l'acide carboxylique **306** avec un rendement de 29 %.³³⁷ Enfin l'estérification de Steglich avec le dodécanol a conduit au NL **308** portant un lien 1,4-ester-carbamate sous forme d'huile avec un bon rendement de 82 % (*Schéma 86*).

³³³ Tamaru, Y.; Kimura, M.; Tanaka, S.; Kure, S.; Yoshida, Z. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 2838-2849.

³³⁴ Chen, Y.K.; Lurain, A.E.; Walsh, P.J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12225-12231.

³³⁵ Travis, B.R.; Narayan, R.S.; Borhan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3824-3825.

³³⁶ Chen, D.; Chow, H.Y.; Po, K.H.L.; Ma, W.; Leung, E.L.Y.; Sun, Z.; Liu, M.; Chen, S.; Li, X. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 5639-5644.

³³⁷ Brosowsky, J.; Lutterbeck, M.; Liebich, A.; Keller, M.; Herp, D.; Vogelmann, A.; Jung, M.; Breit, B. *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 16241-16245.

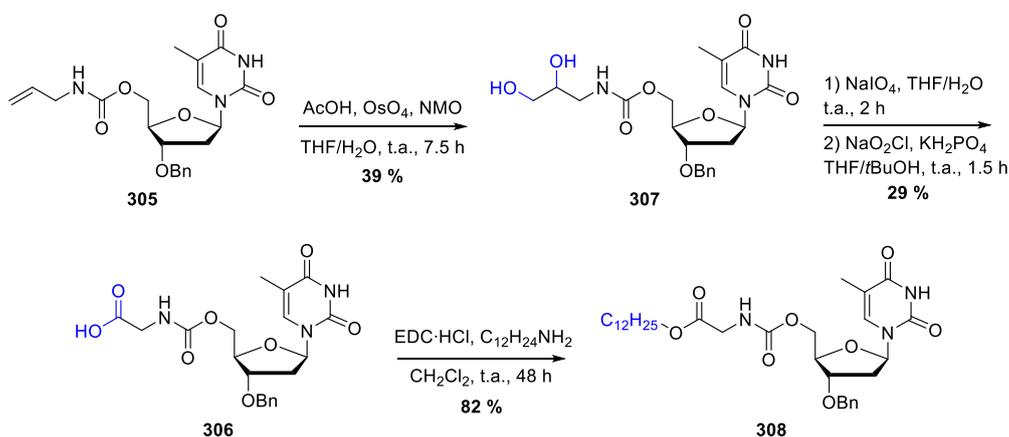


Schéma 86 : Synthèse d'un NL d'intérêt avec un lien 1,4-ester-carbamate

Il s'est avéré impossible de faire précipiter le NL **308** et ses propriétés gélifiantes n'ont alors pas pu être investigués.

III.3.c. Vers le développement d'une aza-Stetter

La dernière position du groupement NH ciblée nous a conduit à l'utilisation d'une réaction faisant écho à l'origine du projet avec la réaction de Stetter. Au cours des dernières décennies, cette réaction a été largement exploitée. Lorsque les substrats sont des composés azotés de type imine, ces réactions sont qualifiées d'azabenzoiné/acyloïne ou d'imino Stetter. Suivant la nature du dérivé azoté, plusieurs mécanismes sont possibles faisant intervenir un intermédiaire de type azaBreslow *via* une réactivité de type Umpolung directement sur une imine ou encore l'addition nucléophile de l'intermédiaire de Breslow classique sur des accepteurs azotés. De nombreux exemples intra et intermoléculaires ont été reportés ces dernières années (*Schéma 87*).³³⁸

³³⁸ (a) Albanese, D.C.M.; Gaggero, N. *Catalysts* **2018**, *8*, 1-20 ; (b) Enders, D.; Henseler, A.; Lowins, S. *Synthesis* **2009**, *24*, 4125-4128 ; (c) Patra, A.; Mukherjee, S.; Kanti Das, T.; Jain, S.; Gonnade, R.G.; Biju, A.T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1-6 ; (d) Patra, A.; Gelat, F.; Pannecoucke, X.; Poisson, T.; Besset, T.; Biju, A.T. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 1086-1089 ; (e) Fernando, J.E.M.; Nakano, Y.; Zhang, C.; Lupton, D.W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 4007-4011.

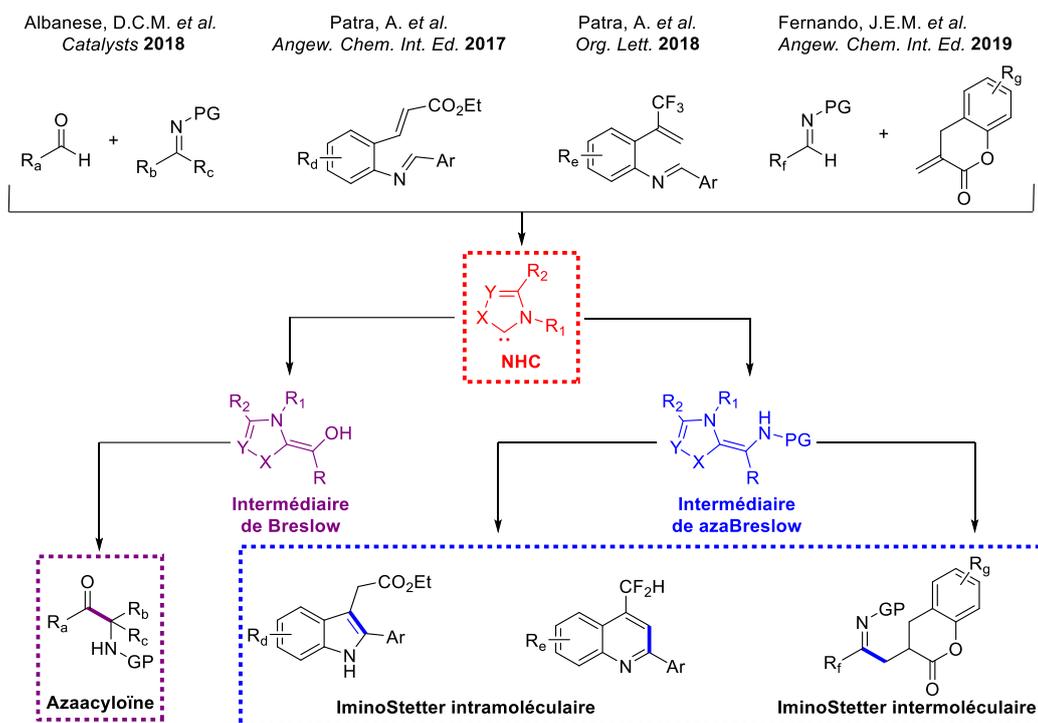


Schéma 87 : Exemples de réactions organocatalysées par un NHC avec des dérivés azotés

L'application d'une telle réaction bioinspirée pour le développement d'un lien 1,4-azoté était une évidence dans la continuité du projet de synthèse de 1,4-dicétones pour la découverte d'un LMW oléogélificateur. En 2001, le groupe de J.A. Murry a développé la synthèse de groupements α -amido-cétones catalysée par des NHC.³³⁹ Ce type de fonction se rapproche des liens visés pour la variation de position du NH. La synthèse d'un dérivé par cette réaction analogue à la réaction de Stetter conduisant au NL **115** permettrait une comparaison intéressante entre les deux structures.

Sur le plan mécanistique, cette réaction met en œuvre le couplage entre un aldéhyde **311** et un tosylamide **314**. Le carbène **310** issu du sel de thiazolium commercial **309**, attaque l'aldéhyde **311** pour effectuer une réactivité Umpolung et former l'intermédiaire de Breslow **313** après un transfert 1,2 H. Avec l'excès de base, le tosylamide **314** est en équilibre avec sa forme imine **315** et le sel se sulfinate. L'énaminol **313** attaque alors l'acylimine **315** pour donner l'intermédiaire **316**. Après un transfert 1,4-H donnant l'intermédiaire **317**, l' α -amido-cétone **318** est obtenue et le catalyseur **310** est régénéré. (Schéma 88).

³³⁹ Murry, J.A.; Frantz, D.E.; Soheili, A.; Tillyer, R.; Grabowski, E.J.J.; Reider, P.J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9696-9697.

Une fois les deux partenaires obtenus, la réaction organocatalysée par un NHC a été testée avec le sel de thiazolium **309**. Plusieurs conditions ont alors été essayées en appliquant notamment les conditions de la littérature à 35 °C avec Et₃N comme base et CH₂Cl₂ comme solvant ou encore K₂CO₃ et le THF mais aussi avec les conditions de réaction de Stetter développées pour la synthèse du NL **115**. Malgré ces essais, aucune conversion n'a malheureusement été observée. Nous supposons que l'application de cette réaction à deux partenaires aliphatiques ne permet pas la formation du produit **321** malgré la coloration orange observée (*Schéma 90*). En effet, ils sont réputés pour être moins réactifs que des substrats aromatiques et nécessitent généralement une optimisation laborieuse notamment par la conception d'un nouveau précatalyseur.

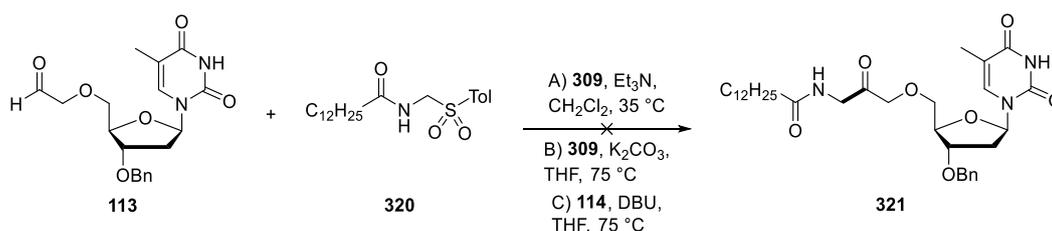


Schéma 90 : Tentatives de réactions Stetter avec un accepteur de type tosylamide

Au vu des échecs de l'application de la réaction de Stetter à un accepteur azoté, nous avons décidé de synthétiser un analogue structural, le 1,4-amidoester avec le NH à l'intérieur du lien. La glycine a été utilisée pour former un amide lipidique. Pour cela, la glycine a été couplée avec le chlorure d'acyle **322** préparé au préalable par traitement de l'acide myristique avec SOCl₂.³⁴¹ L'amide **323** a ensuite été mis en réaction avec l'alcool **111** dans les conditions de Steglich mais le produit d'intérêt **324** n'a pas été observé. Nous avons également essayé de passer par une amidification avec EDC·HCl puis par une estérification en position 5' mais le produit cible n'a toujours pas été obtenu (*Schéma 91*).

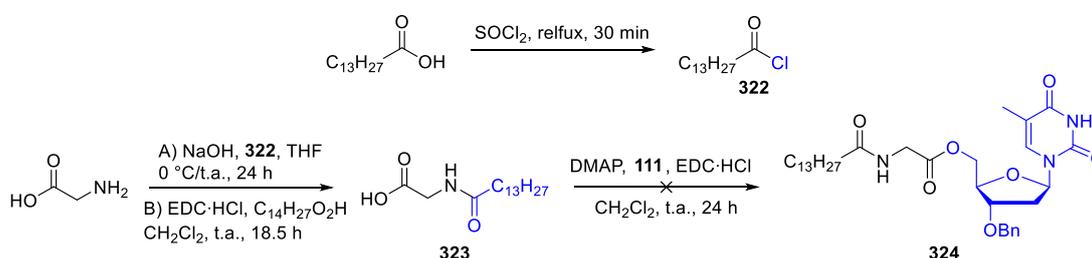


Schéma 91 : Tentatives de synthèse d'un NL au lien 1,4-amidoester depuis la glycine

³⁴¹ Schulz, J.M.; Lanovoi, H.T.; Ames, A.M.; McKegg, P.C.; Patrone, J.D. *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 1045-1048.

Un dernier essai d'insertion de la glycine comme lien lipide-nucléoside a été réalisé en l'utilisant sous forme protégée. Pour cela, l'amine libre de la glycine a été protégée en carbamate de *tert*-butyle dans une solution alcaline de soude. L'acide **325** a alors pu être couplé à l'alcool **111** dans les conditions de Steglich pour obtenir l'ester **326** avec un très bon rendement de 94 %. Le carbamate a ensuite été déprotégé en conditions acides avec du TFA. Jusqu'ici le couplage peptidique permettant l'obtention du NL **328** qui compléterait l'étude autour de la position du NH n'a malheureusement pas pu être obtenu. Au moment où ce manuscrit est finalisé, cette dernière étape est encore en cours de réalisation (*Schéma 92*).

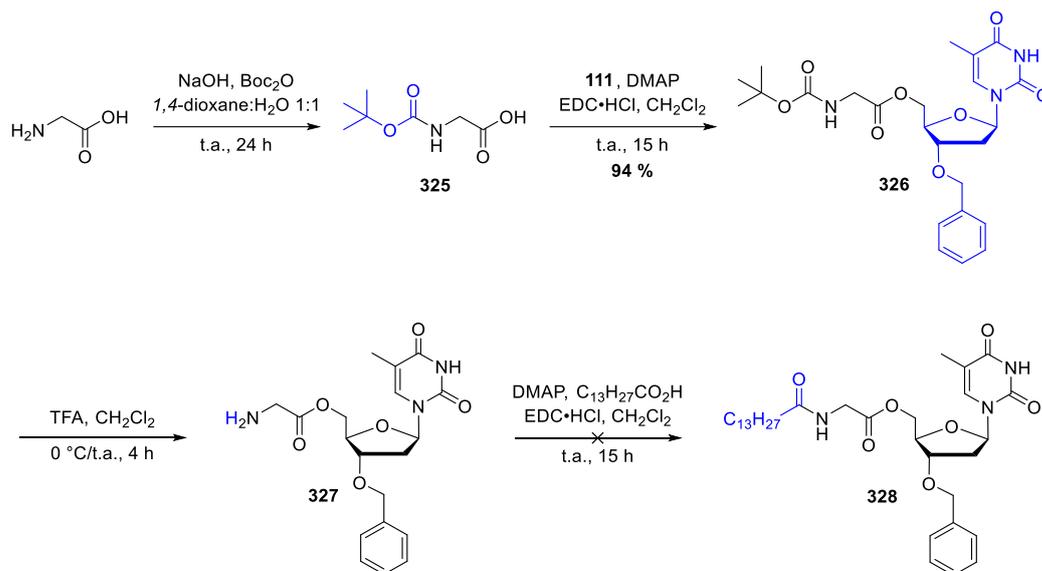


Schéma 92 : Tentative d'insertion de la glycine entre le lipide et le nucléoside

A ce jour, les différents NLs obtenus nous ont permis de mettre en évidence l'importance des liens lipide-nucléoside portant un couple donneur-accepteur de liaisons H. En effet, la découverte de la famille originale des hybrides aux liens ester-amide constitue une avancée déterminante dans la compréhension des mécanismes moléculaires et l'établissement d'un rationnel structural en ce qui concerne la gélification. Nos conclusions peuvent être corrélées au fait que les bioconjugués aux liens de type diester ont uniquement permis la formation de deux oléogels avec les composés **261** et **264**. Le passage à un lien de type ester-amide a non seulement permis la découverte d'une famille inédite d'oléogels mais également de tirer plusieurs conclusions sur l'étude structurale qui en a découlé (*Figure 116*).

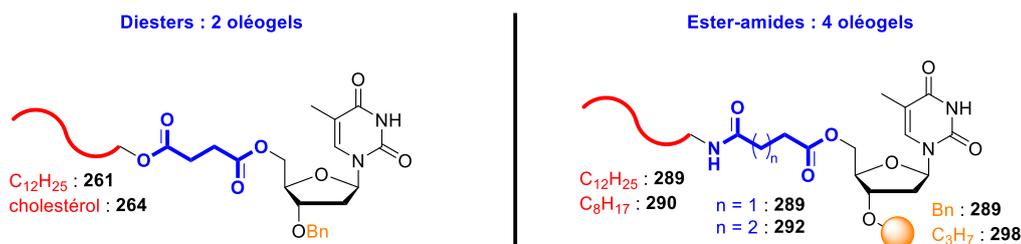


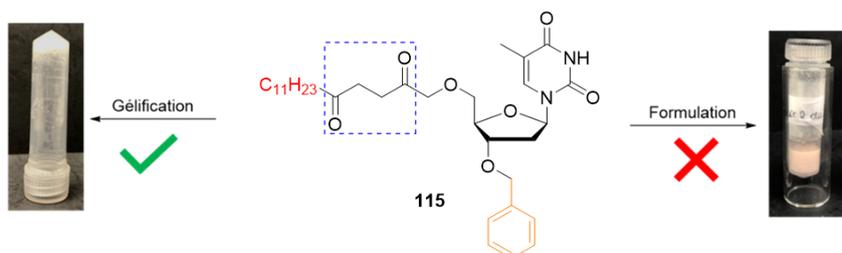
Figure 116 : Résumé des NLs aux liens diesters et ester-amides aux propriétés oléogélifiantes

Tout d'abord il est évident que le NH joue un rôle crucial dans la gélification car lorsqu'il est substitué par un autre hétéroatome (O ou S), les propriétés physico-chimiques du composé sont altérées. Par ailleurs, sa position semble devoir être distale pour permettre la gélification. Nous supposons qu'en rapprochant le NH du nucléoside, l'encombrement stérique induit, gêne la gélification du milieu huileux. Il semblerait également que pour cette famille, la balance hydrophilie/lipophilie soit un paramètre moins sensible en comparaisons aux NLs portant des liens dicétone et diester. En effet, la modification de la longueur de la chaîne lipidique ou encore du groupement lipophile altère peu, voire pas du tout, les capacités gélifiantes du NL. Enfin, le NL **292** au lien 1,5-ester-amide a démontré la non exclusivité jusqu'ici rapportée du lien de type 1,4-dicarbonylé.

CONCLUSION

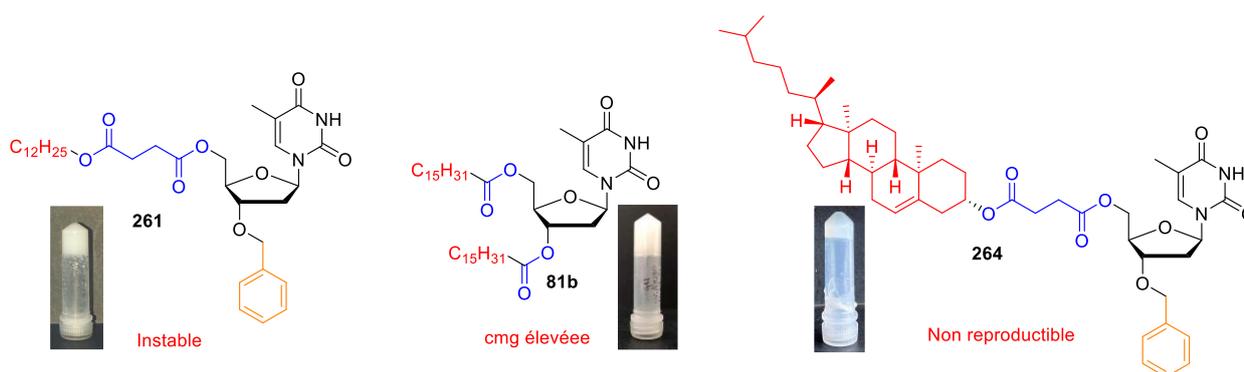
Dans le contexte du projet NEOMAY financé par l'AID et de ma thèse intitulée *Synthèse de nucléolipides oléogélifiants : conception de nanosystèmes innovants pour le traitement des intoxications à l'ypérite*, mon travail a porté sur le développement des oléogels ou plutôt de l'oléogel qui présenterait les caractéristiques idéales pour ce projet. L'obtention de ce type de matériau, issu d'un autoassemblage *via* des interactions supramoléculaires, s'est voulue bioinspirée et s'est appuyée sur les travaux et l'expertise de l'équipe ChemBioPharm dans le domaine des dérivés d'acides nucléiques. L'objectif a donc été de concevoir des molécules amphiphiles de type nucléolipides, suffisamment lipophiles pour être solubilisées en milieu huileux et capables d'interagir entre elles pour former un oléogel. La nature même de la phase dispersante de type huile constituait un premier défi puisque si la littérature fournit de nombreux exemples d'hydrogels et d'organogels supramoléculaires issus de dérivés nucléolipidiques, aucun exemple ne concerne les oléogels. Pour se faire, et compte tenu de la difficulté de conception rationnelle d'un LMWG, nous avons effectué une approche structurale par modulation pas à pas de la balance hydrophilie/lipophilie, approche souvent rapportée dans la littérature pour les autres types de gels.

La découverte par sérendipité de la capacité du composé NL **115** à former un oléogel dans le Miglyol 812N[®], nous a poussés à comprendre quelles spécificités structurales avaient conduit à la gélification. Les études par RMN du solide et DRX (effectuées par les Dr. A. Loquet et B. Kauffmann, IECB, Pessac), ont mis en évidence la présence inattendue d'un groupement énol au sein du lien 1,4-dicétone. En supposant que cet équilibre céto-énolique pouvait être à l'origine de liaisons H essentielles à l'autoassemblage, nous avons entrepris une étude structurale autour de 3 paramètres : le lien 1,4-dicétone, le lipide et le noyau aromatique. Elle nous a permis de synthétiser une dizaine de NLs mais aucun n'a révélé les propriétés physico-chimiques recherchées. Cette première étude a uniquement souligné le rôle majeur de chaque groupement du NL **115** sur la gélification, autrement dit la nécessité du benzyle en position 3', de la chaîne carbonée C₁₂, de la nucléobase intacte et du lien 1,4-dicétone. Néanmoins, le NL **115** s'étant avéré instable lors de la formulation au sein de la nanoémulsion en raison d'une réaction de Paal-Knorr *in situ* impliquant la 1,4-dicétone. Le développement d'un nouveau NL oléogélificateur s'est avéré nécessaire et le NL **115** a été abandonné pour le projet NEOMAY.

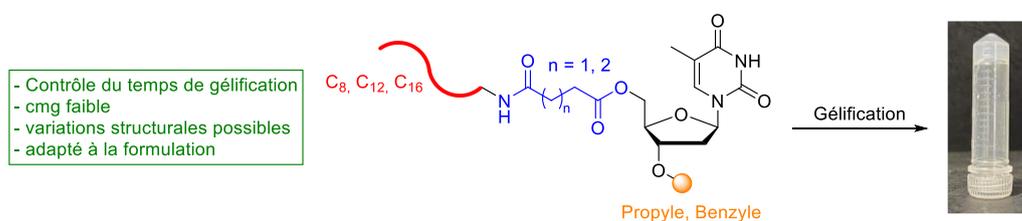


Conclusion

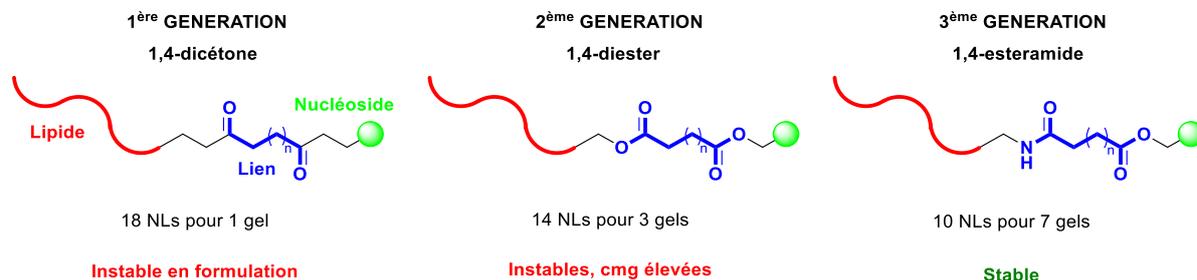
En s'appuyant sur l'importance du lien de type 1,4-dicarbonyle pour la gélification, nous avons modifié cette fonction en la remplaçant par un lien 1,4-diester. La synthèse du NL **261** a alors permis la découverte d'une seconde génération d'hybrides NLs oléogélifiants. En analysant finement l'effet de la moindre variation structurale sur le phénomène de gélification dans l'huile, nous avons modifié la balance hydrophilie/lipophilie en modulant la longueur de la chaîne lipidique, la position des groupements, la distance entre les fonctions esters et leurs nombres. Encore une fois, aucun rationnel n'a pu être déduit et ce malgré la découverte de deux autres NLs oléogélifiants. Par ailleurs, le gel issu du NL **261** s'est montré instable après 1 mois et sa cmg évoluant en fonction du lot de la molécule et de sa conservation, nous ne l'avons pas non plus retenu pour le projet. Les deux autres NLs **264** et **81b** ont respectivement conduit à des gélifications non reproductibles jusqu'ici.



Dans la continuité de l'hypothèse d'un lien lipide-nucléoside capable d'interagir *via* des liaisons H et par analogie avec le céto-énol, nous avons entrepris la conception d'un NL ayant un lien portant à la fois un donneur et un accepteur de liaisons H. Pour cela, et au vu de la présence fréquente de cette fonction dans des molécules gélifiantes, nous avons incorporé un amide à la place d'un des deux esters. Cette approche a conduit au premier NL **289** puis à la découverte de toute une famille de NLs aux propriétés oléogélifiantes notamment par la modification de la distance entre les deux fonctions complémentaires, leurs nombres et position, la longueur de la chaîne carbonée et le groupement lipophile en position 3'.



C'est donc finalement une démarche méthodique et pas à pas, basée sur l'observation en essayant d'établir une relation entre la structure du gélifiant et les propriétés physico-chimiques observées qui nous a conduits à découvrir de nouvelles générations d'oléogels et à proposer un début de rationnel.



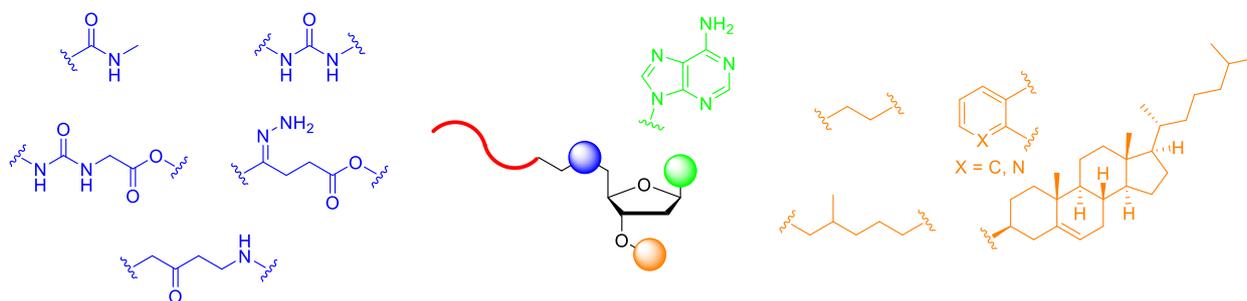
La découverte de la troisième génération de NLs aux propriétés oléogélifiantes nous a offert un large choix de possibilités pour le candidat qui serait incorporé à la formulation du projet NEOMAY. En effet, ces composés étant issus de couplage dans les conditions de Steglich, présentent l'intérêt de synthèses en conditions douces et conduisant à de bons rendements, pouvant être aisément obtenus à l'échelle de plusieurs grammes. C'est le cas du NL oléogélificateur **289**, « *hit* » de cette famille dont une dizaine de grammes a pu être obtenu. Les caractéristiques physico-chimiques des gels obtenus dans le Miglyol 812N[®] : concentration minimale de gélification faible, de l'ordre de 1,5 % m/m, le contrôle de la cinétique de gélification *via* la concentration et le fait que le composé soit non cytotoxique, en ont fait le candidat de choix pour le projet NEOMAY. La formulation galénique de la nanoémulsion multiple incorporant le NL **289** a donc pu être réalisée par B. Dessane durant son doctorat et l'évaluation de ses propriétés thérapeutiques sont en cours au sein de l'IRBA par le Dr. F. Caffin et le Pharmacien en chef (colonel) C. Piérard.

PERSPECTIVES

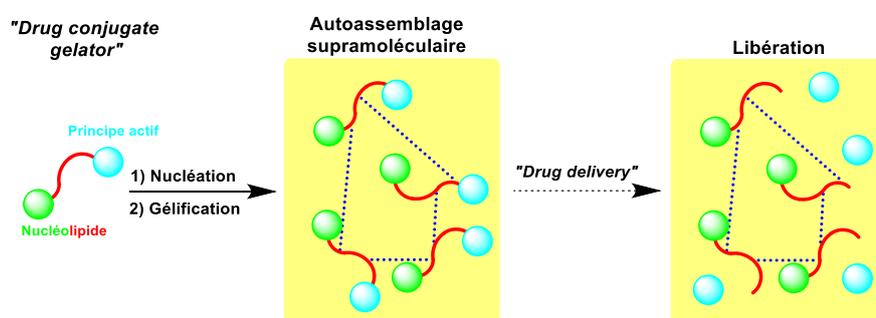
La nanoémulsion du projet NEOMAY mise au point, les résultats des essais thérapeutiques réalisés par les soins de l'IRBA nous indiqueront très prochainement l'avenir de cette formulation. Si les effets thérapeutiques escomptés sont observés, ce projet pourrait alors donner lieu à la mise sur le marché d'une potentielle thérapeutique précoce ou retardée contre les effets de l'ypérite.

Sur un plan plus fondamental concernant l'étude structurale autour de la conception de LMWGs de type NLs, nous avons mis en évidence des résultats permettant d'avancer des hypothèses intéressantes même si tout reste encore à faire pour envisager une conception rationnelle de tels matériaux. Concernant les composés ester-amides, une multitude de possibilités s'offre à nous. Dans un premier temps, la caractérisation de chaque oléogel devra être finalisée, par microscopie optique pour observer le réseau formé et au moyen de la rhéologie pour définir les paramètres mécaniques de chaque nouvel oléogel. En parallèle, des analyses par RMN du solide et DRX en collaboration avec A. Loquet et B. Kauffmann sont en cours pour essayer de comprendre les interactions responsables de la gélification de chaque composé et visualiser l'autoassemblage supramoléculaire.

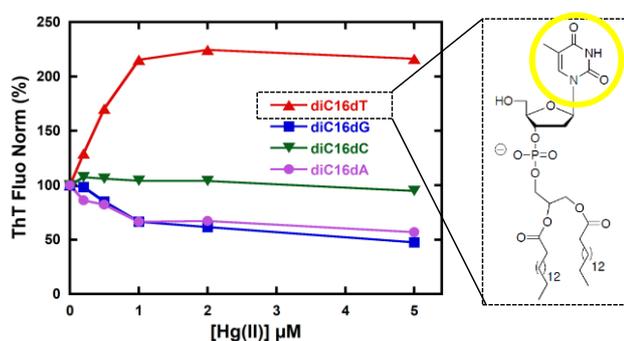
Concernant la relation entre la structure et les capacités des NLs à faire gélifier l'huile, la découverte du lien ester-amide laisse envisager la synthèse de composés aux variations structurales variées comportant un donneur et un accepteur de liaisons H. Il serait notamment intéressant d'incorporer des liens plus complexes comme les urées ou encore les hydrazones. Ces fonctions également connues dans la conception des hydrogels, pourraient apporter une balance hydrophilie/lipophilie différente tout en étant capable d'interagir par des liaisons H variées. De plus, dans l'idée de fournir des molécules faciles à synthétiser, avec des conditions douces mais aussi applicables à grande échelle, nous pensons qu'il serait pertinent de synthétiser des NLs ayant des liens encore plus simples notamment un seul amide ou un lien céto-amine. Le champ des possibles reste immense si nous parvenons à comprendre et par conséquent à rationaliser et contrôler l'influence de chaque nouveau groupement.



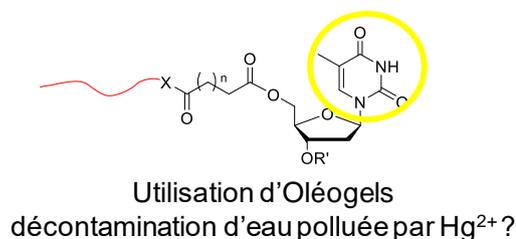
Un projet annexe qui découle de cette thèse est celui portant sur la synthèse de molécules prodrogues potentiellement oléogélifiantes dites « *drug-conjugates gelators* ». Dans ce contexte, l'incorporation de l' α -tocophérol comme partie lipidique du nucléolipide a été effectuée mais d'autres structures pourraient être explorées. En effet, d'autres molécules antioxydantes peuvent être greffées de la même façon au nucléoside. La délivrance de principes actifs antioxydants exogènes, et donc des formulations innovantes, protégeant ces molécules souvent sensibles, présente un grand intérêt dans le cadre de nombreux processus et/ou pathologies induits par ou induisant un stress oxydant. En liant les molécules potentiellement actives et le nucléolipide par des fonctions biodégradables notamment un ester qui peut être clivé par les estérases, nous espérons une libération prolongée. La découverte d'un NL de type prodrogue aux propriétés gélifiantes présenterait un grand intérêt pour la délivrance de médicaments.



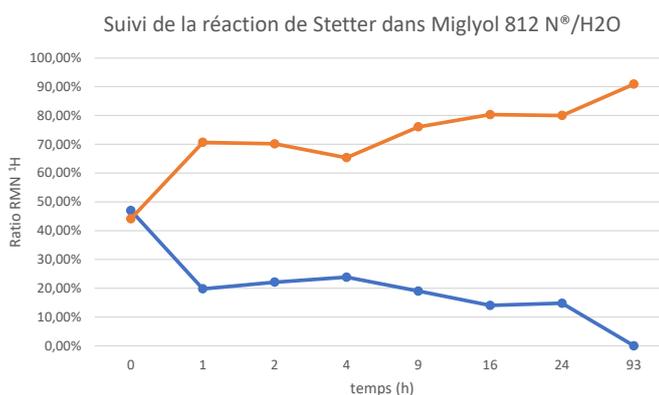
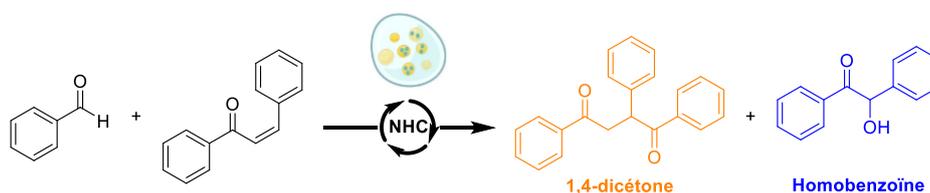
Les oléogels présentent également un intérêt dans un contexte totalement différent notamment pour la dépollution des métaux lourds. B. Aliès a notamment montré que certains hydrogels issus de nucléolipides présentaient la capacité à chélater sélectivement certains métaux lourds. Nous savons d'ores et déjà que certains de nos composés pourraient conduire à des oléogels avec des huiles de soja ou d'olive, permettant ainsi un accès à des biomatériaux innovants bioinspirés et biosourcés. L'utilisation de ces gels dans le domaine de la remédiation environnementale serait d'autant plus intéressante que la séparation d'une phase huile et d'une phase aqueuse est aisée. Des essais avec certains gels décrits dans ce manuscrit devraient avoir lieu prochainement.



Hydrogel conduisant la détection d'ions Hg^{2+}

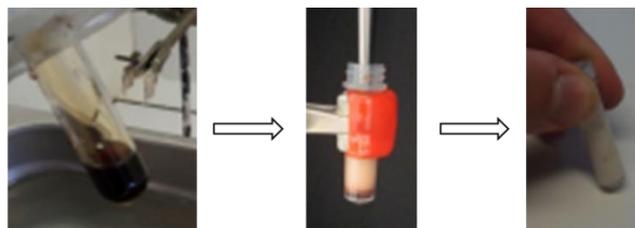


Ce travail présente donc de nombreuses perspectives dont, la plus ambitieuse peut-être, serait la suivante. Il s'agirait de combiner la synthèse d'une molécule gélifiante avec la formulation d'une NE. Pour cela, nous avons imaginé la synthèse des NLs *in situ* lors de cette étude. En s'appuyant sur des travaux préliminaires de V. Desvergnès, montrant la faisabilité de réactions chimiques au sein de microgouttelettes (organiques ou aqueuses) et notamment la réaction de Stetter³⁴², nous avons imaginé que la réaction de couplage pourrait être effectuée au sein de la nanoémulsion elle-même permettant ainsi la gélification en s'affranchissant de la difficulté d'incorporation et de formulation du gel au sein de l'émulsion. Nous avons ainsi pu effectuer plusieurs essais de la réaction de Stetter en milieu huileux sur des substrats modèles notamment le benzaldéhyde et la chalcone. Les réactions ont montré une bonne conversion ainsi qu'une grande sélectivité en faveur de la 1,4-dicétone. Les mêmes conditions ont ensuite été appliquées à un mélange Miglyol 812N[®]/eau 20 : 80, proportions d'une NE simple. Une influence du temps de réaction sur la sélectivité a alors été observée.



L'étape suivante serait alors la préparation d'une NE incorporant les réactifs nécessaires pour permettre une formation de la molécule oléogélificatrice *in situ*. L'idée ici est donc de faire des gouttelettes huileuses des petits réacteurs chimiques où se déroulerait la réaction conduisant à l'hybride gélificateur. Dans l'idéal, le milieu réactionnel servirait ensuite de phase dispersante au gélificateur formé. Au cours du procédé, notamment par sonication, l'apport d'énergie permettrait la réaction tout en dispersant les globules huileux de façon à constituer une nanoémulsion homogène. Un essai a été réalisé et a montré une coloration orange de la NE, signe de la formation de l'intermédiaire de Breslow qui a pu être confirmée par CCM.

³⁴² Debiais, M.; Hamoud, A.; Drain, R.; Barthélémy, P.; Desvergnès, V. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 40709-40718.



Incorporation des réactifs
à la phase huileuse,
solubilisation incomplète

Protocole classique
de sonication

Nanoémulsion

D'autres essais sur substrats modèles et mettant en œuvre d'autres réactions pourront être explorées (estérification ou encore couplage peptidique). Ce projet constituerait l'aboutissement d'un système de réactions éco-compatibles et plus respectueux de l'environnement de par son procédé inédit et laisserait imaginer le développement possible d'un kit de formulation adapté aux conditions du terrain.

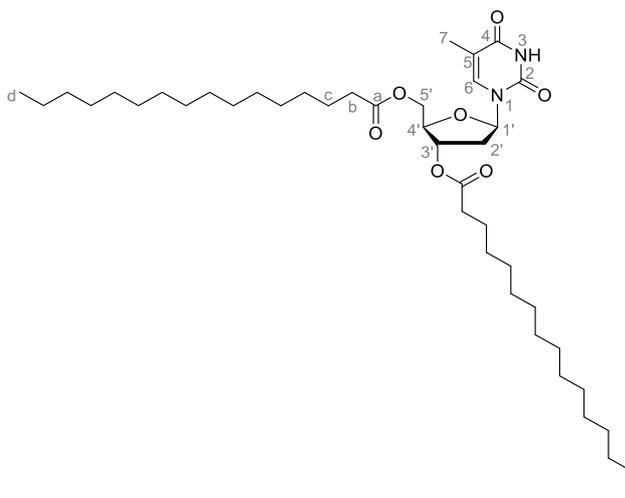
Notre travail a permis de mettre au point un oléogélateur qui a pu être incorporé à une formulation pour le traitement des intoxications aux agents vésicants. Outre cette application, il est possible d'envisager son utilisation pour d'autres applications médico-militaires notamment pour la décontamination de surface (peau et matériels) exposés à d'autres armes chimiques. Ainsi, l'oléogélificateur pourrait permettre l'incorporation de groupements complexant des métaux lourds pour traiter des intoxications à d'autres agents vésicants comme la lewisite. Il pourrait permettre le développement de formulations multiples intégrant des antidotes hydrophiles et lipophiles pour lutter contre les intoxications aux neurotoxiques organophosphorés de 4^{ème} génération (Novitchok). Il est également possible d'envisager des applications industrielles plus larges d'intérêt militaire dans des domaines comme par exemple les carburants, les explosifs, ou les anti-corrosifs. Par ailleurs, les propriétés des NLs obtenus n'ayant montré aucune propriété oléogélifiante pourront être étudiés au sein de solvants organiques plus ou moins polaires pour évaluer leur capacité à former des organogels.

PARTIE EXPERIMENTALE

General information

All reactions were carried out under an argon atmosphere (except for Johnson-Lemieux oxidation and tert-butyldimethyl silyle acidic deprotection). THF was dried over activated molecular sieves (3 Å). EtOH was distilled from magnesium. Yields refer to chromatographically and spectroscopically (^1H -NMR) homogeneous materials, unless otherwise stated. All reagent-grade chemicals were obtained from commercial suppliers and were used as received, unless otherwise stated. ^1H - and ^{13}C -NMR were recorded on a Bruker Avance 300 (^1H : 300 MHz, ^{13}C : 75.5 MHz) spectrometer using CDCl_3 as internal reference and at 293 K unless otherwise indicated. The chemical shifts (δ) and coupling constants (J) are expressed in ppm and Hz respectively. The following abbreviations were used to explain the multiplicities: s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet, br.=broad. FT-IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer FT spectrometer Spectrum two (UATR two). HRMS were recorded with a Waters Q-TOF 2 spectrometer in the electrospray ionization (ESI) mode, a Bruker maxis 4G or Thermo Fisher Q-Exactive. Analytical thin layer chromatography was performed using silica gel 60 F254 pre-coated plates (Merck) with visualization by ultraviolet light, potassium permanganate or sulfuric acid. Flash chromatography was performed on silica gel (0.043-0.063 mm).

Compound **81b**

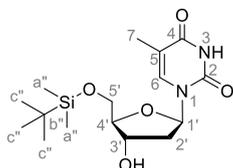


Chemical Formula: $\text{C}_{42}\text{H}_{74}\text{N}_2\text{O}_7$
Molecular Weight: 719,06

Palmitic acid (794 mg, 3.10 mmol, 3.0 eq), DMAP (151 mg, 1.24 mmol, 1.2 eq) and EDC•HCl (594 mg, 3.10 mmol, 3.0 eq) were successively added to a stirred suspension of thymidine (250 mg, 1.03 mmol, 1.0 eq) in DCM (0.1 g/mL, 2.5 mL). The mixture was stirred at room temperature during 21.5 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 20/80 to 40/60) to afford ester **81b** as a white solid (753 mg, **quant.**)

Mp : 93-95 °C ; **Rf** = 0.22 (EtOAc/P 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3043, 2917, 2850, 1751, 1734, 1718, 1676, 1470, 1432, 1404, 1390, 1363, 1315, 1279, 1264, 1221, 1197, 1177, 1134, 1104, 1076, 1000, 978, 938, 893, 871, 844, 783, 756, 720, 666, 616, 555, 496, 409 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 9.67 (s, 1H, NH-3), 7.28 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H₆), 6.32 (dd, J = 5.4, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 5.18 (td, J = 2.1, 6.6 Hz, 1H, H_{3'}), 4.40 (dd, J = 4.2, 12.3 Hz, 1H, H_{5'a}), 4.29 (dd, J = 3.3, 12.3 Hz, 1H, H_{5'b}), 4.25-4.17 (m, 1H, H_{4'}), 2.45 (ddd, J = 2.1, 5.7, 14.4 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.38-2.26 (m, 4H, H_b), 2.19-2.05 (m, 1H, H_{2'b}), 1.92 (d, J = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.72-1.52 (m, 4H, H_c), 1.38-1.12 (m, 48H, H_{aliphatic}), 0.92-0.79 (m, 6H, H_d) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 173.4 (C_a), 173.2 (C_a), 164.0 (C₄), 150.6 (C₂), 134.7 (C₆), 111.7 (C₅), 84.9 (C_{1'}), 82.4 (C_{4'}), 74.1 (C_{3'}), 63.8 (C_{5'}), 37.7 (C_{2'}), 34.2 (C_b), 34.2 (C_b), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.2 (C_{aliphatic}), 29.2 (C_{aliphatic}), 24.9 (C_c), 24.9 (C_c), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₄₂H₇₄N₂O₇ [M+H]⁺, 719.55688, found 719.55745.

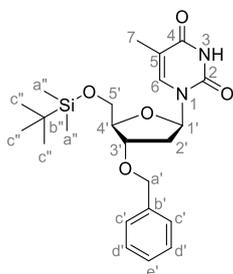
Compound 109



Chemical Formula: C₁₆H₂₈N₂O₅Si
Molecular Weight: 356.49

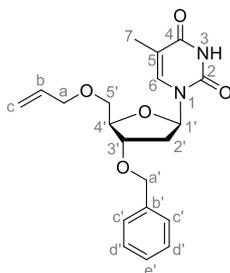
To a solution of thymidine (10 g, 41.28 mmol, 1.0 eq) in pyridine (0.05 g/mL, 200 mL) was added DMAP (catalytic amount) and *tert*-butyldimethylsilyl chloride (7.47 g, 49.54 mmol, 1.2 eq) sequentially. The reaction mixture was stirred during 17 h at room temperature. After removal of the solvent under reduced pressure, the crude reaction mixture was dissolved in DCM and washed successively with water, saturated solution of NaHCO₃ and brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure. The crude product was recrystallized in CH₂Cl₂/Pentane to afford pure compound **109** as a white solid (13.49 g, 37.84 mmol, **92 %**). Data were consistent with literature.³⁴³

Compound 110



Chemical Formula: C₂₃H₃₄N₂O₅Si
Molecular Weight: 446.62

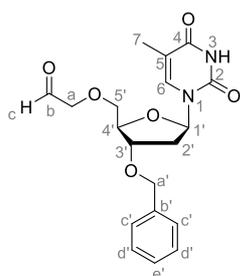
³⁴³ Roy, V.; Zerrouki, R.; Krausz, P. Nucleosides, *Nucleotides and Nucleic Acids*, **2005**, *24*, 289-301.

Compound **112**

Chemical Formula: $C_{20}H_{24}N_2O_5$
Molecular Weight: 372,42

In a vial, NaH (60% dispersion in oil, 248 mg, 6.20 mmol, 2.5 eq) was added by portions to a solution of the alcohol **111** (825mg, 2.48 mmol, 1 eq), in THF (0.1 g/mL, 8.3 mL) and the reaction mixture was activated under microwaves (CEM machine, 200 watts) at 40°C during 2 minutes. Allyl bromide (536 μ L, 6.20 mmol, 2.5 eq) was then added and the reaction medium was submitted to a second microwave activation time (60 minutes, 40°C, 200 watts). After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated aqueous solution of NH_4Cl and DCM was added (10 mL). The aqueous layer was extracted three times with DCM. The combined organic extracts were then dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40 to 50/50) to afford **112** as a colorless gum (766 mg, 2.06 mmol, **83 %**).

Rf = 0.37 (Pentane/EtOAc 50/50) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1})** 3180, 3064, 3035, 2925, 2861, 1682, 1468, 1434, 1402, 1364, 1329, 1274, 1202, 1096, 1055, 1029, 960, 914, 884, 785, 733, 698, 670, 645, 608, 558, 491 ; **1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 9.28 – 9.07 (br. s, 1H, NH-3), 7.63 (s, 1H, H_6), 7.40 – 7.27 (m, 5H, $H_{aromatic}$), 6.39 (dd, $J = 6.0, 7.8$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.97-5.82 (m, 1H, H_b), 5.32-5.18 (m, 2H, H_c), 4.54 (AB system, $J = 12.0$ Hz, 2H, $H_{a'}$), 4.28-4.21 (m, 2H, $H_{3'}/H_{4'}$), 4.06-4.01 (m, 2H, H_a), 3.74 (dd, $J = 2.4, 10.8$ Hz, 1H, $H_{5'a}$), 3.58 (dd, $J = 2.1, 10.5$ Hz, 1H, $H_{5'b}$), 2.47 (ddd, $J = 1.8, 5.7, 12.9$ Hz, 1H, $H_{2'a}$), 2.16-2.05 (m, 1H, $H_{2'b}$), 1.89 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H, H_7) ; **^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 164.0 (C_4), 150.5 (C_2), 137.6 (C_6), 136.0 ($C_{b'}$), 134.0 (C_b), 128.6 ($C_{d'}$), 128.0 ($C_{e'}$), 127.7 ($C_{c'}$), 117.6 (C_c), 110.9 (C_5), 85.3 ($C_{1'}$), 84.1 ($C_{4'}$), 79.3 ($C_{3'}$), 77.4 (C_a), 72.4 ($C_{a'}$), 70.5 ($C_{5'}$), 38.1 ($C_{2'}$), 12.7 (C_7) ; **HRMS (ESI) : Calcd. for $C_{20}H_{24}N_2O_5Na$ [$M+Na$] $^+$** 395.15774, found 395.15810.

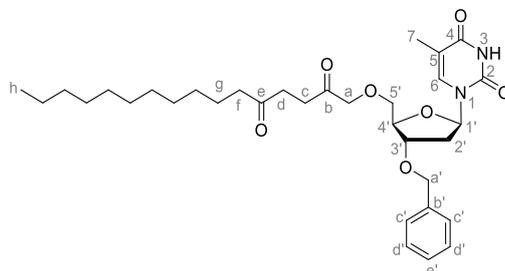
Compound **113**

Chemical Formula: $C_{19}H_{22}N_2O_6$
Molecular Weight: 374,39

2,6-lutidine (713 μL , 5.62 mmol, 2 eq) was added to a stirred solution of compound **112** (1046 mg, 2.81 mmol, 1 eq), osmium tetroxide (851 μL , 0.03 eq, 2.5 w% in *t*-BuOH), and then sodium periodate (2.14 g, 8.43 mmol, 3 eq) in a dioxane/water (3/1) mixture (0.1 M, 28.0 mL). The resulting white precipitate was stirred at room temperature during 4 h. After addition of water (15 mL), the mixture was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . The combined extracts were treated with a saturated aqueous solution of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded a black crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Toluene/Acetone 70/30 to 60/40, with some drops of Et_3N) to afford aldehyde **113** as a white foam (747 mg, 2.00 mmol, **71 %**).

Rf = 0.28 (Toluene/Acetone 70/30) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3385, 3202, 3064, 3038, 2920, 2872, 1687, 1468, 1403, 1357, 1329, 1276, 1202, 1134, 1080, 962, 910, 773, 738, 700, 604, 560, 492 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.67 (s, 1H, H_c), 9.26 (br. s, 1H, NH-3), 7.57 (s, 1H, H_6), 7.41-7.25 (m, 5H, $\text{H}_{\text{aromatic}}$), 6.37 (dd, $J = 6.0, 7.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.55 (dd, $J = 11.7, 28.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{a'}$), 4.33-4.27 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 4.26-4.16 (m, 3H, $\text{H}_{3'}/\text{H}_{a'}$), 3.81 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 3.67 (dd, $J = 3.0, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 2.46 (ddd, $J = 2.7, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 2.22-2.09 (m, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 1.88 (d, $J = 0.9$ Hz, 3H, H_7) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 198.0 (C_b), 164.1 (C_4), 150.6 (C_2), 137.6 (C_6), 136.0 ($\text{C}_{b'}$), 128.6 ($\text{C}_{d'}$), 128.1 ($\text{C}_{e'}$), 127.8 ($\text{C}_{c'}$), 111.2 (C_5), 85.4 ($\text{C}_{1'}$), 83.6 ($\text{C}_{4'}$), 79.1 ($\text{C}_{3'}$), 77.4 (C_a), 71.7 ($\text{C}_{a'}$), 71.6 ($\text{C}_{5'}$), 37.7 ($\text{C}_{2'}$), 12.6 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 397.13701, found 397.13680.

Compound **115**

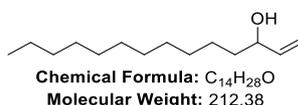


Chemical Formula: $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_7$
Molecular Weight: 584,75

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (0.3 eq., 75 mg, 0.30 mmol) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of **113** (1.5 eq., 556 mg, 1.49 mmol) in dried THF (0,5 M, 3.0 mL) was added followed by distilled DBU (0.3 eq., 44 μL , 0.30 mmol). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone (1 eq., 208 mg, 0.99 mmol) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75°C . After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (toluene/acetone 80/20) to afford the expected compound **115** as a white solid (197 mg, 0.34 mmol, **34 %**).

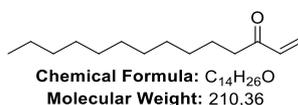
Mp : 100°C ; **Rf** = 0.16 (toluene/ acetone 80/20) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3409, 3169, 3052, 2954, 2922, 2853, 2815, 1704, 1692, 1472, 1440, 1410, 1368, 1345, 1327, 1285, 1263, 1239, 1206, 1136, 1098, 1054, 1015, 962, 906, 854, 817, 786, 746, 696, 663, 619, 602, 562, 500, 472, 450; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 8.10 (brs, 1H, NH-3), 7.70 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H₆), 7.40 – 7.29 (m, 5H, H_{aromatic}), 6.39 (dd, $J = 6.0, 8.4$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.55 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.35-4.20 (m, 4H, H_{3'/H4'/H_a}), 3.79 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, H_{5'a}), 3.64 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, H_{5'b}), 2.81-2.74 (m, 2H, H_d), 2.59-2.51 (m, 2H, H_c), 2.49-2.39 (m, 3H, H_{2'a/H_f}), 2.20-2.09 (m, 1H, H_{2'b}), 1.86 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇), 1.61-1.49 (m, 2H, H_g), 1.37-1.16 (m, 16H, H_{aliphatic}), 0.91-0.83 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 209.5 (C_e), 205.8 (C_b), 163.9 (C₄), 150.5 (C₂), 137.7 (C_{b'}), 136.3 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 83.8 (C_{4'}), 79.6 (C_{3'}), 75.9 (C_a), 71.6 (C_{a'}), 71.5 (C_{5'}), 42.7 (C_f), 37.7 (C_{2'}), 36.1 (C_d), 32.1 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 23.9 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₃₃H₄₉N₂O₇[M+H]⁺ 585.35343, found 585.35426.

Compound 116



Dodecyl aldehyde was previously purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1 with some drops of Et₃N). At -78 °C, a solution of Vinylmagnesium bromide (3 eq., 15.0 mL, 15.0 mmol) in THF (1.0 M) was added dropwise to a stirred solution of dodecyl aldehyde (1 eq., 1.00 g, 4.99 mmol) in THF (0.3 M, 16.7 mL). After 3.5 h at -78 °C, the reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and allowed to be warmed up to room temperature. The aqueous layer was extracted three times with DCM. The combined organic extracts were then dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 98/2 to 95/5 with some drops of Et₃N) to afford the intermediate vinyl alcohol as a colorless oil (919.1 mg, 4.33 mmol, **87 %**). Data were consistent with literature.²⁶⁸

Compound 117



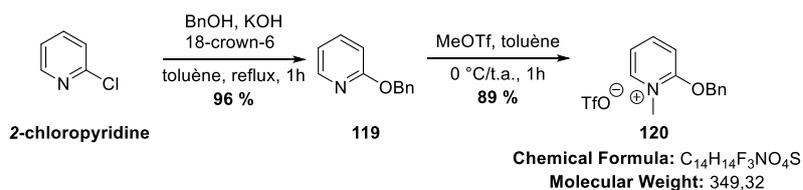
Method A following literature procedure²⁷⁸ : SIBX (49 %, 1.7 eq., 1.70 g, 2.97 mmol) was added by portions to a stirred solution of the alcohol **116** (1 eq., 370.6 mg, 1.74 mmol) in a THF/DMSO (9/1) mixture (0.14 M, 12.5 mL). After 6.5 h at room temperature, reaction mixture was filtered and washed 3 times with DCM. Filtrate was concentrated under reduced pressure, dissolved again in dichloromethane, washed 4 times with a saturated solution of NaHCO₃ and once with. Organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1

with some drops of Et₃N) to afford enone **117** as a colorless oil (294 mg, 1.40 mmol, **80 %**). Data were consistent with literature.²⁶⁸

Method B : At -78 °C, oxalyl chloride (1.5 eq, 0.256 mL, 3.0 mmol) was added dropwise to a stirred solution of DMSO (2.5 eq, 0.350 mL, 4.96 mmol) in DCM (3.0 mL). After 15 min, a solution of the alcohol **116** (1 eq, 421.4 mg, 1.98 mmol) in DCM (1.0 M, 2.0 mL) was added dropwise. After 30 min, Et₃N (6 eq, 1.66 mL, 11.9 mmol) was slowly added. After 1 h at -78 °C, the mixture could be warmed up to room temperature and quenched with a saturated solution of NH₄Cl. Layers were separated, and organic layer was washed with HCl (1N). Aqueous layer was extracted 3 times with DCM. Organic layers were combined, washed with a saturated solution of NaHCO₃, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1 with some drops of Et₃N) to afford enone **117** as a colorless oil (336 mg, 1.60 mmol, **81 %**). Data were consistent with literature.²⁶⁸

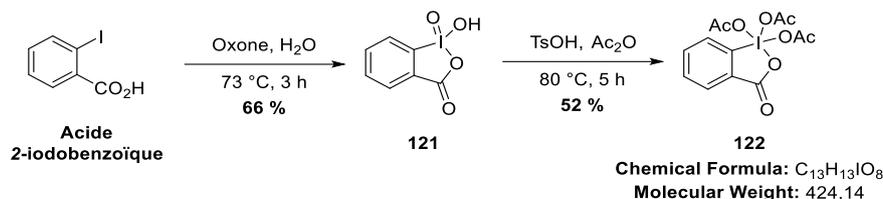
S. Quideau's lab (ISM, University of Bordeaux CNRS-UMR 5255) is warmly acknowledged for kindly providing SIBX used for the synthesis of enone **117**.

Compound **120**



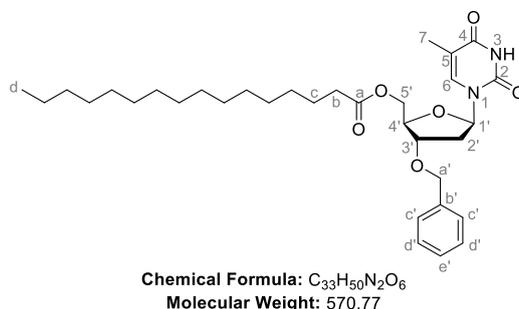
Chloropyridine (5.5 mL, 58 mmol, 1 eq), BnOH (6.6 mL, 63.8 mmol, 1.1 eq), KOH (6.51 g, 116 mmol, 2 eq), 18-crown-6 (613 mg, 2.32 mmol, 0.04 eq) and toluene (71 mL) were charged in a flask. The reaction mixture was stirred during 1 h at reflux with a Dean-Stark. The mixture was cooled down to 0 °C and quenched with water. Toluene was added and layers were separated. Organic layer was washed with a 10 w% solution of KCl. Organic layer was collected, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was collected and purified together by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 5/95) to afford compound **119** as a yellow oil (10.32 g, 55.7 mmol, **96 %**).

At 0 °C, MeOTf (6.55 mL, 58.0 mmol, 1.05 eq) was added dropwise to a stirred solution of compound **119** (10.22 g, 55.2 mmol, 1 eq) in toluene (0.1 M, 55.2 mL). The reaction became white and mass increases because of quick salt formation. The reaction mixture was stirred during 1 h at room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was filtered with toluene to afford salt **120** as a white solid (17.25 g, 49.4 mmol, **89 %**). Data were consistent with literature.²⁷⁶

Compound **122**

2-iodoxybenzoic acid (1 g, 4.03 mmol, 1 eq) was added to a stirred solution of oxone (1.80 g, 5.49 mmol, 1.45 eq) in water (0.3 M, 18.3 mL). The reaction mixture was stirred during 3 h at 73 °C. It became white and highly viscous. After being cooled at 0 °C, the reaction mixture was stirred during 1.5 h at 0 °C. The mixture was filtered and washed 6 times with water and 2 times with acetone. The filtrate was treated with Na₂SO₃ and a solution of NaOH (1N). The residue was dried to the bench during 2 days to afford compound **121** as a white powder (750 mg, 2.68 mmol, **66 %**). Data were consistent with literature.²⁷⁷

TsOH (3.7 mg, 0.02 mmol, 1 w%) was added to a stirred solution of compound **121** in Ac₂O (0.25 g/mL). The reaction mixture was stirred during 5 h at 80 °C. After being cooled down to room temperature, the mixture was filtered and washed with Et₂O to afford the resulting residue which was immediately put in an inert flask circled with aluminum foil as Dess-Martin Periodinane **122** (337 mg, 0.79 mmol, **52 %**). Data were consistent with literature.²⁷⁷

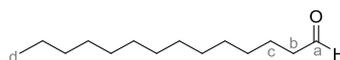
Compound **124**

Palmitic acid (836 mg, 3.25 mmol, 1.5 eq), DMAP (159 mg, 1.30 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (625 mg, 3.25 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of alcohol **111** (722 mg, 2.17 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 g/mL, 7.22 mL). The mixture was stirred at room temperature during 63 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60) to afford ester **124** as a white solid (1.21 g, 2.12 mmol, **98 %**).

Mp : 65-68 °C ; **R_f** = 0.39 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3169, 3119, 3046, 2919, 2851, 1739, 1720, 1690, 1658, 1496, 1457, 1423, 1400, 1387, 1368, 1330, 1311, 1276, 1251, 1207, 1157, 1135, 1082, 1055, 1027, 1007, 962, 936, 888, 870, 780, 737, 698, 652, 610, 556, 492, 466, 445, 422 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)**; 8.65 (s, 1H, NH-3), 7.41-7.28 (m, 6H, H_{aromatics}/H₆), 6.28 (dd, *J* = 6.0, 7.8 Hz, 1H, H₁), 4.54 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.36-4.21 (m, 3H, H_{3'/5'}),

4.12-4.06 (m, 1H, $H_{4'}$), 2.53 (ddd, $J = 2.7, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, $H_{2'a}$), 2.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H_b), 2.08-1.96 (m, 1H, $H_{2'b}$), 1.92 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7), 1.71-1.55 (m, 2H, H_c), 1.37-1.16 (m, 24H, $H_{\text{aliphatics}}$), 0.92-0.83 (m, 3H, H_d) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 173.1 (C_a), 164.1 (C_4), 150.5 (C_2), 137.2 ($C_{b'}$), 135.1 (C_6), 128.4 ($C_{d'}$), 127.9 ($C_{e'}$), 127.6 ($C_{c'}$), 110.9 (C_5), 85.4 ($C_{1'}$), 82.1 ($C_{4'}$), 78.3 ($C_{3'}$), 71.4 ($C_{a'}$), 63.8 ($C_{5'}$), 37.5 ($C_{2'}$), 34.0 (C_b), 31.8 ($C_{\text{aliphatic}}$), 29.6 ($C_{\text{aliphatic}}$), 29.5 ($C_{\text{aliphatic}}$), 29.5 ($C_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($C_{\text{aliphatic}}$), 29.3 ($C_{\text{aliphatic}}$), 29.1 ($C_{\text{aliphatic}}$), 29.0 ($C_{\text{aliphatic}}$), 24.7 (C_c), 22.6 ($C_{\text{aliphatic}}$), 14.0 (C_d), 12.5 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 571.37500, found 571.37301.

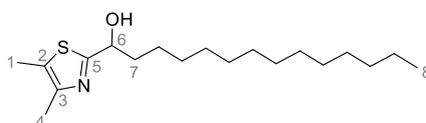
Compound 142



Chemical Formula: $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}$
Molecular Weight: 212,38

PCC (4.82 g, 22.4 mmol, 1.6 eq) was added to a stirred solution of tetradecanol (3.00 g, 14.0 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 M, 140 mL). The reaction mixture was stirred during 6 h at room temperature. Et_2O was added and mixture was filtered through a pad of florisil. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford tetradecanal **142** as a yellow oil without further purification (2.88 g, 13.6 mmol, **97 %**). Data were consistent with literature.³⁴⁴

Compound 143



Chemical Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{NOS}$
Molecular Weight: 325,56

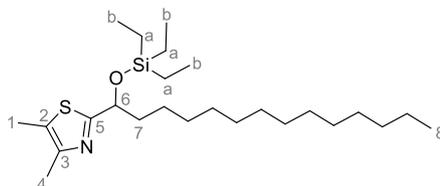
At -78 °C, a solution of *n*-BuLi (425 μL , 0.97 mmol, 1 eq, 2.5 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of 4,5-dimethylthiazole (102 μL , 0.97 mmol, 1 eq) in THF (0.2 M, 4.85 mL). The reaction mixture was stirred during 1 h at -78 °C. Tetradecanal (605 mg, 2.85 mmol, 3 eq) was added to the mixture before warming up to room temperature. The mixture was stirred during 4h at room temperature. Mixture was quenched with water and EtOAc was added. Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times. Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was collected and purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 5/95 to 10/90 to 30/70) to afford alcohol **143** as a white solid (301 mg, 0.93 mmol, **96 %**).

Mp : $70-72$ °C ; **Rf** = 0.26 (EtOAc/Pentane 15/85) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3374, 2954, 2917, 2873, 2851, 2705, 1711, 1563, 1471, 1457, 1377, 1362, 1319, 1286, 1270, 1203, 1194, 1173, 1133, 194, 1075, 1068, 1023, 983, 947, 931, 895, 875, 822, 765, 744, 719, 702, 667, 654, 637, 590, 581, 541, 508, 489, 461 ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 4.80 (dd, $J = 5.1, 7.5$ Hz, 1H, H_6), 4.19 (brs, 1H, OH-6), 2.29 (s, 3H, H_1), 2.24 (s, 3H, H_4), 1.86-1.73 (m, 2H, H_7), 1.36-1.15 (m, 22H, $H_{\text{aliphatic}}$), 0.91-0.81 (m, 3H, H_8) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 171.2 (C_5), 147.2 (C_3), 126.0 (C_2),

³⁴⁴ Chen, J.; Li, Y.; Cao, X-P. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, *17*, 93-941.

71.6 (C₆), 38.4 (C₇), 32.0 (C_{aliphatic}), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 25.5 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.6 (C₄), 14.2 (C₈), 11.4 (C₁) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₉H₃₆NOS [M+H]⁺, 326.25121 found 326.25150.

Compound 144

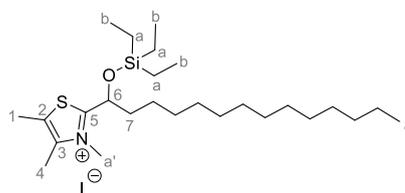


Chemical Formula: C₂₅H₄₉NOSSi
Molecular Weight: 439,82

TESCl (861 μ L, 5.13 mmol, 1.5 eq) and imidazole (279 mg, 4.10 mmol, 1.2 eq) were added to a stirred solution alcohol **143** (1.11 g, 3.42 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 3.42 mL). The mixture became white with a white precipitate. The reaction mixture was stirred during 24 h at room temperature. EtOAc was added and the mixture was washed with a saturated solution of NaHCO₃ 2 times and Brine once. Organic layer was collected, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was collected and purified together by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 10/90) to afford compound **144** as a colorless oil (1.37 g, 3.11 mmol, **92 %**).

R_f = 0.93 (EtOAc/Pentane 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2923, 2864, 1553, 1460, 1337, 1236, 1195, 1088, 1008, 816, 729, 586 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 4.87 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, H₆), 2.28 (s, 3H, H₁), 2.25 (s, 3H, H₄), 1.81-1.70 (m, 2H, H₇), 1.36-1.15 (m, 22H, H_{aliphatic}), 0.95-0.87 (m, 9H, H₈/H_a), 0.64-0.51 (m, 3H, H_b) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.4 (C₅), 147.2 (C₃), 125.3 (C₂), 73.2 (C₆), 39.8 (C₇), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 24.9 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.8 (C₄), 14.2 (C₈), 11.4 (C₁), 6.9 (C_a), 4.9 (C_b) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₅H₄₉NOSSi [M+H]⁺, 440.33769 found 440.33808.

Compound 145



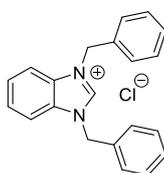
Chemical Formula: C₂₆H₅₂INOSSi
Molecular Weight: 581,76

MeI (3.85 mL, 62.4 mmol, 20 eq) was added to compound **144** (1.37 g, 3.12 mmol, 1 eq). The mixture was stirred during 43 h at 45 °C. It became progressively orange. Mixture was stirred during 5 h at

60 °C before being cooled down to room temperature. Et₂O was added and mixture was triturated several times to afford salt **145** as a yellow solid (1.76 g, 3.03 mmol, **97 %**).

Mp : 63-65 °C; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3488, 2920, 2864, 1607, 1460, 1377, 1244, 1084, 1017, 956, 866, 736, 463 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 5.54 (dd, *J* = 3.9, 6.0 Hz, 1H, H₆), 4.23 (s, 3H, H_{a'}), 2.58 (s, 3H, H₄), 2.48 (s, 3H, H₁), 2.01-1.78 (m, 2H, H₇), 1.35-1.15 (m, 22H, H_{aliphatic}), 1.01-0.92 (m, 9H, H_b), 0.90-0.83 (m, 3H, H₈), 0.78-0.66 (m, 6H, H_a), ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 177.6 (C₅), 143.9 (C₃), 130.1 (C₂), 70.9 (C₆), 41.0 (C_{a'}), 37.1 (C₇), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 24.1 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C₈), 13.7 (C₄), 12.8 (C₁), 7.0 (C_b), 5.0 (C_a) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₆H₅₂NOSSi [M]⁺, 454.35334 found 454.35401.

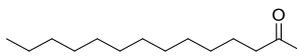
Compound **147**



Chemical Formula: C₂₁H₁₉ClN₂
Molecular Weight: 334,85

K₂CO₃ (877 mg, 6.35 mmol, 1.5 eq) and benzyl chloride (536 μ L, 4.66 mmol, 1.1 eq) were added successively to a stirred solution of benzimidazole (500 mg, 4.23 mmol, 1 eq) in MeCN (0.66 M, 6.41 mL). The suspension was stirred at 90 °C during 24 h. The mixture was allowed to be cooled down to room temperature before being filtered through a pad of celite in a pipette glassware. The resulting solution was dissolved in MeCN (2.53 mL) and benzyl chloride (536 μ L, 4.66 mmol, 1.1 eq) was added. The mixture was stirred at reflux during 24 h. The reaction mixture was filtered and washed several times with Et₂O to afford benzimidazolium salt **147** (1.00 g, 2.99 mmol, **71 %**) as a beige powder. Data were consistent with literature.³⁴⁵

Compound **155**



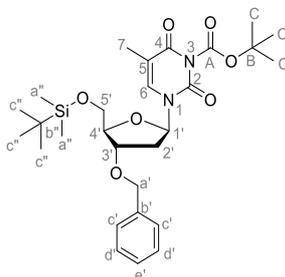
Chemical Formula: C₁₄H₂₈O
Molecular Weight: 212,38

A solution of 2-tetradecanol (500 mg, 2.33 mol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.48 M, 4.83 mL) was added dropwise to a stirred solution of PCC (754 mg, 3.50 mmol, 1.5 eq) in CH₂Cl₂ (0.72 M, 4.83 mL). The brown mixture was stirred at room temperature during 7.5 h. Et₂O was added, and the suspension was filtered through a pad of florisil with Et₂O. Filtrate was concentrated under reduced pressure to afford

³⁴⁵ (a) Lima, H.M.; Lovely, C.J.; *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5736-5739 ; (b) Narouz, M.R.; Osten, K.M.; Unsworth, P.J.; Man, R.W.Y.; Salorinne, K.; Takano, S.; Tomihara, R.; Kaappa, S.; Malola, S.; Dinh, C-T.; Padmos, J.Daniel.; Ayoo, K.; Garrett, P.J.; Nambo, M.; Horton, J.H.; Sargent, E.H.; Häkkinen, H.; Tsukuda, T.; Crudden, C.M. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 419-425.

the crude. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 5/95) to afford ketone **155** as a white solid (461 mg, 2.17 mmol, **93 %**). Data were consistent with literature.³⁴⁶

Compound **159**

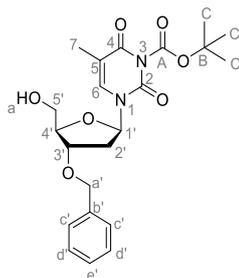


Chemical Formula: C₂₈H₄₂N₂O₇Si
Molecular Weight: 546,74

DMAP (5.5 mg, 0.05 mmol, 0.2 eq) and Boc₂O (146.0 mg, 0.67 mmol, 3 eq) were successively added to a stirred solution of compound **110** (99.6 mg, 0.22 mmol, 1 eq) in MeCN (1.0 M, 0.25 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 18.5 h. Resulting orange mixture was concentrated under reduced pressure and dissolved in EtOAc. Organic layer was washed with a saturated solution of NH₄Cl, NaHCO₃ and brine. Resulting organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 10/90 to 15/85) to afford compound **159** as a colorless gum (107 mg, 0.195 mmol, **88 %**).

R_f = 0.22 (EtOAc/Pentane 10/90) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2938, 2842, 1784, 1669, 1450, 1375, 1253, 1135, 1074, 1005, 921, 834, 774, 740, 574 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 7.50 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₇), 7.38-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.29 (dd, *J* = 5.4, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 4.51 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.19-4.11 (m, 2H, H_{3'/4'}), 3.88 (dd, *J* = 2.4, 11.4 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.72 (dd, *J* = 2.4, 11.4 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.50 (ddd, *J* = 1.8, 5.4, 13.2 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.03-1.94 (m, 1H, H_{2'b}), 1.91 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.60 (s, 9H, H_C), 0.89 (s, 9H, H_{C''}), 0.06 (d, *J* = 4.8 Hz, 6H, H_{a''}) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 161.4 (C₄), 148.5 (C₂), 148.1 (C_A), 137.4 (C_{b'}), 134.8 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 110.5 (C₅), 86.7 (C_B), 85.5 (C_{1'}), 85.4 (C_{4'}), 78.8 (C_{3'}), 71.3 (C_{a'}), 63.6 (C_{5'}), 38.1 (C_{2'}), 27.5 (C_C), 26.6 (C_{c''}), 18.4 (C_{b''}), 12.7 (C₇), -5.4 (C_{a''}), -5.5 (C_{a''}) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₈H₄₂N₂O₇Si [M+H]⁺, 547.28340, found 547.28292.

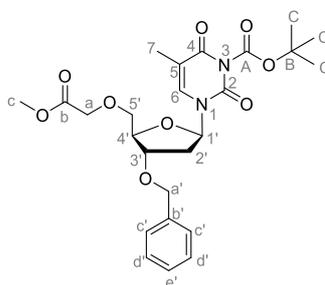
³⁴⁶ Géant, P-Y.; Grenet, E.; Martínez, J.; Salom-Roig, X.J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2016**, *27*, 22-30.

Compound **160**

Chemical Formula: $C_{22}H_{28}N_2O_7$
Molecular Weight: 432,47

At 0 °C, a solution of TBAF (6.95 mL, 6.95 mmol, 1 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of compound **159** (3.80 g, 6.95 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 6.95 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h. Mixture was quenched with H₂O before and CH₂Cl₂ was added. Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Petroleum ether 50/50 to 70/30) to afford alcohol **160** (2.67 g, 6.17 mmol, **89 %**) as a colorless gum.

R_f = 0.40 (EtOAc/Pentane 70/30); **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3492, 2927, 1782, 1709, 1658, 1567, 1450, 1371, 1253, 1140, 1088, 907, 842, 729, 639, 576, 459, 440; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 7.58 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₇), 7.36-7.23 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.19 (dd, *J* = 6.0, 7.5 Hz, 1H, H_{1'}), 4.50 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.27-4.20 (m, 1H, H_{3'}), 4.15-4.09 (m, 1H, H_{4'}), 3.85 (dd, *J* = 2.7, 11.7 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.70 (dd, *J* = 3.0, 12.0 Hz, 1H, H_{5'b}), 3.00 (brs, 1H, H_a), 2.42 (ddd, *J* = 2.7, 6.0, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.25-2.11 (m, 1H, H_{2'b}), 1.87 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.57 (s, 9H, H_C); **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 161.4 (C₄), 148.5 (C₂), 148.0 (C_A), 137.5 (C_{b'}), 136.1 (C₆), 128.5 (C_{d'}), 127.9 (C_{e'}), 127.6 (C_{c'}), 110.5 (C₅), 86.9 (C_B), 86.5 (C_{1'}), 85.2 (C_{4'}), 78.7 (C_{3'}), 71.4 (C_{a'}), 62.5 (C_{5'}), 37.6 (C_{2'}), 27.3 (C_C), 12.5 (C₇); **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₂₂H₂₈N₂O₇ [M+H]⁺, 433.19693, found 433.19623.

Compound **161**

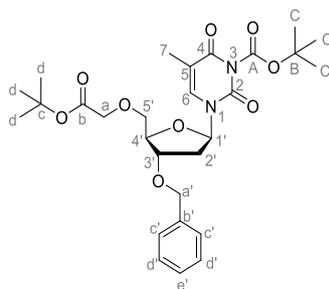
Chemical Formula: $C_{25}H_{32}N_2O_9$
Molecular Weight: 504,55

At 0 °C, NaH (11.6 mg, 0.289 mmol, 2.5 eq) was slowly added to a stirred solution alcohol **160** (50.0 mg, 0.116 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 11.6 mL). The suspension was stirred at 0 °C during 30 min. Methyl bromoacetate (27.4 μ L, 0.289 mmol, 2.5 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature during 19 h before being quenched with a saturated solution of NH₄Cl. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂.

Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/Petroleum ether 30/70 to 40/60) to afford compound **161** (41.2 mg, 0.082 mmol, **71 %**) as a colorless gum.

R_f = 0.27 (EtOAc/Pentane 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2928, 1774, 1661, 1593, 1443, 1373, 1244, 1140, 1079, 1005, 909, 844, 734, 581, 462, 437 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 7.71 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₇), 7.39-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.36 (dd, *J* = 5.7, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 4.54 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.34-4.29 (m, 1H, H_{3'}), 4.26-4.21 (m, 1H, H_{4'}), 4.12 (s, 2H, H_a), 3.82 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.75 (s, 3H, H_c), 3.67 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.48 (ddd, *J* = 2.1, 5.7, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.19-2.07 (m, 1H, H_{2'b}), 1.91 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.60 (s, 9H, H_c) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 170.2 (C_b), 161.6 (C₄), 148.7 (C₂), 148.2 (C_A), 137.6 (C_{b'}), 135.6 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 110.7 (C₅), 86.7 (C_B), 85.7 (C_{1'}), 83.9 (C_{4'}), 79.4 (C_{3'}), 71.6 (C_{5'}), 71.5 (C_{a'}), 68.2 (C_a), 52.0 (C_c), 37.8 (C_{2'}), 27.5 (C_C), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₅H₃₂N₂O₉ [M+H]⁺, 505.21806, found 505.21640.

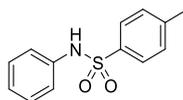
Compound **165**



Chemical Formula: C₂₈H₃₈N₂O₉
Molecular Weight: 546.62

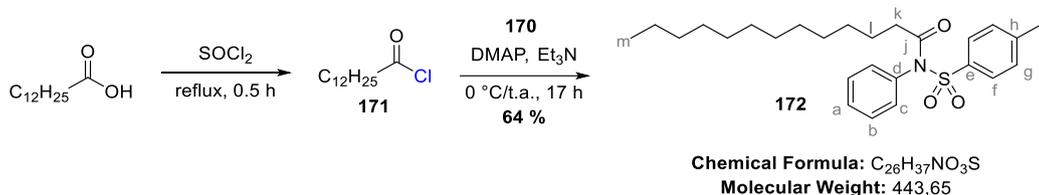
At 0 °C, NaH (18.1 mg, 0.452 mmol, 4 eq) was slowly added to a stirred solution alcohol **160** (48.9 mg, 0.113 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 11.3 mL). The suspension was stirred at 0 °C during 30 min. *Tert*-butyl bromoacetate (88.2 μ L, 0.452 mmol, 4 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 2h before being quenched with a saturated solution of NH₄Cl. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/Petroleum ether 20/80 to 30/70) to afford compound **165** (39.5 mg, 0.072 mmol, **64 %**) as a white solid.

Mp : 150-151 ° C ; **R_f** = 0.48 (EtOAc/Pentane 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2976, 2927, 1781, 1713, 1667, 1449, 1375, 1245, 1141, 1077, 910, 845, 731, 650, 584, 424 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 7.80 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₇), 7.39-7.28 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.37 (dd, *J* = 6.0, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.54 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.35-4.30 (m, 1H, H_{3'}), 4.25-4.21 (m, 1H, H_{4'}), 3.98 (s, 2H, H_a), 3.80 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.64 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.47 (ddd, *J* = 2.1, 5.7, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.21-2.09 (m, 1H, H_{2'b}), 1.91 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.60 (s, 9H, H_c), 1.47 (s, 9H, H_d) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 168.8 (C_b), 161.6 (C₄), 148.7 (C₂), 148.2 (C_A), 137.6 (C_{b'}), 135.8 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 110.7 (C₅), 86.6 (C_B), 85.7 (C_{1'}), 84.0 (C_{4'}), 82.1 (C_c), 79.6 (C_{3'}), 71.5 (C_{5'}), 71.4 (C_{a'}), 68.6 (C_a), 37.8 (C_{2'}), 28.2 (C_d), 27.5 (C_C), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₈H₃₈N₂O₉ [M+NH₄]⁺, 564.29164, found 564.29130.

Compound **170**

Chemical Formula: C₁₃H₁₃NO₂S
Molecular Weight: 247,31

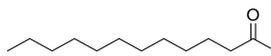
Et₃N (0.46 mL, 3.29 mmol, 1.5 eq) was added dropwise to a stirred solution of aniline (0.20 mL, 2.19 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.4 M, 5.48 mL). At 0 °C, TsCl (459 mg, 2.42 mmol, 1.1 eq) was added to the reaction mixture. The mixture was stirred at room temperature during 2.5 h before being quenched with HCl (1N). Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford tosyl aniline **170** (633 mg, **quant.**) as a colorless oil without further purification. Data were consistent with literature.²⁹³

Compound **172**

Tridecanoic acid (536 mg, 2.50 mmol, 1 eq) was charged in a dried flask followed by SOCl₂ (3.04 mL, 47.75 mmol, 16.7 eq). The solution was stirred at reflux during 30 min before being allowed to cool down to rt. The mixture was concentrated under reduced pressure to afford acyl chloride **171** as a colorless oil.

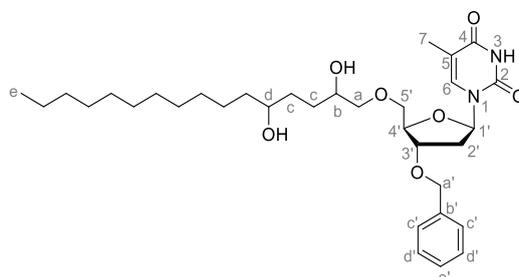
Et₃N (0.53 mL, 3.79 mmol, 1.5 eq) and DMAP (30.9 mg, 0.25 mmol, 0.1 eq) were added dropwise to a stirred solution tosyl aniline **170** (625 mg, 2.53 mmol, 1.0 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 M, 25.3 mL). At 0 °C, crude of acyl chloride **171** (647 mg, 2.78 mmol, 1.1 eq) was added dropwise to the reaction mixture. The mixture was stirred at room temperature during 17 h before being quenched with HCl (1N). Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were washed with a saturated solution of Na₂CO₃, brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 5/95 to 10/90) to afford compound **172** as a white solid (711 mg, 1.60 mmol, **64 %**).

Mp : 102-103 °C ; **Rf** = 0.38 (EtOAc/P 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 2957, 2918, 2852, 1705, 1594, 1489, 1469, 1412, 1365, 1341, 1290, 1255, 1153, 1111, 1085, 969, 926, 878, 857, 816, 777, 700, 673, 649, 571, 539, 484, 454 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 8.00-7.88 (m, 2H, H_f), 7.56-7.43 (m, 3H, H_a/H_c), 7.39-7.20 (m, 4H, H_b/H_g), 2.44 (s, 3H, H_i), 1.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H_k), 1.55-1.38 (m, 2H, H_l), 1.35-1.03 (m, 18H, H_{aliphatic}), 0.95-0.81 (m, 3H, H_m) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 173.1 (C_j), 144.9 (C_h), 136.5 (C_e), 136.4 (C_d), 130.2 (C_b), 130.0 (C_a), 129.9 (C_c), 129.5 (C_g), 129.2 (C_f), 36.8 (C_k), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_l), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 28.9 (C_{aliphatic}), 24.4 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 21.8 (C_i), 14.2 (C_h) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₂₆H₃₇NO₃S [M+H]⁺, 444.25669, found 444.25709.

Compound **176**

Chemical Formula: C₁₃H₂₈O
Molecular Weight: 198,35

A solution of 2-tridecanol (500 mg, 2.50 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.48 M) was added dropwise to a stirred solution of PCC (807 mg, 3.74 mmol, 1.5 eq) in CH₂Cl₂ (0.72 M). The brown mixture was stirred at room temperature during 7.5 h. Et₂O was added, and the suspension was filtered through a pad of florisil with Et₂O. Filtrate was concentrated under reduced pressure to afford the crude. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 5/95) to afford ketone **176** as a white solid (493 mg, 2.48 mmol, **99 %**). Data were consistent with literature.³⁴⁷

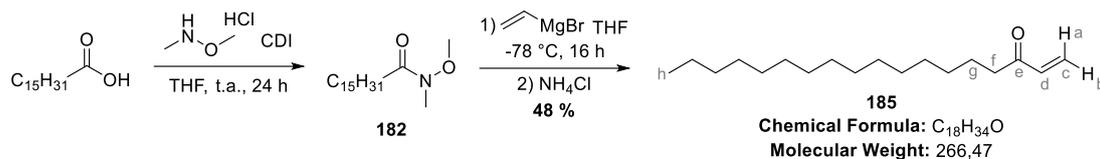
Compound **178**

Chemical Formula: C₃₃H₅₂N₂O₇
Molecular Weight: 588,79

At 0 °C, NaBH₄ (1.0 mg, 0.03 mmol, 0.3 eq) was added portionwise to a stirred solution of 1,4-diketone **115** (50 mg, 0.09 mmol, 1 eq) in MeOH (0.15 g/mL, 0.33 mL). The reaction mixture was stirred during 10 min at room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in CH₂Cl₂, washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/CH₂Cl₂ 2/98) to afford 1,4-diol **178** as a colorless oil (48 mg, 0.08 mmol, **95 %**).

R_f = 0.35 (acetone/toluene 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3407, 3193, 3046, 2921, 2863, 1681, 1458, 1370, 1268, 1065, 966, 899, 856, 737, 557, 480, 412 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.29 (s, 1H, NH-3), 7.50-7.42 (m, 1H, H₆), 7.39-7.28 (m, 5H, H_{aromatic}), 6.34-6.24 (m, 1H, H_{1'}), 4.53 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.25-4.16 (m, 2H, H_{3'/H4'}), 3.88-3.69 (m, 2H, H_{5'a/Hb}), 3.68-3.55 (m, 2H, H_{5'c/Hd}), 3.55-3.32 (m, 2H, H_a), 2.44 (ddd, *J* = 2.4, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.20-2.02 (m, 1H, H_{2'b}), 1.89 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.73-1.12 (m, 24H, H_{aliphatic}), 0.93-0.80 (m, 3H, H_e) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 137.6 (C_{b'}), 136.1 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.1 (C₅), 85.6 (C_{1'}), 83.8 (C_{4'}), 79.0 (C_{3'}), 72.2 (C_a), 71.8 (C_{a'}), 71.6 (C_d), 70.8 (C_b), 70.5 (C_{5'}), 37.9 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 30.4 (C_c), 30.3 (C_c), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 25.9 (C_{aliphatic}), 25.8 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.3 (C_e), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₃H₅₂N₂O₇ [M-H]⁻ 587.37018, found 587.36950.

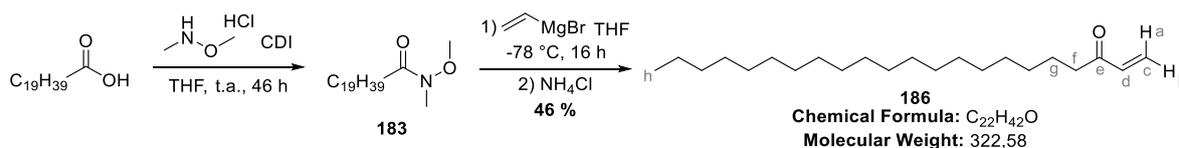
³⁴⁷ Booth, Y.K.; Kitching, W.; De Voss, J.J. *ChemBioChem* **2011**, *12*, 155-172.

Compound **185**

CDI (253 mg, 1.56 mmol, 1.6 eq) was added to a stirred solution of palmitic acid (250 mg, 0.98 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 9.8 mL). The reaction mixture was stirred during 10 minutes at room temperature. MeNH(OMe)·HCl (238 mg, 2.44 mmol, 2.5 eq) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was stirred during 24 h at room temperature. The reaction mixture was quenched with HCl (1N) and water. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product as a white solid without further purification (242 mg).

At -78 °C, a solution of vinyl magnesium bromide (19.4 mL, 19.40 mmol, 5 eq) in THF (1.0 M), was added dropwise to a stirred solution of Weinreb amide **182** (1.16 g, 3.88 mmol, 1 eq) in THF (0.3 M, 12.9 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 8 h two times. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl before being allowed to warm up to room temperature. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 1/99 with some drops of Et₃N) to afford compound **185** as a white solid (492 mg, 1.85 mmol, **48 %**)

Mp : 45-46 °C ; **Rf** = 0.77 (EtOAc/P 1/99) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2955, 2914, 2850, 1698, 1675, 1617, 1472, 1402, 1382, 1308, 1286, 1262, 1241, 1219, 1198, 1182, 1132, 1114, 1087, 1043, 987, 960, 891, 849, 781, 738, 658, 564, 504, 442 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 6.35 (dd, *J* = 10.2; 17.7 Hz, 1H, H_d), 6.20 (dd, *J* = 1.5; 17.7 Hz, 1H, H_a), 5.81 (dd, *J* = 1.5; 10.5 Hz, 1H, H_b), 2.58 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, H_f), 1.67-1.54 (m, 2H, H_g), 1.35-1.19 (m, 24H, H_{aliphatic}), 0.91-0.82 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 201.3 (C_e), 136.8 (C_d), 128.0 (C_c), 39.8 (C_f), 32.1 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 24.2 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.3 (C_h) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₈H₃₅O [M+H]⁺, 267.26824 found 267.26839.

Compound **186**

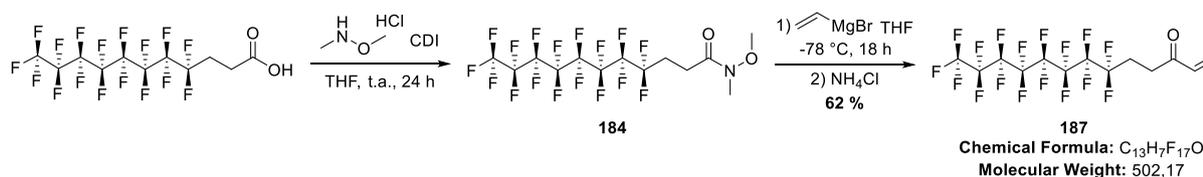
CDI (208 mg, 1.28 mmol, 1.6 eq) was added to a stirred solution of arachidic acid (250 mg, 0.80 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 8.0 mL). The reaction mixture was stirred during 10 minutes at room temperature. MeNH(OMe)·HCl (195 mg, 2.00 mmol, 2.5 eq) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was stirred during 46 h at room temperature. The reaction mixture was quenched

with HCl (1N) and water. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product as a white solid without further purification (255 mg).

At -78 °C, a solution of vinyl magnesium bromide (4.60 mL, 4.60 mmol, 5 eq) in THF (1.0 M), was added dropwise to a stirred solution of Weinreb amide **183** (327.2 mg, 0.92 mmol, 1 eq) in THF (0.3 M, 3.10 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 8 h two times. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl before being allowed to warm up to room temperature. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 1/99 with some drops of Et₃N) to afford compound **186** as a white solid (138 mg, 0.43 mmol, **46 %**).

Mp : 58-59 °C ; **Rf** = 0.83 (EtOAc/P 1/99) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2955, 2914, 2850, 1699, 1677, 1616, 1472, 1402, 1244, 1181, 1095, 1036, 987, 960, 782, 716, 432 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 6.36 (dd, *J* = 10.2; 17.7 Hz, 1H, H_d), 6.20 (dd, *J* = 1.5; 17.4 Hz, 1H, H_a), 5.81 (dd, *J* = 1.5; 10.5 Hz, 1H, H_b), 2.58 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H_f), 1.65-1.56 (m, 2H, H_g), 1.34-1.20 (m, 32H, H_{aliphatic}), 0.91-0.82 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 201.3 (C_e), 136.8 (C_d), 128.0 (C_c), 39.8 (C_f), 32.1 (C_{aliphatic}), 29.9 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 24.2 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.3 (C_h) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₂H₄₃O [M+H]⁺, 323.33084 found 323.33108.

Compound **187**

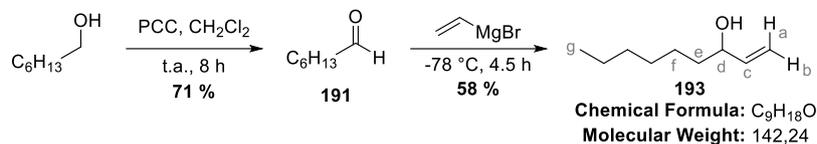


CDI (132 mg, 0.81 mmol, 1.6 eq) was added to a stirred solution of 4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11,11-heptadecafluoroundecanoic acid (250 mg, 0.51 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 5.1 mL). The reaction mixture was stirred during 10 minutes at room temperature. MeNH(OMe)•HCl (124 mg, 1.27 mmol, 2.5 eq) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was stirred during 24 h at room temperature. The reaction mixture was quenched with HCl (1N) and water. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product as a white solid without further purification (255 mg).

At -78 °C, a solution of vinyl magnesium bromide (3.04 mL, 3.04 mmol, 6 eq) in THF (1.0 M), was added dropwise to a stirred solution of Weinreb amide **184** (270.9 mg, 0.51 mmol, 1 eq) in THF (0.3 M, 1.70 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 9 h two times. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl before being allowed to warm up to room temperature. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure

afforded the crude product. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 5/95 to 10/90 with some drops of Et₃N) to afford enone **187** as a white solid (157 mg, 0.31 mmol, **62** %). Data were consistent with literature.²⁶⁸

Compound **193**

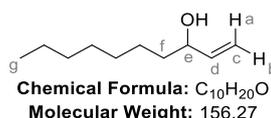


PCC (5.57 g, 25.82 mmol, 1.5 eq) was added to a stirred solution of heptanol (2.43 mL, 17.21 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 M, 172.1 mL). The reaction mixture was stirred during 8 hours at room temperature. Et₂O was added and mixture was filtered through a pad of florisil. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford heptanal **191** without further purification as a yellow oil (1.40 g, 12.26 mmol, **71**%). Data were consistent with literature.³⁴⁸

At -78 °C, a solution of vinyl magnesium bromide (35.6 mL, 35.6 mmol, 3 eq) in THF (1.0 M), was added dropwise to a stirred solution of heptanal **191** (1.36 g, 11.87 mmol, 1 eq) in THF (0.3 M, 39.6 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 4.5 h. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl before being allowed to warm up to room temperature. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 4/96 to 5/95 with some drops of Et₃N) to afford compound alcohol **193** as a colorless oil (978 mg, 6.88 mmol, **58** %)

R_f = 0.21 (EtOAc/P 4/96) ; **IR (ATR) v_{max} (cm⁻¹)** 3283, 3081, 2919, 2860, 1713, 1463, 1393, 1320, 1267, 1158, 1084, 1026, 960, 890, 789, 721, 637, 561, 487, 410 **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 5.85 (ddd, *J* = 6.3, 9.6, 17.1 Hz, 1H, H_c), 5.20 (td, *J* = 1.5, 17.1 Hz, 1H, H_a), 5.08 (td, *J* = 1.5, 10.5 Hz, 1H, H_b), 4.07 (q, *J* = 6.3 Hz, 1H, H_d), 1.72 (brs, 1H, H-OH), 1.60-1.45 (m, 2H, H_e), 1.40-1.20 (m, 8H, H_{aliphatics}), 0.93-0.81 (m, 3H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 141.5 (C_c), 114.6 (C_a), 73.4 (C_d), 37.2 (C_e), 31.9 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 25.4 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g). Data were consistent with literature³⁴⁹.

Compound **194**



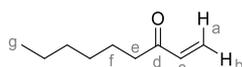
At -78 °C, a solution of vinyl magnesium bromide (23.4 mL, 23.4 mmol, 3 eq) in THF (1.0 M), was added dropwise to a stirred solution of octanal (1.0 g, 7.8 mmol, 1 eq) in THF (0.3 M, 26.0 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 5 h. The mixture was quenched with a saturated solution

³⁴⁸ Wang, A.; Jiang, H.; *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2321-2326.

³⁴⁹ Boughdady, N.M.; Chynoweth, K.R.; Hewitt, D.G. *Aust. J. Chem.* **1987**, 40, 767-774.

of NH_4Cl before being allowed to warm up to room temperature. CH_2Cl_2 was added and layers were separated. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 2/98 to 3/97 with some drops of Et_3N) to afford compound alcohol **194** as a colorless oil (895 mg, 5.73 mmol, **73 %**). Data were consistent with literature.³⁵⁰

Compound **195**

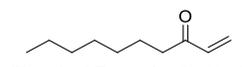


Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}$
Molecular Weight: 142,24

At $-78\text{ }^\circ\text{C}$, oxalyl chloride (0.86 mL, 9.99 mmol, 1.5 eq) was added dropwise to a stirred solution of DMSO (1.18 mL, 16.65 mmol, 2.5 eq) in CH_2Cl_2 (0.4 M). The reaction mixture was stirred at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ during 30 min. A solution of alcohol **193** (948 g, 6.66 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (1.0 M) was added dropwise to the reaction mixture. After 30 min at $-78\text{ }^\circ\text{C}$, Et_3N (5.57 mL, 39.97 mmol, 6 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ during 1 h before being warmed up to room temperature. The mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl after 1 h at room temperature. Layers were separated and organic layer was washed with HCl (1N). Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organics layers were washed with a saturated solution of NaHCO_3 , dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/P 1/99 with some drops of Et_3N) to afford enone **218** (641 mg, 4.57 mmol, **69 %**) as a colorless oil.

$R_f = 0.70$ (EtOAc/P 3/97) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 2930, 2859, 1682, 1616, 1461, 1402, 1186, 1131, 1079, 987, 962, 726 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 6.30 (dd, $J = 10.5, 17.7$ Hz, 1H, H_c), 6.15 (dd, $J = 1.5, 17.7$ Hz, 1H, H_a), 5.76 (dd, $J = 1.5, 10.5$ Hz, 1H, H_b), 2.52 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H_e), 1.63-1.49 (m, 2H, H_f), 1.35-1.15 (m, 6H, $\text{H}_{\text{aliphatics}}$), 0.89-0.75 (m, 3H, H_g) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 201.1 (C_d), 136.6 (C_c), 127.8 (C_a), 39.7 (C_e), 31.7 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.0 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 24.0 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 22.5 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 14.0 (C_g). Data were consistent with literature.³⁵¹

Compound **196**



Chemical Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$
Molecular Weight: 154,25

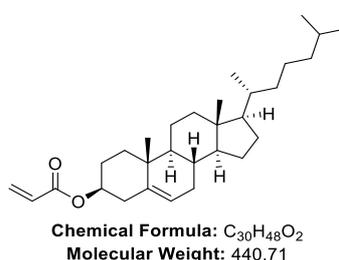
At $-78\text{ }^\circ\text{C}$, oxalyl chloride (278 μL , 3.23 mmol, 1.5 eq) was added dropwise to a stirred solution of DMSO (382 μL , 5.38 mmol, 2.5 eq) in CH_2Cl_2 (3.23 mL). The reaction mixture was stirred at $-78\text{ }^\circ\text{C}$

³⁵⁰ (a) Satyanarayana, S.; Reddy, .B.V.S.; Narender, R. *Tetrahedron letters* **2014**, 55, 6027-6029 ; (b) Liu, J.; Li, H.; Zheng, C.; Lu, S.; Guo, X.; Yin, X.; Na, R.; Yu, B.; Wang, M. *Molecules* **2017**, 22, 364/1-364/16.

³⁵¹ Pons, M.; Dauphin, B.; La Guerche, S.; Pons, A.; Lavigne-Cruege, V.; Shinkaruk, S.; Bunner, D.; Richard, T.; Monti, J.-P.; Darriet, P. *J. Agric. Food. Chem.* **2011**, 59, 3264-3272.

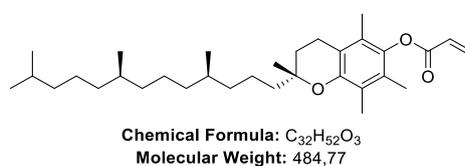
during 30 min. A solution of alcohol **194** (336 mg, 2.15 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (1.0 M, 2.15 mL) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ during 30 min. Et_3N (1.80 mL, 12.90 mmol, 6 eq) was added dropwise. The mixture was stirred at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ during 4 h before being allowed to warm up at room temperature. The reaction was quenched with a saturated solution of NH_4Cl . Layers were separated. Organic layer was washed with a solution of HCl (1N). Layers were separated and aqueous phase was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Organic layers were collected, washed with a saturated solution of NaHCO_3 , dried over Na_2SO_4 , and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 1/99 with some drops of Et_3N) to afford enone **196** as a yellow oil (195 mg, 1.26 mmol, **59 %**). Data were consistent with literature.²⁶⁸

Compound **197**



At $0\text{ }^\circ\text{C}$, Et_3N (135 μL , 0.97 mmol, 1.5 eq) was added dropwise to a stirred solution of cholesterol (300 mg, 0.78 mmol, 1.2 eq) in CH_2Cl_2 (0.6 M, 1.3 mL). Acryloyl chloride (52 μL , 0.65 mmol, 1 eq) was added dropwise very slowly. The reaction mixture was stirred at room temperature during 3.5 h. The mixture was concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 99/1) to afford the compound **197** as a white solid (228 mg, 0.52 mmol, **80 %**). Data were consistent with literature.²⁹⁷

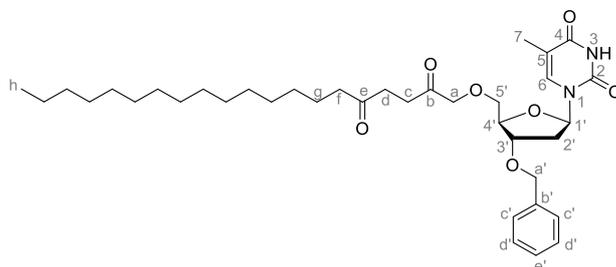
Compound **198**



Et_3N (100 μL , 0.70 mmol, 1.2 eq) was added to a stirred solution of α -tocopherol (250 mg, 0.58 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (0.1 M). At $0\text{ }^\circ\text{C}$, acryloyl chloride (94 μL , 1.16 mmol, 2 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred during 2 h at $0\text{ }^\circ\text{C}$ and during 3.5 h at $35\text{ }^\circ\text{C}$. After being cooled to room temperature, reaction mixture was quenched with a saturated solution of NaHCO_3 . Layers were separated and organic layer was washed 2 times with a saturated solution of NaHCO_3 , dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 1/99) to

afford compound **198** as a colorless oil (275 mg, 0.57 mmol, **98 %**). Data were consistent with literature.³⁵²

Compound **199**

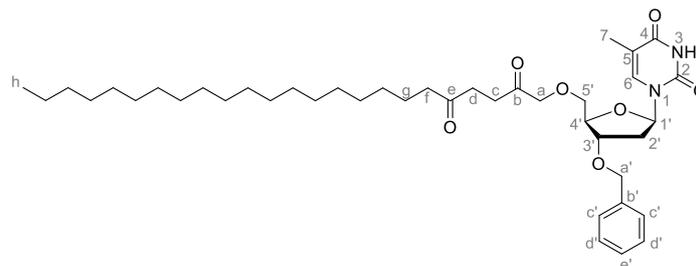


Chemical Formula: C₃₇H₅₆N₂O₇
Molecular Weight: 640,86

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (28.4 mg, 0.113 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **113** (211 mg, 0.563 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 1.13 mL) was added followed by distilled DBU (16.8 μL, 0.113 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **185** (100 mg, 0.375 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75 °C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (acetone/toluene 20/80) to afford the expected compound **199** as a yellow solid (117 mg, 0.182 mmol, **49 %**).

Mp : 98-100 °C ; **Rf** = 0.33 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3364, 3410, 3170, 3051, 2956, 2920, 2852, 2817, 1705, 1691, 1470, 1440, 1406, 1368, 1328, 1285, 1263, 1234, 1136, 1095, 1053, 962, 906, 854, 818, 786, 747, 722, 697, 664, 619, 602, 561, 499, 470, 446, 417 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 8.42 (s, 1H, NH-3), 7.70 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 7.40-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.39 (dd, *J* = 5.7, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 4.55 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.34-4.29 (m, 1H, H_{3'}), 4.27 (s, 2H, H_a), 4.25-4.21 (m, 1H, H_{4'}), 3.78 (dd, *J* = 2.4, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.63 (dd, *J* = 2.7, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.80-2.74 (m, 2H, H_d), 2.58-2.51 (m, 2H, H_c), 2.49-2.39 (m, 3H, H_{2'a}/H_f), 2.20-2.09 (m, 1H, H_{2'b}), 1.86 (s, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.60-1.48 (m, 2H, H_g), 1.34-1.18 (m, 24H, H_{aliphatics}), 0.92-0.83 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 209.6 (C_e), 205.8 (C_b), 163.8 (C₄), 150.4 (C₂), 137.7 (C_{b'}), 136.3 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 83.8 (C_{4'}), 79.6 (C_{3'}), 75.9 (C_a), 71.6 (C_{5'}), 71.5 (C_{a'}), 42.8 (C_f), 37.7 (C_{2'}), 36.1 (C_d), 32.2 (C_c), 32.1 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 23.9 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.3 (C_h), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₃₇H₅₇N₂O₇ [M+H]⁺, 641.41603, found 641.41744.

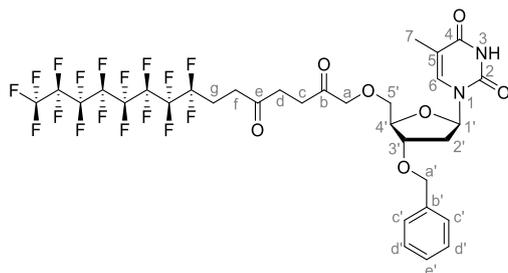
³⁵² Sun, Y.; Bao, Y.; Jiang, X.; Tan, S.; Yin, M.; Yang, C.; Zhou, L.; Zhang, Z. *J. Mater. Chem. B*, **2018**, *6*, 458-468.

Compound **200**

Chemical Formula: C₄₁H₆₄N₂O₇
Molecular Weight: 696,97

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (23.5 mg, 0.093 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **113** (174 mg, 0.465 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 0.93 mL) was added followed by distilled DBU (13.9 μ L, 0.093 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **186** (100 mg, 0.310 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75 °C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (acetone/toluene 20/80) to afford the expected compound **200** as a yellow solid (91 mg, 0.130 mmol, **42 %**).

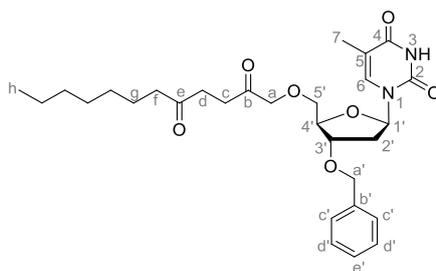
Mp : 99-101 °C ; **R_f** = 0.38 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3674, 3159, 2973, 2920, 2854, 1703, 1689, 1473, 1406, 1382, 1285, 1262, 1231, 1136, 1054, 963, 894, 819, 787, 750, 720, 698, 620, 602, 562, 419 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)**; 8.30 (s, 1H, NH-3), 7.71 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 7.41-7.28 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.39 (dd, *J* = 5.4, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 4.55 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.35-4.29 (m, 1H, H_{3'}), 4.27 (s, 2H, H_a), 4.25-4.21 (m, 1H, H_{4'}), 3.78 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.63 (dd, *J* = 2.7, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.81-2.73 (m, 2H, H_d), 2.59-2.51 (m, 2H, H_c), 2.49-2.39 (m, 3H, H_{2'a/H_f}), 2.21-2.08 (m, 1H, H_{2'b}), 1.86 (s, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.61-1.40 (m, 2H, H_g), 1.33-1.18 (m, 32H, H_{aliphatics}), 0.91-0.83 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 209.6 (C_e), 205.8 (C_b), 163.8 (C₄), 150.4 (C₂), 137.7 (C_{b'}), 136.4 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 83.8 (C_{4'}), 79.6 (C_{3'}), 75.9 (C_a), 71.6 (C_{5'}), 71.5 (C_{a'}), 42.8 (C_f), 37.7 (C_{2'}), 36.1 (C_d), 32.1 (C_c), 32.1 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 23.9 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.3 (C_h), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₄₁H₆₅N₂O₇ [M+H]⁺, 697.47863, found 697.48023

Compound **201**

Chemical Formula: C₃₂H₂₉F₁₇N₂O₇
Molecular Weight: 876,56

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (23.7 mg, 0.09 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45 °C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **113** (175.8 mg, 0.47 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 0.94 mL) was added followed by distilled DBU (14.0 μL, 0.09 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **187** (157.2 mg, 0.31 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75 °C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (P/EtOAc 40/60) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (toluene/ acetone 82/10) to afford the expected compound **201** as a white solid (58.7 mg, 0.07 mmol, **21** %).

Mp : 132-134 °C ; **R_f** = 0.24 (A/T 30/70) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹)** 3670, 3168, 2977, 2910, 1694, 1599, 1475, 1402, 1372, 1204, 1140, 1056, 895, 747, 696, 644, 603, 528, 422 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 8.84 (s, 1H, NH-3), 7.64 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 7.40-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.38 (dd, *J* = 6.0, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.54 (AB system, *J* = 12.0 Hz, 2H, H_{a'}), 4.34-4.28 (m, 1H, H_{3'}), 4.26-4.19 (m, 3H, H_{4'/H_a}), 3.78 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.64 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.86-2.75 (m, 4H, H_{f/H_g}), 2.68-2.60 (m, 2H, H_d), 2.51-2.30 (m, 3H, H_{2'a/H_c}), 2.20-2.07 (m, 1H, H_{2'b}), 1.86 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 205.6 (C_e), 205.5 (C_b), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.6 (C_{b'}), 136.2 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.4 (C_{1'}), 83.7 (C_{4'}), 79.4 (C_{3'}), 75.8 (C_a), 71.7 (C_{a'}), 71.6 (C_{5'}), 37.7 (C_{2'}), 35.9 (C_d), 33.3 (C_f), 33.3 (C_g), 32.3 (C_c), 25.1 (t, *J* = 90 Hz, C_{aliphatic}), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₂H₂₉F₁₇N₂O₇ [M+H]⁺, 877.17761 found 877.17885.

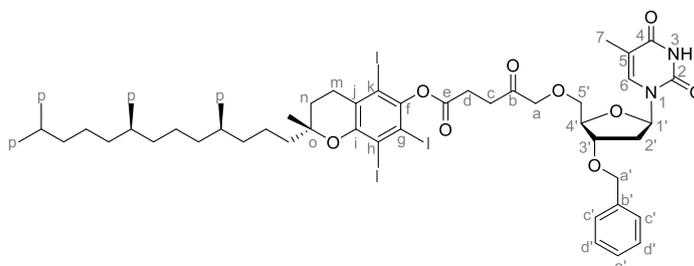
Compound **202**

Chemical Formula: C₂₉H₄₀N₂O₇
Molecular Weight: 528,65

consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 60/40) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (toluene/ acetone 90/10 to 70/30) to afford the expected compound **203** as a colorless gum (12 mg, 0.01 mmol, **4 %**).

Rf = 0.47 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm^{-1}) 3186, 2937, 1687, 1572, 1456, 1369, 1265, 1195, 1080, 908, 733, 558, 479, 415 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 8.12 (s, 1H, NH-3), 7.70 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H₆), 7.41-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.39 (dd, $J = 5.7, 8.4$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.41-5.32 (m, 1H, H_i), 4.66-4.47 (m, 3H, H_{a'}/H_f), 4.36-4.20 (m, 4H, H_{3'}/H_{4'}/H_a), 3.79 (dd, $J = 5.7, 10.2$ Hz, 1H, H_{5'a}), 3.64 (dd, $J = 2.7, 10.8$ Hz, 1H, H_{5'b}), 2.71-2.56 (m, 4H, H_c/H_d), 2.50 (ddd, $J = 2.1, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.38-2.23 (m, 2H, H_g), 2.07-1.75 (m, 10H, H₇/H_{2'b}/H_j/H_m/H_l), 1.67-0.78 (m, 32H, H_{aliphatics}), 0.67 (s, 3H, H_q) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** not enough amount ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₄₉H₇₀N₂O₈ [M+H]⁺, 815.52049 found 815.52062.

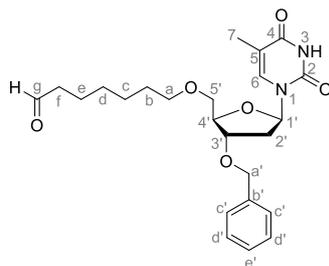
Compound **204**



Chemical Formula: C₅₁H₇₄N₂O₉
Molecular Weight: 859,16

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (52 mg, 0.21 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **113** (384 mg, 1.02 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M) was added followed by distilled DBU (31 μL , 0.21 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **198** (331 mg, 0.68 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75 °C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 20/80) to afford compound **204** as a yellow gum (126 mg, 0.15 mmol, **29 %**).

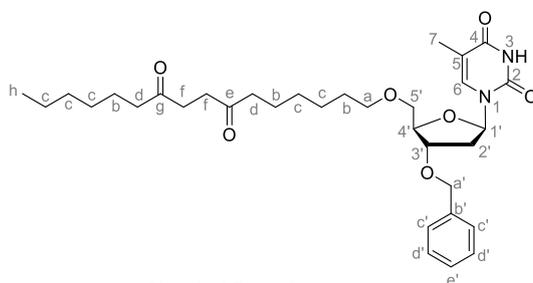
Rf = 0.49 (A/T 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm^{-1}) 3665, 3184, 2926, 2869, 1749, 1686, 1576, 1459, 1410, 1376, 1275, 1249, 1196, 1152, 1078, 960, 912, 862, 816, 785, 736, 699, 615, 559, 487, 468, 421 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.03 (s, 1H, NH-3), 7.66 (appearing s, 1H, H₆), 7.39-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.38 (dd, 1H, $J = 5.7, 8.1$ Hz, H_{1'}), 4.54 (AB system, 2H, $J = 11.7$ Hz, H_{a'}), 4.34-4.14 (m, 4H, H_{3'}/H_{4'}/H_a), 3.78 (dd, 1H, $J = 3.0, 10.5$ Hz, H_{5'a}), 3.63 (dd, 1H, $J = 3.0, 10.2$ Hz, H_{5'b}), 3.03-2.89 (m, 2H, H_d), 2.79-2.67 (m, 2H, H_m), 2.62-2.51 (m, 2H, H_m), 2.46 (ddd, $J = 2.4, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.19-2.10 (m, 1H, H_{2'b}), 2.08 (s, 3H, H_i), 2.00 (s, 3H, H_i), 1.96 (s, 3H, H_i), 1.90 (appearing s, 3H, H₇), 1.81-1.67 (m, 2H, H_n), 1.59-0.96 (m, 24H, H_{aliphatics}), 0.92-0.74 (m, 12H, H_p) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 205.3 (C_b), 171.5 (C_e), 164.0 (C₄), 150.6 (C₂), 149.6 (C_f), 140.5 (C_i), 137.6 (C_{b'}), 136.2 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 126.7 (C_g), 124.9 (C_h), 123.2

Compound **206**

Chemical Formula: C₂₄H₃₂N₂O₆
Molecular Weight: 444,53

2,6-lutidine (121 μ L, 0.95 mmol, 2 eq) was added to a stirred solution of compound **205** (211 mg, 0.48 mmol, 1 eq), osmium tetroxide (186 μ L, 0.014 mmol, 0.03 eq, 2.5 w% in *t*-BuOH), and then sodium periodate (306 mg, 1.43 mmol, 3 eq) in a dioxane/water (3/1) mixture (0.1 M, 4.8 mL). The resulting white precipitate was stirred at room temperature for 3 h. After addition of water, the mixture was extracted 3 times with EtOAc. The combined extracts were treated with a saturated aqueous solution of Na₂S₂O₅, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded a black crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Toluene/Acetone 90/10 to 80/20, with some drops of Et₃N) to afford aldehyde **206** as a colorless gum (135 mg, 0.30 mmol, **64 %**).

R_f = 0.31 (A/Toluene 20/80) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹)** 2921, 2853, 1683, 1465, 1403, 1364, 1275, 1201, 1129, 1056, 960, 910, 730, 698, 647, 615, 558, 490, 419 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.81 (s, 1H, NH-3), 9.71 (s, 1H, H_g), 7.57 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, H₆), 7.37-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.34 (dd, 1H, *J* = 6.0, 7.8 Hz, H_{1'}), 4.53 (AB system, *J* = 12.0 Hz, 2H, H_{a'}), 4.24-4.12 (m, 2H, H_{3'/4'}), 3.75-3.62 (m, 1H, H_{5'a}), 3.56-3.32 (m, 3H, H_{5'b/H_a}), 2.52-2.34 (m, 3H, H_{2'a/H_f}), 2.12-1.99 (m, 1H, H_{2'b}), 1.88 (appearing s, 3H, H₇), 1.66-1.48 (m, 4H, H_{b/H_e}), 1.40-1.20 (m, 4H, H_{c/H_d}) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 202.6 (C_g), 164.2 (C₄), 150.6 (C₂), 137.6 (C_{b'}), 135.9 (C₆), 128.4 (C_{d'}), 127.8 (C_{e'}), 127.6 (C_{c'}), 110.6 (C₅), 85.2 (C_{1'}), 83.9 (C_{4'}), 79.2 (C_{3'}), 71.5 (C_a), 71.3 (C_{a'}), 70.8 (C_{5'}), 43.7 (C_f), 37.9 (C_{2'}), 29.4 (C_b), 28.9 (C_c), 25.9 (C_d), 21.9 (C_e), 12.3 (C₇) ; **HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₄H₃₂N₂O₆ [M+H]⁺, 445.23331, found 445.23357.**

Compound **207**

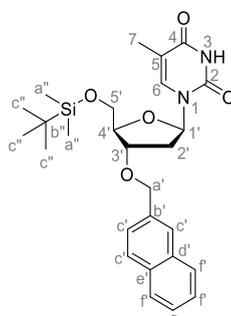
Chemical Formula: C₃₃H₄₈N₂O₇
Molecular Weight: 584,75

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (71 mg, 0.28 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45 °C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **206** (625 mg, 1.41 mmol, 1.5 eq) in dried

THF (0.5 M, 2.82 mL) was added followed by distilled DBU (42 μ L, 0.28 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **195** (131 mg, 0.94 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75 °C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 40/60) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (toluene/ acetone 90/10 to 80/20) to afford the expected compound **207** as a colorless gum (369 mg, 0.63, **67 %**).

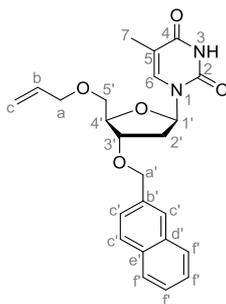
Rf = 0.44 (A/T 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm^{-1}) 3668, 3183, 2926, 1686, 1535, 1453, 1400, 1374, 1267, 1065, 895, 736, 609, 555, 485, 414 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.49 (s, 1H, NH-3), 7.58 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H₆), 7.38-7.22 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.35 (dd, $J = 5.7, 7.5$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.51 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.22-4.14 (m, 2H, H_{3'/H4'}), 3.68 (dd, $J = 2.4, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'a}), 3.55-3.33 (m, 3H, H_{5'b/Ha}), 2.69-2.59 (m, 4H, H_f), 2.50-2.38 (m, 5H, H_{2'a/Hd}), 2.11-1.99 (m, 1H, H_{2'b}), 1.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇), 1.64-1.45 (m, 6H, H_b), 1.37-1.18 (m, 10H, H_c), 0.91-0.76 (m, 3H, H_h) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 209.9 (C_g), 209.6 (C_e), 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 137.6 (C_{b'}), 135.9 (C₆), 128.5 (C_{d'}), 127.9 (C_{e'}), 127.6 (C_{c'}), 110.7 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 84.0 (C_{4'}), 79.3 (C_{3'}), 71.7 (C_a), 71.3 (C_{a'}), 70.9 (C_{5'}), 42.8 (C_d), 42.7 (C_d), 38.0 (C_{2'}), 36.0 (C_f), 31.6 (C_c), 29.5 (C_b), 28.9 (C_c), 28.9 (C_c), 26.0 (C_c), 23.8 (C_b), 23.6 (C_b), 22.5 (C_c), 14.1 (C_h), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₃₃H₄₈N₂O₇ [M-H]⁻, 583.33888, found 583.33827.

Compound **208**



Chemical Formula: C₂₇H₃₆N₂O₅Si
Molecular Weight: 496.68

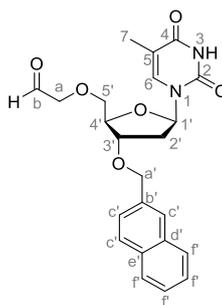
At 0 °C, NaH (280 mg, 7.01 mmol, 2.5 eq, 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol **109** (1 g, 2.08 mmol, 1 eq) in THF (0.1 g/mL, 10 mL) in a suitable vial. The mixture was activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 4.5 minutes. 2-methylnaphthalene bromide (1.55 g, 7.01 mmol, 2.5 eq) was then added to the vial and mixture was activated a second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 2 h. After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. Reaction was repeated three times and the crudes products were collected and purified together by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 20/80 to 30/70) to afford compound **208** as a colorless gum (2.24 g, 4.51 mmol, **54 %**).

Compound **210**

Chemical Formula: C₂₄H₂₆N₂O₅
Molecular Weight: 422,4810

At 0 °C, NaH (174 mg, 4.35 mmol, 2.5 eq, 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol **209** (669 mg, 1.74 mmol, 1 eq) in THF (0.1 g/mL, 6.7 mL) in a suitable vial. The mixture was activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 2 minutes. Allyl bromide (376 μL, 4.35 mmol, 2.5 eq) was then added to the vial and mixture was activated a second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 2 h. After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 20/80 to 30/70) to afford compound **210** as a colorless gum (607 mg, 1.44 mmol, **83 %**).

Rf = 0.40 (EtOAc/Pentane 50/50) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3676, 2932, 2860, 2644, 1732, 1707, 1644, 1462, 1411, 1378, 1250, 1147, 1106, 1051, 1000, 891, 782, 723, 622, 553, 419 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 8.27 (s, 1H, NH-3), 7.93-7.76 (m, 4H, H_F), 7.64 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 7.56-7.43 (m, 3H, H_{C'}), 6.42 (dd, *J* = 5.6, 7.8 Hz, 1H, H_{1'}), 5.95-5.80 (m, 1H, H_b), 5.31-5.17 (m, 2H, H_C), 4.71 (AB system, *J* = 12.3 Hz, 2H, H_{a'}), 4.34-4.25 (m, 2H, H_{4'/H3'}), 4.07-3.99 (m, 2H, H_a), 3.75 (dd, *J* = 2.4, 10.5 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.58 (dd, *J* = 2.1, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.51 (ddd, *J* = 1.8, 6.3, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.18-2.07 (m, 1H, H_{2'b}), 1.88 (d, *J* = 1.5 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** ; 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 136.0 (C₆), 135.1 (C_{b'}), 134.0 (C_b), 133.3 (C_{d'}), 132.2 (C_{e'}), 128.5 (C_F), 128.0 (C_F), 127.8 (C_F), 126.6 (C_{c'}), 126.4 (C_F), 126.2 (C_{c'}), 125.7 (C_{c'}), 117.6 (C_c), 111.0 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 84.1 (C_{4'}), 79.3 (C_{3'}), 72.4 (C_a), 71.6 (C_{a'}), 70.5 (C_{5'}), 38.1 (C_{2'}), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₄H₂₅N₂O₅ [M-H]⁻, 421.17690 found 421.17520.

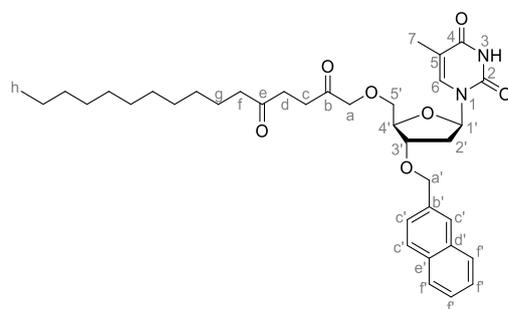
Compound **211**

Chemical Formula: C₂₃H₂₄N₂O₆
Molecular Weight: 424,45

2,6-lutidine (575 μL , 4.53 mmol, 2 eq) was added to a stirred solution of compound **210** (957 mg, 2.27 mmol, 1 eq), osmium tetroxide (694 μL , 0.03 eq, 2.5 w% in *t*-BuOH), and then sodium periodate (1.45 g, 6.80 mmol, 3 eq) in a dioxane/water (3/1) mixture (0.1 M, 22.7 mL). The resulting white precipitate was stirred at room temperature for 3 h. After addition of water, the mixture was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . The combined extracts were treated with a saturated aqueous solution of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded a black crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Toluene/Acetone 70/30 to 60/40, with some drops of Et_3N) to afford aldehyde **211** as a white foam (634 mg, 1.49 mmol, **66 %**).

$R_f = 0.24$ (EtOAc/Pentane 70/30) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 2932, 2857, 2643, 1733, 1707, 1647, 1463, 1420, 1376, 1336, 1273, 1250, 1150, 1109, 1049, 1000, 935, 882, 833, 780, 724, 624, 558, 496, 448, 418 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.64 (s, 1H, H_b), 8.65 (s, 1H, NH-3), 7.88-7.75 (m, 4H, H_f), 7.57 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7.53-7.34 (m, 3H, $\text{H}_{c'}$), 6.40 (dd, $J = 5.7, 7.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.72 (AB system, $J = 12.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{a'}$), 4.37-4.32 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 4.28-4.23 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 4.20 (s, 2H, H_a), 3.81 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 3.66 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 2.50 (ddd, $J = 2.4, 6.0, 13.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 2.23-2.13 (m, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 1.89 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7) **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** ; 197.9 (C_b), 163.8 (C_4), 150.5 (C_2), 136.0 (C_6), 135.0 ($\text{C}_{b'}$), 133.4 ($\text{C}_{d'}$), 133.2 ($\text{C}_{e'}$), 128.5 (C_f), 128.0 (C_f), 127.9 (C_f), 126.7 ($\text{C}_{c'}$), 126.5 (C_f), 126.3 ($\text{C}_{c'}$), 125.7 ($\text{C}_{c'}$), 111.3 (C_5), 85.4 ($\text{C}_{1'}$), 83.6 ($\text{C}_{4'}$), 79.1 ($\text{C}_{3'}$), 76.6 (C_a), 71.8 ($\text{C}_{a'}$), 71.8 ($\text{C}_{5'}$), 37.7 ($\text{C}_{2'}$), 12.6 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M-H}]^-$, 423.15616 found 423.15449.

Compound **212**

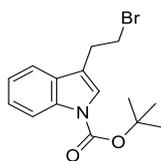


Chemical Formula: $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_7$
Molecular Weight: 634,81

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (36 mg, 0.14 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **211** (300 mg, 0.71 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 1.42 mL) was added followed by distilled DBU (21 μL , 0.14 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone (99 mg, 0.47 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75°C . After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (toluene/ acetone 80/20) to afford the expected compound **212** as a yellow solid after precipitation in pentane (132 mg, 0.21 mmol, **33 %**).

Mp : 95-96 °C *Rf* = 0.47 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3255, 3072, 2920, 2852, 1705, 1687, 1651, 1458, 1404, 1371, 1348, 1329, 1306, 1284, 1252, 1201, 1163, 1118, 1102, 1074, 1060, 1023, 1010, 963, 897, 861, 822, 788, 758, 726, 669, 638, 625, 582, 557, 516, 478 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 8.47 (s, 1H, NH-3), 7.86-7.76 (m, 4H, H_F), 7.69 (s, 1H, H₆), 7.52-7.42 (m, 3H, H_{C'}), 6.42 (dd, *J* = 5.7, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 4.70 (AB system, *J* = 12 Hz, 2H, H_{a'}), 4.39-4.33 (m, 1H, H_{3'}), 4.29-4.22 (m, 3H, H_{4'}/H_a), 3.77 (dd, 1H, *J* = 2.7, 10.2 Hz, H_{5'a}), 3.63 (dd, 1H, *J* = 2.7, 10.2 Hz, H_{5'b}), 2.77-2.70 (m, 2H, H_d), 2.54-2.37 (m, 5H, H_c/H_{2'a}/H_f), 2.22-2.11 (m, 1H, H_{2'b}), 1.86 (s, 3H, H₇), 1.60-1.49 (m, 2H, H_g), 1.23-1.18 (m, 16H, H_{aliphatics}), 0.92-0.82 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 209.5 (C_e), 205.8 (C_b), 163.8 (C₄), 150.5 (C₂), 136.3 (C₆), 135.2 (C_{b'}), 133.4 (C_{d'}), 133.2 (C_{e'}), 128.5 (C_F), 128.0 (C_F), 127.9 (C_F), 126.6 (C_{c'}), 126.4 (C_F), 126.2 (C_{c'}), 125.7 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 83.8 (C_{4'}), 79.5 (C_{3'}), 75.9 (C_a), 71.6 (C_{a'}), 71.6 (C_{5'}), 42.7 (C_f), 37.7 (C_{2'}), 36.1 (C_d), 32.1 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 23.9 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₇H₅₀N₂O₇ [M-H]⁻, 633.35453 found 633.35827.

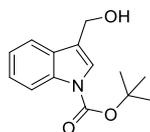
Compound 213



Chemical Formula: C₁₅H₁₈BrNO₂
Molecular Weight: 324.22

DMAP (453 mg, 3.71 mmol, 0.2 eq) and Boc₂O (6.07 g, 27.89 mmol, 1.5 eq) were added to a stirred solution of 2-bromoethylindole (4.16 g, 18.55 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.37 M, 50.1 mL). Et₃N (2.6 mL, 18.55 mmol, 1 eq) was added dropwise and the reaction mixture was stirred during 3.5 h at room temperature. The reaction mixture was quenched with water and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with EtOAc. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 1/99) to afford compound **213** with Boc excess. Imidazole (1 eq) and DMAP (0.1 eq) were added to a stirred solution of this mixture (**213** with Boc excess) in CH₂Cl₂ (0.37 M). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was quenched with HCl (1N) and layers were separated. Organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded compound **213** as a yellow solid (4.58 g, 14.1 mmol, **76 %**). Data were consistent with literature.³⁰²

Compound 217

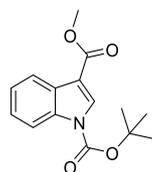


Chemical Formula: C₁₄H₁₇NO₃
Molecular Weight: 247.29

DMAP (1.7 mg, 0.14 mmol, 0.1 eq) and Et₃N (250 μL, 1.79 mmol, 1.3 eq) were successively added to a stirred solution of indole carboxaldehyde (200 mg, 1.38 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.2 M, 6.9 mL). Boc₂O (361 mg, 1.65 mmol, 1.2 eq) was added to the mixture. The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h. The mixture was quenched with water and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded intermediate (**quant.**) as a yellow solid without further purification.

At 0 °C, NaBH₄ (26.2 mg, 0.69 mmol, 0.5 eq) was added to a stirred solution of compound **217** (340 mg, 1.39 mmol, 1 eq) in MeOH (0.6 M, 2.30 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 3 h. The reaction was quenched with water. Mixture was concentrated under reduced pressure to afford the crude. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 20/80) to afford indole **217** as a pink oil (249 mg, 1.01 mmol, **73 %**). Data were consistent with literature.³⁵³

Compound **219**

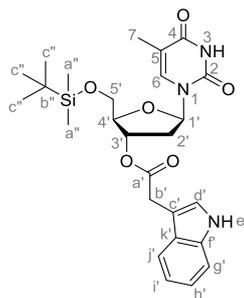


Chemical Formula: C₁₅H₁₇NO₄
Molecular Weight: 275,30

At 0°C, SOCl₂ (833 μL, 11.42 mmol, 5 eq) was added dropwise to stirred solution of acetic indole acid (400 mg, 2.28 mmol, 1 eq) in MeOH (0.12 M, 19.7 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 4 h. The mixture was concentrated under reduced pressure before being dissolved in EtOAc. The organic layer was washed successively with a saturated solution of NH₄Cl, NaHCO₃ and Brine. Organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded intermediate (419 mg, 2.22 mmol, **97 %**) as a brown oil without further any purification. Data were consistent with literature.³⁰⁶

Boc₂O (879 mg, 4.03 mmol, 3 eq) and DMAP (33 mg, 0.268 mmol, 0.2 eq) were successively added to a stirred solution of intermediate (254 mg, 1.34 mmol, 1 eq) in MeCN (1.24 M, 1.02 mL). The mixture was stirred at room temperature during 2 h. The mixture was concentrated under reduced pressure before being dissolved in EtOAc. The organic layer was washed successively with a saturated solution of NH₄Cl, NaHCO₃ and Brine. Organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 5/95) to afford compound **219** as a colorless oil (**quant.**). Data were consistent with literature.³⁰⁶

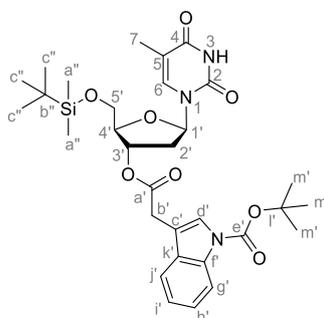
³⁵³ Xu, X-L.; Wang, J.; Yu, C-L.; Chen, W.; Li, Y-C.; Li, Y.; Zhang, H-B.; Yang, X-D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4926-4930.

Compound **221**

Chemical Formula: $C_{26}H_{35}N_3O_6Si$
Molecular Weight: 513,67

Acetic indole acid (2.42 g, 12.60 mmol, 1.5 eq), DMAP (616.9 mg, 5.05 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (2.21 g, 12.60 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of alcohol **109** (3.00 g, 8.42 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 g/mL, 30 mL). The mixture was stirred at room temperature during 17.5 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 50/50) to afford ester **221** as a white foam (4.20 g, 8.18 mmol, **97 %**).

Mp : 90-94 °C ; **Rf** = 0.48 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3324, 3054, 2937, 2861, 1692, 1519, 1458, 1357, 1255, 1122, 1003, 965, 830, 744, 671, 597, 556, 407 ; **1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 10.02 (s, 1H, NH-3), 8.88 (s, 1H, $NH_{e'}$), 7.65-7.59 (m, 1H, $H_{j'}$), 7.55 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H_6), 7.40-7.32 (m, 1H, $H_{g'}$), 7.23-7.09 (m, 3H, $H_{d'}/H_{h'}/H_{i'}$), 6.30 (dd, $J = 5.1, 9.6$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.31-5.25 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.13-4.08 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.87 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H, $H_{5'}$), 3.82 (s, 2H, $H_{b'}$), 2.28 (dd, $J = 5.1, 13.5$ Hz, 1H, $H_{2'a}$), 2.12-2.00 (m, 1H, $H_{2'b}$), 1.94 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7), 0.92 (s, 9H, $H_{c''}$), 0.11 (d, $J = 2.1$ Hz, 6H, $H_{a''}$) ; **^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 171.6 ($C_{a'}$), 164.1 (C_4), 151.2 (C_2), 136.3 (C_f), 135.2 (C_6), 127.1 ($C_{k'}$), 123.4 ($C_{d'}$), 122.2 ($C_{h'}$), 119.7 ($C_{i'}$), 118.6 ($C_{j'}$), 111.6 ($C_{g'}$), 111.6 (C_5), 107.5 (C_c), 85.1 (C_4), 84.7 ($C_{1'}$), 76.0 ($C_{3'}$), 63.8 ($C_{5'}$), 38.1 ($C_{2'}$), 31.6 ($C_{b'}$), 26.0 ($C_{c''}$), 18.4 ($C_{b''}$), 12.6 (C_7), -5.3 ($C_{a''}$), -5.4 ($C_{a''}$) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $C_{26}H_{35}N_3O_6Si$ $[M+H]^+$, 514.23619, found 514.23127.

Compound **222**

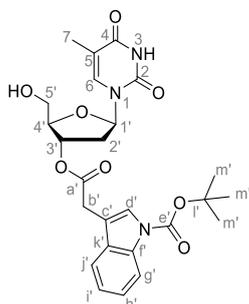
Chemical Formula: $C_{31}H_{43}N_3O_8Si$
Molecular Weight: 613,78

DMAP (18.1 mg, 0.148 mmol, 0.2 eq) and Boc_2O (194.2 mg, 0.890 mmol, 1.2 eq) were successively added to a stirred solution of compound **221** (392.5 mg, 0.742 mmol, 1 eq) in MeCN (1.24 M, 0.60

mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h before being concentrated under reduced pressure. The residue was diluted in EtOAc and washed successively with a saturated solution of NH_4Cl , NaHCO_3 and brine. Organic layer was collected, dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 20/80 to 50/50) to afford compound **222** as a white foam (390.7 mg, 0.654 mmol, **88 %**).

Mp : 83-88 °C ; **Rf** = 0.47 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 2931, 2858, 1687, 1454, 1367, 1310, 1254, 1154, 1124, 1081, 1005, 960, 921, 833, 768, 746, 671, 604, 556, 491, 421 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.78 (s, 1H, NH-3), 8.14 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H_j), 7.59 (s, 1H, H_d), 7.57-7.50 (m, 2H, H_6/H_g), 7.37-7.23 (m, 2H, H_h/H_i), 6.41 (dd, $J = 5.4, 9.3$ Hz, 1H, H_1), 5.31-5.25 (m, 1H, H_3), 4.10-4.08 (m, 1H, H_4), 3.88 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H, H_5), 3.76 (s, 2H, H_b), 2.45 (dd, $J = 5.4, 13.5$ Hz, 1H, H_{2a}), 2.19-2.05 (m, 1H, H_{2b}), 1.92 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7), 1.66 (s, 9H, H_m), 0.90 (s, 9H, H_c), 0.10 (d, $J = 1.8$ Hz, 6H, H_a) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 170.9 (C_a), 164.1 (C_4), 150.7 (C_2), 149.6 (C_e), 135.5 (C_f), 135.1 (C_6), 129.9 (C_k), 124.7 (C_d), 124.7 (C_g), 122.8 (C_h), 119.0 (C_i), 115.4 (C_j), 112.5 (C_c), 111.4 (C_5), 85.5 (C_4'), 84.8 (C_1'), 83.8 (C_1), 76.1 (C_3'), 63.6 (C_5'), 38.0 (C_2'), 31.1 (C_b), 28.2 (C_m), 26.0 (C_c'), 18.4 (C_b'), 12.6 (C_7), -5.3 (C_a''), -5.4 (C_a'') ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_8\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 614.28977, found 614.28886.

Compound **223**



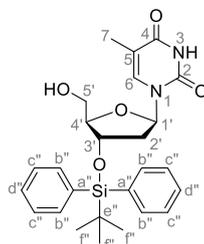
Chemical Formula: $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_8$
Molecular Weight: 499.52

At 0 °C, a solution of TBAF (0.56 mL, 0.56 mmol, 1 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of compound **222** (355 mg, 0.56 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 5.6 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 5.5 h. Reaction was then quenched with water and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/ CH_2Cl_2 5/95) to afford alcohol **223** as a white foam (236.4 mg, 0.489 mmol, **87 %**).

Rf = 0.20 (MeOH/ CH_2Cl_2 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 2931, 1684, 1453, 1368, 1309, 1153, 1084, 1016, 994, 959, 856, 836, 745, 591, 558, 492, 420 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.84 (s, 1H, NH-3), 8.12 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H_j), 7.57 (s, 1H, H_d), 7.54-7.48 (m, 2H, H_6/H_g), 7.35-7.21 (m, 2H, H_h/H_i), 6.21 (dd, $J = 6.3, 8.4$ Hz, 1H, H_1), 5.40-5.35 (m, 1H, H_3), 4.09-4.03 (m, 1H, H_4), 3.83 (dd, $J = 2.4, 12.0$ Hz, 2H, H_5), 3.74 (s, 2H, H_b), 3.23 (brs, 1H, H-OH), 2.49-2.29 (m, 2H, H_2), 1.86 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7), 1.65 (s, 9H, H_m) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 170.9 (C_a), 164.2 (C_4), 150.7 (C_2), 149.7 (C_e), 136.7 (C_6), 135.5 (C_f), 129.9 (C_k), 124.8 (C_h), 124.7 (C_g), 122.8 (C_i),

119.0 (C_{d'}), 115.4 (C_{j'}), 112.5 (C_{c'}), 111.4 (C₅), 86.3 (C_{1'}), 85.2 (C_{4'}), 84.0 (C_{1'}), 75.6 (C_{3'}), 62.5 (C_{5'}), 37.2 (C_{2'}), 31.2 (C_{b'}), 28.3 (C_{m'}), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₅H₂₉N₃O₈ [M-H]⁻, 498.18819 found 498.19125.

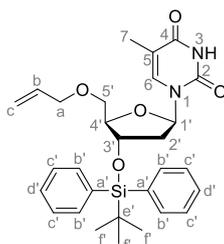
Compound **225**



Chemical Formula: C₂₆H₃₂N₂O₅Si
Molecular Weight: 480,64

DMAP (cat. amount) and TBDMSCl (14.90 g, 99.1 mmol, 1.2 eq) were successively added to a stirred solution of thymidine (20.00 g, 82.6 mmol, 1 eq) in pyridine (0.05 g/mL). The reaction mixture was stirred during 17 h at room temperature. Mixture was concentrated under reduced pressure. The resulting residue was dissolved in CH₂Cl₂ and washed with water and brine. Organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product as a white solid without further purification. The crude was dissolved in DMF (0.1 g/mL). Imidazole (11.03 g, 162.2 mmol, 2 eq) and TBDPSCI (42.2 mL, 162.2 mmol, 2 eq) were successively added to the stirred solution. The reaction mixture was stirred during 18 h at room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure. The resulting residue was dissolved in Et₂O, filtered and washed several times with Et₂O. Filtrate was washed with brine. Organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product as a colorless oil without further purification. The crude was dissolved in MeOH (0.1 g/mL) and TsOH•H₂O (2.11 g, 11.1 mmol, 0.1 eq) was added. The reaction mixture was stirred during 19 h at room temperature. Mixture was concentrated under reduced pressure. The resulting residue was dissolved in CH₂Cl₂. Organic layer was washed with NaHCO₃ (sat.) and brine. Organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was and purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 50/50) to afford compound **225** as a white solid (24.10 g, 50.14 mmol, **61 % over 3 steps**). Data were consistent with literature.^{270,270}

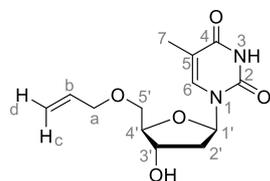
Compound **226**



Chemical Formula: C₂₉H₃₆N₂O₅Si
Molecular Weight: 520,70

At 0 °C, NaH (208.1 mg, 5.20 mmol, 2.5 eq, 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol **225** (1.00 g, 2.08 mmol, 1 eq) in THF (0.1 g/mL, 10 mL) in a suitable vial. The mixture was activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 2 minutes. Allyl bromide (450 μ L, 5.20 mmol, 2.5. eq) was then added to the vial and mixture was activated a second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 1 h. After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. Reaction was repeated three times and the crudes products were collected and purified together by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 20/80 to 40/60) to afford compound **226** as a white solid (2.08 g, 4.00 mmol, **64 %**). Data were consistent with literature.²⁶⁸

Compound **227**



Chemical Formula: C₁₃H₁₈N₂O₅
Molecular Weight: 282,30

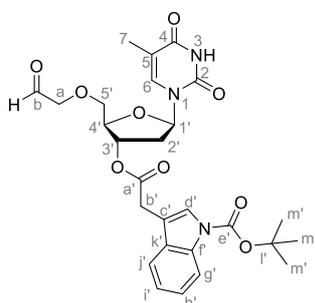
At 0 °C, a solution of TBAF (3.96 mL, 3.96 mmol, 1 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of compound **226** (2.06 g, 3.96 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 39.6 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h. Reaction was then quenched with water and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/ CH₂Cl₂ 5/95) to afford alcohol **227** as a white solid (1.03 g, 3.63 mmol, **92 %**).

Mp : 135-137 °C ; **R_f** = 0.16 (EtOAc/pentane 70/30) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3457, 3357, 3011, 2828, 1714, 1666, 1475, 1427, 1370, 1345, 1315, 1278, 1198, 1127, 1093, 1063, 1020, 988, 965, 917, 876, 760, 689, 670, 614, 561, 497, 451, 425 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 10.01 (s, 1H, NH-3), 7.65 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 6.40 (dd, *J* = 6.0, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 5.96-5.80 (m, 1H, H_b), 5.24 (ddd, *J* = 1.5, 3.3, 25.5 Hz, 1H, H_c), 5.19 (ddd, *J* = 1.8, 3.3, 18.9 Hz, 1H, H_d), 4.53-4.44 (m, 1H, H_{3'}), 4.15-4.08 (m, 1H, H_{4'}), 4.06-3.99 (m, 2H, H_a), 3.90 (brs, 1H, H-OH), 3.70 (dd, *J* = 2.7, 10.5 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.62 (dd, *J* = 2.7, 10.8 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.46 (ddd, *J* = 2.7, 6.0, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.23-2.10 (m, 1H, H_{2'b}), 1.84 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 164.5 (C₄), 151.0 (C₂), 136.3 (C₆), 134.1 (C_b), 117.5 (C_c), 111.0 (C₅), 86.3 (C_{4'}), 85.2 (C_{1'}), 72.4 (C_{3'}), 72.4 (C_a), 70.3 (C_{5'}), 40.9 (C_{2'}), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₃H₁₈N₂O₅ [M+H]⁺, 283.12885 found 283.12888.

DMAP (30.2 mg, 0.247 mmol, 0.2 eq) and Boc₂O (323.0 mg, 1.48 mmol, 1.2 eq) were successively added to a stirred solution of compound **228** (542.5 mg, 1.23 mmol, 1 eq) in MeCN (1.0 M, 1.23 mL). The reaction mixture was stirred at rt during 1h before being concentrated under reduced pressure. The residue was diluted in EtOAc and washed successively with a saturated solution of NH₄Cl, NaHCO₃ and brine. Organic layer was collected, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 40/60 to 50/50) to afford compound **224** as a white foam (573.2 mg, 1.06 mmol, **86 %**).

R_f = 0.48 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2981, 1685, 1453, 1368, 1310, 1255, 1153, 1080, 1017, 961, 917, 856, 734, 606, 558, 492, 421 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 8.93 (s, 1H, NH-3), 8.19-8.10 (m, 1H, H_j'), 7.67 (dd, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 7.61-7.50 (m, 2H, H_d'/H_g'), 7.39-7.22 (m, 2H, H_h'/H_i'), 6.46 (dd, *J* = 5.7, 9.0 Hz, 1H, H₁'), 5.98-5.81 (m, 1H, H_b), 5.40-5.18 (m, 3H, H₃'/H_c'), 4.17 -4.13 (m, 1H, H₄'), 4.07-4.02 (m, 2H, H_a), 3.79-3.75 (m, 2H, H_b'), 3.75-3.64 (m, 2H, H₅'), 2.40 (ddd, *J* = 1.5, 5.7, 14.1 Hz, 1H, H₂'_a) 2.31-2.18 (m, 1H, H₂'_b), 1.89 (d, *J* = 1.8 Hz, 3H, H₇), 1.67 (s, 9H, H_m') ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 170.9 (C_a'), 163.8 (C₄), 150.6 (C₂), 149.7 (C_e'), 135.7 (C_f'), 135.5 (C₆), 133.9 (C_b'), 129.9 (C_k'), 124.8 (C_h'), 124.7 (C_d'), 122.9 (C_i'), 119.0 (C_g'), 117.8 (C_c'), 115.5 (C_j'), 112.5 (C_c'), 111.5 (C₅'), 84.9 (C₁'_a'), 84.3 (C₄'_a'), 83.9 (C₁'), 76.6 (C₃'_a'), 72.5 (C_a'), 70.5 (C₅'_a'), 37.8 (C₂'_a'), 31.2 (C_b'_a'), 28.3 (C_m'_a'), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₈H₃₃N₃O₈ [M+H]⁺, 540.23404, found 540.23447.

Compound **229**



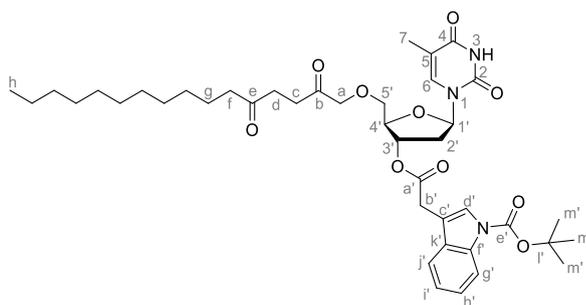
Chemical Formula: C₂₇H₃₁N₃O₉
Molecular Weight: 541,56

2,6-lutidine (0.25 mL, 1.94 mmol, 2 eq) was added to a stirred solution of compound **224** (522.6 mg, 0.97 mmol, 1 eq), osmium tetroxide (0.378 mL, 0.03 eq, 2.5 w% in *t*-BuOH), and then sodium periodate (622 mg, 2.91 mmol, 3 eq) in a dioxane/water (3/1) mixture (0.1 M, 9.7 mL). The resulting white precipitate was stirred at room temperature for 4.5 h. After addition of water, the mixture was extracted 3 times with EtOAc. The combined extracts were treated with a saturated aqueous solution of Na₂S₂O₅, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded a black crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Toluene/Acetone 70/30 to 40/60 with some drops of Et₃N) to afford aldehyde **229** as a white foam (278.6 mg, 0.51 mmol, **53 %**).

R_f = 0.34 (acetone/toluene 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2924, 1688, 1570, 1453, 1371, 1257, 1144, 1074, 855, 751, 562, 487, 464, 411 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.69 (s, 1H, H_b), 8.24-8.06 (m, 2H, NH-3/H_j'), 7.69 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 7.62-7.49 (m, 2H, H_d'/H_g'), 7.48-7.27 (m, 2H, H_h'/H_i'), 6.45 (dd, *J* = 5.7, 9.0 Hz, 1H, H₁'_a), 5.44-5.37 (m, 1H, H₃'_a), 4.29 (AB system, *J* = 18.3 Hz,

2H, H_a), 4.17-4.11 (m, 1H, H_{4'}), 3.87-3.73 (m, 4H, H_{5'/H_b'}), 2.45-2.27 (m, 2H, H_{2'}), 1.91 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H, H₇), 1.67 (s, 9H, H_{m'}) ; ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 197.2 (C_b), 171.0 (C_{a'}), 163.8 (C₄), 150.7 (C₂), 149.7 (C_{e'}), 135.7 (C_f), 135.5 (C₆), 129.9 (C_{k'}), 124.8 (C_{h'}), 124.7 (C_{d'}), 122.9 (C_{i'}), 119.0 (C_{g'}), 115.5 (C_{j'}), 112.5 (C_{c'}), 111.8 (C₅), 84.9 (C_{1'}), 84.0 (C_{1'}), 83.7 (C_{4'}), 76.8 (C_a), 76.3 (C_{3'}), 71.6 (C_{5'}), 37.4 (C_{2'}), 31.2 (C_{b'}), 28.3 (C_{m'}), 12.6 (C₇) ; HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₇H₃₁N₃O₉ [M+H]⁺, 542.21331, found 542.21344.

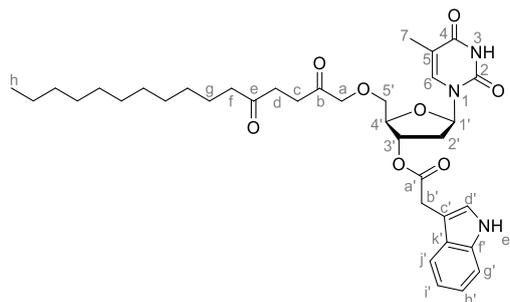
Compound 230



Chemical Formula: C₄₁H₅₇N₃O₁₀
Molecular Weight: 751.92

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (66.1 mg, 0.262 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45 °C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **229** (709.3 mg, 1.31 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 2.62 mL) was added followed by distilled DBU (39.1 μ L, 0.262 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **117** (188.7 mg, 0.87 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75°C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (acetone/toluene 10/90 to 30/70) to afford diketone **230** as a white solid (289.1 mg, 0.384 mmol, **43** %).

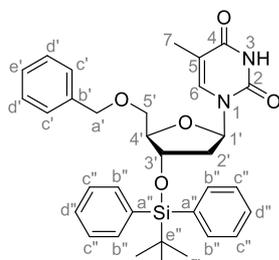
Mp : 88-90 °C ; **R_f** = 0.27 acetone/toluene 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2924, 1693, 1453, 1375, 1256, 1148, 1086, 863, 747, 616, 561, 479, 417 ; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.15 (s, 1H, NH-3), 8.19-8.04 (m, 1H, H_{j'}), 7.79 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H₆), 7.60-7.48 (m, 2H, H_{d'/H_g'}), 7.37-7.23 (m, 2H, H_{h'/H_f'}), 6.48 (dd, $J = 6.0, 8.7$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.43-5.36 (m, 1H, H_{3'}), 4.28 (AB system, $J = 17.4$ Hz, 2H, H_a), 4.14-4.10 (m, 1H, H_{4'}), 3.82-3.69 (m, 4H, H_{5'/H_b'}), 2.79-2.72 (m, 2H, H_d), 2.57-2.50 (m, 2H, H_c), 2.45-2.30 (m, 4H, H_{2'/H_f'}), 1.84 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇), 1.65 (s, 9H, H_{m'}), 1.58-1.48 (m, 2H, H_g), 1.32-1.17 (m, 16H, H_{aliphatic}), 0.96-0.82 (m, 3H, H_h) ; ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 209.5 (C_e), 205.3 (C_b), 170.9 (C_{a'}), 164.0 (C₄), 150.8 (C₂), 149.6 (C_{e'}), 136.1 (C₆), 135.5 (C_f), 129.9 (C_{k'}), 124.8 (C_{h'}), 124.7 (C_{d'}), 122.9 (C_{i'}), 119.0 (C_{g'}), 115.4 (C_{j'}), 112.5 (C_{c'}), 111.7 (C₅), 84.8 (C_{1'}), 83.8 (C_{4'}), 83.8 (C_{1'}), 76.6 (C_{3'}), 75.8 (C_a), 71.3 (C_{5'}), 42.6 (C_f), 37.4 (C_{2'}), 36.0 (C_d), 32.1 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 31.1 (C_{b'}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 28.3 (C_{m'}), 23.8 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h), 12.3 (C₇) ; HRMS (ESI) : Calcd. for C₄₁H₅₇N₃O₁₀ [M+H]⁺, 752.41167, found 752.41241.

Compound **231**

Chemical Formula: $C_{36}H_{49}N_3O_8$
Molecular Weight: 651,80

At 0 °C, TFA (136 μ L, 2.42 mmol, 30 eq) was added dropwise to a stirred solution of diketone **230** (61 mg, 0.08 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 M). The reaction mixture was stirred at room temperature during 23h. The mixture was concentrated under reduced pressure by adding toluene several times. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/P 50/50 to 70/30) to afford compound **231** as yellow solid (40.7 mg, 0.06 mmol, **78 %**).

Mp : 106-110 °C ; **Rf** = 0.36 EtOAc/pentane 50/50) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3396, 3298, 2923, 2863, 1688, 1459, 1374, 1250, 1090, 964, 880, 784, 740, 617, 509, 411 ; **1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 9.72 (s, 1H, NH-3), 8.86 (s, 1H, NH $_e'$), 7.79 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H $_6$), 7.64-7.58 (m, 1H, H $_j'$), 7.38-7.32 (m, 1H, H $_g'$), 7.28-7.02 (m, 3H, H $_d'/H_h'/H_i'$), 6.37 (dd, J = 6.0, 8.7 Hz, 1H, H $_1'$), 5.41-5.35 (m, 1H, H $_3'$), 4.27 (AB system, J = 17.4 Hz, 2H, H $_a$), 4.17-4.10 (m, 1H, H $_4'$), 3.85-3.62 (m, 4H, H $_5'/H_b'$), 2.81-2.72 (m, 2H, H $_d$), 2.59-2.49 (m, 2H, H $_c$), 2.47-2.37 (m, 2H, H $_f$), 2.33-2.16 (m, 2H, H $_2'$), 1.86 (d, J = 0.9 Hz, 3H, H $_7$), 1.62-1.36 (m, 2H, H $_g$), 1.36-1.14 (m, 16H, H $_{aliphatic}$), 0.93-0.80 (m, 3H, H $_h$) ; **^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 209.6 (C $_e$), 205.3 (C $_b$), 171.6 (C $_a'$), 164.2 (C $_4$), 151.3 (C $_2$), 136.3 (C $_f$), 136.2 (C $_6$), 127.1 (C $_k'$), 123.4 (C $_d'$), 122.2 (C $_h'$), 119.7 (C $_i'$), 118.7 (C $_j'$), 111.9 (C $_5$), 111.6 (C $_g'$), 107.5 (C $_c'$), 84.7 (C $_1'$), 83.4 (C $_4'$), 76.3 (C $_3'$), 75.8 (C $_a$), 71.4 (C $_5'$), 42.7 (C $_f$), 37.4 (C $_2'$), 36.1 (C $_d$), 32.1 (C $_c$), 32.0 (C $_{aliphatic}$), 31.6 (C $_b'$), 29.7 (C $_{aliphatic}$), 29.6 (C $_{aliphatic}$), 29.5 (C $_{aliphatic}$), 29.4 (C $_{aliphatic}$), 29.3 (C $_{aliphatic}$), 23.9 (C $_g$), 22.8 (C $_{aliphatic}$), 14.2 (C $_h$), 12.4 (C $_7$) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $C_{36}H_{49}N_3O_8$ [M+H] $^+$, 652.35924, found 652.35861.

Compound **232**

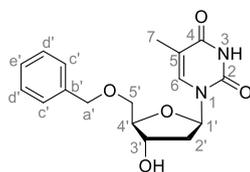
Chemical Formula: $C_{33}H_{38}N_2O_5Si$
Molecular Weight: 570,76

At 0 °C, NaH (208 mg, 5.20 mmol, 2.5 eq, 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol **225** (1 g, 2.08 mmol, 1 eq) in THF (0.1 g/mL) in a suitable vial. The mixture was

activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 2 minutes. Benzyl bromide (618 μL , 5.20 mmol, 2.5 eq) was then added to the vial and mixture was activated a second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 1 h. After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. Reaction was repeated three times and the crude products were collected and purified together by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 20/80 to 30/70) to afford compound **232** as a colorless gum (2.23 g, 3.91 mmol, **66** %).

Rf = 0.30 (EtOAc/Pentane 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3179, 2930, 2858, 1684, 1470, 1428, 1363, 1324, 1275, 1199, 1105, 1067, 1029, 961, 892, 857, 823, 778, 737, 699, 648, 610, 558, 538, 506, 486, 420 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 7.98 (s, 1H, NH-3), 7.68-7.59 (m, 4H, $\text{H}_{\text{b}''}$), 7.50-7.27 (m, 10H, $\text{H}_{\text{c}'}/\text{H}_{\text{d}'}/\text{H}_{\text{c}''}$), 7.18-7.11 (m, 2H, $\text{H}_{\text{c}'}$) 6.47 (dd, $J = 6.0, 8.1$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{1}'}$), 4.49-4.43 (m, 1H, $\text{H}_{\text{3}'}$), 4.33 (AB system, $J = 12$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{a}'}$), 4.04-3.99 (m, 1H, $\text{H}_{\text{4}'}$), 3.52 (dd, $J = 2.4, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{5}'\text{a}}$), 2.99 (dd, $J = 2.4, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{5}'\text{b}}$), 2.34 (ddd, $J = 2.4, 5.7, 13.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{2}'\text{a}}$), 2.06-1.92 (m, 1H, $\text{H}_{\text{2}'\text{b}}$), 1.53 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7), 1.08 (s, 9H, $\text{H}_{\text{F}''}$) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 164.0 (C_4), 150.5 (C_2), 137.5 ($\text{C}_{\text{b}'}$), 136.0 (C_6), 135.9 ($\text{C}_{\text{b}''}$), 135.8 ($\text{C}_{\text{b}''}$), 133.4 ($\text{C}_{\text{a}''}$), 133.2 ($\text{C}_{\text{a}''}$), 130.2 ($\text{C}_{\text{d}''}$), 128.6 ($\text{C}_{\text{d}'}$), 128.0 ($\text{C}_{\text{e}'}$), 128.0 ($\text{C}_{\text{e}''}$), 127.5 ($\text{C}_{\text{e}'}$), 111.0 (C_5), 86.8 ($\text{C}_{\text{4}'}$), 85.1 ($\text{C}_{\text{1}'}$), 73.9 ($\text{C}_{\text{3}'}$), 73.5 ($\text{C}_{\text{a}'}$), 69.8 ($\text{C}_{\text{5}'}$), 41.3 ($\text{C}_{\text{2}'}$), 27.0 ($\text{C}_{\text{F}''}$), 19.1 ($\text{C}_{\text{e}''}$), 12.2 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 571.26228 found 571.26890.

Compound **233**

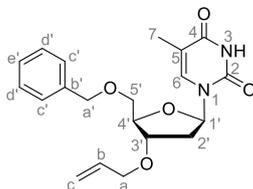


Chemical Formula: $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$
Molecular Weight: 332.36

At 0 °C, a solution of TBAF (0.267 mL, 0.267 mmol, 1 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of compound **232** (154.5 mg, 0.267 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 2.67 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h. Reaction was then quenched with water and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/ CH_2Cl_2 4/96 to 5/95) to afford alcohol **233** as a white foam (81.3 mg, 0.245 mmol, **90** %).

Rf = 0.23 (EtOAc/Pentane 70/30) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3387, 3183, 3063, 3034, 2926, 2862, 1660, 1471, 1454, 1406, 1362, 1313, 1272, 1200, 1123, 1091, 1060, 997, 959, 921, 878, 823, 786, 736, 698, 671, 615, 594, 558, 488, 416 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.73 (s, 1H, NH-3), 7.58 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H_6), 7.37-7.28 (m, 5H, $\text{H}_{\text{aromatic}}$), 6.42 (dd, $J = 5.7, 7.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{1}'}$), 4.57 (s, 2H, $\text{H}_{\text{a}'}$), 4.53-4.48 (m, 1H, $\text{H}_{\text{3}'}$), 4.16-4.10 (m, 1H, $\text{H}_{\text{4}'}$), 3.79 (dd, $J = 2.7, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{5}'\text{a}}$), 3.68 (dd, $J = 2.7, 10.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{5}'\text{b}}$), 2.38 (ddd, $J = 2.7, 6.0, 13.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{2}'\text{a}}$), 2.25-2.12 (m, 1H, $\text{H}_{\text{2}'\text{b}}$), 1.59 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 164.3 (C_4), 150.9 (C_2), 137.6 ($\text{C}_{\text{b}'}$), 136.2

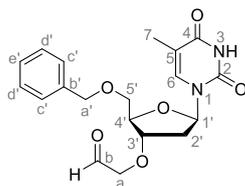
(C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.5 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 86.2 (C_{4'}), 85.2 (C_{1'}), 73.7 (C_{3'}), 72.6 (C_{a'}), 70.5 (C_{5'}), 40.9 (C_{2'}), 12.3 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₇H₂₀N₂O₅ [M-H]⁻, 331.12995, found 331.13162.

Compound **234**

Chemical Formula: C₂₀H₂₄N₂O₅
Molecular Weight: 372,42

At 0 °C, NaH (193 mg, 4.82 mmol, 2.5 eq, 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol **233** (640 mg, 1.93 mmol, 1 eq) in THF (0.1 g/mL) in a suitable vial. The mixture was activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 4.5 minutes. Allyl bromide (416 μL, 4.82 mmol, 2.5 eq) was then added to the vial and mixture was activated a second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 1 h. After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. Reaction was repeated three times and the crude products were collected and purified together by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 20/80 to 30/70) to afford compound **234** as a colorless gum (450 mg, 1.21 mmol, **63** %).

R_f = 0.47 (EtOAc/Pentane 50/50) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3666, 3181, 3063, 2987, 2924, 2904, 1682, 1468, 1455, 1433, 1405, 1365, 1324, 1273, 1201, 1120, 1064, 958, 917, 885, 785, 734, 698, 646, 615, 595, 557, 486, 421 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.32 (s, 1H, NH-3), 7.57 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 7.39-7.27 (5H, m, H_{aromatic}), 6.36 (dd, *J* = 5.7, 7.5 Hz, 1H, H_{1'}), 5.96-5.80 (m, 2H, H_c), 5.33-5.15 (m, 2H, H_b), 4.59 (appearing t, *J* = 12.0 Hz, 2H, H_{a'}), 4.24-4.15 (m, 2H, H_{3'/4'}), 4.07-3.91 (m, 2H, H_a), 3.82 (dd, *J* = 2.7, 10.8 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.66 (dd, *J* = 2.1, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.42 (ddd, *J* = 2.1, 5.7, 13.2 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.16-2.02 (m, 1H, H_{2'b}), 1.62 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** ; 164.1 (C₄), 150.6 (C₂), 137.5 (C_{b'}), 136.0 (C₆), 134.2 (C_c), 128.7 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.6 (C_{c'}), 117.6 (C_b), 111.0 (C₅), 86.2 (C_{1'}), 84.0 (C_{4'}), 79.2 (C_{3'}), 73.7 (C_{a'}), 70.5 (C_{5'}), 70.4 (C_a), 38.0 (C_{2'}), 12.3 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : : Calcd. for C₂₀H₂₅N₂O₅ [M+H]⁺, 373.17580, found 373.17565.

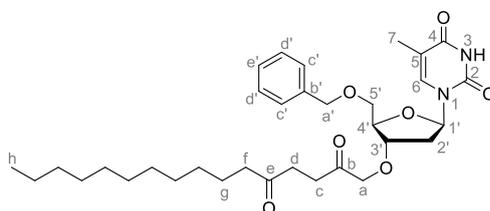
Compound **235**

Chemical Formula:
C₁₉H₂₂N₂O₆
Molecular Weight: 374,39

2,6-lutidine (302 μL , 2.38 mmol, 2 eq) was added to a stirred solution of compound **234** (442 mg, 1.19 mmol, 1 eq), osmium tetroxide (407 μL , 0.04 mmol, 0.03 eq, 2.5 w% in *t*-BuOH), and then sodium periodate (906 mg, 3.56 mmol, 3 eq) in a dioxane/water (3/1) mixture (0.1 M, 11.9 mL). The resulting white precipitate was stirred at room temperature for 4-5 h. After addition of water, the mixture was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . The combined extracts were treated with a saturated aqueous solution of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded a black crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Toluene/Acetone 70/30 to 60/40, with some drops of Et_3N) to afford aldehyde **235** as a white foam (233 mg, 0.62 mmol, **53 %**).

Rf = 0.28 (A/Toluene) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3385, 3185, 3064, 2925, 2856, 1681, 1468, 1455, 1404, 1366, 1323, 1275, 1202, 1066, 960, 911, 885, 786, 737, 698, 672, 616, 594, 558, 489, 416 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.68 (s, 1H, H_b), 8.92 (s, 1H, NH-3), 7.53 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H_6), 7.40-7.27 (m, 5H, $\text{H}_{\text{aromatics}}$), 6.36 (dd, $J = 6.0, 8.1$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.59 (s, 2H, $\text{H}_{a'}$), 4.30-4.21 (m, 2H, $\text{H}_{3'}/\text{H}_{4'}$), 4.13 (AB system, $J = 17.7$ Hz, 2H, H_a), 3.83 (dd, $J = 2.7, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 3.70 (dd, $J = 2.1, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 2.43 (ddd, $J = 2.4, 5.7, 13.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 2.19-2.07 (m, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 1.63 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 199.5 (C_b), 163.9 (C_4), 150.5 (C_2), 137.4 ($\text{C}_{b'}$), 135.8 (C_6), 128.8 ($\text{C}_{d'}$), 128.3 ($\text{C}_{e'}$), 127.7 ($\text{C}_{c'}$), 111.2 (C_5), 85.0 ($\text{C}_{1'}$), 83.8 ($\text{C}_{3'}$), 81.1 ($\text{C}_{4'}$), 74.7 (C_a), 73.8 ($\text{C}_{a'}$), 70.5 ($\text{C}_{5'}$), 37.7 ($\text{C}_{2'}$), 12.3 (C_7); **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 375.15506, found 375.15557.

Compound **128**



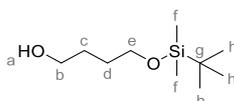
Chemical Formula: $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_7$
Molecular Weight: 584.75400

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (29.3 mg, 0.116 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **235** (218 mg, 0.580 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M) was added followed by distilled DBU (17.4 μL , 0.116 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **117** (82 mg, 0.388 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75°C . After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/ EtOAc 50/50) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (acetone/toluene 20/80) to afford the expected compound **236** as a brown oil (81 mg, 0.139 mmol, **36 %**).

Rf = 0.15 (acetone/toluene 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3183, 3064, 2924, 2854, 1685, 1467, 1403, 1367, 1324, 1275, 1202, 1102, 1069, 1046, 960, 887, 785, 737, 698, 672, 616, 595, 558, 488, 420 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.18 (s, 1H, NH-3), 7.53 (s, 1H, H_6), 7.38-7.28 (m, 5H,

H_{aromatics}), 6.35 (dd, $J = 5.7, 7.8$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.58 (AB system, $J = 12$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.29-4.20 (m, 2H, H_{3'/H4'}), 4.15 (AB system, $J = 16.8$ Hz, 2H, H_a), 3.82 (dd, $J = 2.4, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'a}), 3.70 (dd, $J = 2.4, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'b}), 2.78-2.69 (m, 2H, H_d), 2.68-2.59 (m, 2H, H_c), 2.48-2.36 (m, 3H, H_{2'a/Hf}), 2.18-2.03 (m, 1H, H_{2'b}), 1.60 (s, 3H, H₇), 1.56-1.47 (m, 2H, H_g), 1.33-1.15 (m, 16H, H_{aliphatics}), 0.91-0.81 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 209.7 (C_e), 207.1 (C_b), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.5 (C_{b'}), 135.9 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.6 (C_{c'}), 111.1 (C₅), 85.0 (C_{1'}), 83.9 (C_{4'}), 80.9 (C_{3'}), 74.3 (C_a), 73.7 (C_{a'}), 70.6 (C_{5'}), 42.7 (C_f), 37.8 (C_{2'}), 36.0 (C_d), 32.4 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 23.9 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.1 (C_h), 12.3 (C₇) ; **HRMS (ESI) : Calcd for C₃₃H₄₈N₂O₇ [M-H]⁻, 583.33888, found 583.34181.**

Compound 236

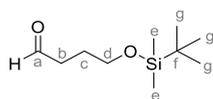


Chemical Formula: C₁₀H₂₄O₂Si
Molecular Weight: 204,39

At 0 °C, NaH (2.62 g, 15.53 mmol, 0.7 eq) was added slowly to a stirred solution of butanediol (2.00 g, 22.20 mmol, 1 eq) in THF (1.2 M, 18.5 mL). The suspension was stirred at 0 °C during 30 min. At 0 °C, TBDMSCl (2.34 g, 15.53 mmol, 0.7 eq) was added portionwise very slowly. Reaction mixture was stirred at room temperature during 1 h before being quenched at 0 °C with a saturated solution of NH₄Cl. EtOAc was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with EtOAc. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Petroleum ether 30/70) to afford alcohol **236** as colorless oil (2.58 g, 12.64 mmol, **57 %**).

R_f = 0.20 (EtOAc/Pentane 30/70) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹)** 3309, 2939, 2872, 1462, 1399, 1252, 1056, 838, 773, 668, 446 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 3.67-3.55 (m, 4H, H_{b/H_e}), 3.10 (brs, 1H, H_a), 1.67-1.49 (m, 4H, H_{c/H_d}), 0.87 (s, 9H, H_h), 0.03 (s, 6H, H_f) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 63.4 (C_e), 62.7 (C_b), 30.2 (C_d), 29.9 (C_c), 26.0 (C_h), 18.4 (C_g), -5.3 (C_f). Data were consistent with literature.³⁰⁷

Compound 237



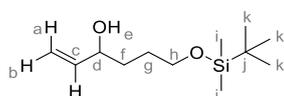
Chemical Formula: C₁₀H₂₂O₂Si
Molecular Weight: 202,37

At -78 °C, oxalyl chloride (3.79 mL, 44.04 mmol, 1.5 eq) was added dropwise to a stirred solution of DMSO (5.21 mL, 73.40 mmol, 2.5 eq) in CH₂Cl₂ (0.4 M). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 30 min. A solution of alcohol **236** (6.00 g, 29.36 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (1.0 M) was added dropwise to the reaction mixture. After 30 min at -78 °C, Et₃N (24.55 mL, 176.14 mmol, 6 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at -78 °C during 1 h before being warmed up to room temperature. After 3 h at room temperature, mixture was quenched with a saturated solution of

NH₄Cl. Layers were separated and organic layer was washed with HCl (1 N). Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organics layers were washed with a saturated solution of NaHCO₃, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 2/98 with some drops of Et₃N) to afford aldehyde **237** (4.70 g, 23.20 mmol, **79 %**) as a colorless oil.

Rf = 0.38 (EtOAc/Pentane 1/99) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3432, 2949, 2872, 1728, 1357, 1247, 1176, 1040, 996, 919, 846, 774, 668, 544 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.74 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H, H_a), 3.61 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, H_d), 2.46 (td, *J* = 1.8, 7.2 Hz, 2H, H_b), 1.87-1.77 (m, 2H, H_c), 0.85 (s, 9H, H_g), 0.00 (s, 6H, H_e) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 202.7 (C_a), 62.2 (C_d), 40.9 (C_b), 26.0 (C_g), 25.6 (C_c), 18.3 (C_f), -5.4 (C_e). Data were consistent with literature.³⁰⁷

Compound **238**

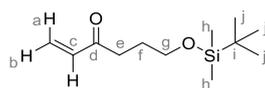


Chemical Formula: C₁₂H₂₆O₂Si
Molecular Weight: 230.42

At -78 °C, a solution of vinyl magnesium bromide (17.34 mL, 17.34 mmol, 3 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of aldehyde **237** (1.17 g, 5.78 mmol, 1 eq) in THF (0.3 M, 19.3 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 2.5 h. The reaction mixture was quenched a saturated solution of NH₄Cl. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/P 5/95 with some drops of Et₃N) to afford alcohol **238** (708.8 mg, 3.08 mmol, **53 %**) as a colorless oil.

Rf = 0.35 (EtOAc/Pentane 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3362, 2940, 2870, 1462, 1395, 1252, 1086, 1001, 923, 832, 775, 718, 666, 571 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 5.84 (ddd, *J* = 5.7, 10.2, 16.8 Hz, 1H, H_c), 5.21 (td, *J* = 1.5, 17.1 Hz, 1H, H_a), 5.06 (td, *J* = 1.5, 10.2 Hz, 1H, H_b), 4.16-4.05 (m, 1H, H_d), 3.68-3.59 (m, 2H, H_h), 2.85 (brs, 1H, H-OH_e), 1.72-1.69 (m, 4H, H_f/H_g), 0.88 (s, 9H, H_k), 0.04 (s, 6H, H_i) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 141.4 (C_c), 114.4 (C_a), 72.7 (C_d), 63.5 (C_h), 34.5 (C_f), 28.8 (C_g), 26.6 (C_k), 18.4 (C_j), -5.3 (C_i). Data were consistent with literature.³⁰⁸

Compound **239**



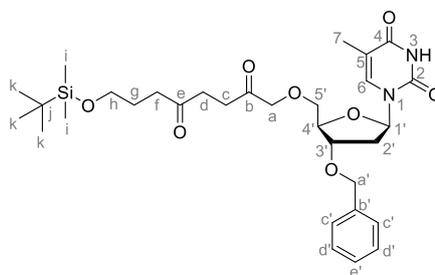
Chemical Formula: C₁₂H₂₄O₂Si
Molecular Weight: 228.41

At -78 °C, oxalyl chloride (0.35 mL, 4.10 mmol, 1.5 eq) was added dropwise to a stirred solution of DMSO (0.48 mL, 6.80 mmol, 2.5 eq) in CH₂Cl₂ (0.4 M). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 30 min. A solution of alcohol **238** (626.30 mg, 2.72 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (1.0 M) was added dropwise to the reaction mixture. After 30 min at -78 °C, Et₃N (2.27 mL, 16.30 mmol, 6 eq) was

added dropwise. The reaction mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ during 1.5 h before being warmed up to room temperature. The mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl . Layers were separated and organic layer was washed with HCl (1N). Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organics layers were washed with a saturated solution of NaHCO_3 , dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/P 1/99 with some drops of Et_3N) to afford enone **239** (453.10 mg, 1.98 mmol, **73 %**) as a colorless oil.

Rf = 0.25 (EtOAc/Pentane 1/99) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 2943, 2873, 1689, 1540, 1460, 1400, 1251, 1087, 964, 833, 776, 722, 665, 566 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 6.35 (dd, $J = 10.2, 17.7$ Hz, 1H, H_c), 6.21 (dd, $J = 1.5, 17.7$ Hz, 1H, H_a), 5.81 (dd, $J = 1.5, 10.2$ Hz, 1H, H_b), 3.62 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, H_g), 2.66 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, H_e), 1.88-1.72 (m, 2H, H_f), 0.87 (s, 9H, H_j), 0.03 (s, 6H, H_h) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 201.0 (C_d), 136.8 (C_c), 128.1 (C_a), 62.2 (C_g), 35.9 (C_e), 27.1 (C_f), 26.0 (C_j), 18.4 (C_i), -5.3 (C_h). Data were consistent with literature.³⁰⁸

Compound **240**



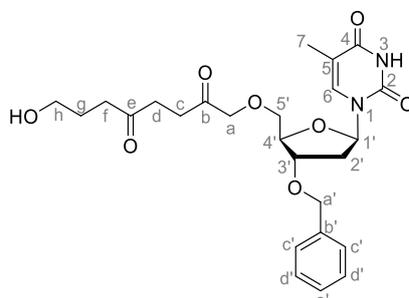
Chemical Formula: $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_8\text{Si}$
Molecular Weight: 602,80

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (251.8 mg, 1.00 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **113** (1.87 g, 4.99 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 10.0 mL) was added followed by distilled DBU (149.0 μL , 1.00 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **117** (760.5 mg, 3.33 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at $75\text{ }^{\circ}\text{C}$. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (toluene/ acetone 90/10 to 70/30) to afford diketone **240** as a colorless gum (694.9 mg, 1.15 mmol, **35 %**).

Rf = 0.39 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3184, 2936, 1686, 1459, 1397, 1257, 1075, 970, 834, 773, 701, 611, 558, 480, 412 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.69 (s, 1H, H-NH₃), 7.65 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H_7), 7.35-7.20 (m, 5H, $\text{H}_{\text{aromatics}}$), 6.36 (dd, $J = 6.0, 8.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.50 (AB system, $J = 12.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{a'}$), 4.31-4.25 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 4.22 (s, 2H, H_a), 4.20-4.15 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 3.74 (dd, $J = 2.7, 10.2$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 3.63-3.52 (m, 3H, $\text{H}_{5'b}/\text{H}_b$), 2.75 (dd, $J = 5.4, 8.1$ Hz, 2H, H_d), 2.56-2.45 (m, 4H, H_c/H_f), 2.41 (ddd, $J = 2.1, 5.7, 13.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 2.18-2.06 (m, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 1.82 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7), 1.79-1.67 (m, 2H, H_g), 0.84 (s, 9H, H_k), -0.01 (s, 6H, H_i) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 209.1 (C_e), 205.7 (C_b), 164.2 (C_4), 150.7 (C_2), 137.6 ($\text{C}_{b'}$), 136.1 (C_6), 128.4 ($\text{C}_{d'}$), 127.8 ($\text{C}_{e'}$), 127.6 ($\text{C}_{c'}$), 111.0 (C_5), 85.1 ($\text{C}_{1'}$), 83.6 ($\text{C}_{4'}$), 79.4 ($\text{C}_{3'}$), 75.7 (C_a), 71.5 ($\text{C}_{5'}$), 71.3 ($\text{C}_{a'}$), 62.0 (C_h),

38.9 (C_f), 37.5 (C_{2'}), 35.9 (C_d), 32.0 (C_c), 26.8 (C_g), 25.9 (C_k), 18.2 (C_j), 12.3 (C₇), -5.4 (C_i) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₁H₄₆N₂O₈Si [M+H]⁺, 603.30962, found 603.31023.

Compound 241

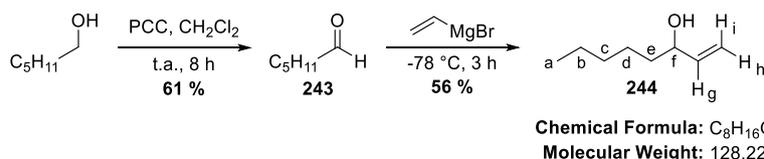


Chemical Formula: C₂₅H₃₂N₂O₈
Molecular Weight: 488,54

TsOH•H₂O (14.9 mg, 0.08 mmol, 0.2 eq) was added to a solution of compound **240** (235.8 mg, 0.39 mmol, 1 eq) in MeOH (0.1 g/mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during before being concentrated under reduced pressure. Residue was dissolved in CH₂Cl₂ and washed successively with a saturated solution of NaHCO₃ and Brine. Organic layer was collected, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (A/T 30/70 to 40/60) to afford alcohol **241** (126.9 mg, 0.26 mmol, **66** %) as a yellow gum.

R_f = 0.15 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3185, 3044, 2924, 2861, 1742, 1692, 1625, 1583, 1565, 1541, 1450, 1370, 1237, 1052, 967, 896, 742, 599, 556 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.37 (s, 1H, H-NH3), 7.67 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₇), 7.38-7.23 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.36 (dd, *J* = 5.7, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 4.53 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.34-4.16 (m, 4H, H_{3'/4'/H_a}), 3.7 (dd, *J* = 3.0, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.66-3.56 (m, 3H, H_{5'b/H_h}), 2.82-2.71 (m, 2H, H_d), 2.62-2.51 (m, 4H, H_{c/H_f}), 2.49-2.21 (m, 2H, H_{2'}), 1.93-1.74 (m, 5H, H_{7/H_g}) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 209.6 (C_e), 205.8 (C_b), 164.3 (C₄), 150.7 (C₂), 137.6 (C_{b'}), 136.4 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 127.9 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 111.1 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 83.7 (C_{4'}), 79.5 (C_{3'}), 75.8 (C_a), 71.6 (C_{5'}), 71.4 (C_{a'}), 61.9 (C_h), 39.2 (C_f), 37.6 (C_{2'}), 36.1 (C_d), 32.2 (C_c), 26.5 (C_g), 12.4 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₅H₃₂N₂O₈ [M+Na]⁺, 511.20509, found 511.20551.

Compound 244

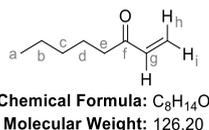


PCC (33.76 g, 156.6 mmol, 1.6 eq) was added to a stirred solution of hexanol (10.00 g, 97.9 mmol, 1 eq) in DCM (0.5 M, 195.7 mL). The reaction mixture was stirred during 8 hours at room temperature. Et₂O was added and mixture was filtered through a pad of florisil. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford hexanal **243** without further purification as a colorless oil (5.93 g, 59.2 mmol, **61** %). Data were fully consistent with commercially available sample.

At -78 °C, a solution of vinyl magnesium bromide (40.60 mL, 40.60 mmol, 3 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of hexanal (1.36 g, 13.53 mmol, 1 eq) in THF (0.3 M, 45.1 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 3h. The reaction mixture was quenched a saturated solution of NH₄Cl. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/P 4/96 to 5/95 with some drops of Et₃N) to afford alcohol **244** (978.2 mg, 7.63 mmol, **56 %**) as a colorless oil.

Rf = 0.46 (EtOAc/Pentane 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3344, 3084, 2929, 2868, 1422, 1315, 999, 919, 674, 600 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 5.64 (ddd, *J* = 6.0, 10.2, 17.1 Hz, 1H, H_g), 5.19 (td, *J* = 1.5, 17.4 Hz, 1H, H_i), 5.19 (td, *J* = 1.5, 10.2 Hz, 1H, H_h), 4.12-4.01 (m, 1H, H_f), 1.58-1.43 (m, 2H, H_e), 1.40-1.17 (m, 6H, H_b/H_c/H_d), 0.94-0.79 (m, 3H, H_a) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 141.5 (C_g), 114.6 (C_h), 73.4 (C_f), 37.1 (C_e), 31.9 (C_e), 25.1 (C_d), 22.7 (C_b), 14.1 (C_a) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₈H₁₆O [M+Na]⁺, 151.10961, found 151.10989.

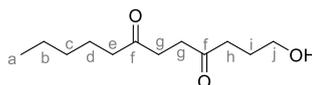
Compound **245**



At -78 °C, oxalyl chloride (0.35 mL, 4.10 mmol, 1.5 eq) was added dropwise to a stirred solution of DMSO (0.48 mL, 6.80 mmol, 2.5 eq) in CH₂Cl₂ (0.4 M). The reaction mixture was stirred at -78 °C during 30 min. A solution of alcohol **244** (2.46 g, 19.20 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (1.0 M) was added dropwise to the reaction mixture. After 30 min at -78 °C, Et₃N (16.02 mL, 114.92 mmol, 6 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at -78 °C during 1 h before being warmed up to room temperature. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl after 2 h at room temperature. Layers were separated and organic layer was washed with HCl (1N). Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organics layers were washed with a saturated solution of NaHCO₃, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/P 1/99 with some drops of Et₃N) to afford enone **245** (1.69 g, 13.42 mmol, **70 %**) as a colorless oil.

Rf = 0.80 (EtOAc/Pentane 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2958, 2932, 2862, 1682, 1616, 1463, 1402, 1188, 1131, 1078, 988, 691, 851, 729 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 6.29 (dd, *J* = 10.2, 17.7 Hz, 1H, H_g), 6.15 (dd, *J* = 1.5, 17.4 Hz, 1H, H_g), 5.75 (dd, *J* = 1.5, 10.2 Hz, 1H, H_h), 2.51 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H_e), 1.62-1.48 (m, 2H, H_d), 1.35-1.15 (m, 4H, H_b/H_c), 0.89-0.76 (m, 3H, H_a) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 201.1 (C_f), 136.6 (C_g), 127.8 (C_h), 39.6 (C_e), 31.4 (C_d), 23.7 (C_c), 22.5 (C_b), 13.9 (C_a). Data were consistent with literature.³⁵⁴

³⁵⁴ Liu, J.; Ma, S. *Org Lett.* **2013**, *15*, 5150-5153.

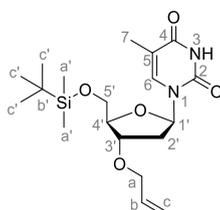
Compound **246**

Chemical Formula: C₁₂H₂₂O₃
Molecular Weight: 214,31

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (39 mg, 0.16 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45 °C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **237** (157 mg, 0.78 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 0.39 mL) was added followed by distilled DBU (23 μL, 0.16 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **245** (65 mg, 0.52 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75 °C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (toluene to toluene/acetone 99/1) to afford a partially pure intermediate as an orange oil (173 mg).

At 0 °C, a solution of TBAF (0.49 mL, 0.49 mmol, 1 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of intermediate (161 mg, 0.49 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 4.9 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h. Reaction was then quenched with water and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 30/70 to 40/60) to afford alcohol **246** as a yellow solid (40.6 mg, 0.19 mmol, **37 % over 2 steps**).

Mp : 63-65 °C ; **Rf** = 0.40 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3337, 3246, 2931, 1693, 1636, 1602, 1405, 1376, 1320, 1240, 1058, 982, 936, 884, 837, 777, 653, 626, 495, 420 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 3.58 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, H_j), 2.66 (s, 4H, H_g), 2.57 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H_h), 2.40 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H_e), 1.79 (q, *J* = 6.3 Hz, 2H, H_i) 1.53 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, H_d), 1.34-1.14 (m, 4H, H_b/H_c), 0.89-0.79 (m, 3H, H_a) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 210.2 (C_f), 210.1 (C_f), 62.0 (C_j), 42.8 (C_e), 39.5 (C_h), 36.2 (C_g), 36.1 (C_g), 31.4 (C_d), 26.6 (C_i), 23.6 (C_c), 22.5 (C_b), 14.0 (C_a) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₁₂H₂₂O₃ [M+Na]⁺, 237.14666, found 237.14526.

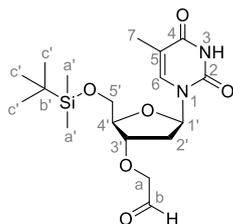
Compound **249**

Chemical Formula: C₁₉H₃₂N₂O₅Si
Molecular Weight: 396,56

At 0 °C, NaH (280 mg, 7.01 mmol, 2.5 eq., 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol alcohol **109** (1.00 g, 2.80 mmol, 1 eq.) in THF (0.1 g/mL, 10 mL) in a suitable vial. The mixture was activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 4.5 minutes. Allyl bromide (606 μL, 7.01 mmol, 2.5 eq) was then added to the vial and mixture was activated a

second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 1 h. After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified together by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 50/50) to afford compound **249** as a colorless gum (3.01 g, 7.60 mmol, **90 %**). Data were consistent with literature.²⁶⁸

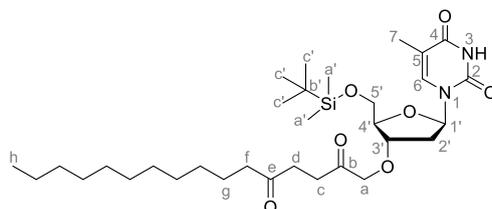
Compound **250**



Chemical Formula: C₁₈H₃₀N₂O₆Si
Molecular Weight: 398,53

2,6-lutidine (6.13 mL, 48.3 mmol, 2 eq) was added to a stirred solution of compound **249** (9.58 g, 24.2 mmol, 1 eq), osmium tetroxide (9.49 mL, 0.03 eq, 2.5 w% in *t*-BuOH), and then sodium periodate (15.50 g, 72.5 mmol, 3 eq) in a dioxane/water (3/1) mixture (0.1 M, 24.2 mL). The resulting white precipitate was stirred at room temperature for 3 hours. After addition of water (15 mL), the mixture was extracted 3 times with EtOAc. The combined extracts were treated with a saturated aqueous solution of Na₂S₂O₅, dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded a black crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Toluene/Acetone 70/30, with some drops of Et₃N) to afford aldehyde **250** as a white foam (7.80 g, 19.57 mmol, **81 %**). Data were consistent with literature.²⁶⁸

Compound **251**



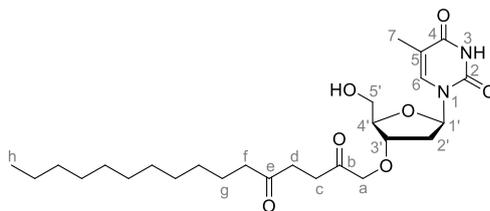
Chemical Formula: C₃₂H₅₆N₂O₇Si
Molecular Weight: 608,89

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (34.1 mg, 0.14 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **250** (269.2 mg, 0.68 mmol, 1.5 eq) in dried THF (0.5 M, 1.35 mL) was added followed by distilled DBU (20.2 μL, 0.14 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **117** (94.7 mg, 0.45 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75 °C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded

the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (acetone/toluene 10/90 to 20/80) to afford diketone **251** as a colorless oil (119.0 mg, 0.20 mmol, **43** %).

R_f = 0.27 (A/T 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm^{-1}) 3186, 3055, 2926, 2856, 1689, 1465, 1403, 1367, 1323, 1277, 1256, 1200, 1125, 1079, 1002, 960, 935, 883, 834, 779, 722, 672, 606, 558, 490 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 8.02 (s, 1H, NH-3), 7.50 (appearing s, 1H, H₆), 6.30 (dd, J = 5.4, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 4.25-4.08 (m, 4H, H_{3'/}H_{4'/}H_a), 3.90 (dd, J = 2.7, 11.4 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.82 (dd, J = 2.4, 11.4 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.80-2.73 (m, 2H, H_d), 2.70-2.62 (m, 2H, H_c), 2.51-2.39 (m, 3H, H_{2'a}/H_f), 2.03-1.89 (m, 4H, H₇/H_{2'b}), 1.64-1.50 (m, 2H, H_g), 1.34-1.19 (m, 16H, C_{aliphatic}), 0.96-0.82 (m, 12H, H_h/H_{c'}), 0.15-0.07 (m, 6H, H_{a'}) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 209.4 (C_e), 206.9 (C_b), 164.1 (C₄), 150.6 (C₂), 135.3 (C₆), 110.9 (C₅), 85.1 (C_{1'}), 85.0 (C_{4'}), 80.8 (C_{3'}), 74.2 (C_a), 63.7 (C_{5'}), 42.6 (C_f), 37.8 (C_{2'}), 35.9 (C_d), 32.3 (C_c), 31.9 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 25.9 (C_{c'}), 23.8 (C_g), 22.7 (C_{aliphatic}), 18.3 (C_{b'}), 14.1 (C_h), 12.5 (C₇), -5.4 (C_{a'}), -5.5 (C_{a'}) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₂H₅₆N₂O₇Si [M+Na]⁺, 631.37490 found 631.37541.

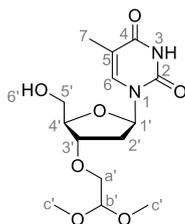
Compound **252**



Chemical Formula: C₂₆H₄₂N₂O₇
Molecular Weight: 494.63

At 0 °C, a solution of TBAF (0.48 mL, 0.48 mmol, 1 eq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of compound **251** (292.8 mg, 0.48 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 4.8 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 hours. Reaction was then quenched with water and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/ CH₂Cl₂ 5/95) to afford alcohol **252** as a yellow foam 199.2 mg, 0.403 mmol **84** %).

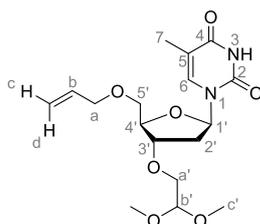
R_f = 0.39 (MeOH/CH₂Cl₂ 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm^{-1}) 3490, 2920, 2857, 1685, 1470, 1405, 1275, 1086, 855, 768, 627, 562, 481, 412 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.14 (s, 1H, NH-3), 7.41 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H₆), 6.12 (t, J = 6.9 Hz, 1H, H_{1'}), 4.29-4.18 (m, 3H, H_{3'}/H_{3'/}H_a), 4.17-4.11 (m, 1H, H_{4'}), 3.90 (dd, J = 3.3, 12.3 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.83 (dd, J = 3.0, 12.3 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.95 (brs, 1H, H-OH), 2.83-2.71 (m, 2H, H_d), 2.67-2.57 (m, 2H, H_c), 2.47-2.29 (m, 4H, H_{2'/}H_f), 1.89 (d, J = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.61-1.49 (m, 2H, H_g), 1.33-1.15 (m, 16H, H_{aliphatic}), 0.92-0.81 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 210.1 (C_e), 207.3 (C_b), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.0 (C₆), 111.2 (C₅), 86.9 (C_{1'}), 85.0 (C_{4'}), 79.9 (C_{3'}), 74.5 (C_a), 62.7 (C_{5'}), 42.8 (C_f), 37.2 (C_{2'}), 36.1 (C_d), 32.3 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 24.0 (C_g), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₆H₄₂N₂O₇ [M+H]⁺, 495.30648 found 495.30653.

Compound **254**

Chemical Formula: C₁₄H₂₂N₂O₇
Molecular Weight: 330,34

Methyl orthoformate (27.5 μ L, 0.25 mmol, 2 eq) and TsOH (2.2 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) were successively added to a stirred solution of aldehyde **250** (50 mg, 0.125 mmol, 1 eq) in MeOH (0.13 M, 0.97 mL). The reaction mixture was stirred during 15 hours. The mixture was quenched with a saturated solution of NaHCO₃ and EtOAc was added. Layers were separated and aqueous layer was extracted 3 times with EtOAc. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/CH₂Cl₂ 5/95) to afford acetal **254** as a colorless gum (34.5 mg, 0.10 mmol, **83 %**).

R_f = 0.36 (MeOH/CH₂Cl₂ 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) in progress; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.33 (s, 1H, NH-3), 7.39 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 6.10 (appearing t, *J* = 6.10 Hz, 1H, H_{1'}), 4.47 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H, H_{b'}), 4.27-4.19 (m, 1H, H_{3'}), 4.14-4.05 (m, 1H, H_{4'}), 3.90 (dd, *J* = 2.7, 12.0 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.76 (dd, *J* = 3.0, 12.0 Hz, 1H, H_{5'b}), 3.51 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, H_{a'}), 3.40 (s, 6H, H_{c'}), 2.89 (brs, 1H, OH-5'), 2.44-2.24 (m, 2H, H_{2'}), 1.88 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 164.1 (C₄), 150.6 (C₂), 137.2 (C₆), 111.2 (C₅), 102.9 (C_{b'}), 87.1 (C_{1'}), 85.2 (C_{4'}), 80.0 (C_{3'}), 69.5 (C_{a'}), 62.8 (C_{5'}), 54.4 (C_{c'}), 54.4 (C_{c'}), 37.5 (C_{2'}), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₄H₂₂N₂O₇ [M+H]⁺, 331.14998, found 331.14995.

Compound **255**

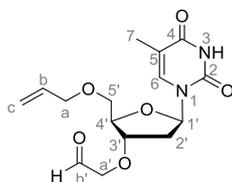
Chemical Formula: C₁₇H₂₆N₂O₇
Molecular Weight: 370,40200

At 0 °C, NaH (295 mg, 7.37 mmol, 2.5 eq, 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol **354** (974 mg, 2.95 mmol, 1 eq) in THF (0.1 g/mL, 9.7 mL) in a suitable vial. The mixture was activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 2 minutes. Allyl bromide (637 μ L, 7.37 mmol, 2.5 eq) was then added to the vial and mixture was activated a second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 1 h. After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash

chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 70/30 to 80/20) to afford compound **255** as a colorless gum (862.2 mg, 2.33 mmol, **79 %**).

R_f = 0.46 (EtOAc/pentane 50/50) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3187, 3062, 2925, 1688, 1460, 1369, 1270, 1200, 1070, 918, 776, 620, 558, 485 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.47 (s, 1H, NH-3), 7.61 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H₆), 6.33 (dd, $J = 5.7, 7.8$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.96-5.81 (m, 1H, H_b), 5.25 (dd, $J = 1.8, 22.5$ Hz, 1H, H_d), 5.21 (dd, $J = 1.5, 15.6$ Hz, 1H, H_c), 4.45 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H, H_{b'}), 4.19-4.14 (m, 2H, H_{3'/H4'}), 4.02 (td, $J = 1.5, 5.7$ Hz, 2H, H_a), 3.72 (dd, $J = 2.1, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'a}), 3.59 (dd, $J = 2.1, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'b}), 3.54-3.42 (m, 2H, H_{a'}), 3.38 (s, 6H, H_{c'}), 2.39 (ddd, $J = 1.8, 5.7, 13.5$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.11-1.99 (m, 1H, H_{2'b}), 1.86 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 164.2 (C₄), 150.6 (C₂), 136.0 (C₂), 134.0 (C_b), 117.6 (C_c), 111.0 (C₅), 103.0 (C_{b'}), 85.1 (C_{1'}), 83.9 (C_{4'}), 80.8 (C_{3'}), 72.4 (C_a), 70.6 (C_{5'}), 69.4 (C_{a'}), 54.4 (C_{c'}), 54.4 (C_{c'}), 37.9 (C_{2'}), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₇H₂₆N₂O₇ [M+H]⁺, 371.18128 found 371.18140.

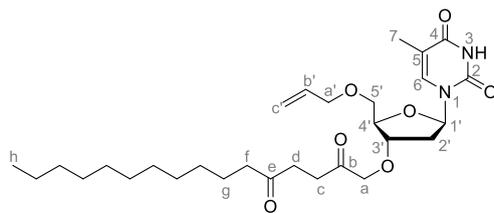
Compound **256**



Chemical Formula: C₁₅H₂₀N₂O₆
Molecular Weight: 324,33

At 0 °C, TFA (12.83 mL, 167.6 mmol, 30 eq) was added dropwise to a stirred solution of compound **255** (2.07 g, 5.59 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 M, 55.9 mL). The reaction mixture was allowed to be warmed up to rt and stirred during 24 h. Mixture was concentrated under reduced pressure by adding toluene several times to remove the excess of TFA. The crude was purified by column chromatography over silica gel (A/T 40/60 to 50/50 with some drops of Et₃N) to afford aldehyde **156** as a white foam (1.35 g, 4.14 mmol, **74 %**).

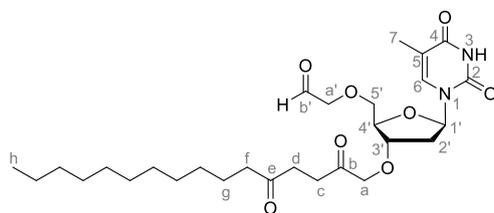
R_f = 0.35 (A/T 50/50) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3183, 3062, 2927, 2840, 1688, 1512, 1458, 1271, 1200, 1089, 919, 771, 556 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.78 (s, 1H, NH-3), 9.59 (s, 1H, H_{b'}), 7.47 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H₆), 6.22 (dd, $J = 6.0, 7.8$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.89-5.72 (m, 1H, H_b), 5.23-5.05 (m, 2H, H_c), 4.19-4.04 (m, 4H, H_a/H_{a'}), 3.98-3.90 (m, 2H, H_{3'/H4'}), 3.64 (dd, $J = 2.7, 10.8$ Hz, 1H, H_{5'a}), 3.55 (dd, $J = 2.7, 10.5$ Hz, 1H, H_{5'b}), 2.37 (ddd, $J = 2.4, 6.3, 14.1$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.11-1.96 (m, 1H, H_{2'b}), 1.77 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 199.4 (C_{b'}), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 135.6 (C₂), 133.9 (C_b), 117.2 (C_c), 110.6 (C₅), 85.0 (C_{1'}), 83.6 (C_{4'}), 80.9 (C_{3'}), 74.5 (C_{a'}), 72.2 (C_a), 70.2 (C_{5'}), 37.5 (C_{2'}), 12.2 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₅H₂₀N₂O₆ [M+H]⁺, 325.13941 found 325.13901.

Compound **253**

Chemical Formula: C₂₉H₄₆N₂O₇
Molecular Weight: 534,69

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (206.0 mg, 0.82 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45 °C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **256** (1.325 g, 4.08 mmol, 1.5 eq) in dried dried THF (0.5 M, 8.17 mL) was added followed by distilled DBU (121.9 μL, 0.82 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **115** (572.8 mg, 2.72 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75°C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (acetone/toluene 20/80 to 30/70) to afford diketone **253** as a yellow gum (641.8 mg, 1.20 mmol, **44** %).

R_f = 0.43 acetone/toluene 30/70 ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3169, 2970, 2918, 1691, 1459, 1394, 1270, 1061, 901, 766, 621, 560, 481, 419 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.35 (s, 1H, NH-3), 7.60 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 6.34 (dd, *J* = 5.7, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 5.97-5.80 (m, 1H, H_{b'}), 5.31-5.14 (m, 2H, H_{c'}), 4.27-4.07 (m, 4H, H_{3'/H4'/H_a}), 4.02 (td, *J* = 1.5, 10.8 Hz, 2H, H_{a'}), 3.73 (dd, *J* = 2.7, 10.8 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.62 (dd, *J* = 2.4, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.77-2.69 (m, 2H, H_d), 2.68-2.59 (m, 2H, H_c), 2.46-2.36 (m, 3H, H_{2'a/H_f}), 2.14-2.00 (m, 1H, H_{2'b}), 1.86 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.59-1.45 (m, 2H, H_g), 1.33-1.13 (m, 16H, H_{aliphatic}), 0.91-0.78 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 209.6 (C_e), 207.1 (C_b), 164.1 (C₄), 150.6 (C₂), 135.9 (C₆), 134.0 (C_{b'}), 111.0 (C₅), 85.1 (C_{1'}), 83.9 (C_{4'}), 80.1 (C_{3'}), 74.2 (C_a), 72.4 (C_{a'}), 70.5 (C_{5'}), 42.7 (C_f), 37.8 (C_{2'}), 36.0 (C_d), 32.4 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.2 (C_{aliphatic}), 23.9 (C_g), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₉H₄₆N₂O₇ [M+H]⁺, 535.33778, found 535.33791.

Compound **257**

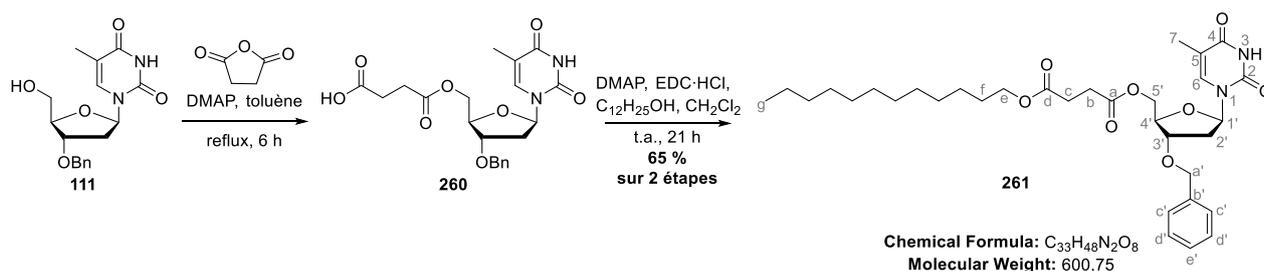
Chemical Formula: C₂₈H₄₄N₂O₈
Molecular Weight: 536,67

2,6-lutidine (0.255 mL, 2.01 mmol, 2 eq) was added to a stirred solution of compound **255** (537.6 mg, 1.01 mmol, 1 eq), osmium tetroxide (0.393 mL, 0.03 eq, 2.5 w% in *t*-BuOH), and then sodium periodate (645.2 mg, 3.02 mmol, 3 eq) in a dioxane/water (3/1) mixture (0.1 M, 10.1 mL). The resulting white precipitate was stirred at room temperature for 4 h. After addition of water, the mixture

was extracted 3 times with EtOAc. The combined extracts were treated with a saturated aqueous solution of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded a black crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Toluene/Acetone 60/40 to 50/50 with some drops of Et_3N) to afford aldehyde **256** as a colorless gum (174.8 mg, 0.326 mmol, **32 %**).

Rf = 0.39 acetone/toluene 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 2924, 2855, 1687, 1467, 1404, 1373, 1324, 1276, 1202, 1074, 961, 889, 773, 734, 616, 560, 491, 419 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.65 (s, 1H, H_b), 9.35 (s, 1H, NH-3), 7.51 (appearing s, 1H, H_6), 6.27 (dd, $J = 6.0, 7.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.30-4.04 (m, 6H, $\text{H}_3'/\text{H}_4'/\text{H}_a/\text{H}_a'$), 3.81 (dd, $J = 3.0, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 3.72 (dd, $J = 3.3, 10.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 2.77-2.56 (m, 4H, H_c/H_d), 2.46-2.31 (m, 3H, $\text{H}_{2'a}/\text{H}_f$), 2.21-2.04 (m, 1H, $\text{H}_{2'b}$), 1.84 (appearing s, 3H, H_7), 1.60-1.43 (m, 2H, H_g), 1.31-1.11 (m, 16H, $\text{H}_{\text{aliphatic}}$), 0.89-0.77 (m, 3H, H_h) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 209.5 (C_e), 206.9 (C_b), 198.1 ($\text{C}_{b'}$), 164.0 (C_4), 150.6 (C_2), 135.9 (C_6), 111.1 (C_5), 85.3 ($\text{C}_{1'}$), 83.5 ($\text{C}_{4'}$), 80.5 ($\text{C}_{3'}$), 76.7 ($\text{C}_{a'}$), 74.4 (C_a), 71.7 ($\text{C}_{5'}$), 42.7 (C_f), 37.5 ($\text{C}_{2'}$), 35.9 (C_d), 32.3 (C_c), 31.9 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.6 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.3 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.2 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 23.9 (C_g), 22.6 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 14.0 (C_h), 12.4 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 537.31704, found 537.31706.

Compound **261**



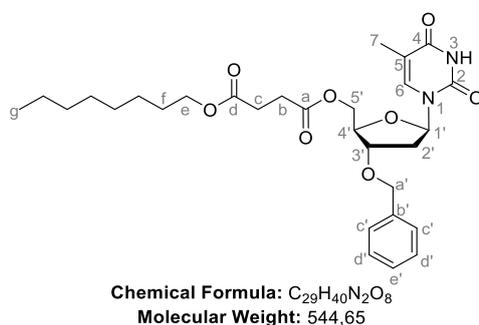
DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (301.1 mg, 3.01 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (1.00 g, 3.01 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 68.4 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (1.52 g) without further purification.

Acid **260** (1.51 g, 3.50 mmol, 1.5 eq), DMAP (171.5 mg, 1.40 mmol, 0.6 eq) and EDC·HCl (671.0 mg, 3.50 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of dodecanol (430.2 mg, 2.33 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 g/mL, 4.5 mL). The mixture was stirred at room temperature during 21 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 50/50) to afford ester **261** as a white solid (913.4 mg, 1.52 mmol, **65 % over 2 steps**)

Mp : 64-66 °C ; **Rf** = 0.32 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3171, 3042, 2921, 2857, 1693, 1460, 1367, 1216, 1151, 1081, 969, 869, 739, 650, 598, 557, 488 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ**

(ppm) 9.25 (s, 1H, NH-3), 7.40-7.27 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.28 (dd, $J = 6.0, 7.5$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.53 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.43-4.34 (m, 1H, H_{e1}), 4.31-4.22 (m, 2H, H_{e2}/H_{4'}), 4.16-4.10 (m, 1H, H_{3'}), 4.06 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, H_{5'}), 2.71-2.56 (m, 4H, H_b/H_c), 2.51 (ddd, $J = 3.0, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.12-2.01 (m, 1H, H_{2'b}), 1.92 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇), 1.67-1.54 (m, 2H, H_f), 1.38-1.17 (m, 18H, H_{aliphatic}), 0.95-0.82 (m, 3H, H_g) ; ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.3 (C_d), 172.1 (C_a), 163.9 (C₄), 150.4 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.3 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.2 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.3 (C₅), 85.4 (C_{1'}), 82.3 (C_{4'}), 78.4 (C_{3'}), 71.8 (C_{a'}), 65.2 (C_{5'}), 64.2 (C_e), 37.7 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.1 (C_c), 29.0 (C_b), 28.7 (C_f), 26.0 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 12.7 (C₇) ; HRMS (ESI) : Calcd. for C₃₃H₄₈N₂O₈ [M+NH₄]⁺, 618.37489, found 618.37420.

Compound 262



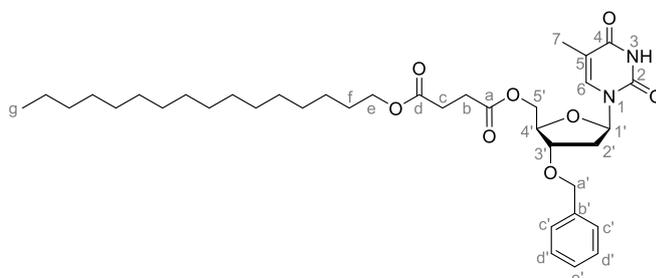
DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (150.6 mg, 1.50 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 34.2 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (776 mg) without further purification.

Acid **260** (776 mg, 1.79 mmol, 1.5 eq), DMAP (88 mg, 0.72 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (344 mg, 1.79 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of octanol (188 μL, 1.20 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 1.6 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 60/40) to afford ester **262** as a white solid (527 mg, 0.97 mmol, **64 % over 2 steps**).

Mp : 70 – 73 °C ; *R_f* = 0.34 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3184, 3042, 2929, 2864, 1687, 1458, 1366, 1266, 1159, 1084, 903, 732, 557, 472, 413 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.81 (s, 1H, NH-3), 7.41-7.19 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.26 (appearing t, $J = 6.9$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.51 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.36 (dd, $J = 5.1, 12.6$ Hz, 1H, H_{5'a}), 4.29-4.19 (m, 2H, H_{4'/H5'b}), 4.15-4.08 (m, 1H, H_{3'}), 4.04 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, H_e), 2.69-2.54 (m, 4H, H_b/H_c), 2.49 (ddd, $J = 3.0, 6.3, 13.8$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.12-1.99 (m, 1H, H_{2'b}), 1.90 (s, 3H, H₇), 1.66-1.51 (m, 2H, H_f), 1.36-1.15 (m, 10H, H_{aliphatic}), 0.93-0.77 (m, 3H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.2 (C_d), 172.0 (C_a), 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.2 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.3

(C_{1'}), 82.2 (C_{4'}), 78.3 (C_{3'}), 71.7 (C_{a'}), 65.1 (C_e), 64.1 (C_{5'}), 37.6 (C_{2'}), 31.7 (C_{aliphatic}), 29.2 (C_c), 29.1 (C_b), 29.0 (C_{aliphatic}), 28.9 (C_f), 28.6 (C_{aliphatic}), 25.8 (C_{aliphatic}), 22.6 (C_{aliphatic}), 14.1 (C_g), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₉H₄₀N₂O₈ [M+H]⁺, 545.28629, found 545.28553.

Compound 263

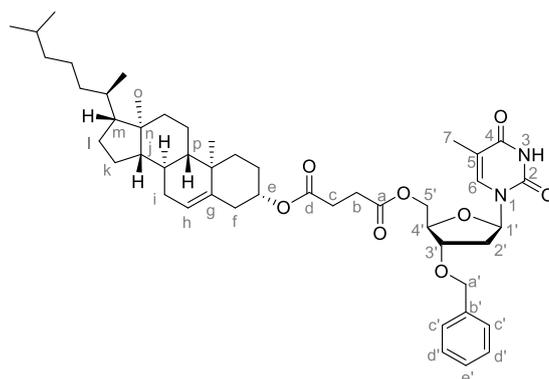


Chemical Formula: C₃₇H₅₆N₂O₈
Molecular Weight: 656,86

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (150.6 mg, 1.50 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 34.2 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (751 mg) without further purification.

Acid **260** (751 mg, 1.74 mmol, 1.5 eq), DMAP (85 mg, 0.69 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (333 mg, 1.74 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of hexadecanol (281 mg, 1.16 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 2.8 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 60/40) to afford ester **263** as a white solid (608 mg, 0.93 mmol, **62 % over 2 steps**).

Mp : 61-63 °C ; **Rf** = 0.14 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2918, 2856, 1687, 1535, 1461, 1368, 1264, 1209, 1158, 1083, 974, 886, 734, 591, 494, 414 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 9.67 (s, 1H, NH-3), 7.40-7.23 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.28 (dd, *J* = 6.0, 7.5 Hz, 1H, H_{1'}), 4.52 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.30-4.12 (m, 3H, H_{4'}/H_{5'}), 4.15-4.09 (m, 1H, H_{3'}), 4.05 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H_{e'}), 2.71-2.57 (m, 4H, H_b/H_c), 2.50 (ddd, *J* = 3.0, 6.3, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.16-2.00 (m, 1H, H_{2'b}), 1.92 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.67-1.52 (m, 2H, H_f), 1.38-1.13 (m, 26H, H_{aliphatic}), 0.92-0.80 (m, 3H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 172.3 (C_d), 172.1 (C_a), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.2 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.3 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 82.2 (C_{4'}), 78.4 (C_{3'}), 71.8 (C_{a'}), 65.2 (C_e), 64.2 (C_e), 37.6 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_c), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.0 (C_b), 28.9 (C_f), 28.6 (C_{aliphatic}), 25.9 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₇H₅₆N₂O₈ [M+H]⁺, 657.41094, found 657.41067.

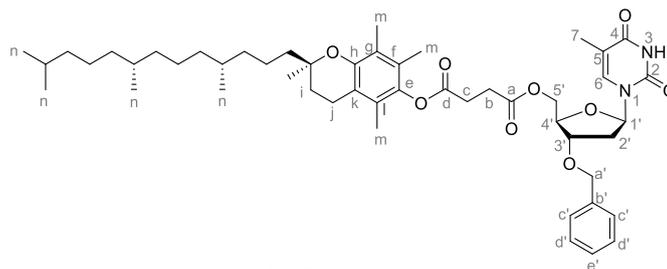
Compound **264**

Chemical Formula: $C_{48}H_{68}N_2O_8$
Molecular Weight: 801,08

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (75.3 mg, 0.75 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (250 mg, 0.75 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 17.1 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (372 mg) without further purification.

Acid **260** (314 mg, 0.726 mmol, 1.5 eq), DMAP (36 mg, 0.290 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (139 mg, 0.726 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of cholesterol (187 mg, 0.484 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (0.1 g/mL, 1.87 mL). The mixture was stirred at room temperature during 23 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 50/50 to 60/40) to afford ester **264** as a white foam (240 mg, 0.300 mmol, **40 % over 2 steps**).

Mp : 88-90 °C ; $R_f = 0.52$ (EtOAc/P 50/50) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1})** 3173, 3042, 2938, 1690, 1456, 1368, 1229, 1144, 1084, 885, 737, 650, 596, 557, 480, 419 ; **1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 9.34 (s, 1H, NH-3), 7.42-7.23 (m, 6H, $H_6/H_{aromatics}$), 6.28 (appearing t, $J = 6.9$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.38-5.27 (m, 1H, H_h), 4.68-4.46 (m, 3H, $H_{a'}/H_e$), 4.39 (dd, $J = 5.4, 12.9$ Hz, 1H, $H_{5'a}$), 4.31-4.21 (m, 2H, $H_{4'}/H_{5'b}$), 4.17-4.08 (m, 1H, $H_{3'}$), 2.69-2.56 (m, 4H, H_c/H_b), 2.50 (ddd, $J = 3.0, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, $H_{2'a}$), 2.35-2.24 (m, 2H, H_f), 2.13-1.75 (m, 10H, $H_7/H_{2'b}/H_i/H_k/H_l$), 1.67-0.78 (m, 32H, $H_{aliphatics}$), 0.66 (s, 3H, H_o) ; **^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 172.1 (C_d), 171.6 (C_a), 164.0 (C_4), 150.4 (C_2), 139.5 (C_g), 137.3 ($C_{b'}$), 135.3 (C_6), 128.7 ($C_{d'}$), 128.1 ($C_{e'}$), 127.8 ($C_{c'}$), 122.9 (C_h), 111.3 (C_5), 85.4 ($C_{1'}$), 82.4 ($C_{4'}$), 78.4 ($C_{3'}$), 74.7 (C_e), 71.8 ($C_{a'}$), 64.2 ($C_{5'}$), 56.7 (C_j), 56.2 (C_m), 50.1 (C_p), 42.4 (C_n), 39.8 (C_i), 39.6 ($C_{aliphatic}$), 38.1 (C_f), 37.7 ($C_{2'}$), 37.0 ($C_{aliphatic}$), 36.6 ($C_{aliphatic}$), 36.3 ($C_{aliphatic}$), 35.9 ($C_{aliphatic}$), 32.0 ($C_{aliphatic}$), 31.9 ($C_{aliphatic}$), 29.3 (C_c), 29.1 (C_b), 28.3 ($C_{aliphatic}$), 28.1 ($C_{aliphatic}$), 27.8 ($C_{aliphatic}$), 24.4 ($C_{aliphatic}$), 23.9 ($C_{aliphatic}$), 22.9 ($C_{aliphatic}$), 22.7 ($C_{aliphatic}$), 21.1 ($C_{aliphatic}$), 19.4 ($C_{aliphatic}$), 18.8 ($C_{aliphatic}$), 12.7 (C_7), 11.9 (C_o) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for $C_{48}H_{68}N_2O_8$ $[M+H]^+$, 801.50539, found 801.50511.

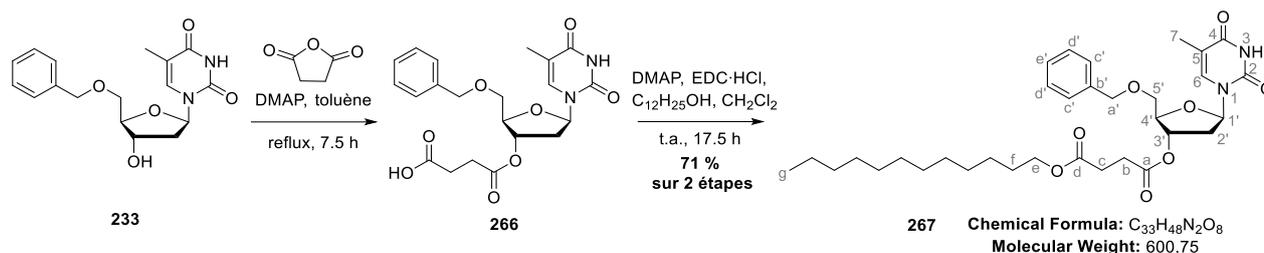
Compound **265**Chemical Formula: C₅₀H₇₂N₂O₉

Molecular Weight: 845,13

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (301.1 mg, 3.01 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (1.00 g, 3.01 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 68.4 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (1.60 g) without further purification.

Acid **260** (1.59 g, 3.68 mmol, 1.5 eq), DMAP (80 mg, 1.47 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (706.3 mg, 3.68 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of α -tocopherol (1.06 g, 2.47 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 g/mL, 10.6 mL). The mixture was stirred at room temperature during 48 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 50/50) to afford ester **265** as a white foam (1.33 g, 1.57 mmol, **52 % over 2 steps**).

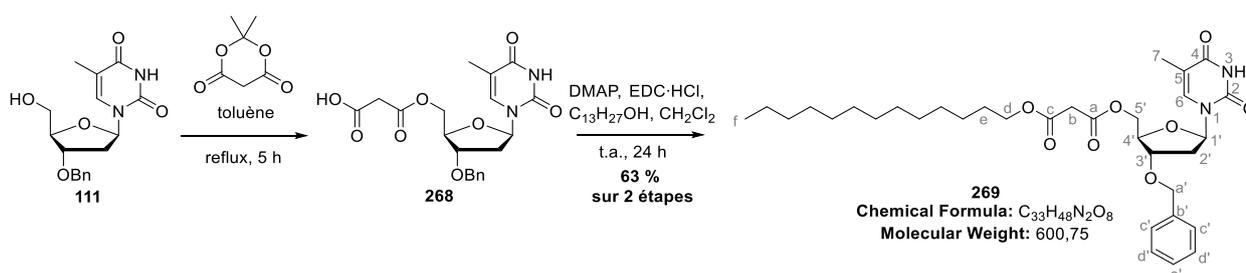
Mp : 60-62 °C ; **Rf** = 0.32 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3181, 2927, 2867, 1744, 1689, 1457, 1412, 1366, 1274, 1250, 1204, 1145, 1106, 1061, 964, 912, 736, 699, 606, 558, 486, 419 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.58 (s, 1H, NH-3), 7.40-7.23 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.28 (appearing t, 1H, *J* = 6.9 Hz, H_{1'}), 4.58-4.38 (m, 3H, H_{5'a}/H_{a'}), 4.33-4.21 (m, 2H, , H_{3'}/H_{5'b}), 4.17-4.06 (m, 1H, H_{4'}), 3.08-2.88 (m, 2H, H_c), 2.86-2.67 (m, 2H, H_b), 2.64-2.42 (m, 3H, H_j/H_{2'b}), 2.13-2.05 (m, 4H, H_{2'b}/H_m), 2.02 (s, 3H, H_m), 1.98 (s, 3H, H_m), 1.92 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.86-1.67 (m, 2H, H_i), 1.65-0.99 (m, 24H, H_{aliphatics}), 0.94-0.79 (m, 12H, H_n) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.0 (C_c), 171.0 (C_b), 164.0 (C₄), 150.4 (C₂), 149.6 (C_e), 140.5 (C_h), 137.3 (C_{b'}), 135.2 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 126.6 (C_f), 124.9 (C_g), 123.1 (C₁), 117.5 (C_k), 111.3 (C₅), 85.4 (C_{1'}), 82.2 (C_{4'}), 78.3 (C_{3'}), 75.1 (C_a), 71.8 (C_{a'}), 64.2 (C_{5'}), 39.4 (C_{aliphatic}), 37.7 (C_{aliphatic}), 37.6 (C_{aliphatic}), 37.6 (C_{aliphatic}), 37.5 (C_{2'}), 37.4 (C_{aliphatic}), 37.4 (C_{aliphatic}), 37.3 (C_{aliphatic}), 32.8 (C_c), 32.8 (C_b), 32.7 (C_{aliphatic}), 29.0 (C_i), 28.7 (C_{aliphatic}), 28.0 (C_{aliphatic}), 24.9 (C_{aliphatic}), 24.5 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 21.1 (C_{aliphatic}), 20.6 (C_j), 19.8 (C_{aliphatic}), 19.8 (C_{aliphatic}), 19.7 (C_{aliphatic}), 19.7 (C_{aliphatic}), 19.7 (C_{aliphatic}), 13.0 (C_m), 12.7 (C₇) 12.2 (C_m), 11.9 (C_m) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₂₆H₃₆N₃O₆Si [M+H]⁺, 514.23619, found 514.23127.

Compound **267**

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (166.7 mg, 1.67 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **233** (553.4 mg, 1.67 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 37.8 mL). The mixture was stirred at reflux during 7.5 h. The reaction mixture was allowed to cool down to rt before being concentrated under reduced pressure. Crude **266** was isolated as a white foam (797.9 mg) without further purification.

Acid **266** 798 mg, 1.85 mmol, 1.5 eq), DMAP (90.2 mg, 0.74 mmol, 0.6 eq) and EDC·HCl (354 mg, 1.85 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of dodecanol (227 mg, 1.23 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 g/mL, 2.3 mL). The mixture was stirred at room temperature during 17.5 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 50/50) to afford ester **267** as a colorless gum 709 mg, 1.18 mmol, **71 % over 2 steps**).

R_f = 0.40 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2925, 2855, 1732, 1687, 1467, 1407, 1358, 1322, 1275, 1199, 1157, 1125, 1075, 1043, 999, 960, 885, 785, 735, 698, 614, 595, 559, 491, 420 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.46 (s, 1H, NH-3), 7.55 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 7.38-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.43 (dd, *J* = 5.7, 9.0 Hz, 1H, H_{1'}), 5.42-5.36 (m, 1H, H_{3'}), 4.58 (AB system, *J* = 11.4 Hz, 2H, H_{a'}), 4.20-4.15 (m, 1H, H_{4'}), 4.07 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H_e), 3.82 (dd, *J* = 2.4, 10.5 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.76 (dd, *J* = 2.1, 10.5 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.70-2.58 (m, 4H, H_b/H_c), 2.37 (ddd, *J* = 1.5, 5.7, 14.1 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.29-2.17 (m, 1H, H_{2'b}), 1.67-1.54 (m, 5H, H₇/H_f), 1.37-1.17 (m, 18H, H_{aliphatic}), 0.91-0.80 (m, 3H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.3 (C_d), 172.2 (C_a), 164.2 (C₄), 150.7 (C₂), 137.4 (C_{b'}), 135.6 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.2 (C_{e'}), 127.5 (C_{c'}), 111.5 (C₅), 85.7 (C_{1'}), 84.1 (C_{4'}), 76.2 (C_{3'}), 73.8 (C_{a'}), 70.7 (C_{5'}), 65.2 (C_e), 37.7 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.2 (C_c), 29.0 (C_b), 28.6 (C_f), 25.9 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 12.2 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : in progress.

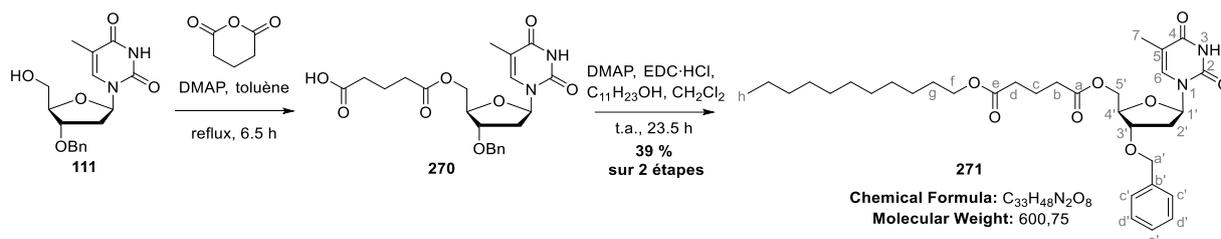
Compound **269**

Alcohol **111** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq) was added to a stirred suspension of Meldrum's acid (228 mg, 1.58 mmol, 1.05 eq) in toluene (0.19 M, 8.0 mL). The mixture was stirred at reflux during 5 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **268** was isolated as a brown foam (656 mg) without further purification.

Acid **268** (656 mg, 1.57 mmol, 1.5 eq), DMAP (77 mg, 0.63 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (344 mg, 1.57 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of tridecanol (210 mg, 1.05 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 2.1 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60) to afford ester **269** as a colorless gum (566 mg, 0.94 mmol, **63 % over 2 steps**).

R_f = 0.28 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3186, 3046, 2924, 2857, 1690, 1459, 1328, 1270, 1192, 1093, 896, 741, 562, 411 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 9.57 (s, 1H, NH-3), 7.47-7.22 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.28 (dd, *J* = 6.0, 7.8 Hz, 1H, H_{1'}), 4.52 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.44-4.29 (m, 2H, H_{5'}), 4.29-4.21 (m, 1H, H_{4'}), 4.19-4.06 (m, 3H, H_{3'}/H_d), 3.41 (s, 2H, H_b), 2.47 (ddd, *J* = 3.0, 6.3, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.16-2.00 (m, 1H, H_{2'b}), 1.92 (appearing s, 3H, H₇), 1.71-1.54 (m, 2H, H_e), 1.41-1.15 (m, 20H, H_{aliphatic}), 0.96-0.79 (m, 3H, H_f) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 166.4 (C_c), 166.2 (C_a), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.4 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.4 (C₅), 85.2 (C_{1'}), 82.0 (C_{4'}), 78.4 (C_{3'}), 71.8 (C_{a'}), 66.1 (C_d), 64.8 (C_{5'}), 41.4 (C_b), 37.4 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 28.5 (C_e), 25.8 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₃H₄₈N₂O₈ [M+H]⁺, 601.34889, found 601.34812.

Compound **271**



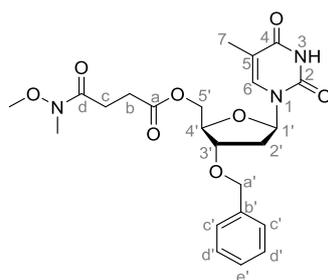
DMAP (cat. amount) and glutaric anhydride (172 mg, 1.50 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 34.2 mL). The mixture was stirred at reflux during 6.5h. The reaction mixture was allowed to cool down to rt before being concentrated under reduced pressure. Crude **270** was isolated as a white foam (830 mg) without further purification.

Acid **270** (832 mg, 1.86 mmol, 1.5 eq), DMAP (91.0 mg, 0.75 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (357.1 mg, 1.86 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of undecanol (214.0 mg, 1.24 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 2.1 mL). The mixture was stirred at room temperature during 23.5 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over

Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 50/50) to afford ester **271** as a white solid (350.3 mg, 0.58 mmol, **39 % over 2 steps**).

Mp : 65-67 °C ; **Rf** = 0.32 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3171, 2956, 2917, 2851, 1723, 1689, 1456, 1399, 1368, 1331, 1278, 1253, 1206, 1190, 1153, 1134, 1089, 1058, 1008, 963, 869, 780, 754, 737, 699, 653, 609, 492, 422 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 9.63 (s, 1H, NH-3), 7.39-7.25 (m, 5H, H_{aromatics}), 7.22 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 6.26 (dd, *J* = 6.0, 7.5 Hz, 1H, H_{1'}), 4.53 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.35-4.20 (m, 3H, H_{4'}/H_{5'}), 4.13-3.99 (m, 3H, H_{3'}/H_f), 2.51 (ddd, *J* = 3.0, 6.0, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.44-2.30 (m, 4H, H_b/H_d), 2.12-1.86 (m, 6H, H_{2'b}/H₆₌₇/H_c), 1.65-1.52 (m, 2H, H_g), 1.38-1.15 (m, 16H, H_{aliphatic}), 0.92-0.80 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 172.9 (C_e), 172.5 (C_a), 164.0 (C₄), 150.4 (C₂), 137.2 (C_{b'}), 135.2 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.5 (C_{1'}), 82.2 (C_{4'}), 78.4 (C_{3'}), 71.7 (C_{a'}), 64.8 (C_f), 64.1 (C_{5'}), 37.6 (C_{2'}), 33.1 (C_b), 33.1 (C_d), 31.9 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 28.6 (C_g), 26.9 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 20.0 (C_c), 14.2 (C_h), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₃H₄₈N₂O₈ [M+Na]⁺, 623.33029, found 623.33067.

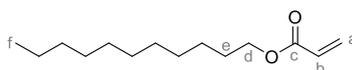
Compound **272**



Chemical Formula: C₂₃H₂₉N₃O₈
Molecular Weight: 475,50

CDI (437 mg, 2.70 mmol, 1.6 eq) was added to a stirred solution of acid **260** (729 mg, 1.69 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M). The reaction mixture was stirred during 10 minutes at room temperature. MeNH(OMe)•HCl (411 mg, 4.22 mmol, 2.5 eq) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was stirred during 24h at room temperature. The reaction mixture was quenched with HCl (1N) and water. CH₂Cl₂ was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product as a white solid without further purification (730 mg).

Compound **276**

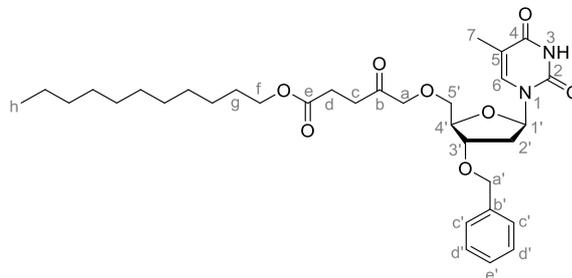


Chemical Formula: C₁₄H₂₆O₂
Molecular Weight: 226,36

Et₃N (674 μ L, 4.84 mmol, 1.2 eq) was added dropwise to a stirred solution of undecanol (694 mg, 4.03 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.2 M, 8.06 mL). At 0 °C, acryloyl chloride (652 μ L, 8.06 mmol, 2 eq) was added over 5 minutes to the reaction mixture. The reaction mixture was stirred at room

temperature during 5h before being concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 1/99) to afford ester **276** as a colorless oil (586 mg, 2.59 mmol, **64 %**). Data were consistent with literature.³⁵⁵

Compound **277**

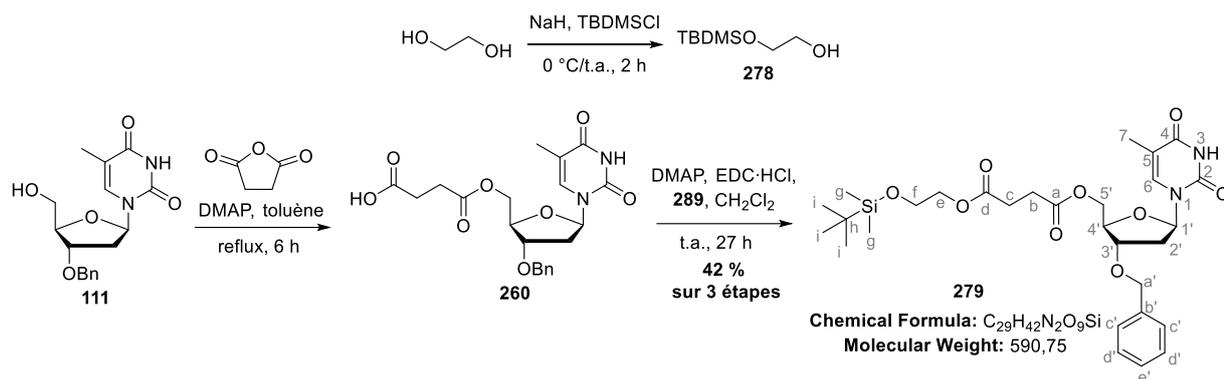


Chemical Formula: C₃₃H₄₈N₂O₈
Molecular Weight: 600,75

The Azolium salt 3-Ethyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium bromide (133.6 mg, 0.53 mmol, 0.3 eq) previously dried during 1 day at 45°C under high vacuum was loaded in a Schlenk tube and placed under argon atmosphere. A solution of aldehyde **113** (992.4 mg, 2.65 mmol, 1.5 eq) in THF (0.5 M, 5.30 mL) was added followed by distilled DBU (79.2 μL, 0.53 mmol, 0.3 eq). The reaction mixture became orange, indicating the formation of the Breslow intermediate. Enone **276** (400 mg, 1.77 mmol, 1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred overnight at 75°C. After complete consumption of the enone (TLC control), concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 50/50) to afford a partially pure compound, which was submitted to a second purification over silica gel (acetone/toluene 10/90 to 30/70) to afford the expected compound **277** as a yellow gum after trituration in pentane (63.7 mg, 0.11 mmol, **6 %**).

R_f = 0.44 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3176, 3055, 2923, 2862, 1692, 1462, 1400, 1366, 1267, 1212, 1151, 1068, 968, 790, 735, 614, 561, 480, 456, 410 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)**; 8.89 (s, 1H, NH-3), 7.68 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 7.41-7.27 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.39 (dd, *J* = 6.0, 8.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.54 (AB system, *J* = 12.0 Hz, 2H, H_{a'}), 4.35-4.28 (m, 1H, H_{3'}), 4.26-4.19 (m, 3H, H_{4'}/H_a), 4.04 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H_f), 3.78 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.64 (dd, *J* = 2.7, 10.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.70-2.57 (m, 4H, H_c/H_d), 2.44 (ddd, *J* = 2.1, 6.0, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.20-2.08 (m, 1H, H_{2'b}), 1.87 (s, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.67-1.53 (m, 2H, H_g), 1.38-1.17 (m, 16H, H_{aliphatics}), 0.93-0.79 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 205.2 (C_b), 172.7 (C_e), 164.0 (C₄), 150.6 (C₂), 137.6 (C_{b'}), 136.3 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 83.7 (C_{4'}), 79.5 (C_{3'}), 75.9 (C_a), 71.6 (C_{5'}), 71.5 (C_{a'}), 37.7 (C_{2'}), 33.2 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 28.7 (C_g), 27.7 (C_d), 26.0 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.3 (C_h), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₃₃H₄₈N₂O₈ [M+H]⁺, 601.34889, found 601.34835.

³⁵⁵ Porter, N.A.; Chang, V.H-T. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 4976-4981.

Compound **279**

At 0 °C, NaH (902.2 mg, 22.56 mmol, 0.7 eq) was added really slowly to a solution of ethylene glycol (2.00 g, 32.22 mmol, 1 eq) in THF (1.2 M, 26.85 mL). The suspension was stirred at 0 °C during 30 min. At 0 °C, TBSCl (3.40 g, 22.56 mmol, 0.7 eq) was added by portions. The reaction mixture was stirred at room temperature during 2h before being quenched with a saturated solution of NH₄Cl. Et₂O was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with Et₂O. Combined organic layers were washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford alcohol **278** (3.91 g) as a colorless oil without further purification. Data were consistent with literature.³⁵⁶ DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (150.1 mg, 1.50 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 34.2 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (736 mg) without further purification.

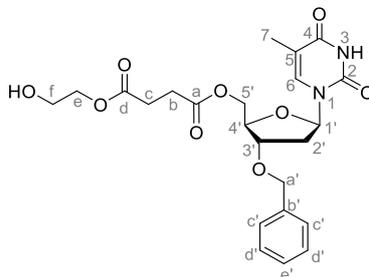
Acid **260** (736.8 mg, 1.70 mmol, 1.5 eq), DMAP (83.3 mg, 0.68 mmol, 0.6 eq) and EDC·HCl (326.6 mg, 1.70 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of alcohol **278** (200.3 mg, 1.14 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 2.0 mL). The mixture was stirred at room temperature during 27 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 50/50) to afford ester **279** as a colorless gum (410.9 mg, 0.70 mmol, **42 % over 3 steps**).

R_f = 0.31 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 2931, 2858, 1736, 1686, 1466, 1406, 1362, 1255, 1201, 1160, 1129, 1102, 1006, 952, 911, 834, 778, 733, 699, 663, 603, 558, 488, 418 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.66 (s, 1H, H-NH₃), 7.39-7.24 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.27 (dd, *J* = 6.0, 7.5 Hz, 1H, H_{1'}), 4.49 (AB system, *J* = 12.0 Hz, 2H, H_{a'}), 4.41-4.33 (m, 1H, H_{5'a}), 4.29-4.22 (m, 2H, H_{4'}/H_{5'b}), 4.17-4.08 (m, 3H, H_{3'}/H_e), 3.78 (dd, *J* = 3.9, 5.1 Hz, 2H, H_f), 2.72-2.57 (m, 4H, H_b/H_c), 2.50 (ddd, *J* = 3.0, 6.3, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.15-2.00 (m, 1H, H_{2'b}), 1.91 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 0.87 (s, 9H, H_i), 0.05 's, 6H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.2 (C_d), 172.0 (C_a), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.2 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{e'}), 111.3 (C₅), 85.4 (C_{1'}), 82.2 (C_{4'}), 78.4 (C_{3'}), 71.8 (C_{a'}), 66.2 (C_e), 64.2 (C_{5'}), 61.2 (C_f), 37.6 (C_{2'}), 28.9 (C_c), 28.8 (C_b), 25.9

³⁵⁶ Qu, W.; Kung, M-P.; Hou, C.; Benedum, T.E.; Kung, H.F. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2157-2165.

(C_i), 18.4 (C_h), 12.7 (C₇), -5.3 (C_g), ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₂₉H₄₂N₂O₉Si [M+Na]⁺, 613.25518, found 613.2558.

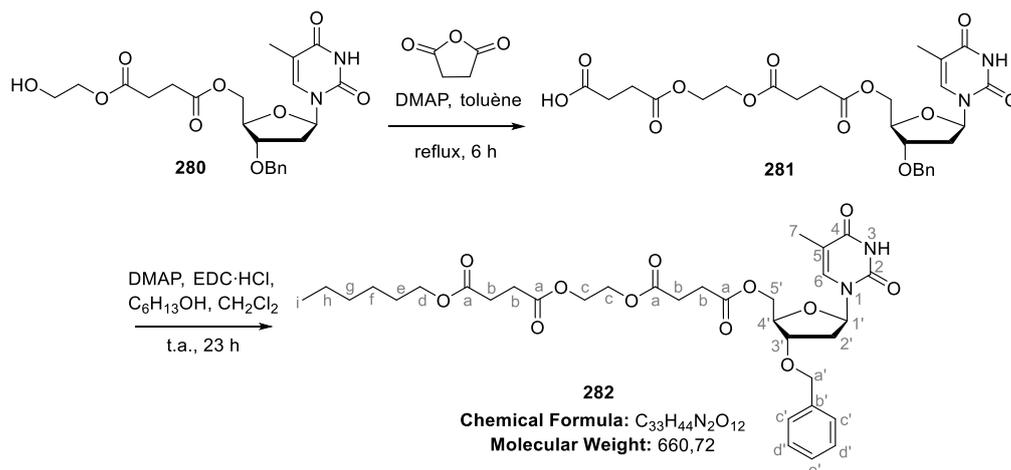
Compound **280**



Chemical Formula: C₂₃H₂₈N₂O₉
Molecular Weight: 476,48

At 0 °C, a solution of TBAF (0.69 mL, 0.69 mmol, 1éq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of compound **279** (409.6 mg, 0.69 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 6.93 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 hours. Reaction was then quenched with water and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/ CH₂Cl₂ 5/95) to afford alcohol **280** as a white foam (296.4 mg, 0.62 mmol, **90 %**).

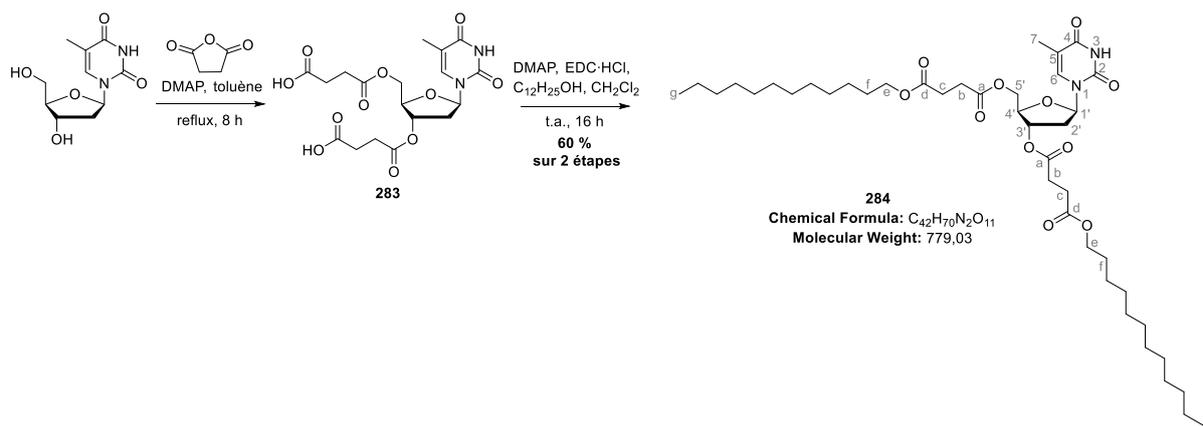
R_f = 0.32 (MeOH/CH₂Cl₂ 5/95) ; **IR (ATR) v_{max} (cm⁻¹)** 3187, 2971, 1682, 1455, 1367, 1272, 2300, 1159, 1081, 963, 890, 784, 735, 699, 603, 558, 489, 416 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.89 (s, 1H, H-NH3), 7.42-7.20 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.22 (appearing t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H_{1'}), 4.50 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.39-4.06 (m, 6H, H_{3'}/H_{4'}/H_{5'}/H_e), 3.85-3.71 (m, 2H, H_f), 2.98 (brs, 1H, H-OH), 2.72-2.58 (m, 4H, H_b/H_c), 2.48 (ddd, *J* = 3.0, 6.3, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.14-2.01 (m, 1H, H_{2'b}), 1.88 (appearing s, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.4 (C_d), 172.1 (C_a), 164.2 (C₄), 150.4 (C₂), 137.2 (C_{b'}), 135.4 (C₆), 128.5 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 111.1 (C₅), 85.5 (C_{1'}), 82.1 (C_{4'}), 78.3 (C_{3'}), 71.6 (C_{a'}), 66.3 (C_e), 64.2 (C_{5'}), 60.6 (C_f), 37.4 (C_{2'}), 29.0 (C_c), 28.9 (C_b), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₂₃H₂₈N₂O₉ [M+H]⁺, 477.18676, found 477.17719.

Compound **282**

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (53.2 mg, 0.53 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **280** (254 mg, 0.53 mmol, 1 eq) in toluene (0.1 M, 5.3 mL). The mixture was stirred at reflux during 6h. The reaction mixture was allowed to cool down to rt before being concentrated under reduced pressure. Crude **281** was isolated as a white foam (332 mg) without further purification.

Acid **281** (332 mg, 0.58 mmol, 1.5 eq), DMAP (28 mg, 0.23 mmol, 0.6 eq) and EDC·HCl (111 mg, 0.58 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of hexanol (48 μ L, 0.38 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 0.39 mL). The mixture was stirred at room temperature during 23 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 50/50) to afford ester **282** as a colorless gum (yield was no reported but was comparable to previous esters).

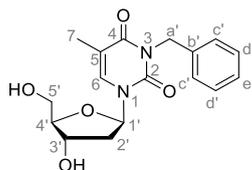
Rf = 0.43 (EtOAc/P 60/40) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3190, 3046, 2941, 1722, 1689, 1533, 1456, 1367, 1265, 1152, 1061, 889, 743, 558, 474, 409 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.81 (s, 1H, H-NH3), 7.38-7.23 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.26 (appearing t, *J* = 7.2 Hz, 1H, H_{1'}), 4.52 (AB system, *J* = 12.0 Hz, 2H, H_{a'}), 4.40-4.30 (m, 1H, H_{5'a}), 4.30-4.20 (m, 6H, H_{4'}/H_{5'b}/H_c), 4.15-4.09 (m, 1H, H_{3'}), 4.05 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, H_d), 2.72-2.55 (m, 8H, H_b), 2.50 (ddd, *J* = 4.5, 7.5, 18.6 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.15-2.04 (m, 1H, H_{2'b}), 1.90 (appearing s, 3H, H₇), 1.66-1.51 (m, 2H, H_e), 1.37-1.17 (m, 6H, H_f, H_g, H_h), 0.94-0.77 (m, 3H, H_i) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.2 (C_a), 172.1 (C_a), 171.9 (C_a), 171.8 (C_a), 164.0 (C₄), 150.4 (C₂), 137.2 (C_{b'}), 135.4 (C₂), 128.5 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 111.1 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 82.1 (C_{4'}), 78.3 (C_{3'}), 71.6 (C_{a'}), 64.9 (C_d), 64.2 (C_{5'}), 62.5 (C_c), 62.2 (C_c), 37.4 (C_{2'}), 31.3 (C_f), 28.9 (C_b), 28.9 (C_b), 28.8 (C_b), 28.7 (C_b), 28.5 (C_e), 25.5 (C_g), 22.5 (C_h), 14.0 (C_i), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₃H₄₄N₂O₁₂ [M+H]⁺, 661.29670, found 661.29636.

Compound **284**

DMAP (catalytic amount) and succinic anhydride (165.2 mg, 0.83 mmol, 1 eq) were successively added to a suspension of thymidine (200.0 mg, 0.83 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M). The reaction mixture was stirred at reflux during 8h before being allowed to cool down to room temperature. Concentration under reduced pressure afford the diacid **283** (431.1 mg) as a white foam without further purification.

Dodecanol (530 mg, 2.88 mmol, 3 eq), DMAP (140 mg, 1.15 mmol, 1.2 eq) and EDC·HCl (367 mg, 1.92 mmol, 2.0 eq) were successively added to a stirred solution of diacid **282** (424 mg, 0.96 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 M, 9.6 mL). The mixture was stirred at room temperature during 16 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. Layers were separated and the aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 30/70 to 50/50) to afford diester **284** as a white solid after precipitation in pentane (386.4 mg, 0.50 mmol, **60 % over 2 steps**)

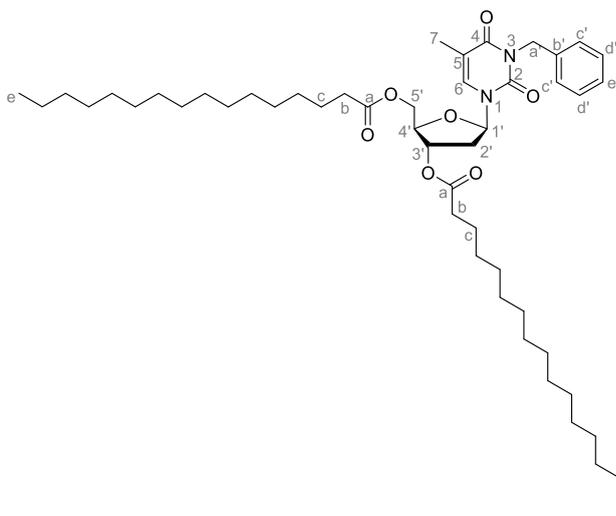
Mp : 80-84 °C ; **Rf** = 0.44 (EtOAc/P 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3283, 3081, 2919, 2860, 1713, 1463, 1393, 1320, 1267, 1158, 1084, 1026, 960, 890, 789, 721, 637, 561, 487, 410 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.12 (s, 1H, NH-3), 7.31 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 6.31 (dd, *J* = 5.7, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 5.23 (td, *J* = 2.1, 6.6 Hz, 1H, H_{3'}), 4.44 (dd, *J* = 3.9, 12.0 Hz, 1H, H_{5'a}), 4.33 (dd, *J* = 3.3, 12.3 Hz, 1H, H_{5'b}), 4.26-4.20 (m, 1H, H_{4'}), 4.06 (qd, *J* = 2.1, 6.9 Hz, 4H, H_e), 2.67-2.62 (m, 8H, H_b/H_c), 2.46 (ddd, *J* = 1.8, 5.4, 14.1 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.24-2.11 (m, 1H, H_{2'b}), 1.93 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.68-1.53 (m, 4H, H_f), 1.38-1.16 (m, 36H, H_{aliphatic}), 0.92-0.81 (m, 6H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.3 (C_d), 172.0 (C_a), 172.0 (C_a), 163.4 (C₄), 150.4 (C₂), 134.8 (C₆), 111.7 (C₅), 85.8 (C_{1'}), 82.3 (C_{4'}), 74.6 (C_{3'}), 65.3 (C_e), 65.2 (C_e), 64.2 (C_{5'}), 37.4 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.1 (C_c), 29.0 (C_b), 28.7 (C_f), 26.0 (C_{aliphatic}), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₄₂H₇₀N₂O₁₁ [M+H]⁺, 779.50524, found 779.50531.

Compound **285**

Chemical Formula: C₁₇H₂₀N₂O₅
Molecular Weight: 332,36

At 0 °C, NaH (166 mg, 4.15 mmol, 1 eq., 60 w% dispersion in oil) was added portionwise to a stirred solution of alcohol thymidine (1 g, 4.15 mmol, 1 eq.) in DMF (0.1 g/mL, 10 mL) in a suitable vial. The mixture was activated under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 6 minutes. Benzyl bromide (490 µL, 4.15 mmol, 1 eq) was then added to the vial and mixture was activated a second time under microwaves at 40 °C, 200 Watts during 1 h. After being cooled at room temperature, the reaction was concentrated under reduced pressure by adding toluene several times to afford the crude product. Reaction was repeated fore times and the crudes products were collected and purified together by flash chromatography over silica gel (MeOH/CH₂Cl₂ 5/95) to afford compound **285** as a white solid (5.06 g, 15.22 mmol, **92 %**).

Mp : 167-168 °C ; **Rf** = 0.27 (MeOH/CH₂Cl₂ 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3662, 3638, 3395, 2912, 1788, 1695, 1620, 1573, 1460, 1258, 1201, 1084, 989, 923, 876, 736, 626, 538, 500, 448 ; **¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD)** δ (ppm) 7.84 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H_{6'}), 7.35-7.15 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.28 (appearing t, *J* = 6.9 Hz, 1H, H_{1'}), 5.06 (s, 2H, H_{a'}), 4.40-4.33 (m, 1H, H_{3'}), 3.87 (dd, *J* = 3.6, 6.9 Hz, 1H, H_{4'}), 3.77 (dd, *J* = 3.3, 12.3 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.69 (dd, *J* = 3.9, 12.3 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.30-2.11 (m, 2H, H_{2'}), 1.89 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CD₃OD)** δ (ppm) 165.3 (C₄), 152.4 (C₂), 138.3 (C_{b'}), 136.7 (C₆), 129.4 (C_{d'}), 129.3 (C_{c'}), 128.5 (C_{e'}), 110.8 (C₅), 88.9 (C_{4'}), 87.1 (C_{1'}), 72.1 (C_{3'}), 62.7 (C_{5'}), 45.3 (C_{a'}), 41.3 (C_{2'}), 13.2 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₇H₂₀N₂O₅ [M + H]⁺ 333.13722, found 333.14470.

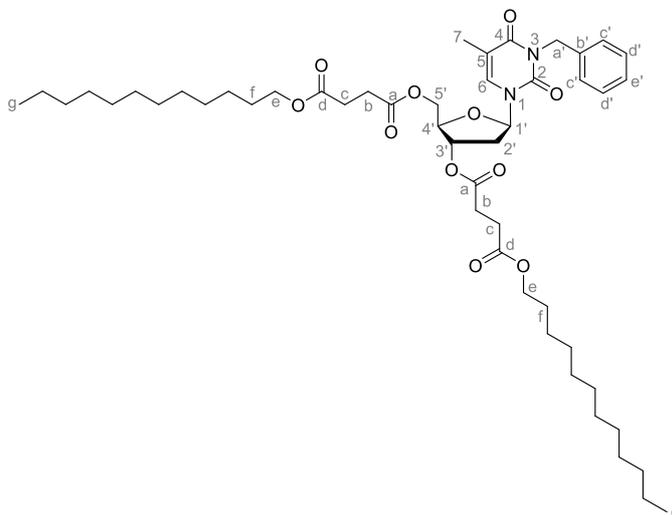
Compound **286**

Chemical Formula: C₄₉H₈₀N₂O₇
Molecular Weight: 809,19

Palmitic acid (1.15 g, 4.51 mmol, 3.0 eq), DMAP (221 mg, 1.81 mmol, 1.2 eq) and EDC•HCl (865 mg, 4.51 mmol, 3.0 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **285** (500 mg, 1.50 mmol, 1.0 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 5.0 mL). The mixture was stirred at room temperature during 21.5 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 10/90 to 15/85) to afford ester **286** as a white solid (1.22 g, 1.50 mmol, **quant.**)

Mp : 56-57 °C ; **Rf** = 0.21 (EtOAc/P 10/90) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2956, 2916, 2852, 1742, 1708, 1679, 1649, 1468, 1451, 1420, 1387, 1364, 1344, 1314, 1266, 1245, 1194, 1170, 1106, 1057, 1008, 978, 935, 877, 805, 767, 754, 723, 700, 676, 638, 595, 538, 494, 449, 414 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 7.52-7.45 (m, 2H, H_{d'}), 7.35-7.21 (m, 4H, H₆/H_{b'}/H_{c'}), 6.35 (dd, *J* = 5.4, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 5.19 (td, *J* = 2.1, 6.6 Hz, 1H, H_{3'}), 5.12 (AB system, *J* = 13.8 Hz, 2H, H_{a'}), 4.39 (dd, *J* = 4.2, 12.0 Hz, 1H, H_{5'a}), 4.30 (dd, *J* = 3.3, 12.3 Hz, 1H, H_{5'b}), 4.25-4.19 (m, 1H, H_{4'}), 2.46 (ddd, *J* = 2.1, 5.7, 14.1 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.39-2.27 (m, 4H, H_b), 2.18-2.04 (m, 1H, H_{2'b}), 1.95 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.72-1.53 (m, 4H, H_d), 1.38-1.15 (m, 48H, H_{aliphatic}), 0.95-0.81 (m, 6H, H_e) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 173.4 (C_a), 173.2 (C_a), 163.3 (C₄), 151.0 (C₂), 136.9 (C_{b'}), 132.7 (C₆), 129.4 (C_{d'}), 128.5 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 110.9 (C₅), 85.6 (C_{1'}), 82.4 (C_{4'}), 74.1 (C_{3'}), 63.8 (C_{5'}), 44.7 (C_{a'}), 37.8 (C_{2'}), 34.3 (C_b), 34.2 (C_b), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.8 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), , 29.3 (C_{aliphatic}), 29.2 (C_{aliphatic}), 25.0 (C_c), 24.9 (C_c), 22.8 (C_{aliphatic}), 14.3 (C_g), 13.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₄₉H₈₀N₂O₇ [M+H]⁺, 809.60383, found 809.60489.

Compound **287**



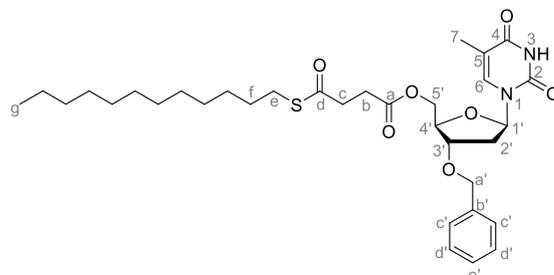
Chemical Formula: C₄₉H₇₈N₂O₁₁
Molecular Weight: 869,15

DMAP (catalytic amount) and succinic anhydride (280.7 mg, 2.81 mmol, 2 eq) were successively added to a suspension of alcohol **286** (500 mg, 1.40 mmol, 1 eq) in toluene (0.1 M). The reaction mixture was stirred at reflux during 6h before being allowed to cool down to room temperature. Concentration under reduced pressure afford the diacid (912.2 mg) as a white foam without further purification.

Dodecanol (946.1 mg, 5.13 mmol, 3 eq), DMAP (250.8 mg, 0.21 mmol, 1.2 eq) and EDC•HCl (655.9 mg, 3.42 mmol, 2.0 eq) were successively added to a stirred solution of diacid (910.9 mg, 1.71 mmol, 1.0 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 9.11 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. Layers were separated and the aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 30/70 to 50/50) to afford diester **288** as colorless gum (750.5 mg, 0.86 mmol, **62 % over 2 steps**).

R_f = 0.33 (EtOAc/P 20/80) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 2924, 2855, 1735, 1705, 1669, 1648, 1454, 1352, 1315, 1257, 1153, 1103, 1076, 1001, 933, 766, 722, 700, 618, 536, 494, 420 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 7.48-7.41 (m, 2H, H_{d'}), 7.31-7.17 (m, 4H, H₆/H_{b'}/H_{c'}), 6.32 (dd, *J* = 5.7, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 5.20 (td, *J* = 2.1, 6.6 Hz, 1H, H_{3'}), 5.09 (AB system, *J* = 13.5 Hz, 2H, H_{a'}), 4.41 (dd, *J* = 3.9, 12.0 Hz, 1H, H_{5'a}), 4.30 (dd, *J* = 3.0, 12.0 Hz, 1H, H_{5'b}), 4.23-4.18 (m, 1H, H_{4'}), 4.10-3.99 (m, 4H, H_e), 2.65-2.58 (m, 8H, H_b/H_c), 2.44 (ddd, *J* = 2.1, 5.7, 8.7 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.20-2.07 (m, 1H, H_{2'b}), 1.93 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇), 1.66-1.52 (m, 4H, H_f), 1.37-1.16 (m, 36H, H_{aliphatic}), 0.92-0.79 (m, 6H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 172.1 (C_d), 171.9 (C_a), 171.9 (C_a), 163.2 (C₄), 150.9 (C₂), 136.2 (C_{b'}), 132.9 (C₆), 129.2 (C_{d'}), 128.4 (C_{e'}), 127.6 (C_{c'}), 110.8 (C₅), 85.4 (C_{1'}), 82.1 (C_{4'}), 74.5 (C_{3'}), 65.1 (C_{a'}), 64.0 (C_{5'}), 44.5 (C_e), 37.4 (C_{2'}), 31.9 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}),), 29.3 (C_{aliphatic}),), 29.0 (C_c), 28.9 (C_b), 28.9 (C_b), 28.6 (C_f), 28.6 (C_f), 25.9 (C_{aliphatic}), 25.9 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 13.4 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₄₉H₇₆N₂O₁₁ [M+H]⁺, 869.55219, found 869.55302.

Compound **288**



Chemical Formula: C₃₃H₄₈N₂O₇S
Molecular Weight: 616,81

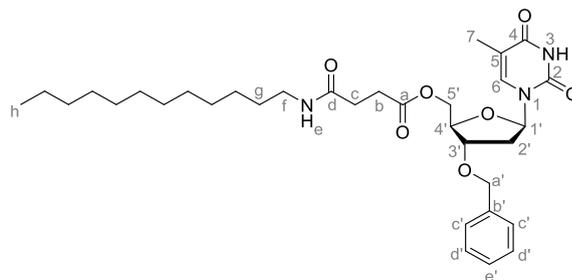
DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (90.4 mg, 0.90 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (300 mg, 0.90 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 20.5 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (513 mg) without further purification.

Dodecanethiol (994 μ L, 4.15 mmol, 3.5 eq), DMAP (58 mg, 0.47 mmol, 0.4 eq) and EDC•HCl (568 mg, 2.96 mmol, 2.5 eq) were successively added to a stirred solution of acid **260** (513 mg, 1.19 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 M, 11.9 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was

purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane 40/60 to 50/50) to afford thioester **288** as a yellow gum (405 mg, 0.66 mmol, **73 % over 2 steps**).

Rf = 0.36 (EtOAc/P 4/6) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm^{-1}) 3182, 2923, 2860, 1684, 1460, 1372, 1268, 1194, 971, 897, 738, 608, 480, 414 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.56 (s, 1H, NH-3), 7.39-7.23 (m, 6H, $\text{H}_6/\text{H}_{\text{aromatics}}$), 6.27 (dd, $J = 6.0, 7.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.53 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{a}'}$), 4.36 (dd, $J = 5.4, 12.9$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'\text{a}}$), 4.30-4.21 (m, 2H, $\text{H}_{4'}/\text{H}_{5'\text{b}}$), 4.16-4.07 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 2.94-2.81 (m, 4H, H_c/H_d), 2.67-2.62 (m, 2H, H_e), 2.50 (ddd, $J = 3.0, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'\text{a}}$), 2.12-1.99 (m, 1H, $\text{H}_{2'\text{b}}$), 1.92 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H_7), 1.60-1.47 (m, 2H, H_f), 1.38-1.15 (m, 18H, $\text{H}_{\text{aliphatics}}$), 0.92-0.80 (m, 3H, H_g) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 197.9 (C_d), 171.7 (C_a), 164.0 (C_4), 150.4 (C_2), 137.3 ($\text{C}_{\text{b}'}$), 135.2 (C_6), 128.6 ($\text{C}_{\text{d}'}$), 128.1 ($\text{C}_{\text{e}'}$), 127.8 ($\text{C}_{\text{c}'}$), 111.3 (C_5), 85.4 ($\text{C}_{1'}$), 82.2 ($\text{C}_{4'}$), 78.4 ($\text{C}_{3'}$), 71.8 ($\text{C}_{\text{a}'}$), 64.2 ($\text{C}_{5'}$), 38.3 (C_c), 37.6 ($\text{C}_{2'}$), 32.0 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.7 (C_b), 29.6 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.5 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.2 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.1 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 28.9 (C_f), 22.7 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 14.2 (C_g), 12.7 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 617.32635, found 617.48023.

Compound **289**



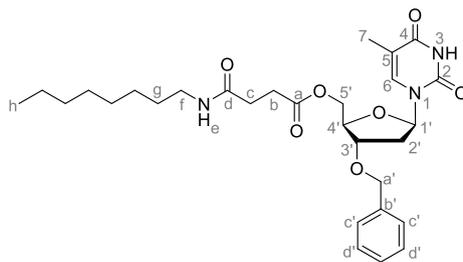
Chemical Formula: $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_7$
Molecular Weight: 599,77

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (151 mg, 1.50 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 34.2 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (799 mg) without further purification.

Dodecyl amine (595 μL , 2.59 mmol, 1.4 eq) and EDC $\cdot\text{HCl}$ (496.1 mg, 2.59 mmol, 1.4 eq) were successively added to a stirred solution of acid **260** (799.4 mg, 1.85 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (0.17 M, 10.87 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 20/80 to 30/70) and precipitated in pentane to afford amide **289** as a white solid (682 mg, 1.14 mmol, **76 % over 2 steps**).

Mp : 96-100 $^\circ\text{C}$; **Rf** = 0.44 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm^{-1}) 3324, 2923, 2854, 1695, 1646, 1547, 1466, 1404, 1370, 1328, 1276, 1200, 1162, 1138, 1082, 1059, 960, 900, 801, 737, 697, 650, 605, 559, 492, 426 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.75 (s, 1H, NH-3), 7.38-7.21 (m, 6H, $\text{H}_6/\text{H}_{\text{aromatics}}$), 6.26 (appearing t, $J = 6.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 5.85 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, H_e), 4.50 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{a}'}$), 4.40-4.30 (m, 1H, $\text{H}_{5'\text{a}}$), 4.27-4.18 (m, 2H, $\text{H}_{4'}/\text{H}_{5'\text{b}}$), 4.16-4.09 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 3.17 (q, $J =$

6.6 Hz, 2H, H_f), 2.77-2.54 (m, 2H, H_c), 2.52-2.36 (m, 3H, H_{2'a}/H_b), 2.15-2.01 (m, 1H, H_{2'b}), 1.89 (appearing s, 3H, H₇), 1.52-1.37 (m, 2H, H_g), 1.33-1.11 (m, 18H, H_{aliphatics}), 0.92-0.76 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.7 (C_a), 170.9 (C_d), 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.4 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.2 (C_{1'}), 82.2 (C_{4'}), 78.5 (C_{3'}), 71.7 (C_{a'}), 64.0 (C_{5'}), 39.7 (C_f), 37.5 (C_{2'}), 31.9 (C_{aliphatic}), 30.6 (C_b), 29.6 (C_g), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_c), 26.9 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.1 (C_h), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₃₃H₄₉N₃O₇ [M+H]⁺, 600.36488, found 600.36449.

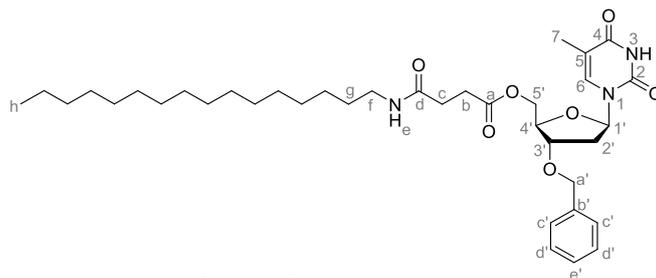
Compound **290**

Chemical Formula: C₂₉H₄₁N₃O₇
Molecular Weight: 543,66

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (90.4 mg, 0.90 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (300 mg, 0.90 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 20.5 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (481 mg) without further purification.

Octyl amine (257 μL, 1.56 mmol, 1.4 eq) and EDC•HCl (299 mg, 1.56 mmol, 1.4 eq) were successively added to a stirred solution of acid **260** (481 mg, 1.11 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.17 M, 6.54 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 30/70 to 40/60) and precipitated in pentane to afford amide **290** as a white solid (199 mg, 0.37 mmol, **41 % over 2 steps**).

Mp : 74-80 °C ; **R_f** = 0.47 (A/T 40/60) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹)** 3320, 3180, 2925, 2867, 1693, 1458, 1367, 1266, 1163, 1064, 969, 889, 794, 740, 697, 646, 602, 558, 480, 417 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.79 (s, 1H, NH-3), 7.40-7.21 (m, 6H, H₆/H_{aromatics}), 6.26 (dd, *J* = 6.0, 7.5 Hz, 1H, H_{1'}), 5.89 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, H_e), 4.51 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.36 (dd, *J* = 5.4, 12.9 Hz, 1H, H_{5'a}), 4.27-4.18 (m, 2H, H_{4'}/H_{5'b}), 4.17-4.09 (m, 1H, H_{3'}), 3.18 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H, H_f), 2.77-2.38 (m, 5H, H_{2'a}/H_b/H_c), 2.16-2.01 (m, 1H, H_{2'b}), 1.90 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇), 1.50-1.37 (m, 2H, H_g), 1.34-1.13 (m, 10H, H_{aliphatics}), 0.90-0.77 (m, 3H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.7 (C_a), 170.9 (C_d), 164.1 (C₄), 150.5 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.4 (C₆), 128.5 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.2 (C_{1'}), 82.2 (C_{4'}), 78.5 (C_{3'}), 71.7 (C_{a'}), 64.0 (C_{5'}), 39.7 (C_f), 37.5 (C_{2'}), 31.8 (C_{aliphatic}), 30.6 (C_b), 29.6 (C_g), 29.4 (C_c), 29.2 (C_{aliphatic}), 29.2 (C_{aliphatic}), 26.9 (C_{aliphatic}), 22.6 (C_{aliphatic}), 14.1 (C_h), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₂₉H₄₁N₃O₇ [M-H]⁻, 542.28663, found 542.28662.

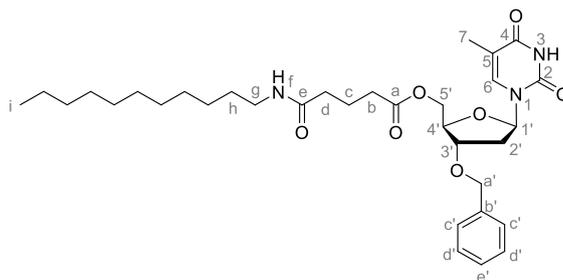
Compound **291**

Chemical Formula: $C_{37}H_{57}N_3O_7$
Molecular Weight: 655,88

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (90.4 mg, 0.90 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (300 mg, 0.90 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 20.5 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **260** was isolated as a white foam (464 g) without further purification.

Hexadecyl amine (363 mg, 1.50 mmol, 1.4 eq) and EDC•HCl (288 mg, 1.50 mmol, 1.4 eq) were successively added to a stirred solution of acid **260** (464 mg, 1.07 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (0.17 M, 6.3 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 20/80 to 30/70) to afford amide **291** as a white solid (yield was not reported but comparable to previous amides).

Mp : 97-100 °C ; **Rf** = 0.27 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3307, 3193, 3072, 2919, 2856, 1745, 1679, 1591, 1464, 1372, 1265, 1166, 1055, 882, 807, 731, 624, 559, 469, 414 ; **1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$)** δ (ppm) 9.67 (s, 1H, NH-3), 7.41-7.19 (m, 6H, $H_6/H_{aromatics}$), 6.27 (appearing t, $J = 6.9$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.81 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, H_e), 4.52 (AB system, $J = 11.7$ Hz, 2H, $H_{a'}$), 4.47 (dd, $J = 5.1, 12.9$ Hz, 1H, $H_{5'a}$), 4.29-4.18 (m, 2H, $H_{4'}/H_{5'b}$), 4.18-4.08 (m, 1H, $H_{3'}$), 3.24-3.13 (m, 2H, H_f), 2.78-2.38 (m, 5H, $H_{2'a}/H_b/H_c$), 2.16-2.01 (m, 1H, $H_{2'b}$), 1.90 (appearing s, 3H, H_7), 1.52-1.37 (m, 2H, H_g), 1.35-1.11 (m, 26H, $H_{aliphatics}$), 0.92-0.78 (m, 3H, H_h) ; **^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$)** δ (ppm) 172.7 (C_a), 170.9 (C_d), 164.1 (C_4), 150.5 (C_2), 137.3 ($C_{b'}$), 135.4 (C_6), 128.6 ($C_{d'}$), 128.0 ($C_{e'}$), 127.8 ($C_{c'}$), 111.2 (C_5), 85.3 ($C_{1'}$), 82.2 ($C_{4'}$), 78.5 ($C_{3'}$), 71.6 ($C_{a'}$), 64.1 ($C_{5'}$), 39.7 (C_f), 37.5 ($C_{2'}$), 31.9 ($C_{aliphatic}$), 30.7 (C_b), 29.6 (C_c), 29.7 ($C_{aliphatic}$), 29.7 ($C_{aliphatic}$), 29.6 ($C_{aliphatic}$), 29.4 (C_c), 29.3 ($C_{aliphatic}$), 26.9 ($C_{aliphatic}$), 22.7 ($C_{aliphatic}$), 14.2 (C_h), 12.6 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for $C_{37}H_{57}N_3O_7$ $[M+H]^+$, 656.42693, found 656.42656.

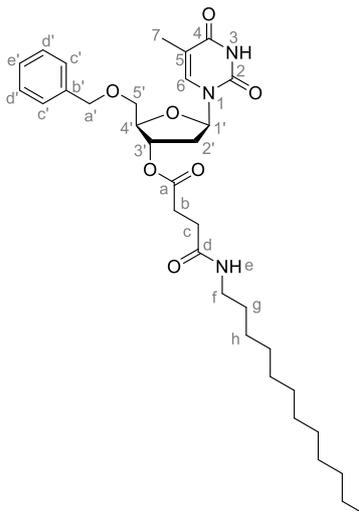
Compound **292**

Chemical Formula: $C_{33}H_{49}N_3O_7$
Molecular Weight: 599,77

DMAP (cat. amount) and glutaric anhydride (172 mg, 1.50 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (500 mg, 1.50 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 34.2 mL). The mixture was stirred at reflux during 6.5h. The reaction mixture was allowed to cool down to rt before being concentrated under reduced pressure. Crude **270** was isolated as a white foam (830 mg) without further purification.

Undecyl amine (227 μ L, 1.06 mmol, 1.4 eq) and EDC•HCl (203 mg, 1.06 mmol, 1.4 eq) were successively added to a stirred solution of acid **270** (337 mg, 0.76 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (0.17 M, 4.44 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 20/80 to 30/70) and precipitated in pentane to afford amide **292** as a white solid (73 mg, 0.12 mmol, **13 % over 2 steps**).

Mp : 76-80 °C ; **Rf** = 0.26 (A/T 30/70) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1})** 3323, 3177, 3036, 2923, 2853, 1693, 1648, 1549, 1498, 1467, 1419, 1410, 1368, 1315, 1277, 1250, 1191, 1158, 1138, 1084, 1049, 1001, 963, 896, 874, 786, 752, 734, 696, 667, 649, 604, 560, 493, 446, 426 ; **1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 9.55 (s, 1H, NH-3), 7.40-7.25 (m, 5H, $H_{aromatics}$), 7.22 (d, $J = 1.5$ Hz 1H, H_6), 6.25 (dd, $J = 6.0, 7.5$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.69 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, H_f), 4.52 (AB system, $J = 12.0$ Hz, 2H, $H_{a'}$), 4.35-4.18 (m, 3H, $H_{4'}/H_{5'b}$), 4.14-4.07 (m, 1H, $H_{3'}$), 3.21-3.14 (m, 2H, H_g), 2.49 (ddd, $J = 3.0, 6.0, 13.8$ Hz, 1H, $H_{2'a}$), 2.39 (td, $J = 3.6, 7.2$ Hz, 2H, H_b), 2.23-2.14 (m, 2H, H_d), 2.13-2.02 (m, 1H, $H_{2'b}$), 2.00-1.91 (m, 2H, H_c), 1.90 (dd, $J = 1.2$ Hz, 3H), 1.52-1.38 (m, 2H, H_h), 1.34-1.16 (m, 16H, $H_{aliphatics}$), 0.90-0.80 (m, 3H, H_i) ; **^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 172.9 (C_a), 171.8 (C_e), 164.0 (C_4), 150.4 (C_2), 137.2 ($C_{b'}$), 135.4 (C_6), 128.7 ($C_{d'}$), 128.1 ($C_{e'}$), 127.8 ($C_{c'}$), 111.3 (C_5), 85.6 ($C_{1'}$), 82.2 ($C_{4'}$), 78.4 ($C_{3'}$), 71.7 ($C_{a'}$), 64.0 ($C_{5'}$), 39.6 (C_g), 37.5 ($C_{2'}$), 35.3 (C_d), 33.2 (C_b), 31.9 ($C_{aliphatic}$), 29.7 ($C_{aliphatic}$), 29.6 (C_h), 29.6 ($C_{aliphatic}$), 29.4 ($C_{aliphatic}$), 29.4 ($C_{aliphatic}$), 27.0 ($C_{aliphatic}$), 22.7 ($C_{aliphatic}$), 14.2 (C_h), 12.7 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for $C_{33}H_{49}N_3O_7$ $[M+H]^+$, 600.36433, found 600.36442.

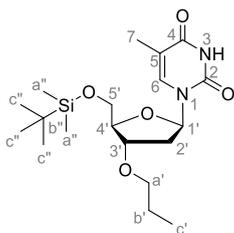
Compound **293**

Chemical Formula: $C_{33}H_{49}N_3O_7$
Molecular Weight: 599,77

DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (305.3 mg, 3.05 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **111** (1.01 g, 3.05 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 69.3 mL). The mixture was stirred at reflux during 6 h. The reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before being concentrated under reduced pressure. Crude **266** was isolated as a white foam (1.60 g) without further purification.

Dodecyl amine (1.19 mL, 5.17 mmol, 1.4 eq) and EDC•HCl (991 mg, 5.17 mmol, 1.4 eq) were successively added to a stirred solution of acid **266** (1.60 g, 3.69 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (0.17 M, 21.7 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 30/70 to 40/60) to afford amide **293** as a white solid (1.43 g, 2.38 mmol, **78 % over 2 steps**).

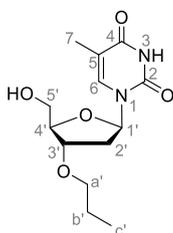
Mp :96-98 °C ; **R_f** = 0.27 (A/T 30/70) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm^{-1})** 3332, 3174, 3048, 2921, 2855, 1696, 1652, 1580, 1531, 1459, 1337, 1263, 1165, 1126, 1076, 960, 881, 734, 568, 562, 474, 417 ; **1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 9.70 (s, 1H, NH-3), 7.53 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H₆), 7.36-7.21 (m, 5H, H_{aromatics}), 6.39 (dd, $J = 5.4, 8.7$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.99 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, H_e), 5.40-5.32 (m, 1H, H_{3'}), 4.54 (AB system, $J = 11.4$ Hz, 2H, H_{a'}), 4.16 (s, 1H, H_{4'}), 3.77 (dd, $J = 2.4, 12.3$ Hz, 2H, H_{5'}), 3.24-3.12 (m, 2H, H_f), 2.72-2.60 (m, 2H, H_c), 2.51-2.28 (m, 3H, H_{2'a/H_b}), 2.27-2.12 (m, 1H, H_{2'b}), 1.55 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇), 1.56-1.37 (m, 2H, H_g), 1.32-1.13 (m, 18H, H_{aliphatics}), 0.88-0.78 (m, 3H, H_h) ; **^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm)** 172.7 (C_a), 171.0 (C_d), 164.0 (C₄), 150.8 (C₂), 137.4 (C_{b'}), 135.6 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.5 (C_{c'}), 111.4 (C₅), 84.7 (C_{1'}), 84.0 (C_{4'}), 76.0 (C_{3'}), 73.8 (C_{a'}), 70.6 (C_{5'}), 39.7 (C_f), 37.7 (C_{2'}), 31.9 (C_{aliphatic}), 30.6 (C_b), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_g), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_c), 26.9 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.1 (C_h), 12.2 (C₇) ; **HRMS (ESI) : Calcd for $C_{33}H_{49}N_3O_7$ [M+H]⁺, 600.36433, found 600.36316.**

Compound **295**

Chemical Formula: C₁₉H₃₄N₂O₅Si
Molecular Weight: 398,58

In a vial, NaH (60% dispersion in oil, 280 mg, 7.01 mmol, 2.5 eq) was added by portions at 0°C to a solution of the alcohol **109** (1 g, 2.80 mmol, 1.0 eq), in THF (0.1 g/mL, 10 mL) and the reaction mixture was activated under microwaves (CEM machine, 200 watts) at 40°C during 4.5 minutes. Propyl iodide (683 μL, 7.01 mmol, 2.5 eq) was then added and the reaction medium was submitted to a second microwave activation time (15 h, 40°C, 200 watts). After being cooled at room temperature, the reaction was quenched with a saturated aqueous solution of NH₄Cl and dichloromethane was added. The aqueous layer was extracted three times with dichloromethane (3x10 mL). The combined organic extracts were then dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product which was then purified by flash chromatography over silica gel (Pentane/EtOAc 70/30) to afford **295** as a white solid (560 mg, 1.40 mmol, **50 %**).

Mp : 107-109 °C ; *Rf* = 0.43 (EtOAc/Pentane 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3186, 2928, 1681, 1461, 1403, 1322, 1256, 1200, 1133, 1116, 1099, 1071, 1015, 980, 964, 923, 832, 780, 734, 670, 636, 610, 555, 489, 421 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 8.80 (s, 1H, NH-3), 7.51 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₆), 6.28 (dd, *J* = 5.4, 8.1 Hz, 1H, H_{1'}), 4.10-3.98 (m, 2H, H_{3'}/H_{4'}), 3.89 (dd, *J* = 2.4, 11.4 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.77 (dd, *J* = 2.1, 11.4 Hz, 1H, H_{5'b}), 3.47-3.27 (m, 2H, H_{a'}), 2.41 (ddd, *J* = 2.1, 6.0, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.00-1.87 (m, 4H, H_{2'b}/H₇), 1.66-1.51 (m, 2H, H_{b'}), 0.97-0.87 (m, 12H, H_{c'}/H_{c''}), 0.11 (s, 6H, H_{a''}) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 164.3 (C₄), 150.6 (C₂), 135.5 (C₆), 110.9 (C₅), 85.2 (C_{1'}), 85.1 (C_{4'}), 79.4 (C_{3'}), 71.1 (C_{a'}), 63.7 (C_{5'}), 38.0 (C_{2'}), 26.0 (C_{c''}), 23.0 (C_{b'}), 18.4 (C_{b''}), 12.6 (C₇), 10.7 (C_{c'}), -5.3 (C_{a''}), -5.4 (C_{a'}) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₁₉H₃₄N₂O₅Si [M+H]⁺, 399.23098, found 399.23077.

Compound **296**

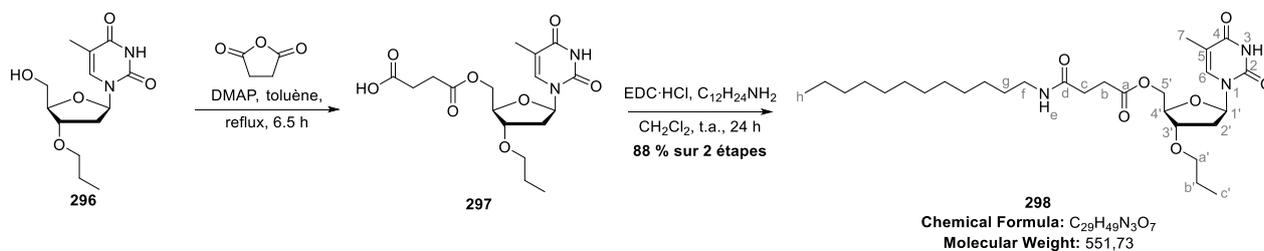
Chemical Formula: C₁₃H₂₀N₂O₅
Molecular Weight: 284,31

At 0 °C, a solution of TBAF (1.39 mL, 1.39 mmol, 1 éq, 1.0 M in THF) was added dropwise to a stirred solution of compound **295** (556 mg, 1.39 mmol, 1 eq) in THF (0.1 M, 13.9 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h. Reaction was then quenched with water and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers

were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/ CH_2Cl_2 5/95) to afford alcohol **296** as a white solid (377 mg, 1.33 mmol **95 %**).

Mp : 148-150 °C ; **Rf** = 0.26 (MeOH/ CH_2Cl_2 5/95) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3473, 3199, 3076, 2931, 1701, 1660, 1627, 1492, 1471, 1404, 1374, 1329, 1300, 1260, 1223, 1205, 1130, 1088, 1061, 1023, 1010, 990, 958, 931, 891, 874, 840, 788, 770, 644, 611, 568, 492, 443, 415 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.69 (s, 1H, NH-3), 7.44 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H₆), 6.13 (appearing t, $J = 6.9$ Hz, 1H, H_{1'}), 4.18-4.10 (m, 1H, H_{4'}), 4.09-4.00 (m, 1H, H_{3'}), 3.90 (dd, $J = 2.7, 12.0$ Hz, 1H, H_{5'a}), 3.75 (dd, $J = 3.0, 12.0$ Hz, 1H, H_{5'b}), 3.46-3.27 (m, 2H, H_{a'}), 2.41-2.18 (m, 2H, H_{2'}), 1.86 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H), 1.63-1.49 (m, 2H, H_{b'}), 0.88 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, H_{c'}) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 164.4 (C₄), 150.7 (C₂), 137.2 (C₆), 111.0 (C₅), 86.9 (C_{1'}), 85.3 (C_{4'}), 78.9 (C_{3'}), 71.4 (C_{a'}), 62.8 (C_{5'}), 37.4 (C_{2'}), 23.0 (C_{b'}), 12.5 (C₇), 10.6 (C_{c'}) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 307.12644, found 307.12672.

Compound **298**



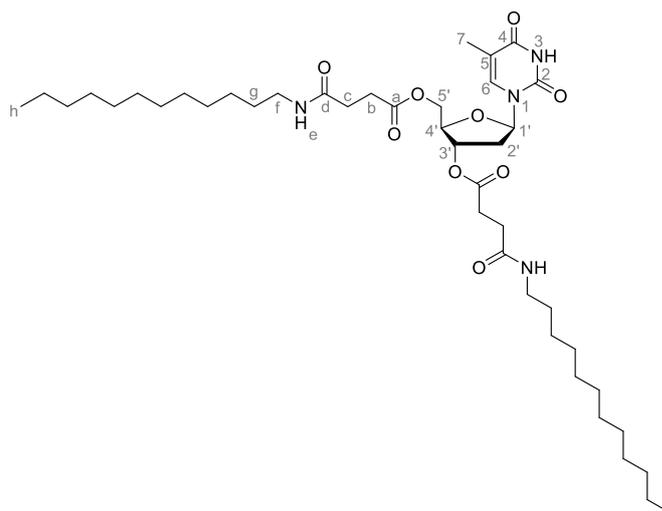
DMAP (cat. amount) and succinic anhydride (79 mg, 0.79 mmol, 1 eq) were successively added to a stirred suspension of alcohol **296** (224 mg, 0.79 mmol, 1 eq) in toluene (0.1 M, 7.9 mL). The mixture was stirred at reflux during 6.5 h. The reaction mixture was allowed to cool down to rt before being concentrated under reduced pressure. Crude **297** was isolated as a white foam (306 mg) without further purification.

Dodecyl amine (510 μL , 2.22 mmol, 1.4 eq) and EDC·HCl (425 mg, 2.22 mmol, 1.4 eq) were successively added to a stirred solution of acid **297** (609 mg, 1.58 mmol, 1 eq) in CH_2Cl_2 (0.17 M, 9.32 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 20/80 to 30/70) and precipitated in pentane to afford amide **298** as a white solid (634 mg, 1.15 mmol, **88 % over 2 steps**).

Mp : 81-82 °C ; **Rf** = 0.31 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3326, 2963, 2921, 2853, 1746, 1690, 1652, 1545, 1467, 1406, 1369, 1327, 1278, 1252, 1160, 1137, 1080, 1007, 957, 895, 784, 759, 722, 646, 605, 560, 492, 425 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.44 (s, 1H, NH-3), 7.30 (d, $J = 1.2$ Hz 1H, H₆), 6.23 (dd, $J = 6.0, 7.5$ Hz, 1H, H_{1'}), 5.75 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, H_e), 4.38 (dd, $J = 4.2, 12.0$ Hz, 1H, H_{5'a}), 4.23 (dd, $J = 3.6, 12.3$ Hz, 1H, H_{5'b}), 4.19-4.12 (m, 1H, H_{4'}), 4.02-3.95 (m, 1H, H_{3'}), 3.44-3.28 (m, 2H, H_{a'}), 3.25-3.14 (m, 2H, H_f), 2.80-2.53 (m, 2H, H_c), 2.52-2.34 (m, 3H, H_b/H_{2'a}), 2.13-1.98 (m, 1H, H_{2'b}), 1.91 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇), 1.63-1.51 (m, 2H, H_{b'}), 1.51-1.38 (m, 2H, H_g),

1.34-1.14 (m, 18H, H_{aliphatics}), 0.94-0.79 (m, 6H, H_i/H_h) ; ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.8 (C_a), 170.9 (C_d), 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 135.4 (C₆), 111.3 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 82.4 (C_{4'}), 79.0 (C_{3'}), 71.5 (C_{a'}), 64.3 (C_{5'}), 39.8 (C_f), 37.6 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 30.7 (C_b), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_c), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 27.0 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h), 12.7 (C₇), 10.6 (C_{c'}) ; HRMS (ESI) : Calcd for C₂₉H₄₉N₃O₇ [M+H]⁺, 552.36433, found 552.36492.

Compound 299



Chemical Formula: C₄₂H₇₂N₄O₉
Molecular Weight: 777,06

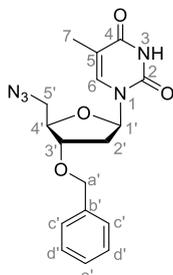
DMAP (catalytic amount) and succinic anhydride (413 mg, 4.13 mmol, 2 eq) were successively added to a suspension of thymidine (500 mg, 2.06 mmol, 1 eq) in toluene (0.044 M, 46.9 mL). The reaction mixture was stirred at reflux during 8h before being allowed to cool down to room temperature. Concentration under reduced pressure afford the diacid **283** (1.05 g) as a white foam without further purification.

Dodecyl amine (1.52 mL, 6.63 mmol, 2.8 eq) and EDC•HCl (1.27 g, 6.63 mmol, 2.8 eq) were successively added to a stirred solution of diacid **283** (1.05 g, 2.37 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.17 M, 13.9 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (Acetone/Toluene 40/60 to 50/50) to afford amide **299** as a white solid (827 mg, 1.06 mmol, **52 % over 2 steps**).

Mp : 97-98 °C ; **Rf** = 0.28 (A/T 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm⁻¹) 3275, 3097, 2917, 2863, 1709, 1636, 1468, 1378, 1256, 1185, 1065, 885, 824, 730, 622, 560, 497, 481, 463, 419 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.62 (s, 1H, NH-3), 7.29 (appearing s, 1H, H₆), 6.26 (dd, *J* = 5.7, 8.7 Hz, 1H, H_{1'}), 5.98 (q, *J* = 5.7 Hz, 2H, H_e), 5.26-5.15 (m, 1H, H_{3'}), 4.39 (dd, *J* = 3.9, 12.0 Hz, 1H, H_{5'a}), 4.27 (dd, *J* = 3.3, 12.0 Hz, 1H, H_{5'b}), 4.22-4.15 (m, 1H, H_{4'}), 3.27-3.08 (m, 4H, H_f), 2.78-2.56 (m, 4H, H_c), 2.53-2.10 (m, 6H, H_{2'/Hb}), 1.90 (appearing s, 3H, H₇), 1.56-1.37 (m, 4H, H_g), 1.33-1.10 (m, 36H, H_{aliphatics}), 0.92-0.73 (m, 6H, H_h) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.6 (C_a), 171.0 (C_d), 170.9 (C_d),

163.9 (C₄), 150.6 (C₂), 135.0 (C₆), 111.7 (C₅), 84.8 (C_{1'}), 82.1 (C_{4'}), 74.6 (C_{3'}), 64.1 (C_{5'}), 39.8 (C_f), 37.2 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 30.7 (C_b), 30.7 (C_b), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_g), 29.5 (C_c), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 27.0 (C_{aliphatic}), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₄₂H₇₂N₄O₉ [M+H]⁺, 777.53775, found 777.53716.

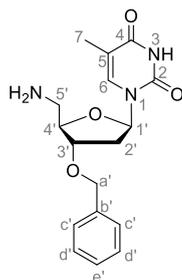
Compound **302**



Chemical Formula: C₁₇H₁₉N₅O₄
Molecular Weight: 357,37

PPh₃ (947 mg, 3.61 mmol, 1.2 eq), CBr₄ (1.20 g, 3.61 mmol, 1.2 eq) and NaN₃ (978 mg, 15.04 mmol, 5 eq) were successively added to a stirred solution of alcohol **111** (1.00 g, 3.01 mmol, 1 eq) in DMF (0.25 M, 12.04 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature during 23 h before being quenched with a saturated solution of NaHCO₃. The mixture was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combine organic layers were washed with water and brine 2 times. Organic layer was collected, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was dissolved in EtOH (0.1 g/ml) and ZnCl₂ (3 eq/PPh₃) was added. The suspension was stirred at room temperature overnight before being filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/Petroleum ether 60/40 to 70/30) to afford compound **302** as a yellow gum (508 mg, 1.42 mmol, **47 %**).

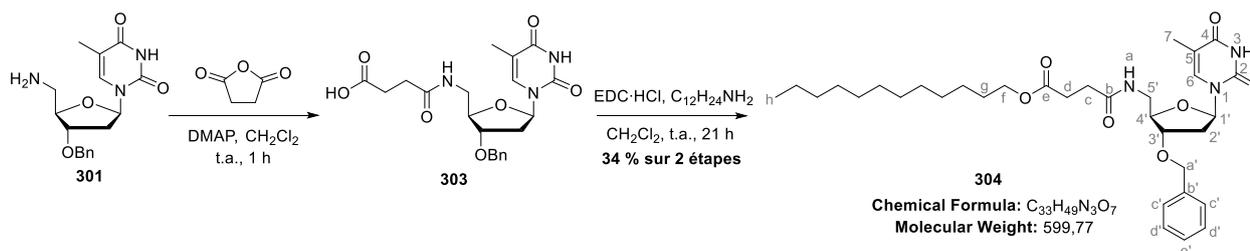
R_f = 0.70 (Pentane/EtOAc 40/60) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3181, 3036, 2926, 2101, 1682, 1468, 1365, 1272, 1202, 1073, 962, 908, 784, 730, 698, 666, 647, 556, 489, 420 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 9.55 (s, 1H, NH-3), 7.41-7.27 (m, 6H, H₆/H_{aromatic}), 6.26 (dd, *J* = 6.3, 7.8 Hz, 1H, H_{1'}), 4.53 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.20-4.10 (m, 2H, H_{3'/4'}), 3.69 (dd, *J* = 3.0, 13.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.49 (dd, *J* = 3.0, 13.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.46 (ddd, *J* = 2.4, 6.0, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.20-2.06 (m, 1H, H_{2'b}), 1.93 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) 164.0 (C₄), 150.5 (C₂), 137.3 (C_{b'}), 135.5 (C₆), 128.7 (C_{d'}), 128.2 (C_{e'}), 127.8 (C_{c'}), 111.5 (C₅), 85.3 (C_{1'}), 82.7 (C_{4'}), 78.6 (C_{3'}), 72.0 (C_{a'}), 52.5 (C_{5'}), 37.5 (C_{2'}), 12.7 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₁₇H₁₉N₅O₄ [M+H]⁺ 358.15098, found 358.15079.

Compound **301**

Chemical Formula: $C_{17}H_{21}N_3O_4$
Molecular Weight: 331,37

A solution of compound **302** (575 mg, 1.61 mmol, 1 eq) in EtOH (0.1 M, 16.1 mL) was added dropwise to Pd/C (28.8 mg, 0.05 w%). The reaction mixture was stirred under hydrogen atmosphere (1 atm) at room temperature during 48 h. The mixture was filtered through celite before being concentrated under reduced pressure to afford a partially pure amine **301** as a yellow gum (478.2 mg, 1.44 mmol, **90 %**) without further purification.

R_f = 0.68 (CH₂Cl₂/MeOH/H₂O 70/15/2) ; **IR (ATR) v_{max} (cm⁻¹)** 3362, 3301, 3181, 3062, 3035, 2928, 2861, 1690, 1470, 1456, 1405, 1366, 1320, 1275, 1203, 1131, 1060, 962, 904, 784, 740, 700, 668, 620, 602, 560, 489, 458, 420 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 7.39-7.20 (m, 6H, H₆/H_{aromatic}), 6.21 (appearing t, *J* = 7.2 Hz, 1H, H_{1'}), 4.55 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.20-4.10 (m, 2H, H_{3'}/H_{4'}), 3.69 (dd, *J* = 3.0, 13.2 Hz, 1H, H_{5'a}), 3.49 (dd, *J* = 3.0, 13.2 Hz, 1H, H_{5'b}), 2.46 (ddd, *J* = 2.4, 6.0, 13.5 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.20-2.06 (m, 1H, H_{2'b}), 1.93 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, H₇) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 164.3 (C₄), 150.7 (C₂), 137.6 (C_{b'}), 135.8 (C₆), 128.4 (C_{d'}), 127.8 (C_{e'}), 127.6 (C_{c'}), 111.1 (C₅), 85.0 (C_{1'}), 85.0 (C_{4'}), 78.7 (C_{3'}), 71.5 (C_{a'}), 43.6 (C_{5'}), 37.2 (C_{2'}), 12.5 (C₇) ; **HRMS (ESI) :** Calcd. for C₁₇H₂₁N₃O₄ [M+H]⁺ 332.16048, found 332.16099.

Compound **304**

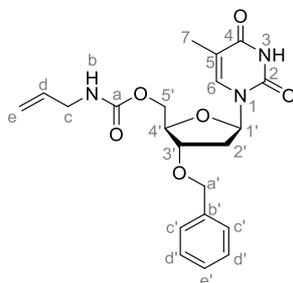
Succinic anhydride (180 mg, 1.80 mmol, 1.2 eq) was added to a stirred solution of amine **301** (498 mg, 1.50 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂. DMAP (184 mg, 1.50 mmol, 1 eq) was added and the mixture was stirred at room temperature during 1 h. The reaction mixture was quenched with an aqueous solution of Na₂CO₃ (5 w%) and layers were separated. Aqueous layer was acidified with HCl (1N) and extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude **303** as isolated as a white foam (376 mg) without further purification.

Acid **303** (367 mg, 0.85 mmol, 1.5 eq), DMAP (42 mg, 0.34 mmol, 0.6 eq) and EDC·HCl (163 mg, 0.85 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of dodecanol (106 mg, 0.57 mmol,

1 eq) in DCM (0.1 g/mL, 1.1 mL). The mixture was stirred at room temperature during 21 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and CH_2Cl_2 was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (acetone/toluene 30/70) to afford ester **304** as a white solid after precipitation in pentane (307 mg, 0.51 mmol, **34 % over 2 steps**)

Mp : in progress ; **Rf** = 0.39 (EtOAc/P 70/30) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3334, 3188, 3067, 2926, 2854, 1733, 1693, 1545, 1497, 1466, 1455, 1409, 1359, 1328, 1270, 1196, 1170, 1133, 1061, 1029, 996, 965, 891, 865, 781, 737, 698, 664, 621, 602, 559, 512, 488, 415 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 9.44 (s, 1H, NH-3), 7.39-7.24 (m, 5H, $\text{H}_{\text{aromatics}}$), 7.21 (appearing s, 1H, H_6), 6.82 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, H_a), 6.10 (appearing t, $J = 6.9$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.51 (AB system, $J = 12.3$ Hz, 2H, $\text{H}_{a'}$), 4.16-3.95 (m, 4H, $\text{H}_3'/\text{H}_4'/\text{H}_f$), 3.77-3.63 (m, 1H, $\text{H}_{5'a}$), 3.43 (td, $J = 4.2, 15.0$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'b}$), 2.83-2.22 (m, 6H, $\text{H}_2'/\text{H}_b/\text{H}_c$), 1.88 (appearing s, 3H, H_7), 1.50-1.38 (m, 2H, H_g), 1.38-1.11 (m, 18H, $\text{H}_{\text{aliphatic}}$), 0.95-0.72 (m, 3H, H_h) ; **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 173.4 (C_e), 172.2 (C_b), 164.0 (C_4), 150.5 (C_2), 137.6 ($\text{C}_{b'}$), 137.0 (C_6), 128.6 ($\text{C}_{d'}$), 128.0 ($\text{C}_{e'}$), 127.9 ($\text{C}_{c'}$), 111.4 (C_5), 86.7 ($\text{C}_{1'}$), 83.2 ($\text{C}_{4'}$), 79.0 ($\text{C}_{3'}$), 72.1 ($\text{C}_{a'}$), 65.0 (C_f), 41.0 ($\text{C}_{5'}$), 36.7 ($\text{C}_{2'}$), 32.0 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 30.8 (C_d), 29.7 (C_c), 29.7 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.6 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.6 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.4 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 29.3 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 28.7 (C_g), 26.0 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 22.7 ($\text{C}_{\text{aliphatic}}$), 14.2 (C_h), 12.4 (C_7) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 600.36433, found 600.36537.

Compound **305**



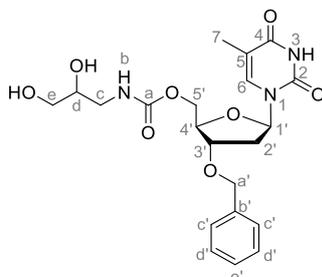
Chemical Formula: $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_6$
Molecular Weight: 415,45

Allyl isocyanate (319 μL , 3.61 mmol, 1.2 eq) was added dropwise to a stirred solution of alcohol **111** (1.00 g, 3.01 mmol, 1 eq) in THF (1.0 M, 3.01 mL). At 0 $^\circ\text{C}$, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (446 μL , 3.61 mmol, 1.2 eq) was added dropwise to the mixture. The reaction mixture was stirred at room temperature during 30 h before CH_2Cl_2 was added. A saturated solution of NaHCO_3 was added and layers were separated. Aqueous layer was extracted 3 times with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography over silica gel (A/T 20/80 to 30/70) to afford compound **305** as a white gum (973.2 mg, 2.34 mmol, **78 %**).

Rf = 0.27 (A/T 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{max} (cm^{-1}) 3331, 3183, 2926, 1691, 1527, 1456, 1366, 1325, 1273, 1247, 1203, 1058, 960, 914, 736, 698, 604, 558, 490, 464, 416 ; **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)** 8.73 (s, 1H, NH-3), 7.42-7.20 (m, 6 H, $\text{H}_6/\text{H}_{\text{aromatic}}$), 6.25 (dd, $J = 5.7, 7.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 5.92-5.73 (m, 1H, H_d), 5.24-5.09 (m, 2H, H_e), 4.92-4.78 (m, 1H, H_b), 4.55 (AB system, $J = 12.0$ Hz, 2H,

H_a'), 4.39-4.17 (m, 3H, H₄'/H₅'), 4.15-4.03 (m, 1H, H₃'), 3.86-3.74 (m, 2H, H_c), 2.59-2.46 (m, 1H, H₂'_a), 2.06-1.86 (m, 4H, H₇/H₂'_b) ; ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.2 (C₄), 155.8 (C_a), 150.5 (C₂), 137.2 (C_b'), 135.4 (C₆), 134.2 (C_d), 128.5 (C_d'), 127.9 (C_e'), 127.6 (C_c'), 116.2 (C_e), 110.9 (C₅), 85.6 (C₁'), 82.5 (C₄'), 78.6 (C₃'), 71.4 (C_a'), 64.6 (C₅'), 43.5 (C_c), 37.5 (C₂'), 12.5 (C₇) ; HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₁H₂₅N₃O₆ [M+Na]⁺ 438.16356, found 438.16398.

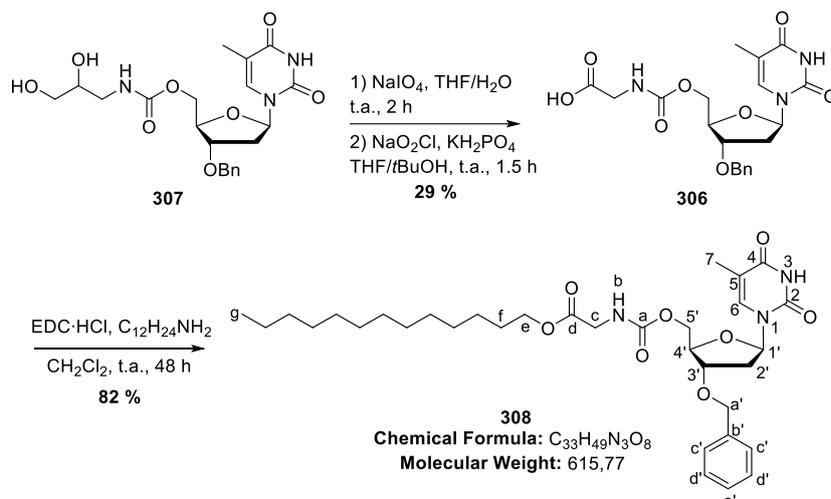
Compound 307



Chemical Formula: C₂₁H₂₇N₃O₈
Molecular Weight: 449,46

Acetic acid (330 μL, 5.75 mmol, 3 eq), NMO (50 w% in H₂O, 795 μL, 3.84 mmol, 2 eq) and OsO₄ (2.5 w% in *t*-BuOH, 624 μL, 0.05 mmol, 2.5 mol%) were successively added dropwise to a stirred solution of compound 305 in THF/H₂O (0.3 M, 2:1). The reaction mixture was stirred at room temperature during 7.5 h before being quenched with a saturated solution of NaHSO₃. The mixture was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product which was purified by flash chromatography over silica gel (MeOH/CH₂Cl₂ 8/92 to 10/90) to afford the expected compound 307 as a white foam (339 mg, 0.75 mmol, 39 %).

R_f = 0.35 (MeOH/CH₂Cl₂ 8/92) ; IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹) 3332, 3064, 3037, 2932, 1682, 1534, 1496, 1470, 1456, 1437, 1408, 1365, 1324, 1271, 1204, 1153, 1082, 1046, 963, 904, 856, 739, 696, 665, 603, 558, 489, 464, 415 ; ¹H-NMR (300 MHz, MeOD₄) δ (ppm) 7.47 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 7.37-7.21 (m, 5H, H_{aromatic}), 6.23 (dd, *J* = 5.4, 8.4 Hz, 1H, H₁'), 4.54 (AB system, *J* = 12.0 Hz, 2H, H_a'), 4.32-4.20 (m, 3H, H₃'/H₄'/H₅'), 3.73-3.59 (m, 1H, H_d), 3.54-3.38 (m, 2H, H_e), 3.34-3.20 (m, 2H, H_c), 3.18-3.02 (m, 1H, H_b), 2.41 (ddd, *J* = 1.8, 5.7, 13.8 Hz, 1H, H₂'_a), 2.24-2.11 (m, 1H, H₂'_b), 1.86 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, H₇) ; ¹³C-NMR (75.5 MHz, MeOD₄) δ (ppm) 166.3 (C₄), 158.7 (C_a), 152.3 (C₂), 139.2 (C_b'), 137.3 (C₆), 129.5 (C_d'), 128.9 (C_e'), 128.9 (C_c'), 111.9 (C₅), 86.7 (C₁'), 84.1 (C₄'), 80.5 (C₃'), 72.3 (C_a'), 72.2 (C_d), 65.9 (C₅'), 65.0 (C_e), 44.8 (C_c), 37.9 (C₂'), 12.6 (C₇) ; HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₁H₂₇N₃O₈ [M+Na]⁺ 472.16904, found 472.16971.

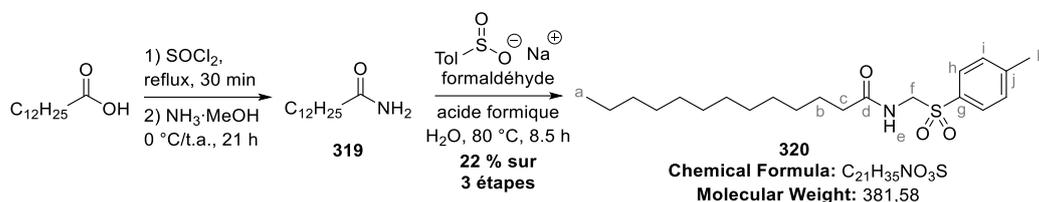
Compound **308**

NaIO₄ (579 mg, 2.71 mmol, 3 eq) was added to a stirred solution of compound **307** (405 mg, 0.90 mmol, 1 eq) in THF/H₂O (0.1 M, 6:5). The reaction mixture was stirred at room temperature during 2 h before being concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in THF/*t*-BuOH (0.1 M, 1:3). NaO₂Cl (816 mg, 9.02 mmol, 10 eq) and KH₂PO₄ (1.23 g, 9.02 mmol, 10 eq) were successively added to the reaction mixture. H₂O (0.86 M/10 eq) was added to the suspension which became yellow. After 1.5 h at room temperature, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure to afford an aqueous layer. Aqueous layer was extracted 3 times with EtOAc. Combined organic layers were washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product which was approximately purified by flash chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH/H₂O 70/15/2 to 70/20/2) to afford the expected compound **306** as a white gum (112 mg, 0.26 mmol, **29 %**).

Acid **306** (110 mg, 0.25 mmol, 1.5 eq), DMAP (12 mg, 0.10 mmol, 0.6 eq) and EDC·HCl (49 mg, 0.25 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of tridecanol (34 mg, 0.17 mmol, 1 eq) in CH₂Cl₂ (0.1 g/mL, 0.3 mL). The mixture was stirred at room temperature during 24 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 60/40) to afford ester **308** as a colorless gum (86 mg, 0.14 mmol, **82 %**)

R_f = 0.46 (Acetone/Toluene 40/60) ; **IR (ATR) ν_{max} (cm⁻¹)** 3319, 3196, 3065, 3036, 2924, 2854, 1688, 1529, 1466, 1457, 1402, 1364, 1274, 1197, 1088, 1053, 962, 909, 777, 733, 698, 667, 604, 559, 518, 490, 419 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.37 (s, 1H, NH-3), 7.50-5.22 (m, 6H, H₆/H_{aromatic}), 6.24 (dd, *J* = 5.7, 7.8 Hz, 1H, H_{1'}), 5.57 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, H_b), 4.50 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.42-3.92 (m, 8H, H_{3'}/H_{4'}/H_{5'}/H_c/H_e), 2.49 (ddd, *J* = 2.7, 6.0, 13.8 Hz, 1H, H_{2'a}), 2.12-1.97 (m, 1H, H_{2'b}), 1.90 (appearing s, 3H, H₇), 1.78-1.56 (m, 2H, H_f), 1.53-1.16 (m, 20H, H_{aliphatics}), 0.96-0.79 (m, 3H, H_g) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 170.2 (C_d), 164.0 (C₄), 156.0 (C_a), 150.4 (C₂), 137.4 (C_{b'}), 135.4 (C₆), 128.6 (C_{d'}), 128.1 (C_{e'}), 127.8 (C_{e'}), 111.2 (C₅), 85.6 (C_{1'}), 82.6 (C_{4'}), 78.6 (C_{3'}), 71.7 (C_{a'}), 66.0 (C_{5'}), 65.0 (C_e), 42.8 (C_c), 37.6 (C_{2'}), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.6 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.3 (C_{aliphatic}), 28.6 (C_f), 26.6

(C_{aliphatic}), 25.9 (C_{aliphatic}), 22.3 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_g), 12.6 (C₇) ; **HRMS (ESI)** : Calcd. for C₃₃H₄₉N₃O₈ [M+H]⁺ 616.35924, found 616.36026.

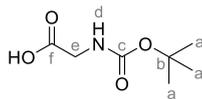
Compound **320**

Tridecanoic acid (2.00 g, 9.33 mmol, 1 eq) was charged in a dried flask followed by SOCl₂ (11.40 mL, 155.80 mmol, 16.7 eq). The solution was stirred at reflux during 30 min before being allowed to cool down to rt. The mixture was concentrated under reduced pressure to afford acyl chloride which was directly engaged at 0 °C with a solution of NH₃ in MeOH (11.4 mL, 7.0 M). The white suspension was stirred at room temperature during 21h before being filtered and washed with water. The residue was dissolved in CH₂Cl₂, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford amide **319** as a white solid without further purification (1.87 g). Data were consistent with literature.³⁵⁷

Sodium paratoluene sulfinate (497 mg, 2.79 mmol, 1 eq) and formaldehyde (0.228 mL, 3.07 mmol, 37 w% in water, 1.1 eq) were added to a stirred suspension of amide **319** (595 mg, 2.79 mmol, 1 eq) in water (1.0 M, 2.79 mL). Formic acid was added (0.70 ml) to the suspension. The reaction was stirred at 80 °C during 8.5 h. Mixture was allowed to be cooled down to 0 °C before being filtered and washed with water. The residue was dissolved in CH₂Cl₂. Organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 30/70) to afford compound **320** as a white solid (190 mg, 0.50 mmol, **22 % over 3 steps**).

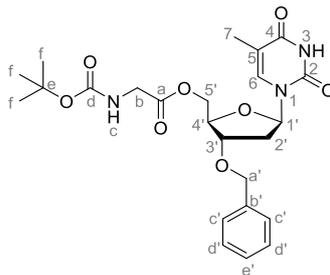
Mp : 99-100 °C ; **R_f** = 0.47 (EtOAc/P 30/70) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3353, 2915, 2851, 1678, 1598, 1518, 1468, 1393, 1319, 1288, 1260, 1209, 1191, 1138, 1080, 993, 858, 812, 746, 722, 703, 629, 575, 527, 511, 484, 460, 436, 403 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 7.82-7.72 (m, 2H, H_h), 7.36-7.28 (m, 2H, H_i), 6.93 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H_e), 4.75-4.67 (m, 2H, H_f), 2.41 (s, 3H, H_k), 2.09 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, H_c), 1.49-1.35 (m, 2H, H_b), 1.33-1.06 (m, 18H, H_{aliphatic}), 0.91-0.80 (m, 3H, H_a) ; **¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 172.8 (C_d), 145.4 (C_j), 139.9 (C_g), 129.9 (C_i), 128.9 (C_h), 60.4 (C_f), 36.1 (C_c), 32.0 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.7 (C_{aliphatic}), 29.5 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 29.4 (C_{aliphatic}), 25.4 (C_b), 22.7 (C_{aliphatic}), 14.2 (C_h) ; **HRMS (ESI)** : Calcd for C₂₁H₃₅NO₃S [M+H]⁺, 382.24104, found 382.24100.

³⁵⁷ Louw, S.; Burger, B.V.; Le Roux, M.; Van Wyk, J.H. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1364-1369.

Compound **325**

Chemical Formula: C₇H₁₃NO₄
Molecular Weight: 175,18

A solution of Boc₂O (4.36 g, 20.0 mmol, 1.5 eq) in *1,4*-dioxane (0.84 M, 23.2 mL) was added dropwise to a stirred solution of glycine (1.00 g, 13.3 mmol, 1 eq) in *1,4*-dioxane/H₂O (0.14 M, 1:1, 47.6:47.6 mL) with NaOH (800 mg, 20.0 mmol, 1.5 eq). The reaction mixture was stirred at room temperature overnight before being concentrated under reduced pressure to afford aqueous solution. This solution was extracted 3 times with Et₂O. Combined organic layers were washed with a saturated solution of NaHCO₃. Aqueous layers were concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in water and the solution was acidified with a solution of HCl (6N). Acid solution was extracted 3 times with AcOEt. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was precipitated in pentane to afford compound **325** as a white solid (2.26 g, 12.9 mmol, **97 %**). Data were consistent with littérature.³⁵⁸

Compound **326**

Chemical Formula: C₂₄H₃₁N₃O₈
Molecular Weight: 489,53

Acid **325** (158 mg, 0.90 mmol, 1.5 eq), DMAP (44 mg, 0.36 mmol, 0.6 eq) and EDC•HCl (173 mg, 0.90 mmol, 1.5 eq) were successively added to a stirred solution of alcohol **111** (200 mg, 0.60 mmol, 1 eq) in DCM (0.1 g/mL, 2.0 mL). The mixture was stirred at room temperature during 15 h. The reaction mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and CH₂Cl₂ was added. The aqueous layer was extracted 3 times with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over Na₂SO₄ and filtered. Concentration under reduced pressure afforded the crude product. The crude product was purified by flash chromatography over silica gel (EtOAc/P 60/40) to afford ester **326** as a white foam (277 mg, 0.57 mmol, **94 %**)

R_f = 0.40 (EtOAc/P 60/40) ; **IR (ATR)** ν_{\max} (cm⁻¹) 3356, 3188, 3062, 3036, 2978, 2931, 1754, 1684, 1514, 1502, 1467, 1455, 1391, 1366, 1325, 1274, 1253, 1196, 1161, 1086, 1053, 958, 907, 861, 783, 736, 699, 603, 558, 488, 414 ; **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm)** 9.87 (s, 1H, NH-3), 7.37-7.23 (m, 5H, H_{aromatic}), 7.21 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₆), 6.22 (appearing t, *J* = 6.9 Hz, 1H, H_{1'}), 4.50 (AB system, *J* = 11.7 Hz, 2H, H_{a'}), 4.35 (dd, *J* = 4.8, 12 Hz, 1H, H_{5'a}), 4.29 (dd, *J* = 4.8, 12 Hz, 1H, H_{5'b}),

³⁵⁸ Brough, P.; Klumpp, C.; Bianco, A.; Campidelli, S.; M. Prato *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2014-2020.

4.25-4.18 (m, 1H, H_{4'}), 4.16-4.06 (m, 1H, H_{3'}), 3.93 (dd, $J = 6.0, 18$ Hz, 1H, H_{b1}), 3.85 (dd, $J = 6.0, 18.3$ Hz, 1H, H_{b2}), 2.41 (ddd, $J = 3.0, 6.3, 13.8$ Hz, 1H, H_{2'a}), 2.18-2.02 (m, 1H, H_{2'b}), 1.89 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H, H₇) ; ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.2 (C_a), 164.1 (C₄), 155.8 (C_d), 150.5 (C₂), 137.2 (C_{b'}), 135.4 (C₆), 128.5 (C_{d'}), 128.0 (C_{e'}), 127.7 (C_{c'}), 111.2 (C₅), 85.5 (C_{1'}), 82.0 (C_{4'}), 80.2 (C_e), 78.3 (C_{3'}), 71.7 (C_{a'}), 64.5 (C_{5'}), 42.4 (C_b), 37.3 (C_{2'}), 28.3 (C_e), 12.6 (C₇) ; HRMS (ESI) : Calcd. for C₂₄H₃₁N₃O₈ [M+H]⁺ 490.21839, found 490.21891.

Oleogel formation

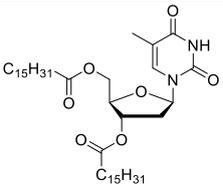
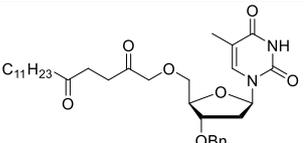
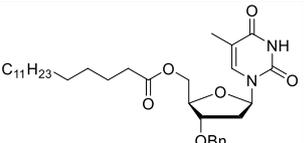
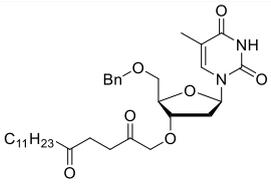
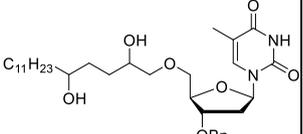
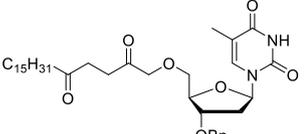
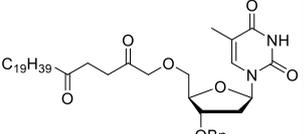
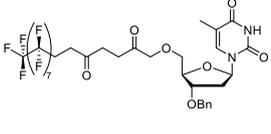
Miglyol 812N[®] and refined soybean oil were kindly provided by IOI Oleo GmbH (Hambourg, Germany) and Société Industrielle des Oléagineux (Saint-Laurent-Blangy, France) respectively.

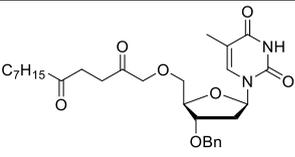
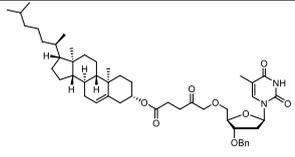
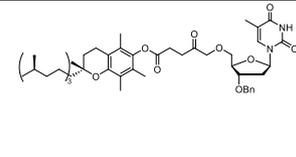
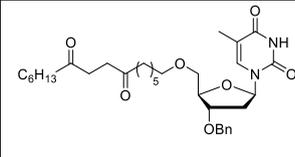
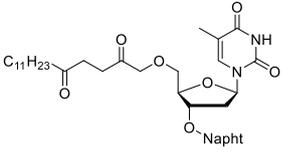
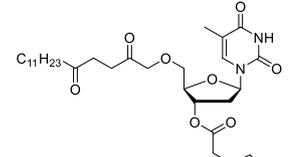
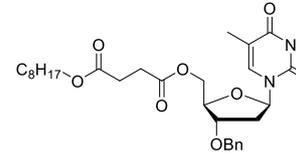
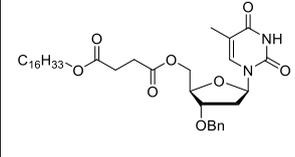
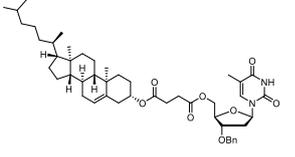
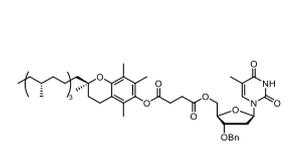
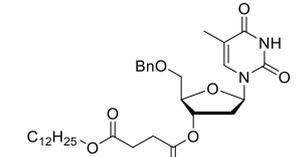
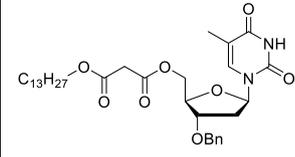
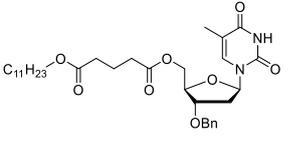
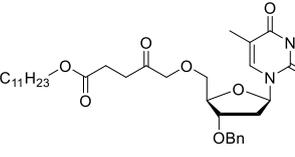
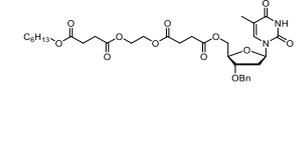
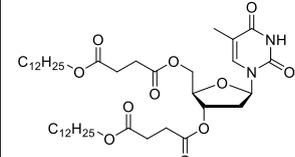
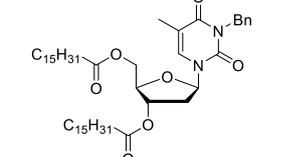
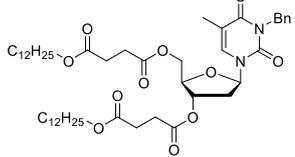
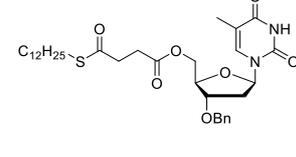
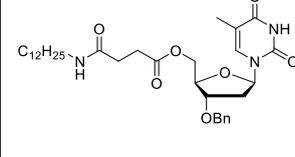
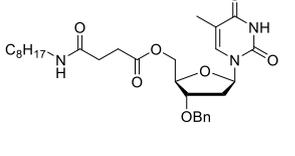
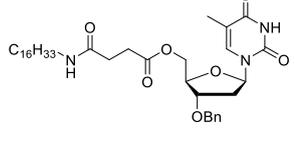
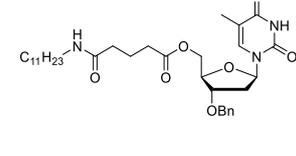
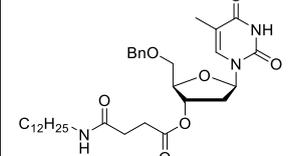
THX : Compounds were dissolved in Miglyol 812N[®] to obtain gel concentrations. Then, mixtures were heated at 70 °C for 20 minutes at 800 rpm until complete dissolution (Thermomixer compact, Eppendorf, Hauppauge, NY, USA). Finally, samples were allowed to cool down to room temperature and gel formation was evaluated using the upside-down test.

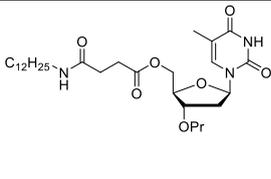
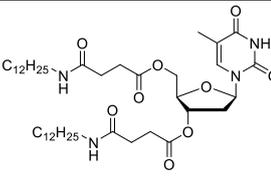
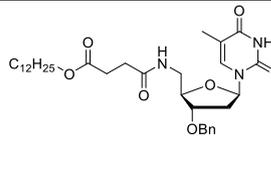
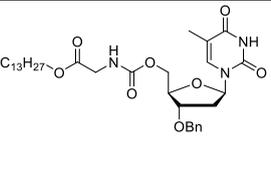
BUS : Compounds were dissolved in Miglyol 812N[®] to obtain gel concentrations. Then, mixtures were heated at 80 °C for 10 minutes at 37 kHz until complete dissolution. Finally, samples were allowed to cool down to room temperature and gel formation was evaluated using the upside-down test.

Critical gelation concentration (cmg or cgc) : The critical gelation concentration was quantitatively assessed by successively diluting NLs based oleogels in oil, heating and allowing them to rest at room temperature. The lowest concentration (in weight percent) of gelator required to allow the gelation by the tube-inverting method is defined as cmg.

Results synopsis : Solubility value are the limit.

			
81b : gel, cmg = 16 % m/m	115 : gel, cmg = 4 % m/m	124 : soluble à 5 % m/m	128 : huile
			
178 : huile	199 : soluble à 1 % m/m	200 : soluble à 2 % m/m	201 : soluble à 1 % m/m

			
202 : soluble à 1 % m/m	203 : gomme	204 : soluble à 4 % m/m	207 : soluble à 10 % m/m
			
212 : insoluble	231 : soluble à 2 % m/m	262 : soluble à 50 % m/m	263 : soluble à 1 % m/m
			
264 : gel, cmg = 4 % m/m	265 : soluble à 50 % m/m	267 : huile	269 : huile
			
271 : soluble à 50 % m/m	277 : gomme	282 : huile	284 : gel partiel à 13 % m/m
			
286 : soluble à 50 % m/m	287 : huile	288 : huile	289 : gel, cmg = 1,5 % m/m
			
290 : gel, cmg = 3 % m/m	291 : gel instable, cmg = 2 % m/m	292 : gel, cmg = 2 % m/m	293 : soluble à 2 % m/m

			
298 : gel, cmg = 2 % m/m	299 : gel instable, cmg = 2 % m/m	304 : soluble à 1 % m/m	308 : huile

Rheological study

Measurements were performed on a Kinexus R Pro+ rheometer (Malvern Instruments Ltd., Orsay, France) using an upper steel cone-plate geometry (angle : 1°, diameter : 20 mm, gap : 0.03 mm). Samples were studied at 25 °C ± 0.01 °C by a Peltier control system on the lower geometry, unless otherwise indicated. Samples were placed on the lower geometry as a gel and a period of rest of 30 minutes was applied before starting experiments. All measurements were carried out within the linear viscoelastic regime (LVER) determined through an amplitude strain sweep experiment (shear strain : 0.006 (15 %, frequency : 1.9 Hz). Elastic G' and viscous G'' moduli were evaluated by performing a frequency sweep experiment from 0.1 to 10 Hz at a shear strain of 0.01 % (independence of moduli with the applied strain). Thixotropic behavior was measured by a step-strain measurement composed of three steps repeated twice : 1) shear strain of 0.01 % for 5 minutes (within the LVER), 2) shear strain of 15 % for 2 minutes (outside of the LVER), 3) shear strain of 0.01 % until stabilization (within the LVER). Sol-Gel transitions were evaluated by heating the sample from 25 to 75 °C at a fixed pressure of 1 Pa. At least three replicates were measured for each sample.

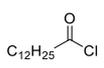
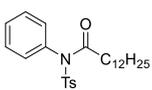
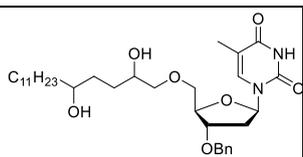
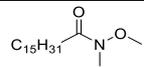
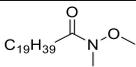
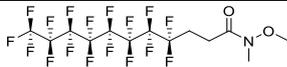
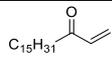
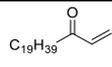
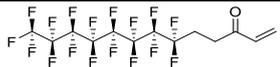
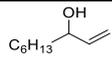
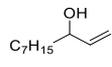
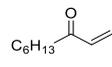
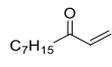
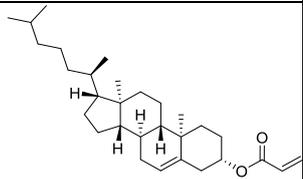
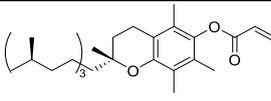
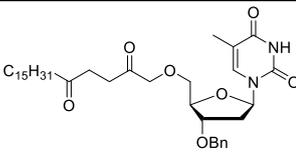
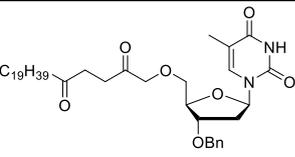
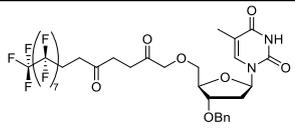
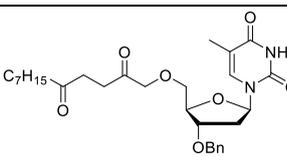
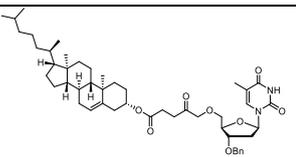
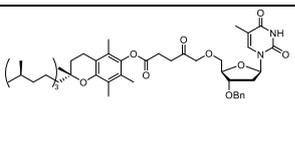
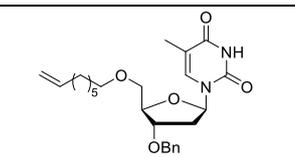
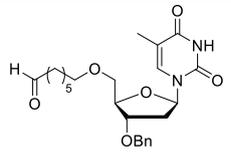
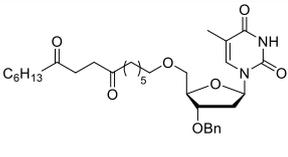
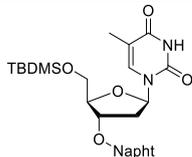
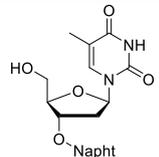
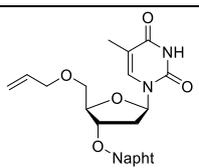
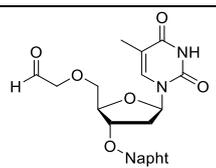
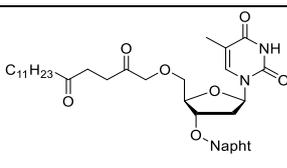
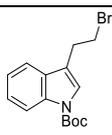
Optic and electronic microscopy

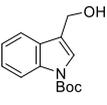
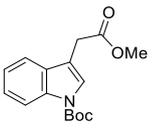
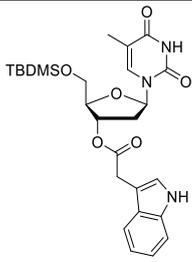
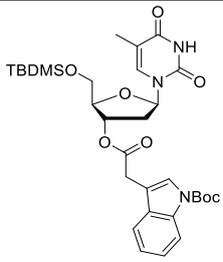
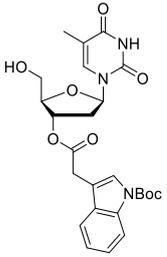
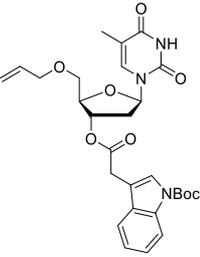
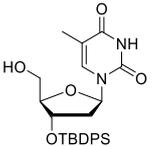
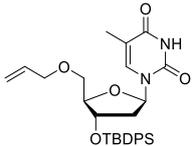
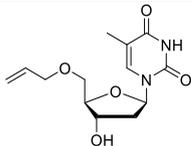
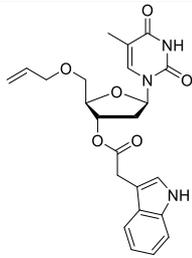
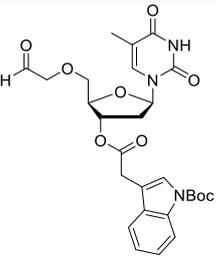
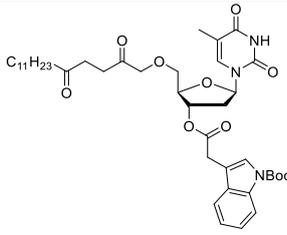
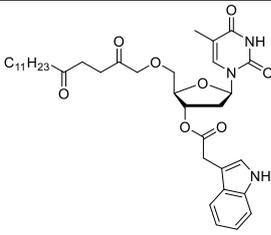
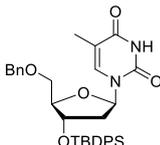
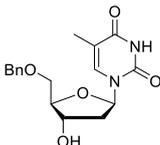
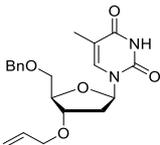
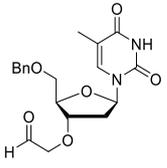
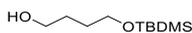
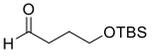
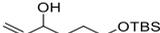
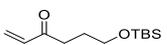
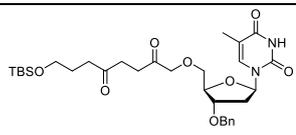
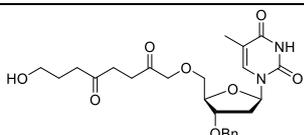
Optical microscopy was performed using a Zeiss Axiovert 200 inverted light microscope linked to an AxioCam MRm camera. Samples were observed between slide and slip cover without any staining. Transmission Electron Microscopy (TEM) was performed using a Hitachi H7650 linked to a orius SC1000 11MPx (GATAN) camera. Samples were transferred to a carbon-coated copper grid without negative staining.

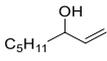
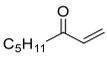
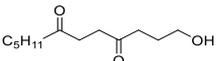
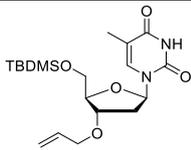
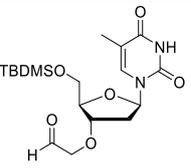
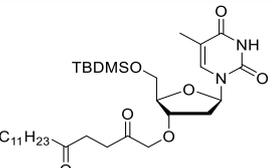
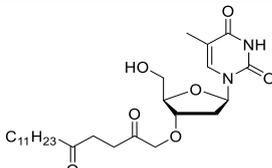
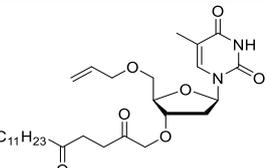
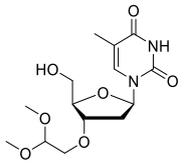
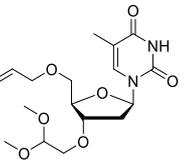
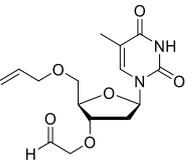
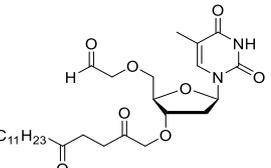
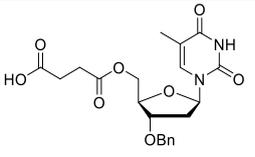
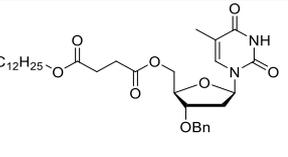
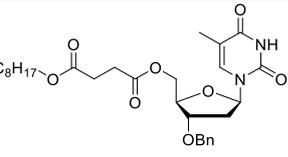
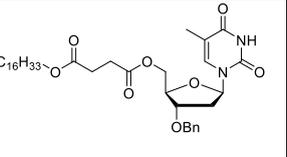
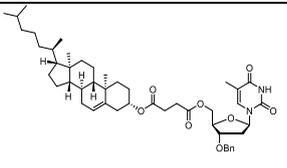
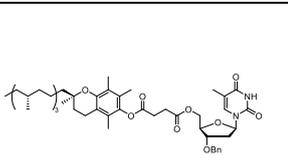
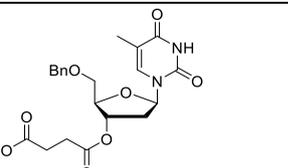
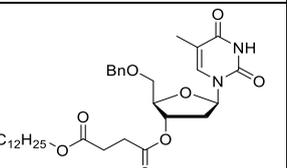
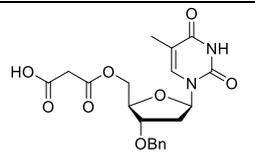
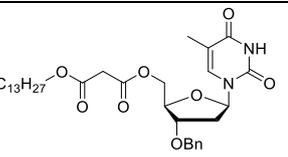
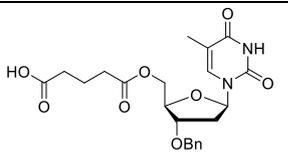
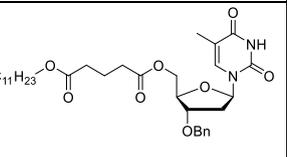
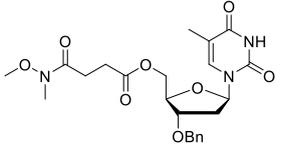
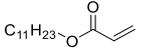
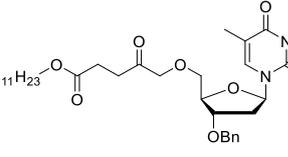
ANNEXE

Tableau récapitulatif des molécules synthétisées avec leurs **numéros** (la première page à laquelle elles apparaissent / page dans la partie expérimentale).

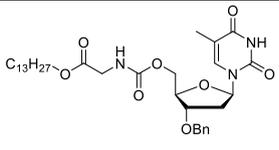
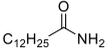
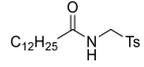
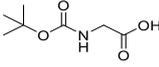
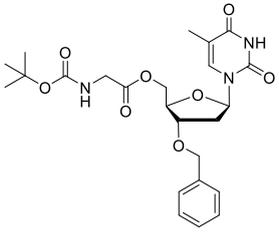
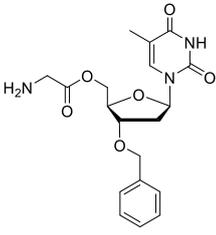
81b (116/249)	109 (129/250)	110 (129/250)	111 (129/251)
112 (129/252)	113 (129/252)	115 (129/253)	116 (129/254)
117 (129/254)	118 (131)	119 (131/255)	120 (131/255)
121 (132/256)	122 (132/256)	124 (145/256)	128 (145/293)
142 (150/257)	143 (150/257)	144 (150/258)	145 (150/258)
147 (153/259)	155 (152/259)	156a/156b (152)	159 (154/260)
160 (154/261)	161 (154/261)	165 (155/262)	170 (156/263)

			
171 (156/263)	172 (156/263)	176 (158/264)	178 (158/264)
			
182 (160/265)	183 (160/265)	184 (160/266)	185 (160/265)
			
186 (160/265)	187 (160/266)	191 (161/267)	193 (161/267)
			
194 (161/267)	195 (161/268)	196 (161/268)	197 (162/269)
			
198 (162/269)	199 (164/270)	200 (164/271)	201 (164/272)
			
202 (164/272)	203 (164/273)	204 (164/274)	205 (165/275)
			
206 (165/276)	207 (165/276)	208 (170/277)	209 (170/278)
			
210 (170/279)	211 (170/279)	212 (170/280)	213 (172/281)

			
217 (173/281)	219 (173/282)	221 (174/283)	222 (174/283)
			
223 (174/284)	224 (174/287)	225 (175/285)	226 (175/285)
			
227 (175/286)	228 (175/287)	229 (175/288)	230 (175/289)
			
231 (175/290)	232 (176/290)	233 (176/291)	234 (176/292)
			
235 (176/293)	236 (179/294)	237 (179/294)	238 (179/295)
			
239 (179/295)	240 (180/296)	241 (180/297)	243 (180/297)

			
244 (180/297)	245 (180/298)	246 (181/299)	249 (183/299)
			
250 (183/300)	251 (183/300)	252 (183/301)	253 (183/304)
			
254 (184/302)	255 (184/302)	256 (184/303)	257 (184/304)
			
260 (192/305)	261 (192/305)	262 (196/306)	263 (196/307)
			
264 (196/308)	265 (196/309)	266 (197/310)	267 (197/310)
			
268 (198/310)	269 (198/310)	270 (198/311)	271 (201/311)
			
272 (201/312)	273 (202/312)	277 (201/313)	278 (203/314)

279 (203/314)	280 (203/315)	281 (203/316)	282 (203/316)
283 (204/317)	284 (204/317)	285 (207/318)	286 (207/318)
287 (207/319)	288 (210/320)	289 (210/321)	290 (214/322)
291 (214/323)	292 (214/324)	293 (217/325)	294 (219)
295 (219/326)	296 (219/326)	297 (219/327)	298 (219/327)
299 (221/328)	301 (224/330)	302 (225/329)	303 (226/330)
304 (226/330)	305 (227/331)	306 (227/333)	307 (228/332)

 308 (228/333)	 319 (230/334)	 320 (230/334)	 325 (232/335)
 326 (232/335)	 327 (232)		

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ (a) Despretz, C.-M. *Ann. d. Chim. e. d. Phys.* **1822**, *21*, 428 ; (b) Riche, A. *Ann. d. Chim. e. d. Phys.* **1855**, *43*, 283-304.
- ² (a) Guthrie, F.G. *Quart. J. Chem. Soc.* **1860**, *13*, 129-135 ; (b) Niemann, A. *Ann. d. Chem. U. Pharm.* **1860**, *113*, 288-292.
- ³ Meyer, V. *Chem. Ber.* **1886**, *19*, 3259-3265.
- ⁴ Clarke, H.T. *J. Chem. Soc.* **1912**, *101*, 1583-1590.
- ⁵ (a) Steinkoff, W.; Herold, J.; Stohr, J. *Chem. Ber.* **1920**, *53*, 1007-1012 ; (b) Ludin, S.J. *Oxford University Press*, **1991**, 4.
- ⁶ Vaughn, W.E.; Rust, F.F. *J. Org. Chem.* **1942**, *7*, 472-476.
- ⁷ (a) Ward, K.Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 914-916 ; (b) Sartori, M.F. *Chem. Rev.* **1951**, *48*, 225-257.
- ⁸ Ministerial report No. 1, Exhibit CD, Oil Division, **1947**.
- ⁹ (a) Jacobson, L.O.; Spurr, C.; Barron, E.S.G.; Smith, T. Lushbaugh, C.; Dick, G.F. *J. Am. Med. Ass.* **1946**, *132*, 263-271 ; (b) Gilman, A. *Am. J. Surg.* **1963**, *105*, 574-578 ; (c) Goodman, L.S.; Wintrobe, M.M.; Dameshek, W.; Goodman, M.J.; Gilman, A.; McLennan, M.T. *J. Am. Med. Ass.* **1946**, *132*, 126-132 ; (d) Rhoads, C.P. *J. Am. Med. Ass.* **1946**, *131*, 656-658.
- ¹⁰ Amjad, M.T.; Chidharla, A.; Kasi, A. *Cancer Chemotherapy. StatPearls*, **2022**.
- ¹¹ Lewis, W.L.; Stiegler, H.W. *Am. Chem. Soc.* **1925**, *47*, 2546-2555.
- ¹² Prandtl, W.; Sennewald, K. *Ber.* **1929**, *62B*, 1754-1768.
- ¹³ Joffe, M.H.; Barry, M.C.; Marzulli, F.N. Army Chemical Center, Md, *Medical Research Report*, **1954**, 288.
- ¹⁴ Prentiss, A.M. McGraw-Hill Book Company Inc. **1937**, 177.
- ¹⁵ Blewett, W.K.; Aberdeen ProvingGround, Md : Physical Protection Directorate, **1992**.
- ¹⁶ Haldane, J.B.S.; Callinicus, A. Defence of chemical warfare, **1925**.
- ¹⁷ Somani, S.M.; Babu, S.R. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **1989**, *27*, 419-435.
- ¹⁸ Balali-Mood, M.; Farhoodi, M.; Panjvani, F.K. *Proceedings of the 2nd World Congress on New Compounds in Biological and Chemical Warfare*, **1993**, Abstract.
- ¹⁹ Balfour, S. *Oxford University Press*, **2002**.
- ²⁰ Balali-Mood, M.; Hefazi, M. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2005**, *19*, 297-315.
- ²¹ Barker, A.J. *Ballantine Books* **1971**.
- ²² (a) Alexander, S.F. *Military Surg.* **1947**, *101*, 1-17 ; (b) Infield, G. *Disaster at Bari* **1988**.
- ²³ Carus, W.S. *The Washington Insistute for Near East Policy* **1988**.
- ²⁴ Chemical Weapons Convention, Convention on the prohibition of the development, production, stockpiling and use of chemical weapons and on their destruction **1993**.
- ²⁵ Smith, K.J.; Skelton, H. *Skinmed.* **2003**, *2*, 215-221.
- ²⁶ (a) Wessely, S.; Hyams, K.G. *BMJ* **2001**, *323*, 878-879 ; (b) Tu, A.T.; *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **2000**, *745*, 304-307.
- ²⁷ Kilic, E.; Ortatatli, M.; Sezigen, S.; Eyison, R.K.; Kenar, L. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2018**, *37*, 332-337.
- ²⁸ *CBS*, **2016**, <https://www.cbsnews.com/news/cia-director-john-brennan-60-minutes-scott-pelley/>.

- ²⁹ Sezigen, S.; Ivelik, K.; Ortatali, M.; Almacioglu, M.; Demirkasimoglu, M.; Eyison, R.K.; Kunak, Z.I.; Kenar, L. *Toxicol. Lett.* **2019**, *303*, 9-15.
- ³⁰ Sezigen, S.; Kenar, L. *Toxicol. Lett.* **2020**, *320*, 52-57.
- ³¹ (a) MEDEA. Ocean dumping of chemical munitions: environmental effects in arctic seas. McLean, VA: MEDEA, **1997** ; (b) Kurata, H. Lessons learned from the destruction of the chemical weapons of the Japanese Imperial Forces. In: Stockholm International Peace Research Institute, editor. Chemical weapons: destruction and conversion. London: Taylor & Francis; **1980**, 77-93 ; (c) Alcaro, L.; Della Torre, C.; Petochi, T. ; *et al. Marine Technol Soc. J.* **2012**, *46*, 10-20 ; (d) Plunkett G. Chemical warfare agent sea dumping off Australia. Canberra, Australia: Defense Publishing Service, Australia Department of Defense; **2003**.
- ³² Chemical Munitions Dump Sites in Coastal Environments. Brussels, Belgium: Belgium Ministry of Social Affairs, Public Health and the Environment, **2002**.
- ³³ Greenberg, M.I.; Sexton, K.J.; Vearrier, D. *Clin. Toxicol.* **2016**, *54*, 79-91.
- ³⁴ Czub, M.; Nawala, J.; Popiel, S.; Dziedzic, P.; Brzezinski, T.; Masczyk, P.; Sanderson, H.; Fabisiak, J.; Bełdowski, J.; Kotwicki, L. *Mar. Environ. Res.* **2020**, *161*, 1-10.
- ³⁵ (a) *Memo 4.3A-6*, Spreading of viscous gas, **2008** ; (b) Hemström, P.; Holmgren, K.H.; Hammarström, B.E.; Larsson, A.; Östin, A. *Mar. Environ. Res.* **2020**, *162*, 1-9.
- ³⁶ Sanderson, H.; Fauser, P.; Thomsen, M.; Sørensen, P.B. *J. Haz. Mat.* **2009**, *162*, 416-422.
- ³⁷ (a) Dacre, J.; Goldman, M. *Pharmacol. Rev.* **1996**, *48*, 289-326 ; (b) Munro, N *Environ Health Perspect.* **1999**, *107*, 933-974.
- ³⁸ Hellstrom, T.OM. Long-time behavior of mustard gas dumped in the Bornholm Basin, Department of Earth Sciences, University of Gothenburg, **2013**.
- ³⁹ Report of the Secretary General. Cooperative measures to assess and increase awareness of environmental effects related to waste originating from chemical munitions dumped at sea. United Nations General Assembly; **2013**.
- ⁴⁰ Missiaen, T.; Soderstrom, M.; Popescu, I. *et al. Sci. Total Environ.* **2010**, *408*, 3536-3553.
- ⁴¹ (a) Amato, E.; Alcaro, L.; Corsi, I.; Torre, C.D.; Farchi, C.; Focardi, S.; Marino, G.; Tursi, A. *Mar. Biol.* **2006**, *149*, 17-23.
- ⁴² Medvedeva, N.; Polyak, Y.; Kankaanpaa, H. *et al. Mar. Environ. Res.* **2009**, *68*, 71-81.
- ⁴³ (a) Steinritz, D.; Striepling, E.; Rudolf, K-D.; Schröder-Kraft, C.; Püschel, K.; Hullard-Pulstinger, A.; Koller, M.; Thiermann, H.; Gandor, F.; Gawlik, M.; John, H. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 112-120 ; (b) Schmidt, A.; Steinritz, D.; Rudolf, K-D.; Thiermann, H.; Striepling, E. *Toxicol. Lett.* **2018**, *293*, 62-66.
- ⁴⁴ Mérat, S.; Perez, J.P.; Rüttimann, M.; Bordier, E.; Lienhard, A.; Lenoir, B.; Pats, B. *Ann. Fr. Anesthésie et de Réanimation* **2003**, *22*, 108-118.
- ⁴⁵ Vedder, E.B. *Ind. Eng. Chem.* **1925**, *17*, 326-327.
- ⁴⁶ (a) Solberg, Y.; Alcalay, M.; Belkin, M. *Surv. Ophthalmol.* 1997, *41*, 461-466 ; (b) Safarinejad, M.R.; Moosavi, S.A.; Montazeri, B. *Mil. Med.* **2001**, *166*, 67-70 ; (c) Javadi, M.A.; Jafarinesab, M.R.; Feizi, S.; Karimian, F.; Negahban, K. *Ophthalmology* **2007**, *118*, 1272-1281 ; (d) Ghasemi, H.; Ghazanfari, T.; Ghassemi-Broumand, M.; Javadi, M.A.; Babaei, M.; Soroush, M.R.; Yarae, R.; Faghihzadeh, S.; Poorfarzam, S.; Owlia, P.; Naghizadeh, M.M.; Etehad-Razavi, M.; Jadidi, K.; Naderi, M.; Hassan, Z.M. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2009**, *28*, 71-77.
- ⁴⁷ (a) Papirmeister, B.; Feister, A.J.; Robinson, S.L.; *et al.* Boca Raton : CRC Press, 1991, 359. ; (b) Borak, J.; Sidell, F. *Ann. Emerg. Med.* **1992**, *21*, 303-308 ; (c) Kehe, K.; Scinicz, L. *Toxicol.* **2005**, *214*, 198-209.

- ⁴⁸ Wattana, M.; Bey, T. *Prehospital Disast. Med.* **2009**, *24*, 19-29.
- ⁴⁹ Etezzad-Razavi, M.; Mahmoudi, M.; Hefazi, M.; Balali-Mood, M. *Clin. Exp. Ophthalmol.* **2006**, *34*, 343-346.
- ⁵⁰ Poursaleh, Z.; Ghanei, M.; Babamahmoodi, F.; Izadi, M.; Harandi, A.A.; Emadi, S.E.; Taghavi, N-o-S.; Sayad-Nouri, S.S.; Emadi, S.N. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2012**, *31*, 241-249.
- ⁵¹ (a) Smith, K.J.; Hurst, C.G.; Moeller, R.B.; Skelton, H.G.; Sidell, F.R. *J. Am. Acad. Dermatol.* **1995**, *32*, 765-776 ; (b) Wormser, U. *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 164-167.
- ⁵² (a) Balali-Mood, M.; Mousavi, S.; Balali-Mood, B. *Emerg. Health Threats J.* **2008**, *1*, 7068 ; (b) Balali-Mood, M.; Balali-Mood, B. *J. Med. Sci.* **2009**, *34*, 155-171.
- ⁵³ Sadeghi, S.; Tapak, M.; Ghazanfari, T.; Mosaffa, N. *Toxicol. Lett.* **2020**, *333*, 115-129.
- ⁵⁴ (a) Cullumbine, H. *Nature* **1947**, *159*, 151-153 ; (b) Chilcott, R.P.; Jenner, J.; Carrick, W.; Hotchkiss, S.A.M.; Rice, P. *J. Appl. Toxicol.* **2000**, *20*, 349-355 ; (c) Meng, W.Q.; Zhang, H.; Xiao, L.; Chen, X.T.; Sun, M.X.; Xu, Q.Q.; Cao, Y.B.; Xiao, K.; Li, Z.J. *Sens. Actuators B Chem.* **2019**, *296*.
- ⁵⁵ Etemad, L.; Moshiri, M.; Balali-Mood, M. *Cri. Rev. Toxicol.* **2019**, *49*, 191-214.
- ⁵⁶ Eisenmenger, W.; Drash, G.; von Clarmann, M.; Kretschmer, E.; Roeder, G. *J. Forensic. Sci.* **1991**, *36*, 1688-1698.
- ⁵⁷ Bodansky, O. *Science* **1945**, *102*, 517-523.
- ⁵⁸ Gros-Desormeaux, F.; Beracochea, D.; Dorandeu, F.; Pierard, C. *Toxicol. Lett.* **2018**, *293*, 73-76.
- ⁵⁹ Panahi, Y.; Ghanei, M.; Ghabili, K.; Ansarin, K.; Aslanabadi, S.; Poursaleh, Z.; Golzari, S.E.J.; Etemadi, J.; Khalili, M.; Shoja, M.M. *Urol. J.* **2013**, *10*, 837-846.
- ⁶⁰ Fuchs, A.; Giuliano, E.A.; Sinha, N.R.; Mohan, R.R. *Toxicol. Lett.* **2021**, *343*, 21-27.
- ⁶¹ Ghabili, K.; Agutter, P.S.; Ghanei, M.; Ansarin, K.; Shoja, M.M. *J. Appl. Toxicol.* **2010**, *30*, 627-643.
- ⁶² Firooz, A.; Sadr, B.; Davoudi, S.M.; Nassiri-Kashani, M.; Panahi, Y.; Dowlati, Y.; *Cuta. Ocul. Toxicol.* **2011**, *30*, 64-68 ; (b) Emadi, S.N.; Hosseini-Khalili, A.; Soroush, M.R.; Davoodi, S.M.; Aghamiri, S.S. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2008**, *69*, 574-576 ; (c) Emadi, S.N.; Kaffashi, M.; Poursaleh, Z.; Akhavan-Moghaddam, J.; Soroush, M.R.; Emadi, S.E.; Taghavi, N-o-S. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2011**, *30*, 170-174.
- ⁶³ Malaviya, R.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Lett.* **2020**, *319*, 168-174.
- ⁶⁴ Abolghasemi, H.; Radfar, M.H.; Rambod, M.; Salehi, P.; Ghofrani, H.; Soroush, M.R.; Khademolhosseini, S.M.; Kavehmanesh, Z.; Joffres, M.; Burkle Jr, F.M.; Mills, E.J. *Confl. Health* **2010**, *4*, 1-6.
- ⁶⁵ Gilman, A.; Philips, F.S. *Science* **1946**, *103*, 409-415.
- ⁶⁶ Lynch, V.; Smith, H.; Marshall, E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1918**, *12*, 265-290.
- ⁶⁷ Peters, R.A.; Walker, E. *Biochem. J.* **1923**, *17*, 260-276.
- ⁶⁸ Roberts, J.J.; Wawrick, G.P. *Biochem. Pharmacol.* **1963**, *12*, 1329-1334.
- ⁶⁹ Adapté de la thèse : Batal, M. Etude de la formation et de la réparation des dommages à l'ADN causés par l'ypérite chez l'animal Ph.D. thesis, université de Grenoble, 2013.
- ⁷⁰ Black, R.M. *J. Anal. Toxicol.* **2008**, *32*, 2-9.
- ⁷¹ Xu, H.; Nie, Z.; Zhang, Y.; Li, C.; Yue, L.; Yang, W.; Chen, J.; Dong, Y.; Liu, Q.; Lin, Y.; Wu, B.; Feng, J.; Li, H.; Guo, L.; Xie, J. *Toxicol. Reports* **2014**, *1*, 533-543.
- ⁷² Gros-Desormeaux, F.; Caffin, F.; Igert, A.; Guatto, N.; Piérard, C. *Toxicol. Lett.* **2022**, *361*, 21-28.
- ⁷³ Bartelt-Hunt, S.L.; Knappe, D.R.U.; Barlaz, M.A. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2008**, *38*, 112-136.

- ⁷⁴ Niut, T.; Matijasevic, Z.; Austin-Ritchie, P.; Sterling, A.; Ludlum, D.B. *Chemico-Biol. Interact.* **1996**, *100*, 77-84.
- ⁷⁵ Noll, D.M.; Mason, T.M.; Miller, P.S. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 277-301.
- ⁷⁶ Jowsey, P.A.; Williams, F.M.; Blain, P.G. *Toxicol. Lett.* **2012**, *209*, 1-10.
- ⁷⁷ Gates, K.S.; Nooner, T.; Dutta, S. *Chem. Res. Toxicol.* **2004**, *17*, 839-856.
- ⁷⁸ Batal, M.; Boudry, I.; Mouret, S.; Wartelle, J.; Emorine, S.; Bertoni, M.; Bérard, I.; Cléry-Barraud, C.; Douki, T. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2013**, *273*, 644-650.
- ⁷⁹ Batal, M.; Boudry, I.; Mouret, S.; Cléry-Barraud, C.; Wartelle, J.; Bézard, I.; Douki, T. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2014**, *278*, 39-44.
- ⁸⁰ Debiak, M.; Kehe, K.; Burkle, A. *Toxicol.* **2009**, *263*, 20-25.
- ⁸¹ Kehe, K.; Raithel, K.; Kreppel, H.; Jochum, M.; Worek, F.; Thiermann, H. *Arch. Toxicol.* **2008**, *82*, 461-470.
- ⁸² Byrne, M.P.; Broomfield, C.A. *J. Protein Chem.* **1996**, *15*, 131-136.
- ⁸³ (a) Rousselle, P.; Lunstrum, G.P.; Keene, D.R.; Burgeson, R.E. *J. Cell. Biol.* **1991**, *114*, 567-576 ; (b) Smith, K.J.; Graham, J.S.; Hamilton, T.A.; Skelton, H.G.; Petrali, J.P.; Hurst, C.G. *J. Dermatol. Sci.* **1997**, *15*, 173-182 ; (c) Smith, K.J.; Smith, W.J.; Hamilton, T.; Skelton, H.G.; Graham, J.S.; Okerberg, C.; Moeller, R.; Hackley, Jr.B.E. *Am. J. Dermatopathol.* **1998**, *20*, 22-28 ; (d) Greenberg, S.; Kamath, P.; Petrali, J.; Hamilton, T.; Garfield, J. ; Garlick, J.A. *Toxicol. Sci.* **2006**, *90*, 549-557.
- ⁸⁴ Meda, P. *Médecine/sciences* **1996**, *12*, 8-9.
- ⁸⁵ Wong, P.; Tan, T.; Chan, C.; Laxton, V.; Chan, Y.W.; Liu, T.; Wong, W.T.; Tse, G. *Front. Physiol.* **2016**, *7*, 596.
- ⁸⁶ Abel, E.L.; Bubel J.D.; Simper, M.S.; Powell, L.; McCellan, S.A.; Andreeff, M.; MacLeod, M.C.; DiGiovanni, J. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2011**, *255*, 176-183.
- ⁸⁷ Nobakht, B.F.; Aliannejad, R.; Rezaei-Tavirani, M.; Arefi Oskouie, A.; Naseri, M.T.; Parastar, H.; Aliakbarzadeh, G.; Fathi, F.; Taheri, S. *Biomarkers* **2016**, *21*, 479-489.
- ⁸⁸ Roser, M.; Béal, D.; Eldin, C.; Gudimard, L.; Caffin, F.; Gros-Desormeaux, F.; Léonço, D.; Junot, C.; Piérard, C.; Douki, T. *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, *413*, 1337-1351.
- ⁸⁹ Batal, M.; Rebelo-Moreira, S.; Hamon, N.; Bayle, P.-A.; Mouret, S.; Cléry-Barraud, C.; Boudry, I.; Douki, T. *Toxicol. Lett.* **2015**, *233*, 1-7.
- ⁹⁰ Potter, A.L. *Br. J. Ind. Med.* **1950**, *7*, 125-130.
- ⁹¹ Orrenius, S.; Nicotera, P. *Arch. Toxicol. Suppl.* **1987**, *11*, 11-19.
- ⁹² Nourani, M.R.; Hosseini, H.M.; Jamalkandi, S.A.; Fooladi, A.A.I. *J. Receptors Signal Transduction* **2017**, *37*, 200-216.
- ⁹³ Dayton, P.G.; Sicam, L.E.; Landrau, M.; Burns, J.J. *Pharmacol.* **1961**, *7*, 65-74.
- ⁹⁴ Sacca, R.; Cuff, C.A.; Ruddle, N.H. *Curr. Opin. Immunol.* **1997**, *9*, 851-857.
- ⁹⁵ Kehe, K.; Thiermann, H.; Balszuweit, F. *Toxicol.* **2009**, *263*, 3-8.
- ⁹⁶ Pohanka, M. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 742-748.
- ⁹⁷ Sunil, V.R.; Patel, K.J.; Mainelis, G.; Turpin, B.J.; Ridgely, S.; Laumbach, R.J.; Kipen, H.M.; Nazarenko, Y.; Velepparambil, M.; Gow, A.J.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2009**, *241*, 283-293.
- ⁹⁸ (a) Smith, R.E.; Strieter, R.M.; Phan, S.H.; Lukacs, N.; Kunkel, S.L. *J. Leukoc. Biol.* **1998**, *64*, 528-536 ; (b) Rainger, G.E.; Rowley, A.F.; Nash, G.B. *Blood*, **1998**, *92*, 4819-4827.
- ⁹⁹ Sunil, V.R.; Shen, J.; Patel-Vayas, K.; Gow, A.J.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2012**, *261*, 22-30.
- ¹⁰⁰ Gould, N.S.; White, C.W.; Day, B.J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *328*, 732-739.

- ¹⁰¹ Vilensky, J.A.; Redman, K. *Ann. Emerg. Med.* **2003**, *41*, 378-383.
- ¹⁰² Circulaire relative à la doctrine nationale d'emploi des moyens de secours et de soins face à une action terroriste mettant en œuvre des matières chimiques, n° 700/SGDSN/PSE/PSN **02/10/2018**.
- ¹⁰³ Noort, D.; Fidder, A.; Hulst, A.G.; de Jong, L.P.; Benschop, H.P. *J. Appl. Toxicol.* **2000**, *20*, 199-204.
- ¹⁰⁴ Hertzog-Ronen, C.; Borzin, E.; Gerchikov, Y.; Tessler, N.; Eichen, Y. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10380-10386.
- ¹⁰⁵ Yang, Y.-C.; Baker, J.A.; Ward, J.R. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1729-1743.
- ¹⁰⁶ Hirade, J.; Ninomiya, A. *J. Biochem.* **1950**, *37*, 19-34.
- ¹⁰⁷ Livingston, S.R.; Landry, C.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13214-13215.
- ¹⁰⁸ (a) Liu, Y.; Moon, S.-Y.; Hupp, J.T.; Farha, O.K. *ACS Nano* **2015**, *9*, 12358-12364 ; (b) Liu, Y.; Howarth, A.J.; Hupp, J.T.; Farha, O.K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 9001-9005.
- ¹⁰⁹ Smolkin, B.; Levi, N.; Karton-Lifshin, N.; Yehezkel, L.; Zafrani, Y.; Columbus, I. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 13949-13955.
- ¹¹⁰ Picard, B.; Gouilleux, B.; Lebleu, T.; Maddaluno, J.; Chataigner, I.; Penhoat, M.; Felpin, F.-X.; Giraudeau, P.; Legros, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 7568-7572.
- ¹¹¹ Delaune, A.; Mansour, S.; Picard, B.; Carrasqueira, P.; Chataigner, I.; Jean, L.; Renard, P.-Y.; Monbaliu, J.-C.M.; Legros, J. *Green Chem.* **2021**, *23*, 2925-2930.
- ¹¹² (a) Snider, V.G.; Alshehri, R.; Slaugenhaupt, R.M.; Hill, C.L. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 51519-51524 ; (b) Keisar, O.R.; Nahum, V.; Yehezkel, L.; Marcovitch, I.; Columbus, I.; Fridkin, G.; Chen, R. *ACS Omega* **2021**, *6*, 5359-5367.
- ¹¹³ Ginghina, R.-E.; Toader, G.; Purica, M.; Bratu, A.-E.; Lazaroaie, C.; Tiganescu, T.-V.; Oncioiu, R.-E.; Iorga, G.-O.; Zorila, F.L.; Constantin, M.; Craciun, G.; Comanescu, F.; Romanitan, C. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 1-28.
- ¹¹⁴ Li, Y.; Han, S.; Li, Z.; Liu, Z.; Liang, L.; Yan, K.; Zhu, A. *J. Hazard. Mater.* **2022**, *424*, 1-10.
- ¹¹⁵ Shohrati, M.; Davoudi, M.; Almasi, M.; Sadr, B.; Peyman, M. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **2007**, *26*, 303-309.
- ¹¹⁶ Panahi, Y.; Davoodi, S.M.; Kahlili, H.; Dashti-Khavidaki, S.; Bigdeli, M. *Singapore Med. J.* **2007**, *48*, 392-395.
- ¹¹⁷ Rice, P.; Brown, R.F.R.; Lam, D.G.K.; Chilcott, R.P.; Bennett, N.J. *Burns*, **2000**, *26*, 34-40.
- ¹¹⁸ Graham, J.S.; Stevenson, R.S.; Mitcheltree, L.W.; Hamilton, T.A.; Deckert, R.R.; Lee, R.B.; Schiavetta, A.M. *Toxicol.* **2009**, *263*, 47-58.
- ¹¹⁹ Boudana, D.A.; Wolber, A.; De Broucker, V.; Martinot-Duquennoy, V.; Pellerin, P. *Burns*, **2010**, *36*, e44-e48.
- ¹²⁰ Jenner, J.; Graham, S.J. *Chemico-Biol. Interact.* **2013**, *206*, 491-495.
- ¹²¹ Kim, Y.-B.; Hur, G.H.; Choi, D.S.; Shin, S.; Han, B.G.; Lee, Y.S.; Sok, D.E. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *313*, 107-114.
- ¹²² Wolfe, G.A.; Petteys, S.M.; Phelps, J.F.; Wasmund, J.B.; Plackett, T.P. *J. Spec. Oper. Med.* **2019**, *19*, 81-86.
- ¹²³ Dahl, H.; Gluud, B.; Vangsted, P.; Norn, M. *Acta Ophthalmol. Suppl.* **1985**, *173*, 30-31.
- ¹²⁴ Murray, V.S.; Volans, G.N. *Bmj* **1991**, *302*, 129-130.
- ¹²⁵ Javadi, M.A.; Baradaran-Rafii, A. *Cornea* **2009**, *28*, 51-57.
- ¹²⁶ Veress, L.A.; Hendry-Hofer, T.B.; Loader, J.E.; Rioux, J.S.; Garlick, R.B.; White, C.W. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.* **2013**, *48*, 439-447.
- ¹²⁷ Ghanei, M.; Shohrati, M.; Harandi, A.A.; Eshraghi, M.; Aslani, J.; Alaeddini, F.; Manzoori, H. *Inhal. Toxicol.* **2007**, *19*, 889-894.

- ¹²⁸ Smith, W.J. *Toxicol.* **2009**, *263*, 70-73.
- ¹²⁹ (a) Balszuweit, F.; Menacher, G.; Schmidt, A.; Kehe, K.; Popp, T.; Worek, F.; Thiermann, H.; Steinritz, D. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 35-43 ; (b) Sawyer, T.W. *Free Rad. Biol. Med.* **2020**, *161*, 305-320.
- ¹³⁰ Gholamnezhad, Z.; Boskabady, M.H.; Amery, S.; Vahedi, N.; Tabatabaei, A.; Boskabady, M.; Shahriary, A. *Toxicol. Ind. Health* **2016**, *32*, 1971-1977.
- ¹³¹ Southan, G.J.; Szabo, C. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *51*, 383-394.
- ¹³² Malaviya, R.; Sunil, V.R.; Venosa, A.; Vayas, K.N.; Heck, D.E.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 2-7.
- ¹³³ Weinberger, B.; Malaviya, R.; Sunil, V.; Venosa, A.; Heck, D.; Laskin, J.D.; Laskin, D.L. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2016**, *305*, 1-11.
- ¹³⁴ Liu, J.; Powell, K.L.; Thames, H.D.; MacLeod, M.C. *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, *23*, 488-496.
- ¹³⁵ Anumolu, S.N.S.; DeSantis, A.S.; Menjoge, A.R.; Hahn, R.A.; Beloni, J.A.; Gordon, M.K.; Sinko, P.J. *Biomater.* **2010**, *31*, 964-974.
- ¹³⁶ Wigenstam, E.; Jonasson, S.; Koch, B.; Bucht, A. *Toxicol.* **2012**, *301*, 66-71.
- ¹³⁷ Fernandes, J.L.; de Oliveira, R.T.; Mamoni, R.L.; Coelho, O.R.; Nicolau, J.C.; Blotta, M.H.; Serrano, Jr.C.V. *Atherosclerosis* **2008**, *196*, 434-442.
- ¹³⁸ Jafari, S.; Saednia, S.; Abdollahi, M. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2014**, *15*, 409-421.
- ¹³⁹ Tewari-Singh, N.; Agarwal, R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2016**, *1374*, 184-192.
- ¹⁴⁰ Jain, A.K.; Tewari-Singh, N.; Inturi, S.; Kumar, D.; Orlicky, D.J.; Agarwal, C.; White, C.W.; Agarwal, R. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2015**, *285*, 71-78.
- ¹⁴¹ Tewari-Singh, N.; Jain, A.K.; Inturi, S.; Ammar, D.A.; Agarwal, C.; Tyagi, P.; Kompella, U.B.; Enzenauer, R.W.; Petrash, J.M.; Agarwal, R. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2012**, *264*, 23-31.
- ¹⁴² Schmidt, A.; Steinritz, D.; Thiermann, H.; Meineke, V.; Abend, M. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 88-94.
- ¹⁴³ (a) Fahs, F.; Bi, X.; Yu, F.S.; Zhou, L.; Mi, Q.S. *IUBMB Life* **2015**, *67*, 889-896.
- ¹⁴⁴ Deppe, J.; Steinritz, D.; Santovito, D.; Egea, V.; Schmidt, A.; Weber, C. Ries, C. *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 81-87.
- ¹⁴⁵ Tewari-Singh, N.; Jain, A.K.; Inturi, S.; Agarwal, C.; White, C.W.; Agarwal, R. *Plos One* **2012**, *7*, 1-12.
- ¹⁴⁶ Choudhury, H.; Gorain, B.; Pandey, M.; Chatterjee, L.A.; Sengupta, P.; Das, A.; Molugulu, N.; Kesharwani, P. K. *J. Pharm. Sci.* **2017**, *106*, 1736-1751.
- ¹⁴⁷ (a) Pangeni, R.; Choi, S.W.; Jeon, O.-C.; Bryun, Y.; Park, J.W. *Int. J. Nanomedicine* **2016**, *11*, 6379-6399 ; (b) Pangeni, R.; Panthi, V.K.; Yoon, I.-S.; Park, J.W. *Pharmaceutics* **2018**, *10*, 1-22 ; (c) Chuan, Y.P.; Zeng, B.Y.; O'Sullivan, B.; Thomas, R.; Middelberg, A.P. *J. Colloid Inter. Sci.* **2012**, *368*, 616-624 ; (d) Sigward, E.; Mignet, N.; Rat, P.; Dutot, M.; Muhamed, S.; Guigner, J.-M.; Scherman, D.; Brossard, D.; Crauste-Manciet, S.; *Int. J. Nanomedicine* **2012**, *8*, 611-625 ; (e) McClements, D.J. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2010**, *1*, 241-269.
- ¹⁴⁸ Mishra, N.; Raina, K.; Agarwal, R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2021**, *1491*, 25-41.
- ¹⁴⁹ Mouret, S.; Wartelle, J.; Batal, M.; Emorine, S.; Bertoni, M.; Poyot, T.; Cléry-Barraud, C.; El Bakdouri, N.; Peinnequin, A.; Douki, T.; Boudry, I. *Toxicol. Lett.* **2015**, *232*, 68-78.
- ¹⁵⁰ Oshedo, Y. *Gels*, **2016**, *2*, 1-11.
- ¹⁵¹ Graham, T. *Philos. Trans. R. Soc. London*, **1861**, *151*, 183-224.
- ¹⁵² Weiss, R.G. *Molecular Gels : Structure and Dynamics* **2018**, 1-27.
- ¹⁵³ Lloyd, D.J. *Col. Chem. New York*, **1926**, *1*, 767-782.

- ¹⁵⁴ Osada, Y.; Kajiwara, K.; Fushimi, T.; Hirasa, O.; Hirokawa, Y.; Matsunaga, T.; Shimomura, T.; Wang, L.; Ishida, H. *Gels Handbook Academic Press San Diego, CA, USA*, **2001**, 1-3.
- ¹⁵⁵ Israelachvili, J.N. *Academic Press* **1985**, 296.
- ¹⁵⁶ Chu, C.-W.; Schalley, C.A. *Organic Materials* **2021**, 3, 25-40.
- ¹⁵⁷ Estroff, L.A.; Hamilton, A.D.; *Chem. Rev.* **2004**, 104, 1201-1218.
- ¹⁵⁸ Weiss, R.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 7519-7530.
- ¹⁵⁹ Flory, P.J. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1974**, 57, 7-18.
- ¹⁶⁰ George, M.; Weiss, R.G. *Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 489-497.
- ¹⁶¹ Terech, P.; Weiss, R.G. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 3133-3159.
- ¹⁶² Kawasaki, T.; Tanaka, H. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, 107, 14036-14041.
- ¹⁶³ Leal-Calderon, F.; Poulin, P. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1999**, 4, 223-230.
- ¹⁶⁴ Weiss, R.G. *Gels* **2018**, 4, 1-9.
- ¹⁶⁵ (a) Vintiloiu, A.; Leroux, J.-C. *J. Control. Rel.* **2008**, 125, 179-192 ; (b) Esposito, C.L.; Kirilov, P.; Roullin, V.G. *J. Control. Rel.* **2018**, 271, 1-20.
- ¹⁶⁶ Puşcas, A.; Mureşan, V.; Socaciu, C.; Muste, S. *Foods* **2020**, 9, 70.
- ¹⁶⁷ (a) Okesola, B.O.; Smith, D.K. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, 45, 4226-4251 ; (b) Peveler, W.J.; Packman, H.; Alexander, S.; Chauhan, R.R.; Hayes, L.M.; Macdonald, T.J.; Cockcroft, J.K.; Rogers, S.; Aarts, D.G.A.L.; Carmalt, C.J.; Parkin, I.P.; Bear, J.C. *Soft. Matter.* **2018**, 14, 8821-8827 ; (c) Abdellatif, M.M.; Ibrahim, S.; Nomuro, K. *J. King Saud Univ. Sci.* **2020**, 32, 946-951.
- ¹⁶⁸ Skilling, K.J.; Citossi, F.; Bradshaw, T.D.; Ashford, M.; Kellam, M.; Marlow, M. *Soft. Matter.* **2014**, 10, 237-256.
- ¹⁶⁹ Draper, E.R.; Adams, D.J. *Chem.* **2017**, 3, 390-410.
- ¹⁷⁰ Li, L.; Liu, G.; Bogojevic, O.; Nedergaard Pedersen, J.; Guo, Z. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2022**, 21, 2077-2104.
- ¹⁷¹ Fayaz, G.; Polenghi, O.; Giardina, A.; Cerne, V.; Calligaris, S. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2021**, 56, 1040-1047.
- ¹⁷² Balasubramanian, R.; Sughir, A.A.; Damodar, G. *Asian J. Pharm.* **2012**, 6, 1-9.
- ¹⁷³ Scartazzini, R.; Luisi, P.L. *J. Phys. Chem.* **1988**, 92, 829-833.
- ¹⁷⁴ Hughes, N.E. *Trend Food Sci. Tech.* **2009**, 20, 470-480.
- ¹⁷⁵ Vintiloiu, A.; Leroux, J.C. *J. Control Release* **2008**, 125, 179-192.
- ¹⁷⁶ Niia, S.; Okumuraa, S.; Kinoshitab, T.; Ishigakib, Y.; Nakanob, K.; Yamaguchib, K.; Akita, S. *Sep. Purif. Technol.* **2010**, 73, 250-255.
- ¹⁷⁷ Von Lipowitz, A. *Liebigs Ann. Chem. Pharm.* **1841**, 38, 348-355.
- ¹⁷⁸ Yan, N.; Xu, Z.; Diehn, K.K.; Raghavan, S.R.; Fang, Y.; Weiss, R.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 8989-8999.
- ¹⁷⁹ Abdallah, D.J.; Weiss, R.G. *Langmuir* **2000**, 16, 352-355.
- ¹⁸⁰ Mallia, V.A.; Weiss, R.G. *J. Phys. Org. Chem.* **2014**, 27, 310-315.
- ¹⁸¹ Maskaev, A.K.; Man'kovskaya, N.K.; Len'el, I.V.; Fedorovskii, V.T.; Simurova, E.I.; Terent'eva, V.N. *Chem. Technol. Fuel Oils* **1971**, 7, 109-112.
- ¹⁸² George, M.; Tan, G.; John, V.T.; Weiss, R.G. *Chem. Eur. J.* **2005**, 11, 3243-3254.
- ¹⁸³ Angyal, S.J.; Lawler, J.V. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, 66, 837-838.
- ¹⁸⁴ Meunier, M.J. *Ann. Chim. Phys.* **1891**, 22, 412-432.
- ¹⁸⁵ (a) Yamamoto, S. *Kogyo Kagaku Zasshi* **1943**, 46, 779 ; (b) Yamamoto, S. *Kogyo Kagaku Zasshi* **1942**, 45, 695.

- ¹⁸⁶ Singh, A.; Auzanneau, F.-I.; Corradini, M.G.; Grover, G.; Weiss, R.G.; Rogers, M.A. *Langmuir* **2017**, *33*, 10907-10916.
- ¹⁸⁷ (a) Basu, N.; Chakraborty, A.; Ghosh, R. *Gels* **2018**, *4*, 1-34 ; (b) Dattaa, S.; Bhattacharya, S. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 5596-5637.
- ¹⁸⁸ De Rango, C.; Charpin, P.; Navaza, J.; Keller, N.; Nicolis, I.; Villain, F.; Coleman, A.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5479-5480.
- ¹⁸⁹ (a) Parkinson, G.N.; Lee, M.P.H.; Neidle, S. *Nature* **2002**, *417*, 876-880 ; (b) Zahler, A.M.; Williamson, J.R.; Cech, T.R.; Prescott, D.M. *Nature* **1991**, *350*, 718-720.
- ¹⁹⁰ Sreenivasachary, N.; Lehn, J.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 5938-5943.
- ¹⁹¹ Hutchinson, K.G. *J. Pharm. Pharmacol.* **1985**, *37*, 528-531.
- ¹⁹² Tomasini, C.; Castellucci, N. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 156-172.
- ¹⁹³ Du, X.; Zhou, J.; Xu, B. *Chem. Asian J.* **2014**, *9*, 1446-1472.
- ¹⁹⁴ Arokianathan, J.F.; Ramya, K.A.; Deshpande, A.P.; Leemarose, A.; Shanmugam, G. *Coll. Sur. Phy. Eng. Asp.* **2021**, *618*, 1-9.
- ¹⁹⁵ Mancineella, S.; Murugan, N.A.; Govindaraju, G. *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 3581-3590.
- ¹⁹⁶ Lin, Y.-C.; Kachar, B.; Weiss, R.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5542-5551.
- ¹⁹⁷ Mukkamala, R.; Weiss, R.G. *Langmuir* **1996**, *12*, 1474-1482.
- ¹⁹⁸ Ostuni, E. *M.S. Thesis, Georgetown University, Washington, DC*, **1995**.
- ¹⁹⁹ George, M.; Weiss, R.G. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 489-497.
- ²⁰⁰ Bag, B.G.; Majumdar, R.; *Chem. Rec.* **2017**, *17*, 1-34.
- ²⁰¹ (a) Li, J.-L.; Yuan, B.; Liu, X.-Y.; Hu, H.-Y. *Cryst. Growth Des.* **2010**, *10*, 2699-2706 ; (b) Schoonbeek, F.S.; van Esch, J.H.; Hulst, R.; Kellogg, R.M.; Feringa, B.L. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2633-2643 ; (c) Gesquiere, A.; Abdel-Mottaleb, M.M.S.; De Feyter, S.; De Schryver, F.C.; Schoonbeek, F.; van Esch, J.; Kellogg, R.M.; Feringa, B.L.; Calderone, A.; Lazzaroni, R.; Bredas, J.L. *Langmuir* **2000**, *16*, 10385-10391 ; (d) Zweep, N.; Hopkinson, A.; Meetsma, A.; Browne, W.; Feringa, B.L.; van Esch, J.H. *Langmuir* **2009**, *25*, 8802-8809.
- ²⁰² Dastidar, P. *Gels* **2019**, *5*, 1-10.
- ²⁰³ Breinbauer, R.; Köhn, M. *ChemBioChem* **2003**, *4*, 1147-1149.
- ²⁰⁴ (a) Clemente, M.J.; Romero, P.; Serrano, J.L.; Fitremann, J.; Oriol, L. *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 3847-3858 ; (b) Clemente, Fitremann, J.; Mauzac, M.; Serrano, J.L.; Oriol, L. *Langmuir* **2011**, *27*, 15236-15247.
- ²⁰⁵ Delbecq, F.; Tsujimoto, K.; Ogue, Y.; Endo, H.; Kawai, T. *J. Col. Int. Sci.* **2013**, *390*, 17-24.
- ²⁰⁶ (a) Kurbasic, M.; Parisi, E.; Garcia, A.M.; Marchesan, S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2020**, *20*, 1300-1309 ; (b) Delbecq, F. *Adv. Col. Inter. Sci.* **2014**, *209*, 98-108 ; (c) Hachisako, H.; Saeki, N.; Uchiyama, S.; Ihara, H. *Rec. Res. Dev. Pure App. Chem.* **2000**, *4*, 59-80.
- ²⁰⁷ Rosemeyer, H. *Chemistry and Biodiversity* **2005**, *2*, 977-1063.
- ²⁰⁸ Takatsuki, A.; Arima, K.; Tamura, G. *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 215-223.
- ²⁰⁹ Tamura, G. *Ed. Japan Scientific Press, Tokyo, Japan*, **1982**.
- ²¹⁰ Stryer, L. *Biochimie, F. Sieweg & Sohn, Braunschweig*, **1979**, 318.
- ²¹¹ Morales-Reina, S.; Giri, C.; Leclercq, M.; Vela-Gallego, S.; de la Torre, I.; Castón, J.S.; Surin, M.; de la Escosura, A. *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 1082-1090.
- ²¹² Mulet, X.; Kaasgaard, T.; Conn, C.E.; Waddington, L.J.; Kennedy, D.F.; Weerawardena, A.; Drummond, C.J. *Langmuir* **2010**, *26*, 18415-18423.
- ²¹³ Lepeltier, E.; Bourgaux, C.; Rosilio, V.; Poupaert, J.H.; Meneau, F.; Zouhiri, F.; Lepetre-Mouelhi, S.; Desmaele, D.; Couvreur, P. *Langmuir* **2013**, *29*, 14795-17803.

- ²¹⁴ (a) Moreau, L.; Barthélémy, P.; El Maataoui, M.; Grinstaff, M.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7533-7539; (b) Chabaud, P.; Camplo, M.; Payet, D.; Serin, D.; Moreau, L.; Barthélémy, P.; Grinstaff, M.W. *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 466-472.
- ²¹⁵ (a) Ono, A.; Cao, S.; Togashi, H.; Tashiro, M.; Fujimoto, T.; Machinami, T.; Oda, S.; Miyake, Y.; Okamoto, L.; Tanaka, Y. *Chem. Commun.* **2008**, *0*, 4825-4827; (b) Alies, B.; Ouelhazi, M.A.; Noireau, A.; Gaudin, K.; Barthélémy, P. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 1692-1695.
- ²¹⁶ Lech-Maranda, E.; Korycka, A.; Robak, T. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2009**, *9*, 805-812.
- ²¹⁷ Sandin, P.; Bombelli Baldelli, F.; Castroflorio, B.; Müller, C.; Obermeier, J.; Karlsson, G.; Edwards, K.; Baglioni, P.; Berti, D. *New J. Chem.* **2014**, *38*, 5247-5253.
- ²¹⁸ Kauss, T.; Arpin, C.; Bientz, L.; Nguyen, P.V.; Vialet, B.; Benizri, S.; Barthélémy, P. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1-9.
- ²¹⁹ Walunj, M.B.; Dutta, S.; Srivatsan, S.G. *Architectures of Nucleolipid Assemblies and their Applications : Nanostructure Science and Technology* **2022**, Springer, Singapore.
- ²²⁰ Park, S.M.; Lee, Y.S.; Kim, B.H. *Chem. Commun.* **2003**, *23*, 2912-2913.
- ²²¹ Park, S.M.; Shen, Y.; Kim, B.H. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *6*, 610-612.
- ²²² Park, M.P.; Kim, B.H. *Soft Matter* **2008**, *4*, 1995-1997.
- ²²³ Moreau, L.; Barthélémy, P.; El Maataoui, M.; Grinstaff, M.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7533-7539.
- ²²⁴ Alies, B.; Ouelhazi, M.A.; Patwa, A.; Verget, J.; Navailles, L.; Desvergnès, V.; Barthélémy, P. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 4888-4894.
- ²²⁵ Fuhrhop, J.H.; Wang, T. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2901-2937.
- ²²⁶ Shimizu, T.; Iwaura, R.; Masuda, M.; Hanada, T.; Yase, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5947-5955.
- ²²⁷ Iwaura, R.; Yoshida, K.; Masuda, M.; Yase, K.; Shimizu, T. *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 3047-3053.
- ²²⁸ Godeau, G.; Bernard, J.; Staedel, C.; Barthélémy, P. *Chem. Commun.* **2009**, 5127-5129.
- ²²⁹ Latxague, L.; Ziane, S.; Chassande, O.; Patwa, A.; Dalila, M.J.; Barthélémy, P. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12598-12600.
- ²³⁰ Godeau, G.; Brun, C.; Arnion, H.; Staedel, C.; Barthélémy, P. *Tet. Lett.* **2010**, *51*, 1012-1015.
- ²³¹ Latxague, L.; Ramin, M.A.; Appavoo, A.; Berto, P.; Maisani, M.; Ehret, C.; Chassande, O.; Barthélémy, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4517-4521.
- ²³² Latxague, L.; Gaubert, A.; Maleville, D.; Baillet, J.; Ramin, M.A.; Barthélémy, P. *Gels* **2016**, *2*, 1-9.
- ²³³ Tran, P.; Weldemichael, T.; Liu, Z.; Li, H. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 1-21.
- ²³⁴ Gissot, A.; Camplo, M.; Grinstaff, M.W.; Barthélémy, P. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1324-1333.
- ²³⁵ Benizri, S.; Gaubert, A.; Soulard, C.; Gontier, E.; Svahn, I.; Vacher, G.; Barthélémy, P. *Biomater. Sci.* **2021**, *9*, 3638-3644.
- ²³⁶ Nuthanakanti, A.; Srivatsan, S.G. *Nanoscale Adv.* **2020**, *2*, 4161-4171.
- ²³⁷ Pal, A.; Dey, J. *Langmuir* **2011**, *27*, 3401-3408.
- ²³⁸ Snip, E.; Shinkai, S.; Reinhoudt, D.N. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *4*, 2153-2156.
- ²³⁹ Rosemeyer, H.; Stürenberg, E.-M.; Herdewijn, P. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2007**, *26*, 995-999.
- ²⁴⁰ Hu, J.; Lu, J.R.; Ju, Y. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 2636-2647.
- ²⁴¹ Lu, J.; Hu, J.; Liu, C.; Gao, H.; Ju, Y. *Soft Matter* **2012**, *8*, 9576-9580.
- ²⁴² Yun, Y.J.; Park, S.M.; Kim, B.H. *Chem. Commun.* **2003**, *2*, 254-255.
- ²⁴³ Nuthanakanti, A. *New J. Chem.* **2019**, *43*, 13447-13456.

- ²⁴⁴ Neises, B.; Steglich, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 522-524.
- ²⁴⁵ Nuthanakanti, A.; Srivatsan, S.G. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 22864-22874.
- ²⁴⁶ Nuthanakanti, A.; Walunji, M.B.; Torris, A.; Badiger, M.V.; Srivatsan, S.G. *Nanoscale* **2019**, *11*, 11956-11966.
- ²⁴⁷ Simeone, L.; Milano, D.; De Napoli, L.; Irace, C.; Di Pascale, A.; Boccalon, M.; Tecilla, P.; Montesarchio, D. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 13854-13865.
- ²⁴⁸ Davis, J.T.; Spada, G.P. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 296-313.
- ²⁴⁹ Meng, L.; Liu, K.; Mo, S.; Mao, Y.; Yi, T. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 1525-1532.
- ²⁵⁰ Nuthanakanti, A.; Srivatsan, S.G. *Nanoscale* **2016**, *8*, 3607-3619.
- ²⁵¹ Benyus, J.M. *Biomimicry : Innovation Inspired by Nature* **1997**.
- ²⁵² Bond, J.E.; Gorun, S.M.; Stibrany, R.T.; Schriver, G.W.; Vanderspurt, T.H. *Act. Dioxigen Homogeneous Catal. Oxid.* **1993**, 5th, 199-208.
- ²⁵³ Goodman, R.P.; Calvo, S.E.; Mootha, V.K. *J. Biol. Chem.* **2018**, *293*, 7508-7516.
- ²⁵⁴ (a) Wang, P.-Z.; Chen, J.-R.; Xiao, W.-J. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 6936-6951 ; (b) Wu, H.; Wang, Z.; Tao, L. *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 7290-7296 ; (c) Zheng, C.; You, S.-L. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2498-2518.
- ²⁵⁵ Wöhler, F.; Liebig, J. *Ann. Pharm.* **1832**, *8*, 249.
- ²⁵⁶ Lapworth, A. *J. Chem. Soc.* **1903**, *83*, 995.
- ²⁵⁷ Ukai, T.; Tanaka, R.; Dokawa, T. *J. Pharm. Soc. Jpn* **1943**, *63*, 296-300.
- ²⁵⁸ Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3719-3726.
- ²⁵⁹ Sundström, S.; Lindqvist, Y.; Schneider, G.; Hellmand, U.; Ronne, H. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 23346-23352.
- ²⁶⁰ Mizuhara, S.; Handler, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 571-573.
- ²⁶¹ Pang, S.S.; Duggleby, R.G.; Schowen, R.L.; Guddat, L.W. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 2242-2253.
- ²⁶² Stetter, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1976**, *21*, 695-736.
- ²⁶³ Seebach, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *91*, 259-278.
- ²⁶⁴ Williamson, N.R.; Simonsen, H.T.; Ahmed, R.A.A.; Godet, G.; Slater, H.; Woodley, L.; Leeper, F.J.; Salmond, G.P.C. *Molecular Microbiology* **2005**, *56*, 971-989.
- ²⁶⁵ Beigi, M.; Waltzer, S.; Zarei, M.; Müller, M. *J. Biotech.* **2014**, *191*, 64-68.
- ²⁶⁶ (a) Izquierdo, J.; Hutson, G.E.; Cohen, D.T.; Scheidt, K.A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11686-11698 ; (b) Que, Y.; He, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, *37*, 5917-5925
- ²⁶⁷ (a) DiRocco, D.A.; Rovis, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 10402-10405 ; (b) Wu, J.; Zhao, C.; Wang, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 4706-4709.
- ²⁶⁸ Hamoud, A.; Barthélémy, P.; Desvergnès, V. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 1760-1769.
- ²⁶⁹ (a) Saussieau, L. *Stage de Master 2* **2015** ; (b) Debiais, M. *Stage de Licence 3* **2015**.
- ²⁷⁰ Cunha, A.; Prévot, G.; Mousli, Y.; Barthélémy, P.; Crauste-Manciet, S.; Dehay, B. Desvergnès, V. *ACS Omega*, **2020**, *5*, 5815-5823.
- ²⁷¹ Teste, K.; Colombeau, L.; Hadj-Bouaza, A.; Lucas, R.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Champavier, Y. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1490-1495.
- ²⁷² Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217-3219.
- ²⁷³ (a) Omura, K.; Sharma, A.K.; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 957-962 ; (b) Huang, S.L.; Omura, K.; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 3329-3331 ; (c) Omura, K.; Swern, D. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651-1660.
- ²⁷⁴ (a) Labarre-Laine, J.; Beniazza, R.; Desvergnès, V.; Landais, Y. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4706-4709 ; (b) Labarre-Laine, J.; Perinan, I.; Desvergnès, V.; Landais, Y. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 9336-9341.

- ²⁷⁵ Hamoud, A. Conception et Synthèse bioinspirées de nucléolipides pour l'élaboration de biomatériaux, Université de Bordeaux **2018**. Travaux non publiés.
- ²⁷⁶ Poon, K.W.C.; House, S.E.; Dudley, G.B. *Synlett* **2005**, 3142-2144.
- ²⁷⁷ (a) Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538 ; (b) Ireland, R.E.; Liu, L. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2899.
- ²⁷⁸ Ozanne, A.; Pouységu, L.; Depernet, D.; François, B.; Quideau, S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2903-2906.
- ²⁷⁹ Camarero-Espinosa, S.; Rothen-Rutishauser, B.; Foster, E.J.; Weder, C. *Biomater. Sci.* **2016**, *4*, 734-776.
- ²⁸⁰ (a) Zhang, G.; Yang, S.; Zhang, X.; Lin, Q.; Das, D.K.; Liu, J.; Fang, X. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 7932-7938 ; (b) Shirke, R.P.; Reddy, V.; Anand, R.V.; Ramasastry, S.S.V. *Synthesis* **2016**, *48*, 1865-1871.
- ²⁸¹ (a) Menon, R.S.; Biju, A.T.; Nair, V. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 444-461 ; (b) Gaggero, N.; Pandini, S. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 6867-6887 ; Delany, E.G.; Connon, S.J. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 780-786 ; (c) Ji, H.; Xu, J.; Ren, H. *Synthesis* **2019**, *51*, 2191-2197 ; (d) Barik, S.; Biju, A.T. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 15484-14495.
- ²⁸² (a) Brook, A.G.; Duff, J.M.; Jones, P.F.; Davis, N.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 431-434 ; (b) Clark, C.T.; Milgram, B.C.; Scheidt, K.A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3977-3980 ; (c) Kondo, J.; Inoue, A.; Ito, Y.; Shinokubo, H.; Oshima, K. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 3361-3369.
- ²⁸³ Linghu, X.; Johnson, J.S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2534-2536.
- ²⁸⁴ Mattson, A.E.; Bharadwaj, A.R.; Scheidt, K.A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2314-2315.
- ²⁸⁵ Mathies, A.K.; Mattson, A.E.; Scheidt, K.A. *Synlett* **2009**, *3*, 377-383.
- ²⁸⁶ Singh, S.; Singh, P.; Rai, V.K.; Kapoor, R.; Yadav, L.D.S. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 125-128.
- ²⁸⁷ Macharia, A.K.; Napunni, R.C.; Marri, M.R.; Peraka, S.; Nama, N. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 191-195.
- ²⁸⁸ Narouz, M.R.; Osten, K.M.; Unsworth, P.J.; Man, R.W.Y.; Salorinne, K.; Takano, S.; Tomihara, R.; Kaappa, S.; Malola, S.; Dinh, C.-T.; Padmos, J.D.; Ayoo, K.; Garrett, P.J.; Nambo, M.; Horton, J.H.; Sargent, E.H.; Häkkinen, H.; Tsukuda, T.; Crudden, C.M. *Nature Chem.* **2019**, *11*, 419-425.
- ²⁸⁹ Casey, M.; Donnelly, J.A.; Ryan, J.C.; Ushioda, S. *ARKIVOC* **2003**, 310-327.
- ²⁹⁰ Greenberg, J.A.; Sammakia, T. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 3245-3251.
- ²⁹¹ Aderibigbe, S.O.; Coltart, D.M. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 9770-9777.
- ²⁹² Chen, J.; Xia, Y.; Lee, S. *Org. Chem. Front.* **2020**, *7*, 2931-2937.
- ²⁹³ Sultane, P.R.; Mete, T.B.; Bhat, R.G. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 261-264.
- ²⁹⁴ (a) Chaudhari, D.A.; Fernandes, R.A. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 2113-2121 ; (b) Dandawate, M.; Choudhury, R.; Krishna, G.R.; Reddy, D.S. *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*, 152525-152526.
- ²⁹⁵ Nahm, S.; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815-3818.
- ²⁹⁶ Boufroua, H.; Seville, L.; Gigant, N.; Drège, E.; Joseph, D. *New J. Chem.* **2018**, *42*, 12403-12411.
- ²⁹⁷ Chen, H.; Farizyan, M.; Ghiringhelli, F.; van Gemmeren, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 12213-12220.
- ²⁹⁸ Sun, Y.; Bao, Y.; Jiang, X.; Tan, S.; Yin, M.; Yang, C.; Zhou, L.; Zhang, Z. *J. Mater. Chem. B*, **2018**, *6*, 458-468.
- ²⁹⁹ Klufts-Edel, A.; Crauste-Manciet, S.; Desvergnès, V. FR2105088 **15.05.2021**, PCT/EP2022/063064 **13.05.2022**.
- ³⁰⁰ Noorizadeh, S.; Dardab, M. *Chem. Phys. Letters* **2010**, *493*, 376-380.

- ³⁰¹ Piñero-Fernandez, S.; Chimere, C.; Keyser, U.F.; Summers, D.K. *J. Bacteriol.* **2011**, *193*, 1793-1798.
- ³⁰² Fuentes, L.; Hernández-Juarez, M.; Terán, J.L.; Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. *Synlett* **2013**, *24*, 878-882.
- ³⁰³ Basel, Y.; Hassner, A. *Synthesis* **2001**, *4*, 550-552.
- ³⁰⁴ Christiansen, M.A.; Butler, A.W.; Hill, A.R.; Andrus, M.B. *Synlett* **2009**, 653-657.
- ³⁰⁵ Chianelli, D.; Kim, Y.-C.; Lvovskiy, D.; Webb, T.R. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5059-5068.
- ³⁰⁶ Knör, S.; Khrenov, A.V.; Laufer, B.; Saenko, E.L.; Hauser, C.A.E.; Kessler, H. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4329-4339.
- ³⁰⁷ Kang, E.J.; Cho, E.J.; Ji, M.K.; Lee, Y.E.; Shin, D.M.; Choi, S.Y.; Chung, Y.K.; Kim, J.-S.; Kim, H.-J.; Lee, S.-G.; Lah, M.S.; Lee, E. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6321-6329.
- ³⁰⁸ McClure, C.K.; Jung, K.-Y. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2326-2332.
- ³⁰⁹ Wang, L.; Wang, M.; Guo, L.-X.; Sun, Y.; Zhang, X.-Q.; Lin, B.-P.; Yang, H. *Macromolecules* **2019**, *52*, 649-659.
- ³¹⁰ Lohith, K.D.; Sarkar, P. *Envir. Chem. Lett.* **2018**, *16*, 59-70.
- ³¹¹ Nicolaos, G.; Crauste-Manciet, S.; Farinotti, R.; Brossard, D. *Int. J. Pharm.* **2003**, *263*, 165-171.
- ³¹² Samson, S.; Basri, M.; Fard MASoumi, H.R.; Abedi Karjiban, R.; Abdul Malek, E. *RSC Advances* **2016**, *6*, 17845-17856.
- ³¹³ Tayeb, H.H.; Sainsbury, F. *Nanomedicine* **2018**, *13*, 2507-2525.
- ³¹⁴ Prévot, G.; Soria, F.N.; Thiolat, M.-L.; Daniel, J.; Verlhac, J.B.; Blanchard-Desce, M.; Bezar, E.; Barthélémy, P.; Crauste-Manciet, S.; Dehay, B. *Bioconjugate Chem.* **2018**, *29*, 4083-4089.
- ³¹⁵ Catry, M.A.; Madder, A. *Molecules* **2007**, *12*, 114-129.
- ³¹⁶ Claisen, L.; Claparède, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 2460-2468.
- ³¹⁷ Duez, S.; Coudray, L.; Mouray, E.; Grellier, P.; Dubois, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 543-556.
- ³¹⁸ Almeida, I.F.; Bahia, M.F. *Int. J. Pharm.* **2006**, *327*, 73-77.
- ³¹⁹ Wernic, D.; DiMaio, J.; Adams, J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4224-4228.
- ³²⁰ Qu, W.; Kung, M.-P.; Hou, C.; Benedum, T.E.; Kung, H.F. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2157-2165.
- ³²¹ Wildman, S.A.; Crippen, G.M. *J. Chem. Info. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 868-873.
- ³²² (a) Moriguchi, I.; Hirono, S.; Liu, Q.; Nakagome, I.; Matsushita, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 127-130; (b) Moriguchi, I.; Hirono, S.; Nakagome, I.; Hirano, h. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 976-978; (c) Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3-26.
- ³²³ Kumar, P.; Østergaard, M.E.; Baral, B.; Anderson, B.A.; Guenther, D.C.; Kaura, M.; Raible, D.J.; Sharma, P.K.; Hrdlicka, P.J. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 5047-5061.
- ³²⁴ Li, F.-Z.; Li, S.; Zhang, P.-P.; Huang, Z.-H.; Zhang, W.-B.; Gong, J.-X.; Yang, Z. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 12426-12429.
- ³²⁵ Tetzlaff, C.N.; Schwöpe, I.; Bleczinski, C.F.; Steinberg, J.A.; Richert, C. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4215-4218.
- ³²⁶ Said, H.; Guttroff, C.; El-Sagheer, A.H.; Richert, C. *Synlett* **2012**, *23*, 2923-2926.
- ³²⁷ Batesky, D.C.; Goldfogel, M.J.; Weix, D.J. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 9931-9936.
- ³²⁸ Oliver, M.; Le Corre, L.; Poinot, M.; Corio, A.; Madegard, L.; Bosco, M.; Amoroso, A.; Joris, B.; Auger, R.; Touzé, T.; Bouhss, A.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *Org. Biomol. Chem.* **2021**, *19*, 58446-5866.
- ³²⁹ Bismuto, A.; Delcaillau, T.; Müller, P.; Morandi, B. *ACS Catal.* **2020**, *10*, 4630-4639.
- ³³⁰ Surya Prakash Rao, H.; Siva, P. *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 549-555.

- ³³¹ Arzel, L.; Dubreuil, D.; Dénès, F.; Silvestre, V.; Mathé-Allainmat, M.; Lebreton, J. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 10742-10758.
- ³³² Jung, Y.-H.; Jain, S.; Gopinath, V.; Phung, N.B.; Gao, Z.-G. *Bioorg. Med. Chem.* **2021**, *41*, 1-7.
- ³³³ Tamaru, Y.; Kimura, M.; Tanaka, S.; Kure, S.; Yoshida, Z. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 2838-2849.
- ³³⁴ Chen, Y.K.; Lurain, A.E.; Walsh, P.J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12225-12231.
- ³³⁵ Travis, B.R.; Narayan, R.S.; Borhan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3824-3825.
- ³³⁶ Chen, D.; Chow, H.Y.; Po, K.H.L.; Ma, W.; Leung, E.L.Y.; Sun, Z.; Liu, M.; Chen, S.; Li, X. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 5639-5644.
- ³³⁷ Brosowsky, J.; Lutterbeck, M.; Liebich, A.; Keller, M.; Herp, D.; Vogelmann, A.; Jung, M.; Breit, B. *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 16241-16245.
- ³³⁸ (a) Albanese, D.C.M.; Gaggero, N. *Catalysts* **2018**, *8*, 1-20 ; (b) Enders, D.; Henseler, A.; Lowins, S. *Synthesis* **2009**, *24*, 4125-4128 ; (c) Patra, A.; Mukherjee, S.; Kanti Das, T.; Jain, S.; Gonnade, R.G.; Biju, A.T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1-6 ; (d) Patra, A.; Gelat, F.; Pannecoucke, X.; Poisson, T.; Besset, T.; Biju, A.T. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 1086-1089 ; (e) Fernando, J.E.M.; Nakano, Y.; Zhang, C.; Lupton, D.W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 4007-4011.
- ³³⁹ Murry, J.A.; Frantz, D.E.; Soheili, A.; Tillyer, R.; Grabowski, E.J.J.; Reider, P.J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9696-9697.
- ³⁴⁰ Louw, S.; Burger, B.V.; Le Roux, M.; Van Wyk, J.H. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1364-1369.
- ³⁴¹ Schulz, J.M.; Lanovoi, H.T.; Ames, A.M.; McKegg, P.C.; Patrone, J.D. *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 1045-1048.
- ³⁴² Debais, M.; Hamoud, A.; Drain, R.; Barthélémy, P.; Desvergnès, V. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 40709-40718.
- ³⁴³ Roy, V.; Zerrouki, R.; Krausz, P. Nucleosides, *Nucleotides and Nucleic Acids*, **2005**, *24*, 289-301.
- ³⁴⁴ Chen, J.; Li, Y.; Cao, X-P. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, *17*, 93-941.
- ³⁴⁵ (a) Lima, H.M.; Lovely, C.J.; *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5736-5739 ; (b) Narouz, M.R.; Osten, K.M.; Unsworth, P.J.; Man, R.W.Y.; Salorinne, K.; Takano, S.; Tomihara, R.; Kaappa, S.; Malola, S.; Dinh, C-T.; Padmos, J.Daniel.; Ayoo, K.; Garrett, P.J.; Nambo, M.; Horton, J.H.; Sargent, E.H.; Häkkinen, H.; Tsukuda, T.; Crudden, C.M. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 419-425.
- ³⁴⁶ Géant, P-Y.; Grenet, E.; Martínez, J.; Salom-Roig, X.J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2016**, *27*, 22-30.
- ³⁴⁷ Booth, Y.K.; Kitching, W.; De Voss, J.J. *ChemBioChem* **2011**, *12*, 155-172.
- ³⁴⁸ Wang, A.; Jiang, H.; *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2321-2326.
- ³⁴⁹ Boughdady, N.M.; Chynoweth, K.R.; Hewitt, D.G. *Aust. J. Chem.* **1987**, *40*, 767-774.
- ³⁵⁰ (a) Satyanarayana, S.; Reddy, .B.V.S.; Narender, R. *Tetrahedron letters* **2014**, *55*, 6027-6029 ; (b) Liu, J.; Li, H.; Zheng, C.; Lu, S.; Guo, X.; Yin, X.; Na, R.; Yu, B.; Wang, M. *Molecules* **2017**, *22*, 364/1-364/16.
- ³⁵¹ Pons, M.; Dauphin, B.; La Guerche, S.; Pons, A.; Lavigne-Cruege, V.; Shinkaruk, S.; Bunner, D.; Richard, T.; Monti, J.-P.; Darriet, P. *J. Agric. Food. Chem.* **2011**, *59*, 3264-3272.
- ³⁵² Sun, Y.; Bao, Y.; Jiang, X.; Tan, S.; Yin, M.; Yang, C.; Zhou, L; Zhang, Z. *J. Mater. Chem. B*, **2018**, *6*, 458-468.
- ³⁵³ Xu, X-L.; Wang, J.; Yu, C-L.; Chen, W.; Li, Y-C.; Li, Y.; Zhang, H-B.; Yang, X-D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4926-4930.
- ³⁵⁴ Liu, J.; Ma, S. *Org Lett.* **2013**, *15*, 5150-5153.
- ³⁵⁵ Porter, N.A.; Chang, V.H-T. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 4976-4981.
- ³⁵⁶ Qu, W.; Kung, M-P.; Hou, C.; Benedum, T.E.; Kung, H.F. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2157-2165.
- ³⁵⁷ Louw, S.; Burger, B.V.; Le Roux, M.; Van Wyk, J.H. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1364-1369.
- ³⁵⁸ Brough, P.; Klumpp, C.; Bianco, A.; Campidelli, S.; M. Prato *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2014-2020.

Titre : Synthèse de nucléolipides oléogélifiants : conception de nanosystèmes innovants pour le traitement des intoxications à l'ypérite

Résumé : Plus de 100 ans après sa première utilisation massive lors la 1^{ère} guerre mondiale et malgré une menace toujours présente, il n'existe pas d'antidote à l'ypérite (gaz moutarde). C'est dans ce contexte que le projet NEOMAY propose la conception d'une formulation galénique de type nanoémulsion multiple E/H/E (eau dans huile dans eau) dite "all in one" car véhiculant différents principes actifs. Son caractère innovant réside dans la phase huileuse, constituée d'un oléogel supramoléculaire issu de l'assemblage de molécules oléogélifiantes de type nucléolipides. Ce gel stabiliserait les phases internes et permettrait d'encapsuler les substances actives lipophiles. La conception de telles molécules s'est voulue bioinspirée puisque la Nature propose une large variété d'hybrides amphiphiles. Parmi eux, les nucléolipides composés d'un acide nucléique (nucléobase, nucléoside, nucléotide, oligonucléotide) lié de manière covalente à un lipide, ont révélé des propriétés d'autoassemblages uniques permettant la formation d'hydrogels ou d'organogels à l'issue de la construction d'un réseau supramoléculaire via l'association d'interactions faibles. Aucun oléogel de ce type n'a été décrit dans la littérature. Définis par un état semi-solide et constitués de molécules de faible poids moléculaire et d'une phase continue (eau, solvant organique ou plus rarement huile), les gels supramoléculaires sont pour la plupart issus d'une découverte fortuite. La découverte par sérendipité du premier NL oléogélificateur par notre équipe a permis de mettre en évidence le rôle crucial d'un lien lipide-nucléoside de type 1,4-dicétone pour la gélification dans le Miglyol 812N®. Dans le but de dégager un éventuel rationnel entre la structure du NL et les propriétés gélifiantes, une variation méthodique du lien dicarbonylé a été effectuée pas à pas menant à la synthèse de deux familles de NLs à savoir les 1,4-diesters et les 1,4-ester-amides. Les propriétés gélifiantes uniques des NLs de type ester-amide ont permis de proposer des hypothèses quant au rôle majeur d'un lien présentant à la fois un donneur et un accepteur de liaisons H. Ces travaux ont conduit à la découverte et la caractérisation de plusieurs oléogels supramoléculaires nucléolipidiques présentant les qualités requises (stabilité, biocompatibilité) pour le projet NEOMAY. D'autres applications d'intérêt militaire de défense restent encore à explorer comme la décontamination de surfaces, peau et matériels, à d'autres armes chimiques (lewisite, organophosphorés de 4^{ème} génération) mais également dans des domaines industriels plus larges (explosifs, carburants) seront envisageables.

Mots clés : Nucléolipides, Gels, supramoléculaire, Couplage, Bioinspiration

Title : Synthesis of oleogelator nucleolipids: design of innovative nanosystems for the treatment of mustard poisoning

Abstract : More than 100 years after its first massive use during the first World War, and despite the constant threat, there is no antidote to mustard gas. It is in this context that the NEOMAY project proposes the design of a galenic formulation of a multiple W/O/W (water in oil in water) nanoemulsion type known as "all in one" because it carries different active ingredients. Its innovative character lies on the oil phase, which is made up of a supramolecular oleogel resulting from the assembly of nucleolipid-type oleogelating molecules. This gel would stabilize the internal phases and allow the encapsulation of lipophilic active substances. The design of such molecules was intended to be bioinspired since Nature offers a wide variety of amphiphilic hybrids. Among them, nucleolipids composed of a nucleic acid (nucleobase, nucleoside, nucleotide, oligonucleotide) covalently linked to a lipid, revealed unique self-assembly properties allowing the formation of hydrogels or organogels after the construction of a supramolecular network via the association of weak interactions. No such oleogels have been described in the literature. Defined by a semi-solid state and consisting of a low molecular weight molecule and a continuous phase (water, organic solvent or more rarely), supramolecular gels are mostly the result of serendipity. The serendipitous discovery of the first NL oleogelator by our team revealed the crucial role of a 1,4-diketone lipid-nucleoside linkage for gelation in Miglyol 812N®. In order to identify a possible rational between the structure of the NL and the gelating properties, a methodical variation of the dicarbonyl linkage was carried out step by step leading to the synthesis of two families of NLs namely 1,4-diesters and 1,4-ester-amides. The unique gelating properties of ester-amide NLs have led to hypotheses about the major role of a bond that is both a donor and an acceptor of H-bonds. This work led to the discovery and characterization of several supramolecular nucleolipid oleogels with the required qualities (stability, biocompatibility) for the NEOMAY project. Other applications of military and defense interest remain to be explored, such as the decontamination of surfaces, skin and materials, other chemical weapons (lewisite, 4th generation organophosphates) but also in broader industrial fields (explosives, fuels).

ARNA, UMR 5320 INSERM U1212

[ACIDES NUCLÉIQUES : RÉGULATIONS NATURELLES ET ARTIFICIELLES (ARNA) Equipe
ChemBioPharm, 146 rue Léo Saignat, UFR Pharmacie, entrée C, 4^{ème} étage]