



**HAL**  
open science

# Conception et synthèse d'imino-C-galactofuranosides comme inhibiteurs de la biosynthèse des galactanes mycobactériens

Virginie Liautard

► **To cite this version:**

Virginie Liautard. Conception et synthèse d'imino-C-galactofuranosides comme inhibiteurs de la biosynthèse des galactanes mycobactériens. Autre. Université d'Orléans, 2008. Français. NNT : . tel-00418214

**HAL Id: tel-00418214**

**<https://theses.hal.science/tel-00418214>**

Submitted on 17 Sep 2009

**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.

**ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES**

**Institut de Chimie Organique et Analytique**

**THÈSE** présentée par :

**Virginie LIAUTARD**

Soutenue le : **24 Novembre 2008**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : **Chimie Organique**

**CONCEPTION ET SYNTHÈSE D'IMINO-C-  
GALACTOFURANOSIDES COMME  
INHIBITEURS DE LA BIOSYNTHESE DES  
GALACTANES MYCOBACTERIENS**

**THÈSE dirigée par :**

**M. Olivier R. MARTIN**  
**Mme Valérie DESVERGNES**

Professeur, Université d'Orléans  
Chargée de recherche, CNRS, Université Bordeaux 1

**RAPPORTEURS :**

**M. Jean-Charles QUIRION**  
**M. Pierre VOGEL**

Professeur, INSA Rouen  
Professeur, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne

---

**JURY :**

**M. Jean-Claude JACQUINET**  
**M. Bernard BADET**  
**Mme Valérie DESVERGNES**  
**M. Olivier R. MARTIN**  
**M. Jean-Charles QUIRION**  
**M. Pierre VOGEL**

Directeur de recherche, INSERM, Université d'Orléans  
*Président du jury*  
Directeur de recherche, CNRS, ICSN Gif sur Yvette  
Chargée de recherche, CNRS, Université Bordeaux 1  
Professeur, Université d'Orléans  
Professeur, INSA Rouen  
Professeur, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne



**ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES**

**Institut de Chimie Organique et Analytique**

**THÈSE** présentée par :

**Virginie LIAUTARD**

Soutenue le : **24 Novembre 2008**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : **Chimie Organique**

**CONCEPTION ET SYNTHÈSE D'IMINO-C-  
GALACTOFURANOSIDES COMME  
INHIBITEURS DE LA BIOSYNTHESE DES  
GALACTANES MYCOBACTERIENS**

**THÈSE dirigée par :**

**M. Olivier R. MARTIN**  
**Mme Valérie DESVERGNES**

Professeur, Université d'Orléans  
Chargé de recherche, CNRS, Université Bordeaux 1

**RAPPORTEURS :**

**M. Jean-Charles QUIRION**  
**M. Pierre VOGEL**

Professeur, INSA Rouen  
Professeur, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne

**JURY :**

**M. Jean-Claude JACQUINET**  
**M. Bernard BADET**  
**Mme Valérie DESVERGNES**  
**M. Olivier R. MARTIN**  
**M. Jean-Charles QUIRION**  
**M. Pierre VOGEL**

Directeur de recherche, INSERM, Université d'Orléans  
*Président du jury*  
Directeur de recherche, CNRS, ICSN Gif sur Yvette  
Chargée de recherche, CNRS, Université Bordeaux 1  
Professeur, Université d'Orléans  
Professeur, INSA Rouen  
Professeur, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne



*A mes parents,  
A tous ceux qui m'ont soutenue.*



## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Chimie Organique et Analytique (UMR 6005) de l'Université d'Orléans sous la direction du Professeur Olivier R. Martin et du Docteur Valérie Desvergnès.

Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur Olivier Martin pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pour un stage de Licence, puis de Master II et ensuite pour y effectuer mes travaux de thèse. Je tiens à lui adresser ma profonde reconnaissance pour m'avoir confié ce thème de recherche aussi passionnant et ouvert, pour sa disponibilité, son écoute, et l'aide qu'il m'a apportée tout au long de ces quatre années de travail. La pédagogie dont il m'a fait profiter et ses conseils m'ont aidée dans la conduite mais également dans la rédaction de cette thèse.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude au Docteur Valérie Desvergnès. Je la remercie pour sa disponibilité de tout instant, sa patience, ses conseils avisés et son soutien permanent pendant ces quatre années. Je tiens à nouveau à la remercier pour la confiance qu'elle m'a témoignée, la rigueur scientifique qu'elle a su m'inculquer et son enthousiasme débordant. Son aide et son encadrement sans faille m'ont permis de progresser dans de nombreux domaines.

J'adresse mes plus vifs remerciements aux Professeurs Pierre Vogel (Ecole polytechnique fédérale de Lausanne) et Jean-Charles Quirion (INSA Rouen) pour avoir accepté de juger ce travail et honorer de leur présence le jury de cette thèse.

Mes sincères remerciements s'adressent également au Docteur Bernard Badet (Directeur de recherche CNRS à Gif sur Yvette), et au Docteur Jean-Claude Jacquinet (Directeur de recherche INSERM à Orléans) pour l'honneur qu'ils me font de participer à ce jury.

Je tiens à remercier le professeur Todd L. Lowary pour m'avoir chaleureusement accueillie au sein du département de Chimie de l'Université d'Alberta. Ce séjour n'aurait pas été aussi agréable sans la gentillesse et l'aide que m'a apportées Jean Pearcey pour la réalisation et l'interprétation des évaluations biologiques sur la Galp transférase 2.

Un remerciement particulier au Professeur H.-w. Liu de l'université du Texas à Austin, pour le travail concernant les tests enzymatiques sur l'UDP-Galp mutase et sa disponibilité pour nos discussions lors de sa venue en France

J'associe à ces remerciements tous les membres du labo 7 et particulièrement le Docteur Sylvestre Toumieux pour les discussions fructueuses ou non, échangées tout au long de cette thèse devant les colonnes, les croissants ou les sandwiches. Je remercie aussi Sophinette, sa bonne humeur et le récit des péripéties de ses enfants m'ont permis de réaliser ce travail dans une ambiance plus qu'agréable. Je la remercie également de m'avoir encouragée et aidée pendant ces quatre années. Merci à Philou pour les déjeuners ensoleillés et surtout pour avoir partagé avec moi sa culture scientifique et sa passion pour son métier. Je remercie également Farah pour avoir contribué à la réserve de sucrerie du labo 7 et Alphert pour ses cours de Français et de chimie. Je n'oublie pas non plus les anciens et les nouveaux. Un merci à Kinga,

Sandrine, Ludovic, Vincent, Ténin, Marie, Allan, Christelle, Jérôme, Romain, Mathieu et Karine.

Je souhaite également remercier mes stagiaires Monsieur Samuel Joubert et Monsieur Brice Martinez pour l'excellent travail qu'ils ont fourni et qui a contribué à l'avancement de ce travail.

J'adresse également mes remerciements à Jean-Marie qui est toujours là quand on a besoin de lui, pour ses agréables discussions et ses magnifiques plants de tomates.

Merci à toutes les personnes de l'ICOA, qui au cours de ces années, m'ont encouragée, aidée et permis de réaliser ce travail dans une ambiance sympathique. Je pense tout particulièrement à Catherine et Christelle pour nos longues soirées à l'ICOA, Aude pour ces délicieux macarons, Niko, Lolo, Nico et Fred pour les soirées rollers, Mimi, Arnaud, Sandrina, Pascal, Elise, Matteo, Aurélie, Jojo, Cyril, Franck, Eddy, Oana, Abdel, Aurélien, Damien, Vincent, Alain-Michel, Véronique, Hélène, ainsi que Jean-Claude et Chrystel pour leur patience.

Je remercie profondément les membres de ma famille et mes proches, en particulier mes parents, mon frère et Elisabeth, pour leur confiance et leur soutien inconditionnel tout au long de cette thèse.

J'adresse mes plus profonds remerciements à Jocelyn qui par sa patience, son écoute et sa compréhension m'a permis d'effectuer cette thèse et de rédiger ce manuscrit dans les meilleures conditions.

Finalement, je remercie le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche pour son soutien financier.

## SIGLES ET ABBREVIATIONS

[ $\alpha$ ]	Pouvoir rotatoire spécifique
Ac	Acétyle
ACN	Acétonitrile
AcOH	Acide acétique
AG	Arabinogalactane
Ala	Alanine
aq.	Phase aqueuse
Ar	Aromatique
<i>Araf</i>	Arabinofuranose
atm	Atmosphère
Bn	Benzyle
Bz	Benzoyle
Calcd	Calculé de l'anglais calculated
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazole
CM	Métathèse croisée
conc.	Concentré
Cp*	Pentaméthylcyclopentadiényle
Cq	Carbone Quaternaire
CSA	Acide camphre sulfonique
d	Doublet
DAP	Diaminopimélique
DBU	1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-ène
DCM	Dichlorométhane
dd	Doublet de doublet
DET	Tartrate de diéthyle
DIBAL	Hydrure de diisobutylaluminium
DMAP	4-Diméthylaminopyridine
DMDP	2,5-didésoxy-2,5-imino-D-mannitol
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde

DNJ	Désoxynojirimicine
DOTS	Traitement de brève durée sous surveillance directe de l'anglais Directly Observed Treatment Short-course
e.d.	Excès diastéréoisomérique
EC	Numéro de la commission des enzymes
EDTA	Ethylènediamine tétraacétate de sodium
EP	Ether de pétrole
équiv.	Equivalent
ESI	Ionisation par électrospray
Et	Ethyle
FAD	Flavine adénine dinucléotide
FADH <sub>2</sub>	Flavine adénine dinucléotide réduite neutre
Gal <sub>f</sub>	Galactofuranose
Gal <sub>p</sub>	Galactopyranose
GalPUT	Galactose-1-phosphate uridyltransferase
GalU	Glucose-1-phosphate uridyltransferase
Glc	Glucose
GlcNAC	<i>N</i> -acétylglucosamine
Gl <sub>f</sub> T	Galactofuranose transférases
h	Heure
HEPES	Acide 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineéthanesulfonique
HNTf <sub>2</sub>	Bis(trifluorométhanesulfonyl)amine
HOMO	Orbitale moléculaire la plus haute occupée, de l'anglais Highest Occupied Molecular Orbital
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
HRMS	Spectrométrie de masse haute résolution
Hz	Hertz
IBX	Acide 2-Iodoxybenzoïque
IC <sub>50</sub>	Concentration pour inhiber 50% de l'action de l'enzyme
IR	Infra-rouge
<i>J</i>	Constante de couplage
k <sub>cat</sub>	Constante catalytique
<i>K</i> <sub>d</sub>	Constante de dissociation
<i>K</i> <sub>i</sub>	Constante d'inhibition

$K_m$	Constante de Michaelis
L	Ligand
LAM	Lipoarabinomannane
LDH	Lactate déshydrogénase
LUMO	Orbitale moléculaire la plus basse vacante, de l'anglais Lowest Unoccupied Molecular Orbital
M	Métal
m	Multiplet
$m/z$	Ratio masse sur charge
$M^+$	Ion parent moléculaire
mAGP	Complexe mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane
MALDI	Ionisation par désorption laser assistée par matrice
Me	Méthyle
MHz	Mégahertz
MIC	Concentration inhibitrice minimale
min	Minutes
MMT	5-mercapto-1-méthyl-1H-tétrazole
Mol. Wt.	Masse molaire de l'anglais Molecular Weight
MOPS	Acide 3-( <i>N</i> -morpholino)-propane sulfonique
MQ	Eau distillée dé-ionisée de l'anglais MilliQ water
Ms	Méthanesulfonyle (Mésyle)
MS	Spectrométrie de masse
N	Normal (équivalent par litre)
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NMO	Oxide de <i>N</i> -méthylmorpholine
NOESY	Spéctroscopie à deux dimensions $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ par effet Overhauser nucléaire de l'anglais Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Nu	Nucléophile
OM	Orbitale moléculaire
PCC	Chlorochromate de Pyridinium
Pd/C	Palladium sur charbon
PE	Ether de pétrole
PEP	Acide phospho-(énol)-pyruvique
pH	Potentiel Hydrogène

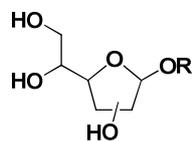
PK	Pyruvate kinase
pKa	Potentiel d'acidité d'un couple
PNP	Purine Nucléoside Phosphorylase
ppm	Partie par million
PPTS	Pyridinium <i>p</i> -toluènesulfonate
q	Quadruplet
R <sub>f</sub>	Rapport frontal
Rhap	Rhamnopyranose
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
Rpm	Rotation par minute
s	Singulet
SM	Spectrométrie de masse
S <sub>N</sub>	Substitution Nucléophile
STD	Différence de transfert de saturation
t	Triplet
TA	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tetra- <i>n</i> -butylammonium
TBAHS	Sulfate de tetrabutylammonium hydrogène
TBAT	Tetrabutylammonium triphenyl difluorosilicate
TBDPS	<i>Tert</i> -butyl diphényl silyle
<sup>t</sup> Bu	<i>Tert</i> -butyle
TEMPO	2,2,6,6-tétraméthyl-1-piperidinyloxyle
Tf	Trifluorométhanesulfonyle (Triflate)
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tetrahydrofurane
TLC	Chromatographie sur couche mince de l'anglais Thin Chromatography Layer
TMS	Triméthylsilyle ; Tetraméthylsilane
TMSOTf	Triflate de triméthylsilyle
TOF	Temps de vol de l'anglais Time of flight
Tol	Toluène
TPAP	Perruthénate de tétrapropylammonium
Tr	Triphénylméthyl (Trityle)
Ts	<i>p</i> -toluènesulfonyle (Tosyle)
UDP	Uridine-5'-diphosphate

UGM	UDP-Galactopyranose mutase
UMP	Uridine-5'-monophosphate
UTP	Uridine-5'-triphosphate
UV	Ultra-violet
Z	Benzyloxycarbonyl

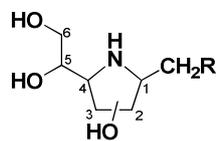


## CONVENTIONS ET NOMENCLATURE

Les conventions utilisées pour la nomenclature et la numérotation des iminosucres sont résumées dans le schéma suivant.

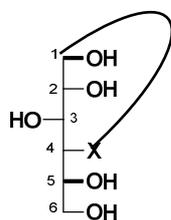


Hexofuranose

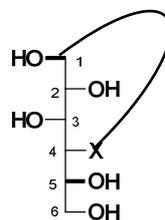


1,4-didésoxy-1,4-iminohexitol

Un substituant en position pseudo-anomérique (C-1) est dit en orientation  $\beta$  s'il se trouve en *trans* du groupement 5-hydroxyl dans la projection de Fischer. Il est dit en  $\alpha$  s'il se trouve en *cis* de cette fonction.

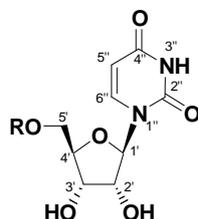


1,5-*Cis* =  $\alpha$

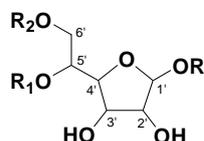


1,5-*Trans* =  $\beta$

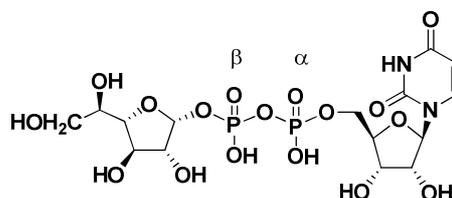
Dans les structures des analogues de nucléotides, la base pyrimidinique Uracile peut être abrégée par U. La numérotation du nucléoside étant représentée comme suit :



Dans le cas des analogues de disaccharides la numérotation de la partie glycosidique utilisée sera la suivante :



Sur le motif pyrophosphate, le premier phosphate lié à l'Uridine est appelé phosphate  $\alpha$  et le second phosphate  $\beta$ .





# SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE .....	21
<b>CHAPITRE 1 : LA BIOSYNTHESE DES GALACTANES.....</b>	<b>27</b>
I. INTRODUCTION .....	29
II. STRUCTURE DE LA PAROI CELLULAIRE MYCOBACTERIENNE .....	31
II.1. Les différents composants de paroi mycobactérienne.....	31
II.2. Structure du complexe mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane (mAGP).....	32
II.2.1. <i>Les peptidoglycanes</i> .....	33
II.2.2. <i>Les arabinogalactanes (AG)</i> .....	34
II.2.3. <i>Les acides mycoliques</i> .....	35
II.3. Le métabolisme du galactofuranose .....	37
III. UDP-GALACTOPYRANOSE MUTASE (UGM).....	40
III.1. Caractérisation et structure de l'enzyme .....	40
III.2. Etude mécanistique.....	45
III.2.1. <i>Présentation du mécanisme réactionnel</i> .....	46
III.2.2. <i>Rôle de la Flavine</i> .....	50
III.3. Inhibiteurs de l'UDP-Galp mutase .....	55
III.3.1. <i>Les analogues fluorés de l'UDP-Galp ou de l'UDP-Galf</i> .....	55
III.3.2. <i>Les pyrrolidines polyhydroxylées</i> .....	56
III.3.3. <i>Les autres analogues de sucres</i> .....	58
III.3.4. <i>Les composés issus du criblage de librairie</i> .....	61
III.4. Conclusion.....	64
IV. LES GALACTOFURANOSYL TRANSFERASES (GLFT) .....	66
IV.1. La biosynthèse des galactanes .....	66
IV.1.1. <i>Les glycosyltransférases</i> .....	66
IV.1.2. <i>GlfT2</i> .....	66
IV.1.3. <i>GlfT1</i> .....	68
IV.1.4. <i>Autres galactosyltransférases</i> .....	69
IV.2. Mécanisme proposé .....	69
IV.3. Les inhibiteurs potentiels des GlfT .....	70
IV.3.1. <i>Analogues d'accepteurs</i> .....	70
IV.3.2. <i>Analogues d'états de transition</i> .....	71

V.	LES IMINOSUCRES .....	73
V.1.	Activité biologique des iminosucres .....	73
V.1.1.	<i>Généralités</i> .....	73
V.1.2.	<i>Les pyrrolidinols</i> .....	74
V.2.	Objectifs synthétiques et stratégie envisagée .....	76
V.2.1.	<i>Choix des structures</i> .....	76
V.2.2.	<i>Synthèse stéréodivergente envisagée</i> .....	77
VI.	CONCLUSION .....	80
<b>CHAPITRE 2 : VERS LA SYNTHÈSE D'ANALOGUES NUCLEOTIDES-IMINOSUCRE <math>\alpha</math> DE L'UDP-</b>		
<b>GALF .....</b>		<b>81</b>
I.	NOTIONS BIBLIOGRAPHIQUES .....	83
I.1.	Synthèse de dérivés d'iminohexofuranoses .....	83
I.1.1.	<i>Synthèse du squelette iminogalactitol</i> .....	83
I.1.1.	<i>Méthodologie de Fleet</i> .....	84
I.1.2.	<i>Méthodologie de Wightman</i> .....	85
I.1.3.	<i>méthodologie de Nicotra</i> .....	85
I.1.4.	<i>La Stratégie de Wong et ses collaborateurs</i> .....	87
I.2.	Méthodologie de synthèse envisagée .....	88
II.	SYNTHÈSES DE N-GLYCOSYLAMINES .....	90
II.1.	Préparation de l'intermédiaire clé commun : 2, 3, 5, 6-tetra-O-benzyl-D-glucofuranose .....	90
II.2.	Préparation de N-Glucosylamines .....	92
II.2.1.	<i>Méthode rapportée par Kobayashi</i> .....	92
II.2.2.	<i>N-glycosylation de l'hémiacétal 3</i> .....	95
III.	SYNTHÈSE D' $\alpha$ -1,4-IMINO-C-GALACTOSIDES SIMPLES .....	102
III.1.	Addition nucléophile assistée par acide de Lewis .....	102
III.1.1.	<i>Optimisation des conditions avec l'allyltriméthylsilane</i> .....	102
III.1.2.	<i>Additions de divers nucléophiles silylés</i> .....	104
III.1.3.	<i>Mécanisme et stéréochimie de l'addition nucléophile</i> .....	108
III.2.	Synthèse de pyrrolidinols .....	112
III.2.1.	<i>Synthèses d'iminoalactitols substitués par des motifs aliphatiques insaturés.</i> .....	112
III.2.2.	<i>Synthèses d'iminoalactitols substitués par groupe CN</i> .....	113

III.2.3.	<i>Synthèses d'iminogalactitols substitués par des motifs carbonylés</i> .....	114
III.3.	Elucidation de la stéréochimie des produits obtenus.....	115
IV.	SYNTHESE D'ANALOGUES DE NUCLEOTIDES-SUCRES VIA UNE REACTION DE METATHESE CROISEE.....	119
IV.1.	La métathèse croisée .....	119
IV.1.1.	<i>Choix des oléfines</i> .....	120
IV.1.2.	<i>Mécanisme</i> .....	121
IV.1.3.	<i>Choix du catalyseur</i> .....	122
IV.1.4.	<i>Métathèses croisées d'oléfines d'iminosucres et de phosphonate : précédents</i> .....	123
IV.2.	Etude modèle de la réaction de métathèse croisée avec un vinylphosphonate simple .....	124
IV.2.1.	<i>Optimisation des conditions de métathèse croisée</i> .....	124
IV.2.2.	<i>Optimisation des conditions de N et O-déprotection de l'iminosucre 46</i> ....	130
IV.3.	Synthèse d'un analogue de substrat dimérique .....	132
IV.4.	Application à la synthèse d'iminosucre Uridine MonoPhosphate .....	134
IV.4.1.	<i>Préparation du partenaire de métathèse vinyl Uridine MonoPhosphate (vinyl UMP)</i> .....	134
IV.4.2.	<i>Synthèse du composé 53 par métathèse croisée</i> .....	135
IV.4.3.	<i>Obtention d'un analogue de substrat naturel</i> .....	136
V.	PREPARATION DE $\beta$ -CETOPHOSPHONATE .....	138
V.1.	Par fonctionnalisation de la double liaison exocyclique .....	138
V.2.	Par l'addition nucléophile sur le 1-C-acétaldéhyde-1,4-iminogalactitol <b>60</b> .....	139
V.2.1.	<i>Retrosynthèse envisagée</i> .....	139
V.2.2.	<i>Préparation de l'aldéhyde</i> .....	139
V.2.3.	<i>Addition du lithien du méthane phosphonate de diméthyle</i> .....	141
V.2.4.	<i>Oxydation du <math>\beta</math>-hydroxyphosphonate</i> .....	143
V.2.5.	<i>Fonctionnalisation du phosphonate</i> .....	143
V.2.6.	<i>Oléfination d'Horner-Emmons</i> .....	144
VI.	SYNTHESE D'ANALOGUES DE LA PHOSMIDOSINE .....	145
VI.1.	Le lien N-acylphosphoramidate.....	145
VI.1.1.	<i>Méthodologie de synthèse</i> .....	146
VI.1.2.	<i>Préparation de l'amide</i> .....	148
VI.1.3.	<i>Réaction de phosphorylation</i> .....	150
VI.2.	Synthèse d'un lien de type N-(alkoxycarbonyl)-phosphoramidate .....	153

VII.	CONCLUSION.....	156
<b>CHAPITRE 3 : SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE L'UDP-GALF EN SÉRIE <math>\beta</math>-</b>		
<b>IMINO GALACTOFURANOSE..... 159</b>		
I.	INTRODUCTION ET TRAVAUX PRELIMINAIRES.....	161
I.1.	Rappel bibliographique : Accès aux nitrones cycliques de type pyrroline-N-oxydes .....	161
I.2.	Cycloaddition 1,3-dipolaire de nitrones.....	165
I.3.	Nitrones de sucres : précurseurs d'iminosucres.....	167
II.	SYNTHÈSE DE L'INTERMEDIAIRE CLE : LA NITRONE <b>81</b> .....	171
III.	CYCLOADDITION 1,3-DIPOLAIRE AVEC DES VINYLPHOSPHONATES SIMPLES.....	172
III.1.	Synthèse de l'imino galactitol phosphoré <b>84</b> .....	172
III.2.	Déprotection totale.....	177
IV.	APPLICATION A LA SYNTHÈSE D'UN IMINOSUCRE-URIDINE MONOPHOSPHATE.....	179
V.	CONCLUSION.....	182
<b>CHAPITRE 4 : LA SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE DISACCHARIDES DU GALF ..... 183</b>		
I.	LES IMINO-C-DISACCHARIDES.....	185
II.	SYNTHÈSE D'IMINO-DISACCHARIDES POSSEDANT UN LIEN GLYCOSIDIQUE OXAALKYLE.....	192
II.1.	Etude modèle.....	192
II.2.	Synthèse d'un analogue du Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galf.....	196
II.3.	Synthèse d'un analogue du Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-Galf.....	201
III.	PREPARATION D'UN IMINO-C-DISACCHARIDE.....	205
III.1.	Synthèse d'un analogue du Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galf.....	205
III.2.	Synthèse d'un analogue du Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-Galf.....	208
IV.	BILAN.....	212
<b>CHAPITRE 5 : ÉVALUATION BIOLOGIQUE..... 215</b>		
I.	EVALUATION DE L'INHIBITION DE L'UDP-GALP MUTASE (UGM) PAR LES COMPOSES SYNTHETISES.....	217

II.	EVALUATION DE L'INHIBITION DE LA GALF TRANSFERASE 2 (GLFT2) PAR LES COMPOSES SYNTHETISES.....	222
II.1.	Principe du test spectrophotométrique .....	222
II.2.	Evaluations des analogues d'accepteurs de glycosyle .....	225
II.3.	Evaluations des analogues de donneurs de glycosyle .....	228
III.	CONCLUSION .....	233
	<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>235</b>
	<b>PARTIE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>241</b>
I.	GENERAL TECHNIQUES .....	243
II.	EXPERIMENTALES PROCEDURES.....	244
III.	INHIBITION ASSAY OF IMINOGALACTITOL DERIVATIVES FOR UDP-GALACTOPYRANOSE MUTASE FROM ESCHERICHIA COLI .....	381
IV.	INHIBITION ASSAY OF IMINOGALACTITOL DERIVATIVES FOR GALACTOFURANOSYLTRANSFERASE 2 (GLFT2).....	382
IV.1.	Chemoenzymatic synthesis of UDP-Galf.....	382
IV.2.	Acceptor Analog Inhibition Studies of GlfT2 Using a Coupled Spectrophotometric Assay .....	383
IV.3.	Donor Analog Inhibition Studies of GlfT2 Using a Coupled Spectrophotometric Assay .....	384
	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>385</b>
	<b>ANNEXES .....</b>	<b>399</b>
	LISTE RECAPITULATIVE DES PRODUITS SYNTHETISES .....	401
	PUBLICATIONS.....	404



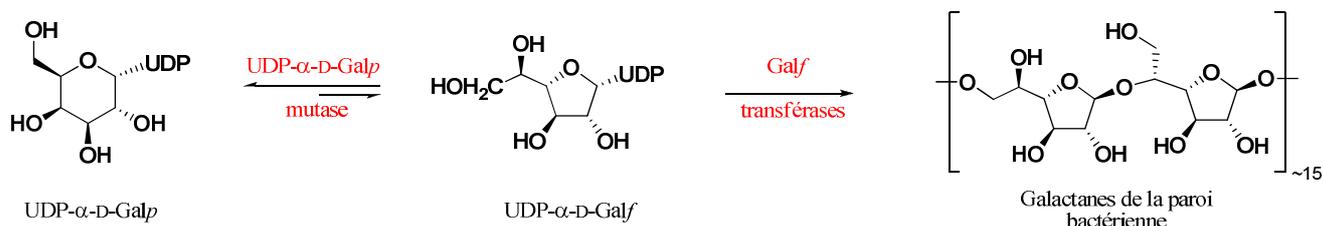
# INTRODUCTION GENERALE



Les infections résultant d'une contamination mycobactérienne sont nombreuses et en recrudescence à cause de problèmes de multi-résistance aux traitements antibiotiques. Les infections les plus importantes sont la Lèpre et la Tuberculose, qui à elle seule, a touché 9,2 millions de personnes à travers le monde en 2006. A ce jour, il existe un seul traitement combiné et efficace pour lutter contre la Tuberculose (traitement DOTS), mais il n'est pas actif contre toutes les espèces mycobactériennes infectieuses. Face à un tel problème de santé internationale, il est essentiel de trouver des cibles chimiothérapeutiques inédites et de développer de nouveaux traitements. C'est pourquoi les mycobactéries et plus particulièrement les constituants indispensables à leur survie, tels que leur paroi cellulaire, font aujourd'hui l'objet de nombreuses études.

Ce travail a pour objectif l'identification de nouvelles molécules qui pourraient agir comme inhibiteurs de la biosynthèse des galactanes de la paroi mycobactérienne et, à terme, ouvrir la voie à de nouvelles entités à activité antimycobactérienne.

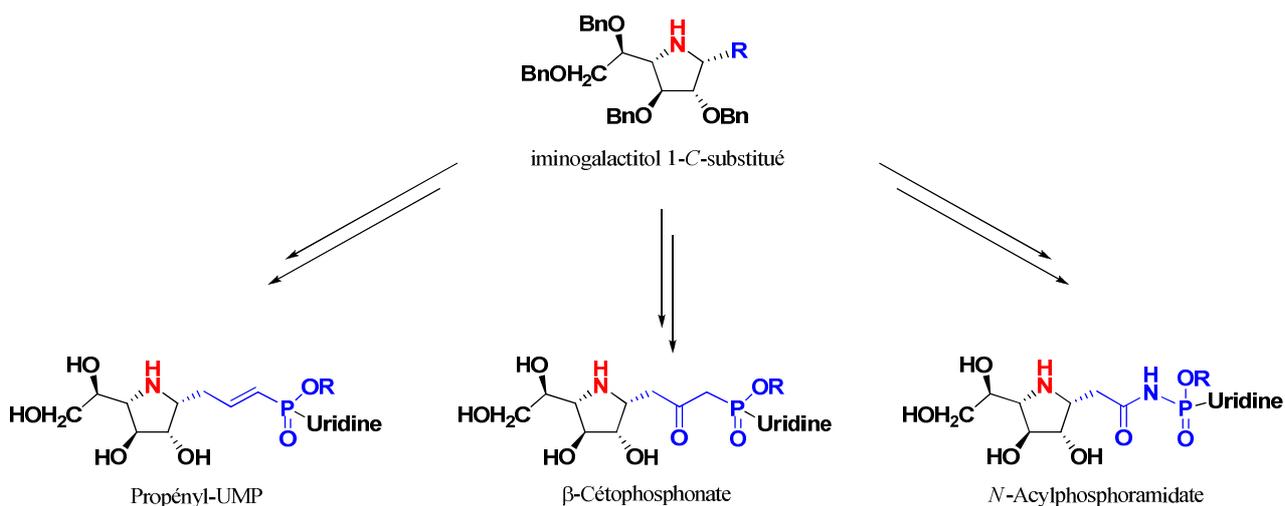
Dans le premier chapitre, le complexe mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane, l'un des polysaccharides constituant la paroi mycobactérienne, sera présenté, avec une étude approfondie de la biosynthèse des galactanes s'appuyant sur les mécanismes enzymatiques mis en jeu et les inhibiteurs des deux familles d'enzymes impliquées dans ce processus, l'uridine-5'-diphospho galactopyranose (UDP-Galp) mutase et les galactofuranose transférases.



**Schéma 1 :** Biosynthèse des galactanes

Nos efforts ont porté sur la conception et la synthèse de nouveaux analogues de l'UDP-Galf incorporant un iminosucre et ciblant la biosynthèse des galactanes. Dans ce but, nous présenterons deux approches stéréodivergentes conduisant à des composés dont le squelette galactofuranose sera mimé par un imino-C-glycoside de configuration D-galacto et où la partie pyrophosphate sera remplacée par différents liens de longueur similaire.

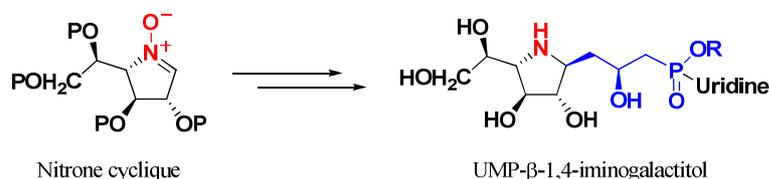
Nous consacrerons le second chapitre de ce manuscrit à la synthèse d'analogues de l'UDP-Galf de configuration α, identique à celle du substrat naturel. Dans un premier temps, nous nous intéresserons à la synthèse peu étudiée d'iminogalactitols diversement fonctionnalisés en position pseudo-anomérique (C-1). Puis nous étudierons la fonctionnalisation de ces composés de manière à obtenir des analogues nucléotides-iminosucres de l'UDP-Galf portant différents liens entre l'iminogalactitol et le nucléotide.



**Schéma 2 :** Structures envisagées des analogues de l'UDP-Galf de configuration  $\alpha$

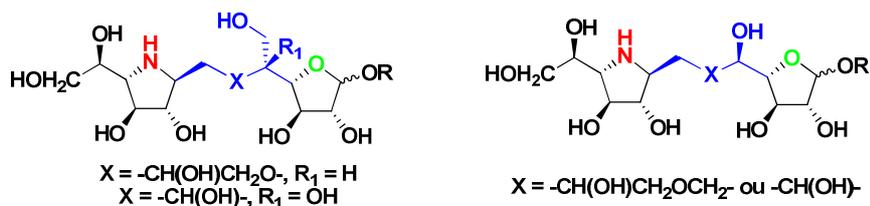
Nous nous concentrerons sur l'obtention d'un lien propényl UMP par métathèse croisée, puis nous envisagerons la synthèse d'un lien  $\beta$ -cétophosphonate. Enfin, par analogie avec différents produits naturels, nous nous intéresserons à la synthèse d'un lien *N*-acylphosphoramidate.

Dans le chapitre III, nous rapporterons l'obtention d'analogues de l'UDP-Galf de configuration  $\beta$ . Dans ce but, nous développerons une approche complémentaire de la précédente permettant l'accès à des nucléotides-iminosucres à partir d'une nitrone de configuration *galacto*.



**Schéma 3 :** Structure envisagée des analogues de l'UDP-Galf de configuration  $\beta$

Dans le cadre de l'étude plus particulière des Galf transférases, récemment identifiées, le quatrième chapitre abordera la synthèse de disaccharides analogues des substrats accepteurs de ces enzymes. Ces imino-disaccharides seront préparés avec des variations de la liaison-inter-glycosidique, type oxaalkyle ou entièrement carbonée (imino-C-disaccharides).



**Schéma 4 :** Structures envisagées des imino-disaccharides

Le cinquième chapitre sera consacré à la présentation des résultats des évaluations biologiques, qui ont été réalisées respectivement sur l'UDP-Gal $p$  mutase en collaboration avec le Professeur Liu (Université du Texas, Austin, USA) et sur la Gal $f$  transférase 2 avec le Professeur T. L. Lowary (Université d'Alberta, Edmonton, Canada).



# CHAPITRE 1 : LA BIOSYNTHESE DES GALACTANES



## I. INTRODUCTION

Les mycobactéries appartiennent au genre *Actinobacteria* et à la famille des *Mycobacteriaceae*. Ce sont des micro-organismes saprophytes présents dans notre environnement. On les retrouve dans les sols, les eaux, chez les animaux et les végétaux. A ce jour, on dénombre 130 espèces de mycobactéries dont le pouvoir pathogène varie de la simple contamination aux infections mortelles. Deux classes de mycobactéries sont fréquemment distinguées. Les mycobactéries tuberculeuses, qui sont pathogènes, et les mycobactéries atypiques ou encore appelées non tuberculeuses qui peuvent être pathogènes, non pathogènes ou opportunistes (qui touchent spécifiquement les individus présentant des troubles du système immunitaire).<sup>1</sup> Les espèces mycobactériennes les plus connues sont les complexes *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* ainsi que *Mycobacterium avium* qui sont les agents infectieux respectifs de la tuberculose, la lèpre et la maladie de Crohn.

Un siècle après la découverte du bacille de Koch en 1905, la tuberculose reste la première cause de mortalité liée à un agent infectieux unique,<sup>2</sup> malgré l'existence d'un vaccin et de puissants antibiotiques spécifiques. En 2006, 9,2 millions de personnes ont contracté la tuberculose et 1,7 millions en sont morts,<sup>3</sup> ce qui en fait l'infection mycobactérienne la plus répandue au monde. La seconde cause de mortalité est la lèpre dont 265 661 nouveaux cas ont été dépistés la même année.<sup>4</sup>

Les traitements antibiotiques ont largement permis de contenir ces infections cependant ils se heurtent désormais à l'apparition de souches multi-résistantes.<sup>5</sup> De plus, ces traitements s'avèrent souvent inefficaces contre les espèces mycobactériennes atypiques.<sup>6,7</sup> Or, seuls deux nouveaux antibiotiques sont apparus sur le marché depuis 1962.<sup>8</sup> Très récemment, la découverte d'un nouvel antibiotique possédant un mode d'action différent de ceux existant à été décrit, ce qui suscite beaucoup d'espoir.<sup>9</sup> Dans un tel contexte, le développement de nouveaux traitements agissant avec des modes d'action différents sur ces agents infectieux est devenu un enjeu de santé fondamental.<sup>10</sup>

Les difficultés rencontrées dans le traitement de ces maladies résultent notamment de la structure unique de la paroi cellulaire des ces microorganismes. En effet, cette paroi

---

<sup>1</sup> Adle-Biasette, H.; Huerre, M.; Breton, G.; Ruimy, R.; Carbone, A.; Trophime, D.; Yacoub, M.; Regnier, B.; Yeni, P.; Vilde, J.-L.; Henin, D., *Ann. Pathol.* **2003**, *23*, 216-235.

<sup>2</sup> Raviglione, M. C.; Snider, D. E.; Kochi, A., *JAMA* **1995**, *273*, 220-226.

<sup>3</sup> [www.who.int/tb/fr/index.html](http://www.who.int/tb/fr/index.html).

<sup>4</sup> OMS, *Relevé Épidémiologique Hebdomadaire (REH)* **2008**, *83*, 293-300.

<sup>5</sup> Collins, F. M., *CRC Crit. Rev. Microbiol* **1993**, *19*, 1-16.

<sup>6</sup> Jarlier, V.; Nikaido, H., *FEMS Microbiol. Lett.* **1994**, *123*, 11-18.

<sup>7</sup> Yuong, D. B.; Duncan, K., *Annu. Rev. Microbiol.* **1995**, *49*, 641-673.

<sup>8</sup> Walsh, C. T.; Wrigth, G., *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391-393.

<sup>9</sup> Wang, J.; Soisson, S. M.; Young, K.; Shoop, W.; Kodali, S.; Galgoci, A.; Painter, R.; Parthasarathy, G.; Tang, Y. S.; Cummings, R.; Ha, S.; Dorso, K.; Motyl, M.; Jayasuriya, H.; Ondeyka, J.; Herath, K.; Zhang, C.; Hernandez, L.; Allocco, J.; Basilio, A.; Tormo, J. R.; Genilloud, O.; Vicente, F.; Pelaez, F.; Colwell, L.; Lee, S. H.; Michael, B.; Felcetto, T.; Gill, C.; Silver, L. L.; Hermes, J. D.; Bartizal, K.; Barrett, J.; Schmatz, D.; Becker, J. W.; Cully, D.; Singh, S. B., *Nature* **2005**, *441*, 358-361.

<sup>10</sup> O'Brien, R. J.; Nuun, P. P., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2001**, *163*, 1055-1058.

spécifique à la famille des *Actinobacteria*,<sup>11</sup> est une formidable barrière au passage d'antibiotiques dans l'organisme et permet la survie et le développement du microorganisme dans un milieu hostile. C'est pourquoi l'étude de la biosynthèse de la paroi bactérienne fait aujourd'hui l'objet d'un regain d'intérêt dans le cadre de la recherche de nouveaux antimycobactériens.

Dans un premier temps nous allons nous intéresser à la constitution de la paroi cellulaire, et nous nous attacherons plus en détail à celle des galactanes. Compte tenu de l'importance biologique de ce polymère, nous nous concentrerons sur sa biosynthèse et par conséquent sur les enzymes qui sont mise en jeu, l'UDP-Galactopyranosyl mutase (UDP-Galp mutase) ainsi que les Galactofuranosyl transférases (Galf transférases).

Nous expliciterons ensuite, pourquoi nous avons choisi de synthétiser des cibles de type iminosucres, analogues azotés de sucres, reconnus pour leurs activités inhibitrices de la synthèse de nombreux glycoconjugués et autres oligosaccharides.<sup>12,13</sup>

Pour finir, nous présenterons la structure de composés cibles, conçus de façon rationnelle, comme des inhibiteurs potentiels de la biosynthèse des galactanes. Nous détaillerons également la méthodologie envisagée pour les synthétiser.

---

<sup>11</sup> Brennan, P. J.; Nikaido, H., *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 29-63.

<sup>12</sup> Stütz, A. E., *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: New York, 1999.

<sup>13</sup> Compain, P.; Martin, O. R., *Iminosugar: From synthesis to therapeutic applications*. Wiley: Chichester, 2007.

## II. STRUCTURE DE LA PAROI CELLULAIRE MYCOBACTERIENNE

L'une des particularités des mycobactéries est leur capacité à survivre et à se développer dans la cellule hôte qui représente un environnement hostile. Notamment, la paroi cellulaire permet aux mycobactéries de tolérer les variations de pression osmotique et leur membrane cytoplasmique permet une résistance à des pH compris entre 6 et 9.<sup>11</sup> Cette structure originale très riche en lipides bloque également le passage des antibiotiques vers leurs sites d'action.

La barrière hydrophobe fait partie du composant majeur qui est le complexe mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane (mAGP). L'étude de la structure et de la biosynthèse de ce complexe protecteur, spécifique à ces microorganismes, constitue donc un aspect important de la recherche de nouvelles cibles biologiques pour lutter contre les pathogènes.

Nous allons donc nous intéresser à la constitution de cette paroi mycobactérienne.

### II.1. LES DIFFERENTS COMPOSANTS DE PAROI MYCOBACTERIENNE

Les premières études sur la structure de la paroi cellulaire mycobactérienne ont débuté dans les années 70. La structure admise et rapportée résulte d'études biochimiques<sup>14</sup> ainsi que d'études par microscopie électronique<sup>15</sup> qui ont permis de mettre en évidence la présence d'une importante barrière lipidique à l'extérieur de la cellule, formée d'acides mycoliques ainsi que d'un assortiment de lipides libres plus courts.

La paroi cellulaire est constituée de 3 éléments majeurs<sup>16</sup> : (Figure 2)

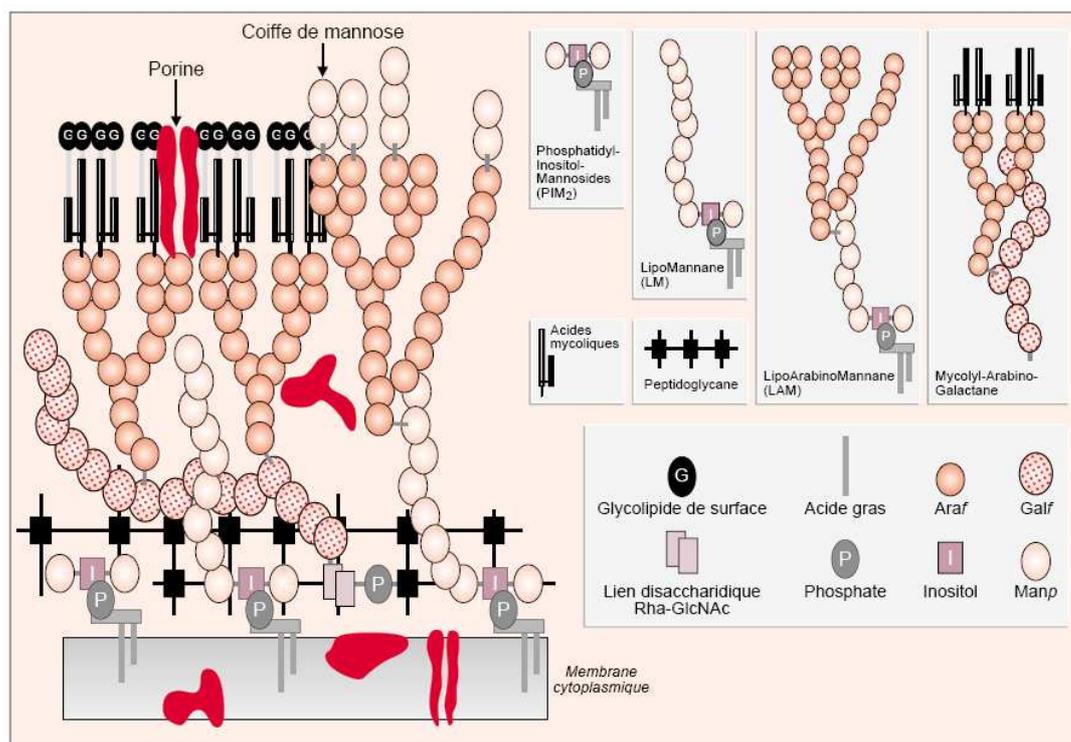
- une membrane cytoplasmique,
- un centre constitué de deux macromolécules, le lipoarabinomannane (LAM) et le complexe mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane (mAGP),
- une couche de lipides, glycolipides et protéines liés de façon non covalente.

---

<sup>14</sup> Petit, J. F.; Lederer, E., The structure of the mycobacterial cell wall. In *The mycobacteria, A sourcebook.*, Kubica, G. P.; Wayne, L. G., Eds. Marcel Dekker: New York, **1984**; pp 301-322.

<sup>15</sup> Wee, A. G. H.; Tang, F., *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6677-6680.

<sup>16</sup> Brennan, P. J.; Crick, D. C., *Curr. Top. Med. Chem.* **2007**, 7, 475-488.



**Figure 2 :** Représentation schématique de l'enveloppe mycobactérienne et de ses principaux constituants.<sup>17</sup>

## II.2. STRUCTURE DU COMPLEXE MYCOLYL-ARABINO GALACTANE-PEPTIDOGLYCANE (MAGP)

L'existence d'un réseau polysaccharidique reliant les peptidoglycans mycobactériens aux acides mycoliques a été proposée il y a 40 ans.<sup>18</sup> A la même période, les premières fractions de polysaccharides contenant des arabinogalactanes étaient isolées.<sup>19,20</sup> Néanmoins, il a fallu attendre jusqu'à cette année (2008) pour que la structure complète du complexe soit décrite (Figure 3).<sup>21</sup>

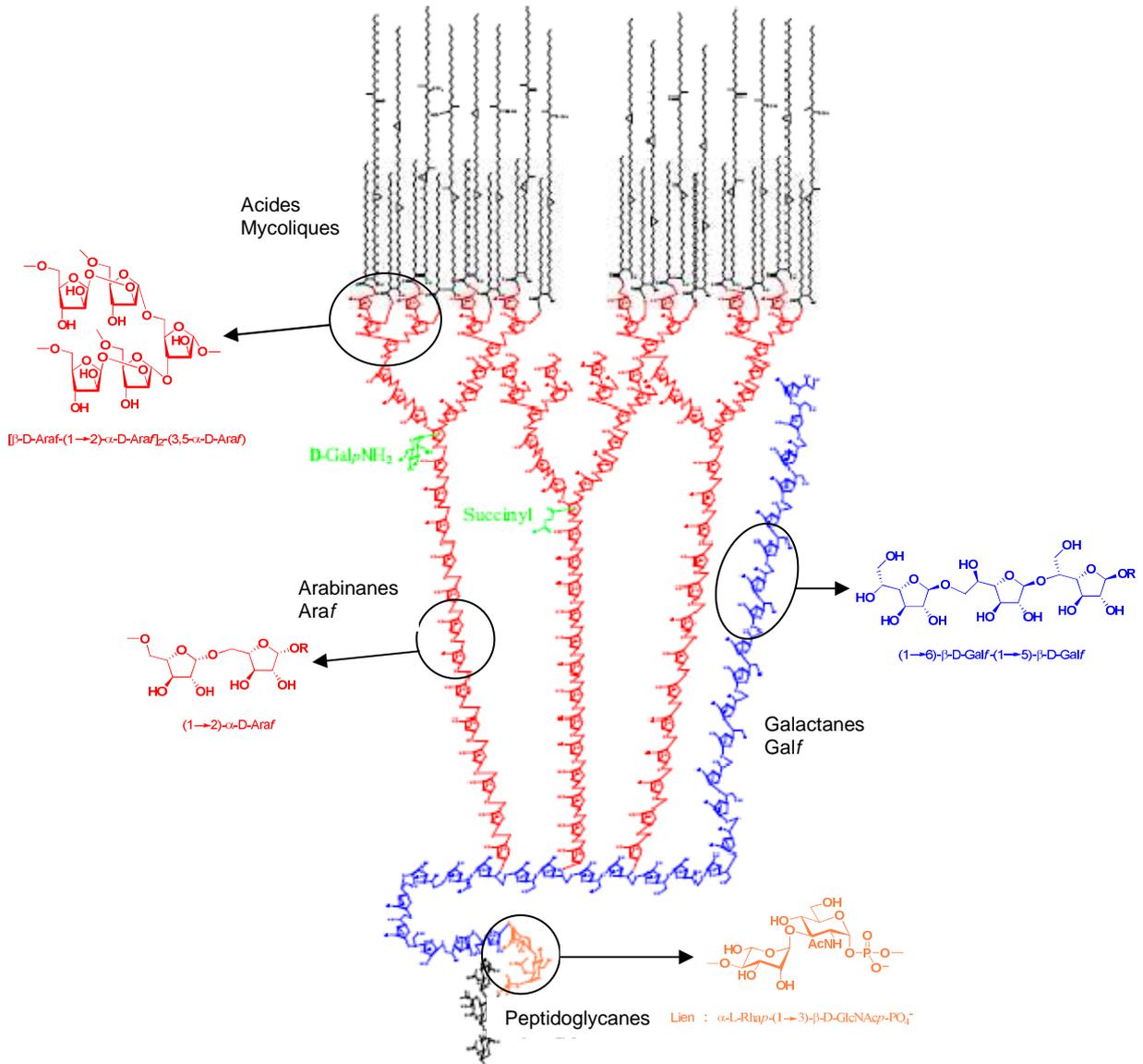
<sup>17</sup> Kremer, L.; Besra, G. S.; Brennan, P. J.; Baulard, A. R., *médecine/sciences* **1999**, *15*, 842-850.

<sup>18</sup> Kanetsuna, F., *Biochim. Biophys. Acta* **1968**, *158*, 130-143.

<sup>19</sup> Misaki, A.; Yukawa, S.; Tsuchiya, K.; Yamasaki, T., *J. Biochem.* **1966**, *59*, 388-396.

<sup>20</sup> Misaki, A.; Yukawa, S., *J. Biochem.* **1966**, *59*, 511-520.

<sup>21</sup> Bhamidi, S.; Scherman, M. S.; Rithner, C. D.; Prenni, J. E.; Chatterjee, D.; Khoo, K.-H.; McNeil, M. R., *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 12992-13000.

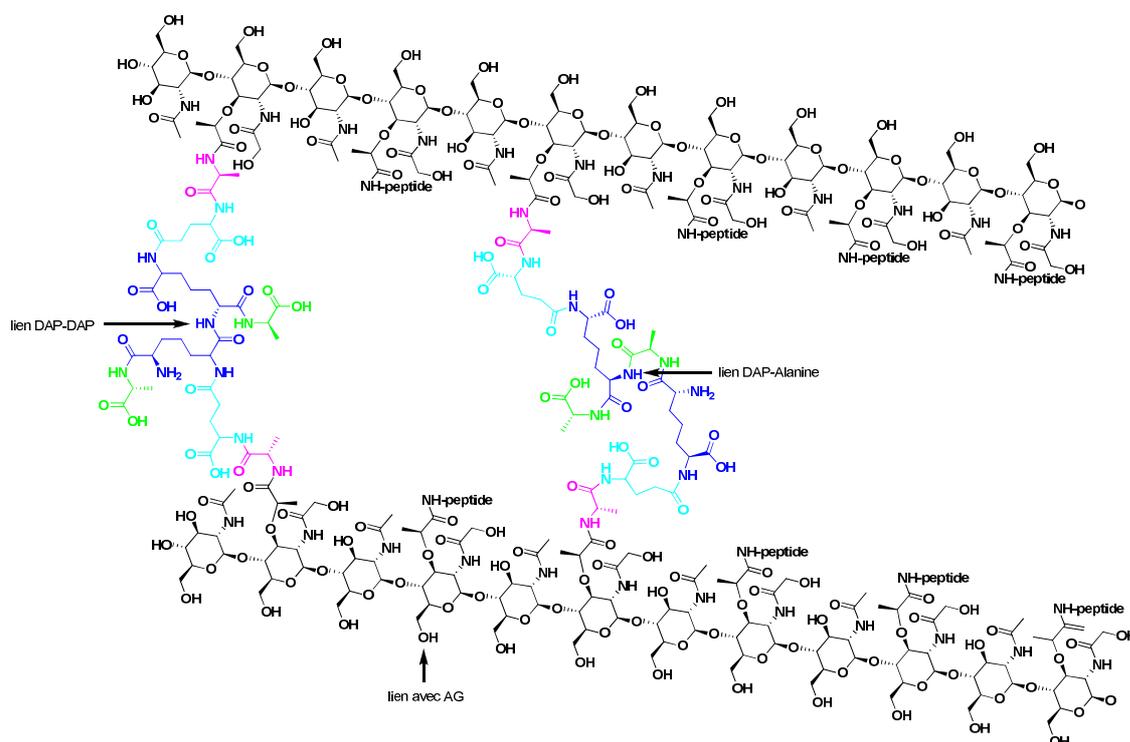


**Figure 3:** Structure du motif arabinogalactane et son ancrage aux peptidoglycans<sup>16</sup>

### II.2.1. LES PEPTIDOGLYCANES

Le squelette des peptidoglycans mycobactériens est une chaîne glycosidique constituée d'un enchaînement alternant une *N*-acétylglucosamine (GlcNAc) liée en  $\beta$ -(1→4) avec des acides muramiques modifiés (Figure 4, noir). La fonction acide carboxylique des acides muramiques est reliée à la séquence peptidique L-alanine (Figure 4, rose), D-isoglutamine (Figure 4, cyan), acide *méso*-diaminopimélique (DAP Figure 4, bleu) et D-alanine (Figure 4, vert). La formation de ponts (« cross-linkages ») entre les tetrapeptides se fait au niveau de l'acide carboxylique terminal d'une alanine et la fonction amine de l'acide *méso*-diaminopimélique,

ou bien entre deux motifs acide *méso*-diaminopimélique.<sup>22</sup> Ces chaînes peptidiques lourdes et entrelacées contribuent en partie à la solidité de la paroi cellulaire mycobactérienne.



**Figure 4 :** Représentation de deux brins des peptidoglycane de *Mycobacterium tuberculosis*

Le motif arabinogalactane est lié à la position 6 d'unités acide muramique *via* un phosphodisaccharide comprenant un rhamnopyranose et une *N*-acétylglucosamine, de structure  $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-GlcNAc-(1 $\rightarrow$ P)-peptidoglycane (Figure 2, orange).<sup>23</sup>

### II.2.2. LES ARABINO GALACTANES (AG)

Contrairement à de nombreux polysaccharides bactériens, l'AG de mycobactéries n'est pas constitué de la répétition d'un motif simple (Figure 3).

L'extrémité réductrice d'une chaîne linéaire de 30 résidus galactofuranosidiques (galactanes) (Figure 3, bleu) liés alternativement en  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5) et  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) est connectée à la position O-4 du rhamnose. Le long de ce squelette galactane on observe 3 points d'ancrage, en position O-5 des unités galactofuranosidiques (Galf) 8, 10 et 12, auxquelles sont attachées les chaînes arabinofuranosidiques.<sup>24</sup> Ces 3 chaînes sont constituées de 31 résidus D-arabinose chacune,

<sup>22</sup> Wietzerbin, J.; Das, B. C.; Petit, J. F.; Lederer, E.; Leyh-Bouille, M.; Ghuysen, J. M., *Biochemistry* **1974**, *13*, 3471-3476.

<sup>23</sup> McNeil, M.; Daffe, M.; Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 18200-18206.

<sup>24</sup> Alderwick, L. J.; Radmacher, E.; Seidel, M.; Gande, R.; Hitchen, P. G.; Morris, H. R.; Dell, A.; Sahm, H.; Eggeling, L.; Besra, G. S., *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 32362-32371.

dont l'enchaînement est principalement linéaire de type  $\alpha$ -(1→5).<sup>21</sup> Cependant, la présence de ramifications sur la chaîne principale *via* la position 3 d'un Araf a été mise en évidence.<sup>25</sup> De même, il a été montré que la présence d'enchaînement [ $\beta$ -D-Araf-(1→2)- $\alpha$ -D-Araf]<sub>2</sub>-(3,5-D-Araf) sur une chaîne linéaire d' $\alpha$ -(1→5)-Araf est caractéristique des terminaisons hexasaccharidiques non réductrices des arabinanes (Figure 3, rouge).<sup>25</sup> Enfin l'extrémité réductrice a été récemment identifiée comme étant un enchaînement linéaire de 14 résidus.<sup>21</sup> Bien que des études récentes localisent deux résidus succinyle et galactosamine, des ambiguïtés restent à lever sur leur position.

### II.2.3. LES ACIDES MYCOLIQUES

Les acides mycoliques spécifiques aux mycobactéries et autres *Actinomycètes* sont des acides gras  $\alpha$ -alkylés et  $\beta$ -hydroxylés possédant un poids moléculaire élevé. Ils sont dépendants des espèces et contiennent de 70 à 90 atomes de carbones (Figure 5).<sup>26</sup> Ces motifs se situent sur la position O-5 de deux tiers des  $\alpha$ -Araf terminaux laissant 1/3 des Araf terminaux libres.<sup>27</sup> Ils forment des « clusters » par groupes de quatre laissant penser que deux chaînes d'arabinose sont totalement substituées et la troisième complètement libre. La présence de liaisons hydrogènes entre les  $\beta$ -hydroxyles libres et les groupements carbonylés des acides gras suggèrent qu'ils sont placés parallèlement les uns aux autres.<sup>28</sup> Ce bloc d'acides mycoliques perpendiculaire aux arabinogalactanes et aux peptidoglycanes constitue une sorte de barrière lipidique lipophile.<sup>29</sup> Cette structure dense qui est ancrée par un lien covalent dans les peptidoglycanes contribue à la protection de la mycobactérie en limitant l'accès aux molécules hydrophiles.<sup>23,27,28,29</sup>

---

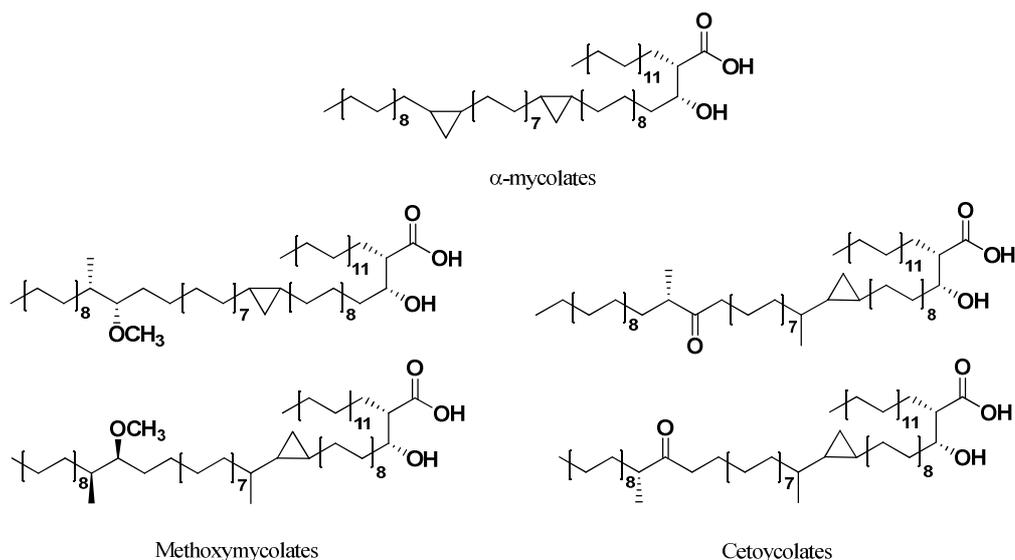
<sup>25</sup> Daffe, M.; Brennan, P. J.; McNeil, M. R., *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 6734-6743.

<sup>26</sup> Minnikin, D., Complex lipids: their chemistry, biosynthesis and roles. In *The biology of mycobacteria*, Ratledge, C.; Stanford, J., Eds. Academic Press: London, **1982**; Vol. *1*, p 94.

<sup>27</sup> McNeil, M.; Daffe, M.; Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 13217-13223.

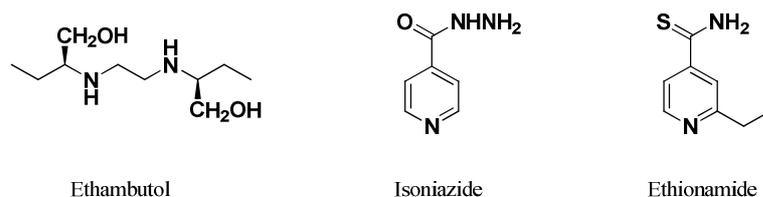
<sup>28</sup> Besra, G. S.; Khoo, K. H.; McNeil, M. R.; Dell, A.; Morris, H. R.; Brennan, P. J., *Biochemistry* **1995**, *34*, 4257-4266.

<sup>29</sup> Chatterjee, D., *Curr. Opinion Chem. Biol.* **1997**, *1*, 579-588.



**Figure 5 :** Exemple d'acides mycoliques appartenant au genre *Mycobacterium tuberculosis*<sup>30</sup>

Le complexe mAGP forme une triple couche de biomolécules de type lipidique-polysaccharidique-peptidoglycanique qui assure la survie de la mycobactérie. De plus, il est important de souligner qu'outre les glycolipides et les acides mycoliques spécifiques à ce genre<sup>31</sup>, les polysaccharides inhabituels de son squelette sont similaires voire identiques chez les espèces mycobactériennes.<sup>11,32</sup> Ils sont uniques tant par la nature des sucres constitutifs que par leur arrangement,<sup>25</sup> ce qui en fait des cibles thérapeutiques intéressantes. Ce complexe est d'ailleurs le site d'action de plusieurs antituberculeux connus. En effet, l'éthambutol cible la biosynthèse des arabinanes<sup>33,34</sup> tandis que l'isoniazide<sup>35</sup> et l'éthionamide<sup>36</sup> (Figure 6) inhibent la synthèse des acides mycoliques.



**Figure 6 :** Les antituberculeux agissant sur le complexe mAGP

A ce jour aucune molécule n'est connue pour avoir une action sur les galactanes. Or, le galactofuranose est indispensable pour la formation d'un lien covalent entre les

<sup>30</sup> Lowary, T. L., Mycobacterial Cell Wall Components. In *Glycoscience*, Fraser-Reid, B. O. T., K.; Thiem, J.; Coté, G.L.; Flitsch, S.; Ito, Y.; Kondo, H.; Nishimura, S.-I.; Yu, B., Ed. Springer: 2001; Vol. III, pp 2005-2082.

<sup>31</sup> Aspinall, G. O.; Chatterjee, D.; Brennan, P. J., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1995**, *51*, 169-242.

<sup>32</sup> Misaki, A.; Seto, N.; Azuma, I., *J. Biochem. (Tokyo)* **1974**, *76*, 15-27.

<sup>33</sup> Takayama, K.; Goldman, D. S., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, *33*, 1493-1499.

<sup>34</sup> Belanger, A. E.; Besra, G. S.; Ford, M. E.; Mikusova, K.; Belisle, J. T.; Brennan, P. J.; Inamine, J. M., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *33*, 1493-1499.

<sup>35</sup> Quemard, A.; Lacave, C.; Laneelle, G., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, *35*, 1035-1039.

<sup>36</sup> Baular, A. R.; Betts, J. C.; Engohang-Ndong, J.; Quan, S.; McAdam, R. A.; Brennan, P. J.; Locht, C.; Besra, G. S., *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 28326-28331.

peptidoglycanes et les acides mycoliques. Sa biosynthèse s'avère essentielle pour la viabilité de la mycobactérie.<sup>37,38</sup> Dans le cadre du développement d'anti-mycobactériens ayant un mode d'action inédit, nous nous sommes donc concentré sur la biosynthèse des galactanes.

### II.3. LE METABOLISME DU GALACTOFURANOSE

Le D-galactose est un sucre courant présent sous forme pyranose chez les eucaryotes supérieurs. Néanmoins, l'isomère furanose de cet hexose est bien moins représenté. On retrouve le Galf uniquement chez les microorganismes tels que les bactéries, les protozoaires et les champignons<sup>39</sup> ainsi que les eucaryotes inférieurs<sup>40,41</sup> et les plantes.<sup>42</sup> Il est absent chez les eucaryotes supérieurs et donc chez l'homme. Les résidus  $\alpha$  et/ou  $\beta$  Galf ont ainsi pu être identifiés dans bon nombre de structures polysaccharidiques essentielles à la virulence de microorganismes pathogènes.<sup>43</sup> En effet, on le retrouve non seulement chez les mycobactéries mais également chez les bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli*,<sup>44,45</sup> *Klebsiella pneumoniae*,<sup>46</sup> *Shigella dysenteriae*,<sup>47</sup> *Haemophilus pleuropneumoniae*,<sup>48</sup> ainsi que chez les salmonelles<sup>49</sup> comme constituants de polysaccharides antigéniques. Il est aussi présent dans les polysaccharides extracellulaires ou capsulaires des *Streptococcus sanguis*<sup>50</sup> et *oralis*<sup>51</sup> et ceux d'*Escherichia coli*<sup>52</sup>. On le trouve également dans les structures de glycoconjugués de surface chez les protozoaires, *Trypanosoma cruzi*,<sup>39</sup> et les espèces de type *Leishmania*.<sup>43</sup> Enfin c'est un composant des glycanes de surface cellulaire chez les champignons.<sup>40,43</sup> Comme cela a été mentionné précédemment, il est le constituant principal des galactanes des parois cellulaires mycobactériennes,<sup>28</sup> ce qui le rend particulièrement intéressant à nos yeux.

Les toutes premières études de la structure des galactanes n'ont pas permis de déterminer s'il s'agissait d'un polysaccharide de galactopyranose (Galp) lié en  $\alpha$ -(1→4) ou de Galf liées en

<sup>37</sup> Rastogi, N.; Goh, K. S.; David, H. L., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 759-764.

<sup>38</sup> Pan, F.; Jackson, M.; Ma, Y.; McNeil, M. R., *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 3991-3998.

<sup>39</sup> De Lederkremer, R. M.; Colli, W., *Glycobiology* **1995**, *5*, 547-552.

<sup>40</sup> Bakker, H.; Kleczka, B.; Gerardy-Schahn, R.; Routier, F. H., *Biol. Chem.* **2005**, *7*, 657-661.

<sup>41</sup> Beverley, S. M.; Owens, K. L.; Showalter, M.; Griffith, C. L.; Doering, T. L.; Jones, V. C.; McNeil, M. R., *Eukaryotic Cell* **2005**, *6*, 1147-1154.

<sup>42</sup> Fincher, G. B.; Stone, B. A.; Clarke, A. E., *Annu. Rev. Plant Physiol.* **1983**, *34*, 47-70.

<sup>43</sup> Pedersen, L. L.; Turco, S. J., *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 259-266.

<sup>44</sup> Jann, B.; Shashkov, A. S.; Kochanowski, H.; Jann, K., *Carbohydr. Res.* **1994**, *264*, 305-311.

<sup>45</sup> Stevenson, G.; Neal, B.; Liu, D.; Hobbs, M.; Packer, N. H.; Batley, M.; Redmond, J. W.; Lindquist, L.; Reeves, P., *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 4144-4156.

<sup>46</sup> Kol, O.; Wieruszkeski, J. M.; Strecker, G.; Montreuil, J.; Fournet, B.; Zalisz, R.; Smets, P., *Carbohydr. Res.* **1991**, *217*, 177-125.

<sup>47</sup> Dmitriev, B. A.; Lvov, V. L.; Kochetkov, N. K., *Carbohydr. Res.* **1977**, *56*, 207-209.

<sup>48</sup> Perry, M. B., *Biochem. Cell Biol.* **1990**, *68*, 808-810.

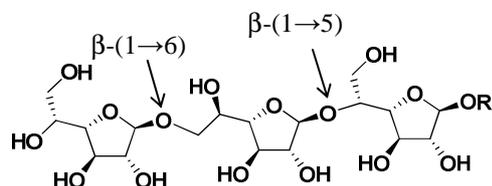
<sup>49</sup> Sarvas, M.; Nikaido, H., *J. Bacteriol.* **1971**, *105*, 1063-1072.

<sup>50</sup> Abeygunawardana, C.; Bush, C. A.; Tjoa, S. S.; Fennessey, P. V.; McNeil, M. R., *Carbohydr. Res.* **1989**, *191*, 279-293.

<sup>51</sup> Abeygunawardana, C.; Bush, C. A.; Cisar, J. O., *Biochemistry* **1991**, *30*, 6528-6540.

<sup>52</sup> Bax, A.; Summers, M. F.; Egan, W.; Guirgis, N.; Schneerson, R.; Robbins, J. B.; Ørskov, F.; Ørskov, I.; Vann, W. F., *Carbohydr. Res.* **1988**, *173*, 53-64.

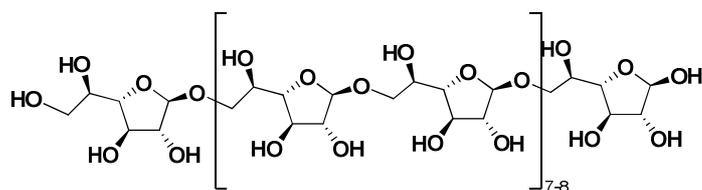
$\alpha$ -(1→5).<sup>53</sup> Dès 1987, l'étude de deux espèces mycobactériennes *M. tuberculosis* et *M. leprae* a révélé que les arabinogalactanes sont exclusivement constitués de sucres sous forme furanose.<sup>54</sup> Par la suite, l'analyse d'alditols oligosaccharidiques *O*-alkylés issus d'une dépolymérisation partielle a permis d'établir que ce polysaccharide était constitué d'une répétition d'unités disaccharidiques  $\beta$ -D-(1→5)-Gal<sub>f</sub>- $\beta$ -D-(1→6)-Gal<sub>f</sub> (Figure 7).<sup>23</sup>



**Figure 7 :** Fragment des galactanes

Grâce à cette même technique, la structure du lien diglycosylphosphoryl assurant l'ancrage de l'AG au peptidoglycane a pu être déterminée.

Les études du premier polysaccharide composé d'unités galactofuranoses: le galactocarolose, (Figure 8) isolé en 1934 à partir de cultures de *Penicillium Charlesii* G. Smith, ont posé les bases du mécanisme de la biosynthèse des galactanes.<sup>55,56</sup>



**Figure 8 :** Structure du galactocarolose

En 1960, il a été montré que les cellules de l'organisme n'utilisent pas le galactose libre pour produire le galactocarolose.<sup>57</sup> Puis en 1970, l'équipe de Baddiley a caractérisé le donneur de glycosyle mis en jeu : il s'agit du premier nucléotide sucre possédant un résidu hexofuranose : l'UDP- $\alpha$ -D-Galp.<sup>58</sup> Ils montrent alors que l'UDP- $\alpha$ -D-Galp **B1** est un précurseur du galactocarolose et donc de l'UDP- $\alpha$ -D-Galp **B2**.<sup>59</sup> Ils suggèrent alors que la conversion de l'UDP-Galp en UDP-Galp<sub>f</sub> serait catalysée par une enzyme : l'UDP-galactopyranose mutase (UGM) (Schéma 4).

<sup>53</sup> Vilkas, E.; Amar, C.; Maekovits, J.; Vliegthart, J.; Kamerling, J., *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, 297, 423-435.

<sup>54</sup> McNeil, M.; Wallner, S. J.; Hunter, S. W.; Brennan, P. J., *Carbohydr. Res.* **1987**, 166, 299-308.

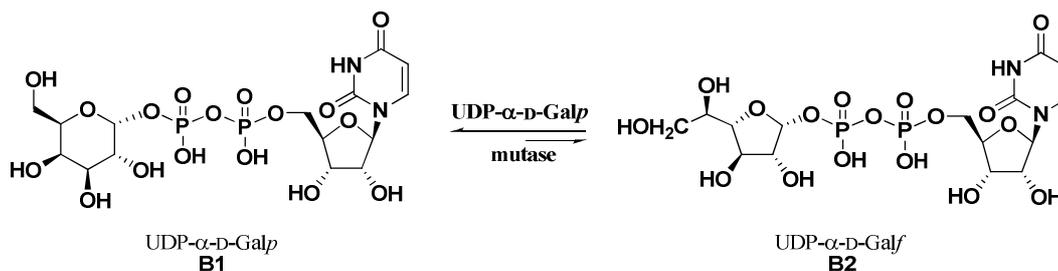
<sup>55</sup> Clutterbuck, P. W.; Haworth, W. N.; Raistrick, H.; Smith, G.; Stacey, M., *Biochem. J.* **1934**, 28, 94-110.

<sup>56</sup> Haworth, W. N.; Raistrick, H.; Stacey, M., *Biochem. J.* **1937**, 31, 640-644.

<sup>57</sup> Gander, J. E., *Arch. Biochem. Biophys.* **1960**, 91, 307-309.

<sup>58</sup> Garcia Trejo, A.; Chittenden, G. J. F.; Buchanan, J. G.; Baddiley, J., *Biochem. J.* **1970**, 117, 637-639.

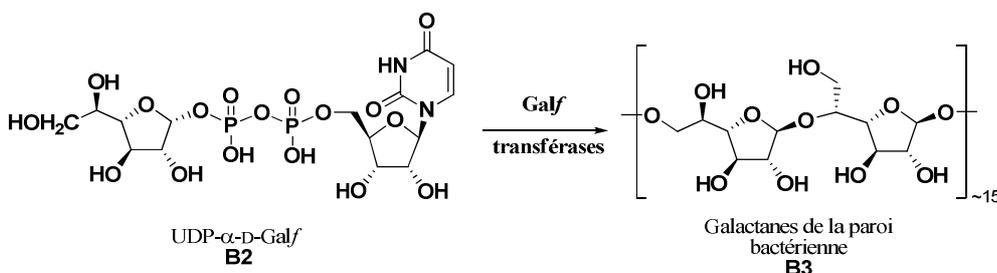
<sup>59</sup> Garcia Trejo, A.; Haddock, J. W.; Chittenden, G. J. F.; Baddiley, J., *Biochem. J.* **1971**, 122, 49-57.



**Schéma 4 :** Biosynthèse de l'UDP-Galf

Ces résultats seront confirmés par la suite, dans le cadre de l'étude de la biosynthèse des antigènes T1 de *salmonella*<sup>49,60</sup> puis, presque 30 ans plus tard, lors de celle des galactanes de *M. Smegmatis*.<sup>61</sup>

Il alors est envisagé que, le sucre-nucléotide **B2** soit le substrat donneur des glycosyltransférases pour l'incorporation du Galf au sein du polysaccharide (Schéma 5).



**Schéma 5 :** Incorporation de l'UDP-Galf dans le polysaccharide

Récemment, des travaux utilisant des techniques de « Knockout genes » ont montré que l'UDP-Galp mutase et les Galf transférases étaient des enzymes essentielles à la croissance et à la survie de la mycobactérie.<sup>38</sup> Ces résultats valident le choix de la biosynthèse du galactane comme cible biologique dans le cadre de la recherche de nouveaux agents antimycobactériens possédant un mode d'action différent de ceux existant et faisant l'objet de résistance.

<sup>60</sup> Nikaido, H.; Sarvas, M., *J. Bacteriol.* **1971**, 105, 1073-1082.

<sup>61</sup> Weston, A.; Stern, R. J.; Lee, R. E.; Nassau, P. M.; Monsey, D.; Martin, S. L.; Scherman, M. S.; Besra, G. S.; Duncan, K.; McNeil, M. R., *Tuber. Lung Dis.* **1998**, 78, 123-131.

### III. UDP-GALACTOPYRANOSE MUTASE (UGM)

Dans le cadre de la conception de nouveaux inhibiteurs de l'UDP-Galp mutase, nous allons plus particulièrement nous intéresser à l'étude du mécanisme de cette enzyme et aux inhibiteurs déjà identifiés.

#### III.1. CARACTERISATION ET STRUCTURE DE L'ENZYME

Bien après les travaux précurseurs de Baddiley dans les années 70, c'est en 1994 qu'il est établi qu'une seule enzyme atypique est nécessaire pour convertir l'UDP-Galp en UDP-Galf.<sup>45</sup> Il s'agit de l'UDP-Galp mutase (*Gl*, EC 5.4.99.9). Le gène qui code pour cette enzyme est clairement identifié et étudié en 1996 chez *Escherichia coli*.<sup>45,62</sup> Depuis l'enzyme a également été clonée et surexprimée chez les bactéries de type *Klebsiella*,<sup>63</sup> ainsi que chez *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium smegmatis*.<sup>61</sup> Plus récemment l'UDP-Galp mutase a pu être isolée chez certains eucaryotes inférieurs tels que les champignons, les algues marines ou encore les nématodes.<sup>40,41,64</sup>

Le séquençage complet du génome de *Mycobacterium tuberculosis*, qui a été réalisé en 1998,<sup>65</sup> a révélé que la séquence d'acides aminés de l'UDP-Galp mutase de *Mycobacterium tuberculosis* (*Rv* 3809c) est très similaire à celles d'*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. En moyenne on observe 40% d'acides aminés identiques chez les procaryotes<sup>61</sup> et moins de 20% chez les eucaryotes.<sup>40</sup> Les mutases d'*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont donc de bons modèles pour l'étude de *Mycobacterium tuberculosis*.

La purification de la mutase d'*E. coli* a mis en évidence (par spectroscopie UV/visible et par dénaturation thermique de la protéine) la présence d'un cofacteur Flavine Adénine Dinucléotide **B4** (Figure 9).<sup>62</sup> Les mutases étudiées présentent toutes ce cofacteur. L'UDP-Galp mutase est donc une flavoenzyme.<sup>66,67</sup>

---

<sup>62</sup> Nassau, P. M.; Martin, S. L.; Brown, R. E.; Weston, A.; Monsey, D.; McNeil, M. R.; Duncan, K., *J. Bacteriol.* **1996**, *178*, 1047-1052.

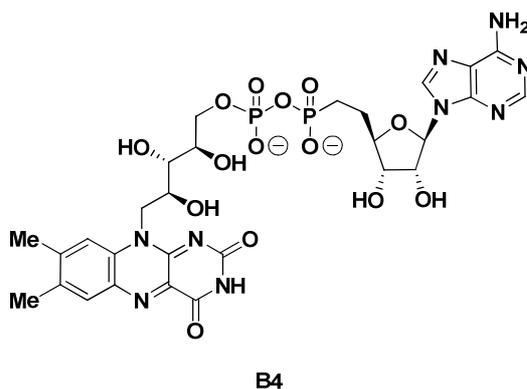
<sup>63</sup> Köplin, R.; Brisson, J.-R.; Whitfield, C., *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 4121-4128.

<sup>64</sup> Damveld, R. A.; Franken, A.; Arentshorts, M.; Punt, P. J.; Klis, F. M.; van den Hondel, C. A. M. J. J.; Ram, A. F. J., *Genetics* **2008**, *178*, 873-881.

<sup>65</sup> Cole, S. T.; Brosch, R.; Parkhill, J.; Garnier, T.; Churcher, C.; Harris, D.; Gordon, S. V.; Eiglmeier, K.; Gas, S.; Barry III, C. E.; Tekaia, F.; Badcock, K.; Basham, D.; Brown, D.; Chillingworth, T.; Connor, R.; Davies, R.; Devlin, K.; Feltwell, T.; Gentles, S.; Hamlin, N.; Holroyd, S.; Hornsby, T.; Jagels, K.; Krogh, A.; McLean, J.; Moule, S.; Murphy, L.; Oliver, K.; Osborne, J.; Quail, M. A.; Rajandream, M.-A.; Rogers, J.; Rutter, S.; Seeger, K.; Skelton, J.; Squares, R.; Squares, S.; Sulston, J. E.; Taylor, K.; S., W.; Barrell, B. G., *Nature* **1998**, *393*, 537-544.

<sup>66</sup> Zhang, Q. B.; Liu, H.-w., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9065-9070.

<sup>67</sup> Duax, W. K.; Griffin, J. F.; Ghosh, D., *Curr. Op. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 813-823.



**Figure 9 :** Structure de la Flavine Adénine Dinucléotide sous sa forme oxydée (FAD)

Il a été mis en évidence que pour être active l'enzyme doit être sous forme réduite, c'est-à-dire que le cofacteur doit se trouver sous la forme FADH<sub>2</sub>.<sup>68,69</sup> Sous la forme oxydée, les enzymes d'*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont inactives.<sup>70,63</sup> Cependant le rôle précis du cofacteur reste une des grandes inconnues du mécanisme de cette réaction.

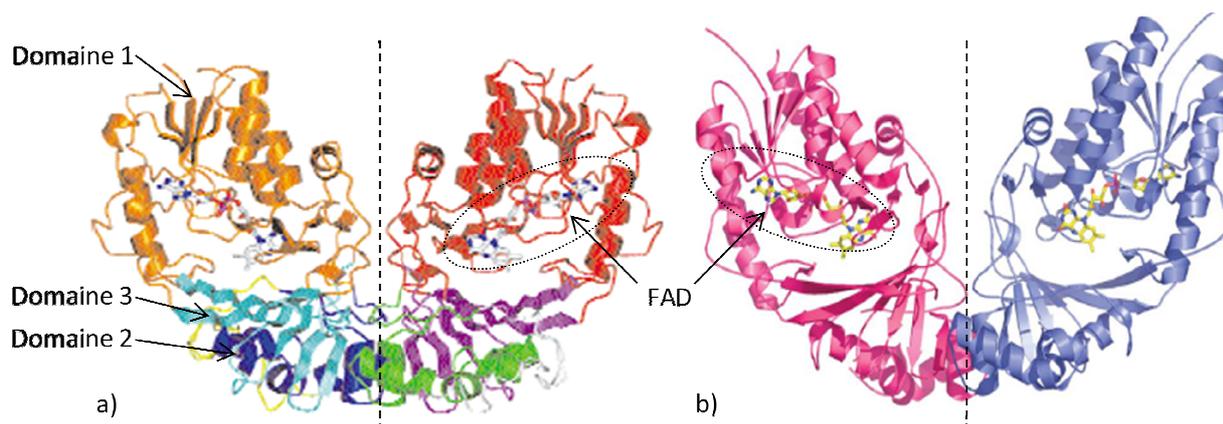
La présence de ce cofacteur a été établie de manière irréfutable par la résolution de la première structure cristalline d'une mutase, en 2001, il s'agit de celle d'*E. coli* à 2.4Å (Figure 10a).<sup>70</sup> Cette enzyme est dimérique et possède une forme de croissant dont les dimensions sont 72x55x48Å<sup>3</sup>. Chacun des monomères la constituant renferme une molécule de FAD et peut être divisé en 3 domaines. Le domaine central 1 qui contient le cofacteur FAD, est constitué en son centre de 4 feuillets β parallèles (Figure 10a, domaines rouge et orange). Le domaine 2 est constitué principalement d'un groupe de 5 hélices α (Figure 10a, domaines bleu et vert). Ce domaine est connecté au premier *via* le domaine 3, qui est composé de 6 feuillets β antiparallèles (Figure 10a, domaines cyan et violet). Le contact entre les monomères se fait par l'intermédiaire des domaines 2 et 3.

Le premier domaine est semblable à ceux d'autres enzymes portant un cofacteur FAD. Par contre les domaines 2 et 3 sont originaux. On note également la formation d'une poche entre ces 3 domaines, laissant ainsi une surface accessible variable adjacente à la face *Re* de l'isoalloxazine de la flavine. La taille de cette poche peut varier en fonction de la position de deux boucles flexibles (Figure 10a jaune et blanc), ce qui affecte alors la reconnaissance du substrat dans cette cavité.

<sup>68</sup> Huang, Z.; Zhang, Q.; Liu, H.-w., *Bioorganic Chemistry* **2003**, *31*, 494-502.

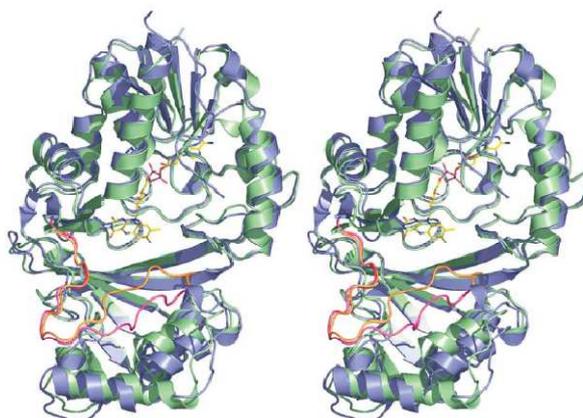
<sup>69</sup> Yuan, Y.; Bleile, D. W.; Wen, X.; Sanders, D. A. R.; Itoh, K.; Liu, H.-w.; Pinto, B. M., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3157-3168.

<sup>70</sup> Sanders, D. A. R.; Staines, A. G.; McMahon, S. A.; McNeil, M. R.; Whitfield, C.; Naismith, J. H., *Nat. Struct. Biol.* **2001**, *8*, 858-863.



**Figure 10 :** Structure de l'UDP-Galp mutase de a) *Escherichia coli* avec son cofacteur FAD à 2,4Å,<sup>70</sup>  
 b) *Mycobacterium tuberculosis* avec son cofacteur FAD à 2,25Å.<sup>71</sup>

Depuis, cinq autres structures cristallines ont été décrites pour des mutases oxydées provenant d'*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Mycobacterium tuberculosis* ainsi que pour la mutase réduite de *Klebsiella pneumoniae* (Figure 10b).<sup>71,72</sup> Ces structures d'enzymes de procaryotes sont très proches comme nous pouvons le voir sur la superposition suivante (Figure 11).



**Figure 11 :** Superposition des monomères de *K. pneumoniae* (bleu) et *E. coli* (vert)

Chacune conserve un arrangement dimérique et seules quelques variations dans les boucles périphériques sont observées.<sup>71</sup> La nature de la souche enzymatique utilisée ne devrait donc pas influencer sur les résultats des études mécanistique.

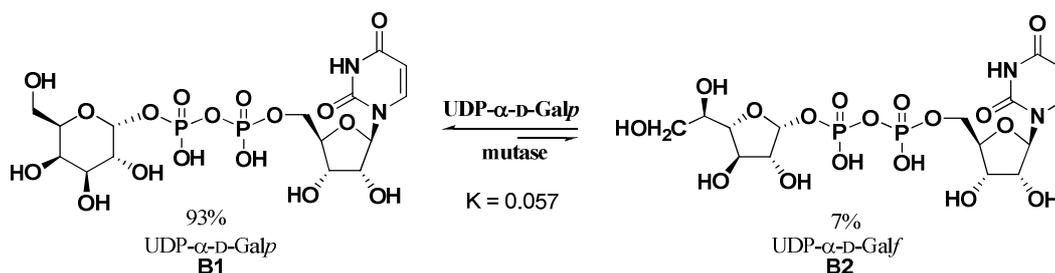
Il est à noter également, qu'à ce jour, les tentatives de cristallisation de l'enzyme avec un substrat ou un inhibiteur ont toutes échoué.

L'originalité de l'UGM réside dans sa structure unique et surtout dans l'isomérisation réversible qu'elle catalyse. A l'équilibre, la forme pyranose est beaucoup plus abondante que

<sup>71</sup> Beis, K.; Srikannathan, V.; Liu, H.; Fullerton, W. B.; Bamford, V. A.; Sanders, D. A. R.; Whitfield, C.; McNeil, M. R.; Naismith, J. H., *J. Mol. Biol.* **2005**, 348, 971-982.

<sup>72</sup> McMahon, S. A.; Leonard, G. A.; Buchanan, L. V.; Giraud, M.-F.; Naismith, J. H., *Acta Crystallogr. D* **1999**, 55, 399-402.

la forme furanose (Schéma 6),<sup>62,73</sup> ce qui résulte de la plus grande stabilité thermodynamique du galactopyranose.



**Schéma 6** : Isomérisation réversible catalysée par l'UGM

Les paramètres cinétiques de cette enzyme peuvent être déterminés à partir de l'UDP-Galp ou de l'UDP-Galf par un dosage HPLC des deux espèces au cours de la réaction.<sup>66,74</sup>

	$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	$k_{\text{cat}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )
UDP-Galp (B1)	645	$84.10^3$
UDP-Galf (B2)	194	1.5
UDP-Galf (B2) <sup>a</sup>	22	27

<sup>a</sup> Enzyme réduite en présence de dithionite

$K_m$  : Constante de Michaelis Menten et  $k_{\text{cat}}$  : Constante catalytique

**Tableau 1** : Valeurs cinétiques pour la mutase d'*E. coli*<sup>66</sup>

Toutefois, l'un des facteurs limitant de l'étude de cette isomérisation équilibrée est l'accès à UDP-Galf. En effet, compte tenu de sa faible conversion il est difficile d'utiliser la forme pyranose (commerciale) comme substrat test (Schéma 6). L'étude de l'isomérisation en sens inverse furanose→pyranose contourne ce problème. Pour cela, il est cependant nécessaire de préparer l'UDP-Galf en quantité raisonnable.

La formation d'UDP-Galf étant défavorisée à l'équilibre, la synthèse enzymatique ne fournit que de très petites quantités de l'UDP-Galf. Ainsi, un rendement effectif de l'ordre de 3% est obtenu à partir d'UDP-Galp ce qui revient à préparer environ 0,5  $\mu\text{g}$  de substrat en une semaine.<sup>40,73</sup> Il est important de souligner que la première synthèse décrite en 1996 a également permis de finaliser la caractérisation de l'UDP-Galf (RMN, SM, caractérisation chimique).

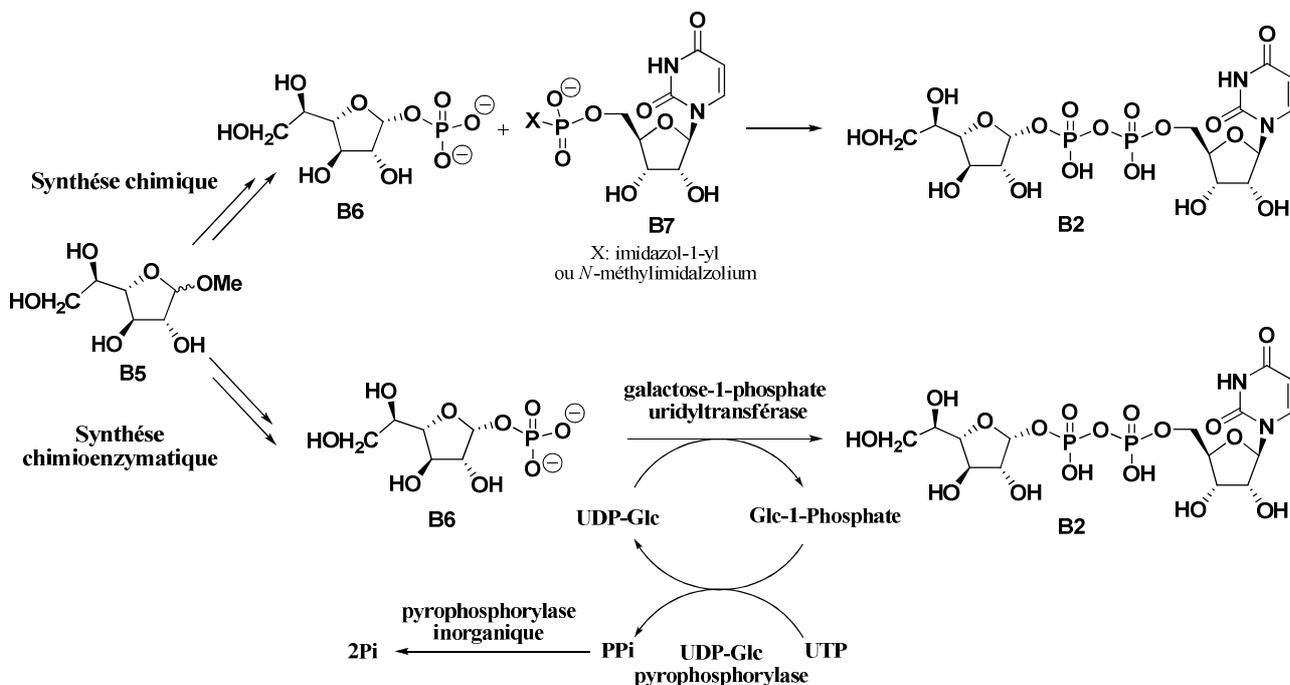
Au cours des dernières années plusieurs synthèses chimiques de l'UDP- $\alpha$ -Galf ont été décrites. La synthèse de Nikolaev en 2000, fait état d'un rendement global de 11% sur 6

<sup>73</sup> Lee, R.; Monsey, D.; Weston, A.; Duncan, K.; Rithner, C.; McNeil, M. R., *Anal. Biochem.* **1996**, 242, 1-7.

<sup>74</sup> Barlow, J. N.; Blanchard, J. S., *Carbohydr. Res.* **2000**, 328, 473-480.

étapes avec l'obtention de 18,4 mg de produit désiré. Elle est réalisée à partir du D-galactofuranoside de méthyle **B5** via le Galf-1-phosphate **B6** (Schéma 7).<sup>75</sup> La formation du lien pyrophosphate est réalisée par condensation du composé **B6** sur un imidazole Uridine MonoPhosphate (UMP) activé **B7**. Au même moment une synthèse semblable a été décrite par l'équipe de Liu.<sup>66</sup> Elle sera ensuite optimisée par Kiessling et ses collaborateurs pour donner le sucre-nucléotide avec un rendement de 20% (25 mg).<sup>76</sup> Récemment une méthodologie, mettant en jeu le thioimidoyl galactofuranosyl et l'UDP, et qui conduit à un mélange  $\alpha/\beta$  (1/1.8) d'UDP-Galf a été décrite.<sup>77</sup>

Une méthode performante de synthèse a finalement été publiée très récemment par l'équipe de Lowary. Cette synthèse chimioenzymatique, basée sur les travaux de Field et ses collaborateurs<sup>78</sup> permet l'obtention de 30 mg d'UDP-Galf avec un rendement de 80% à partir du Galf-1-phosphate **B6** intermédiaire et d'un système de 3 enzymes (Schéma 7).<sup>79</sup> En effet, cette transformation permet de transférer le motif UMP de l'UDP-Glc (utilisé en quantité catalytique) vers le Galf-1-phosphate **B6** via la galactose-1-phosphate uridylyltransférase formant ainsi le composé **B2** attendu et le Glc-1-phosphate.



**Schéma 7 :** Synthèses chimique et chimioenzymatique de l'UDP-Galf à partir du glycoside de méthyle

La présence de l'UGM dans de nombreux microorganismes ainsi que la similarité génétique et structurale des souches clonées et surexprimées, comme nous l'avons vu précédemment, en facilite l'accès et donc l'étude. Dans un second temps, la structure cristalline de la mutase,

<sup>75</sup> Tsvetkov, Y. E.; Nikolaev, A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 889-891.

<sup>76</sup> Marlow, A. L.; Kiessling, L. L., *Org. Lett.* **2001**, 3, 2517-2519.

<sup>77</sup> Peltier, P.; Daniellou, R.; Nugier-Chauvin, C.; Ferrières, V., *Org. Lett.* **2007**, 9, 5227-5230.

<sup>78</sup> Errey, J. C.; Mukhopadhyay, B.; Kartha, K. P. R.; Field, R. A., *Chem. Commun.* **2004**, 2706-2707.

<sup>79</sup> Rose, N. L.; Zheng, R. B.; Pearcey, J.; Zhou, R.; Completo, G. C.; Lowary, T. L., *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 2130-2139.

même si elle ne fournit pas d'information précise sur la position du substrat, a permis de mettre en évidence la présence et la position d'un cofacteur connu, le FAD. Enfin la caractérisation biochimique de cette enzyme permet l'étude du processus catalytique réversible. En effet, cette conversion est désormais couramment quantifiable par l'étude de la conversion inverse furanose→pyranose en utilisant une synthèse chimioenzymatique efficace de l'UDP-Galf.

Cette enzyme possédant une structure originale et la réaction qu'elle catalyse étant unique, une meilleure compréhension de son mécanisme est un point essentiel de son étude bioorganique. C'est pourquoi les différentes hypothèses mécanistiques envisagées au cours du temps, ainsi que les avancées significatives pour la compréhension du processus réactionnel étudié, sont développées dans le paragraphe suivant.

### III.2. ETUDE MECANISTIQUE

Depuis que cette contraction de cycle unique a été mise en évidence, le mécanisme réactionnel a fait l'objet de nombreuses études. Le mécanisme actuellement admis présenté ci-dessous, (Schéma 8) est le fruit de plus de 15 ans de recherche, cependant il comporte toujours quelques zones d'ombre.

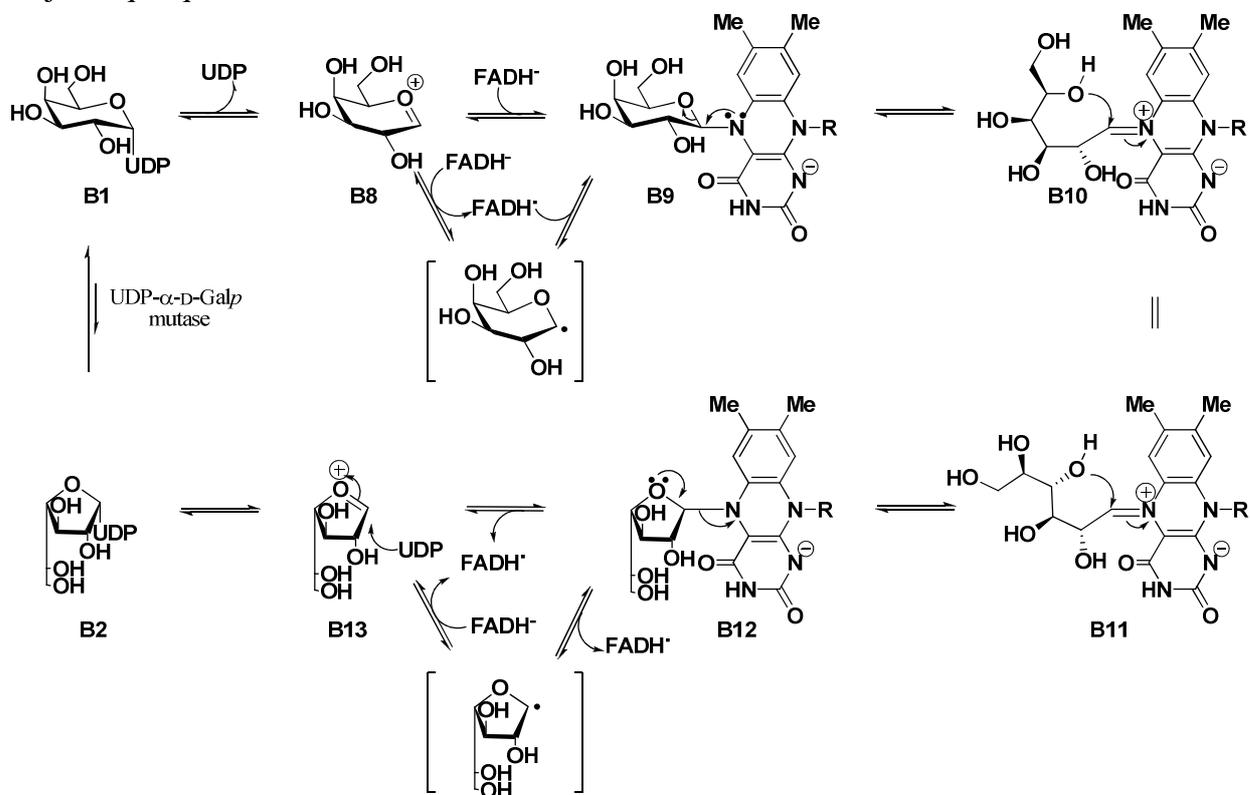
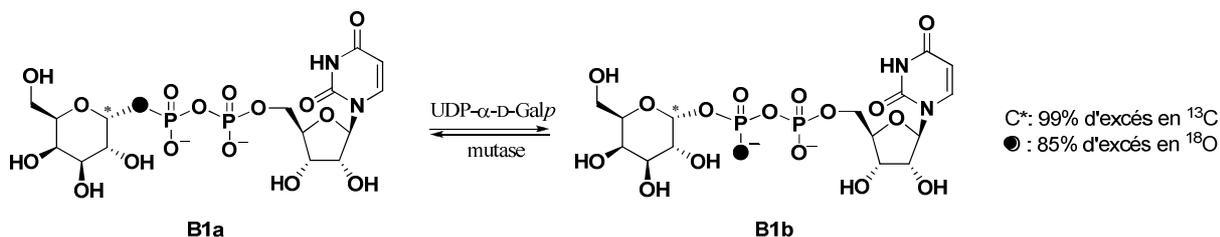


Schéma 8 : Mécanisme de l'UDP-Galp mutase

Une telle conversion directe n'a, à notre connaissance jamais été décrite. Nous allons désormais nous intéresser à la succession de résultats expérimentaux ayant permis d'admettre que ce mécanisme est à l'heure actuelle le plus probable. Dans une première partie nous étudierons les résultats obtenus par les expériences d'échange isotopique ainsi que ceux issus de l'utilisation de sondes mécanistiques fluorées. Dans une seconde partie, nous aborderons le rôle du cofacteur FAD. Pour cela, nous nous intéresserons plus précisément à la reconstitution de l'apoenzyme avec des analogues du FAD, et surtout, à la caractérisation d'un intermédiaire réactionnel. Enfin, nous présenterons les dernières avancées concernant l'étude du site actif de l'UDP-Galp mutase.

### III.2.1. PRESENTATION DU MECANISME REACTIONNEL

En 1999, l'équipe de Blanchard a réalisé un marquage isotopique de l'oxygène anomérique  $^{18}\text{O}$  de l'UDP-Galp qui est porté par un atome de carbone enrichi en  $^{13}\text{C}$ .<sup>80</sup> Un suivi par RMN du  $^{13}\text{C}$  de l'étape d'isomérisation en présence de l'enzyme d'*E. coli* révèle que lorsque l'équilibre est atteint le rapport  $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$  est de 1/2. Ce résultat est révélateur d'une migration isotopique de l'O liant • entre le C anomère et le phosphonate vers les deux oxygènes non pontant (Schéma 9).



**Schéma 9** : Expérience d'échange isotopique via UDP-Galf et la mutase d'*E. Coli*

Cette étude a permis une avancée considérable dans la compréhension du mécanisme en indiquant que la coupure de la liaison anomérique C1-O1 a lieu au cours de l'étape cinétiquement déterminante. Ce résultat est confirmé, quelques années plus tard, par l'équipe de Liu avec le composé **B1a** en utilisant les formes native et réduite de la mutase de *K. pneumoniae*.<sup>81</sup>

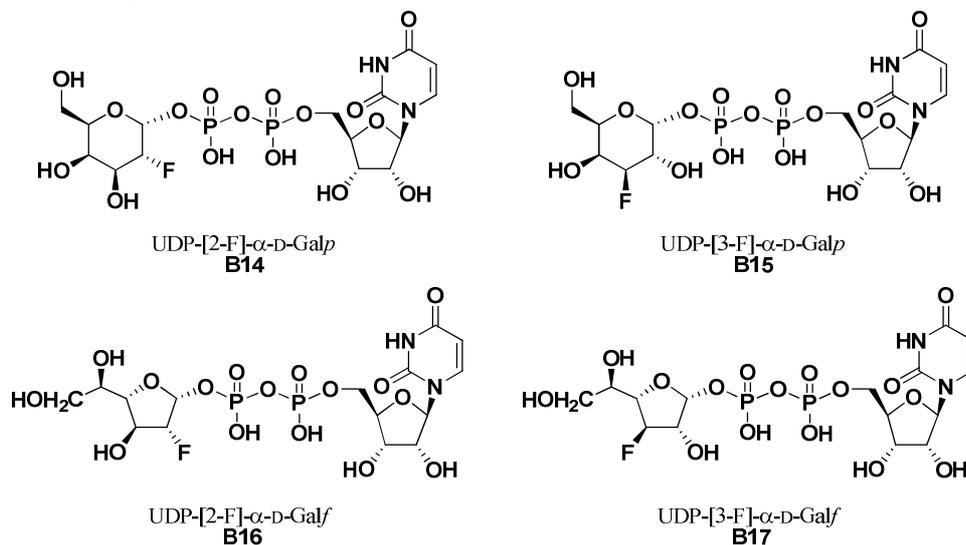
A partir de ce résultat et dans le but de déterminer le mécanisme de la rupture de la liaison anomérique et du reste de l'isomérisation, plusieurs expériences ont été réalisées avec l'emploi de sondes mécanistiques. Les résultats obtenus qui ont permis d'éluder certaines voies réactionnelles sont présentés ci-dessous.

La synthèse d'analogues fluorés en C-2 ou C-3 de l'UDP-Galf et de l'UDP-Galp conçus comme sondes mécanistiques, a permis de mettre en évidence que ces composés sont

<sup>80</sup> Barlow, J. N.; Girvin, M. E.; Blanchard, J. S., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6968-6969.

<sup>81</sup> Zhang, Q.; Liu, H.-w., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6756-6766.

substrats de la mutase d'*E. coli* avec une bonne affinité.<sup>74,81,82</sup> Néanmoins, les dérivés [2F] et [3F] de l'UDP-Galp réduisent la vitesse de réaction par un facteur 70000 et 850 respectivement. Le même type de résultat est observé avec les analogues de l'UDP-Galf : ainsi l'analogue 2-Fluoro réduit la vitesse de réaction d'un facteur 820 (Tableau 2). Cependant, il est à noter qu'à priori les valeurs rapportées par l'équipe de Blanchard ont été mesurées sur l'enzyme native non active.



Substrat	$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	$k_{\text{cat}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )
UDP-Galp (B1) <sup>a</sup>	645	$82 \cdot 10^3$
UDP-[2-F]-Galp <sup>a</sup>	199	1,2
UDP-[3-F]-Galp <sup>a</sup>	261	96
UDP-Galf (B2) <sup>b</sup>	22	27
UDP-[2-F]-Galp <sup>b</sup>	65	0,033
UDP-[3-F]-Galp <sup>b</sup>	861	5,7

<sup>a</sup> Mutase native d'*E. coli*

<sup>b</sup> Mutase Réduite d'*E. coli*

$K_m$  : Constante de Michaelis Menten et  $k_{\text{cat}}$  : Constante catalytique

**Tableau 2** : Paramètres cinétiques des substrats fluorés en présence de la mutase d'*E. coli*

L'équipe de Liu a également observé que le taux de conversion en UDP-[2 ou 3F]-Galf était aussi diminué : ainsi les valeurs de constante d'équilibre sont de 0,02 et 0,011 respectivement pour les dérivés 2-Fluoro et 3-Fluoro.

<sup>82</sup> Burton, A.; Wyatt, P.; Boons, G.-J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 2375-2382.

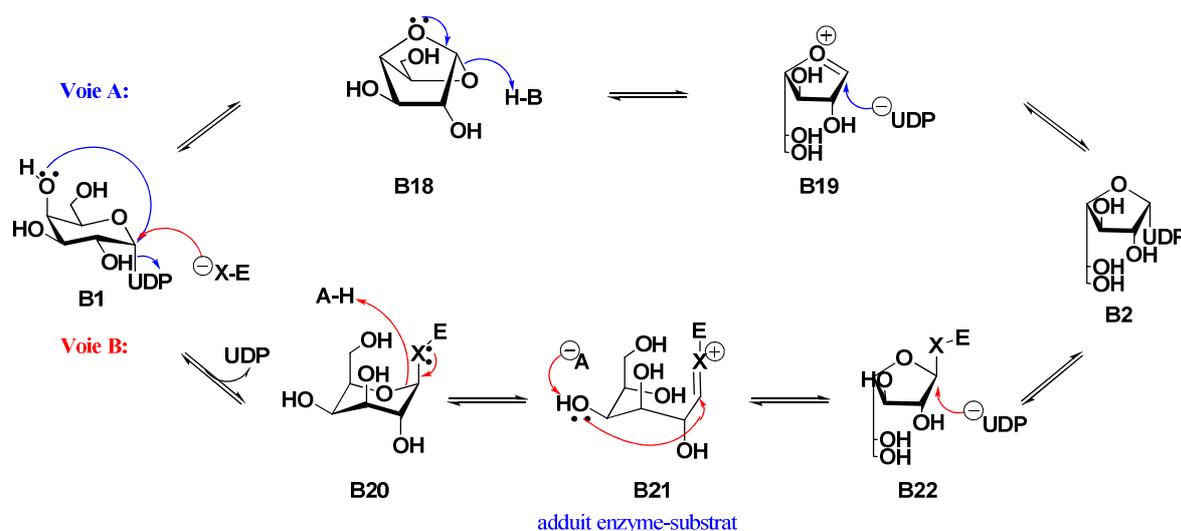
Ces travaux permettent d'affirmer que le mécanisme de l'isomérisation n'implique pas de réaction d'oxydo-réduction en C-3 ou C-2 puisque ces positions sont non-oxydables sur ces substrats fluorés. Ainsi un mécanisme impliquant par exemple le départ du groupe UDP facilité par une oxydation en C-3 suivie d'une  $\beta$ -élimination est exclu.

De plus, le fort ralentissement de la réaction d'isomérisation lorsque le substrat porte un fluor en position 2 est une forte indication que la réaction implique un intermédiaire (ou un état de transition) de type oxocarbénium. Ce dernier est alors déstabilisé par l'effet électroattracteur de l'atome de fluor voisin. Ce phénomène est bien connu dans le cas des glycosidases.<sup>83,84</sup>

Ces observations conduisent Blanchard et Liu à proposer deux mécanismes (Schéma 10)<sup>74</sup>:

La voie A met en jeu la formation d'un dérivé 1,4-anhydro **B18**. Ce dérivé bicyclique généré par attaque nucléophile de l'oxygène en position 4 de l'UDP-Galp induit le départ du motif UDP. L'ouverture de l'intermédiaire anhydro en présence d'un acide BH conduit à un intermédiaire de type oxocarbénium.

La voie B passe par la formation d'un intermédiaire covalent enzyme-substrat **B20**. La coupure de la liaison anomérique est induite par l'attaque d'un nucléophile X-E, probablement lié à l'enzyme. L'adduit enzyme-substrat à chaîne ouverte **B21** facilite alors la cyclisation *via* l'oxygène en position 4.



XE= nucléophile de l'enzyme

Schéma 10 : Mécanismes envisagés par l'équipe de Blanchard

Les travaux réalisés récemment par l'équipe de Sinay ont apporté de nouveaux éléments. Ils ont montré dans un premier temps que l'analogue perbenzylé du 1,4-anhydro galactopyranose **B18** pouvait être régiosélectivement ouvert dans des conditions acides par divers alcools

<sup>83</sup> Namchuk, M. N.; Withers, S. G., *Biochemistry* **1995**, *34*, 16194-16202.

<sup>84</sup> Withers, S. G.; Namchuk, M.; Mosi, R., Potent Glycoside Inhibitors: Transition State Mimics or Simply Fortuitous Binders? In *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors*, Stütz, A. E., Ed. Wiley-VCH: New-York, 1999; pp 188-206.

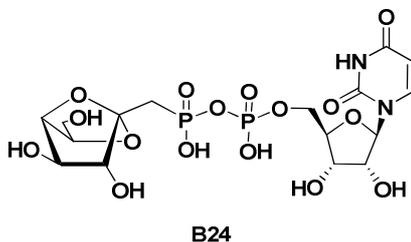
conduisant à des composés de charpente furanosidique. Ce résultat montre que la voie A est synthétiquement viable puisque l'ouverture fonctionne par voie chimique.<sup>85</sup> Ils ont ensuite synthétisé, entre autres, le 1,4-anhydro- $\beta$ -D-galactopyranose **B18** et montré qu'il n'est pas substrat de l'enzyme.<sup>86</sup>

Ceci conforte les travaux de l'équipe de Thomas qui avait montré que l'analogue carbasucre de l'intermédiaire 1,4-anhydro **B23**, conçu comme un inhibiteur de la mutase, n'a aucune action sur cette dernière et que l'enzyme n'a pas de grande affinité pour ce composé (Figure 12).<sup>87</sup> Ces résultats démontrent que le mécanisme A ci-dessus n'est pas correct. Le mécanisme B semble être le seul viable et les études subséquentes des équipes de Liu et Kiessling l'ont confirmé.



**Figure 12 :** Le 1,4-anhydro- $\beta$ -D-galactopyranose et son analogue carbasucre

Notons enfin que l'équipe de Sinaÿ et Vincent a préparé un composé dans lequel l'UDP est couplé au motif 1,4-anhydro-Galp **B24** (Figure 13). L'étude de l'activité biologique de ce composé a révélé une différence significative entre l'inhibition de l'enzyme native (oxydée) et de l'enzyme réduite. Ce résultat important suggère alors que l'enzyme changerait de conformation en fonction de son état d'oxydation.<sup>88</sup>



**Figure 13 :** L'UDP-1,4-anhydro- $\beta$ -D-galactopyranose

Le mécanisme utilisant la voie B (Schéma 10) semble donc favorisé cependant il reste à déterminer la nature du nucléophile de l'enzyme qui est mis en jeu dans la formation du complexe enzyme-substrat. Pour cela il est nécessaire d'étudier de plus près le site actif de l'enzyme.

La structure cristalline de la protéine d'*Escherichia coli* a permis de mettre en évidence que le site actif possède une seule cavité, adjacente à la flavine, dans laquelle l'UDP-Galactose peut se loger.<sup>70</sup> Des études de mutagenèse associées à une modélisation du complexe avec l'UDP-

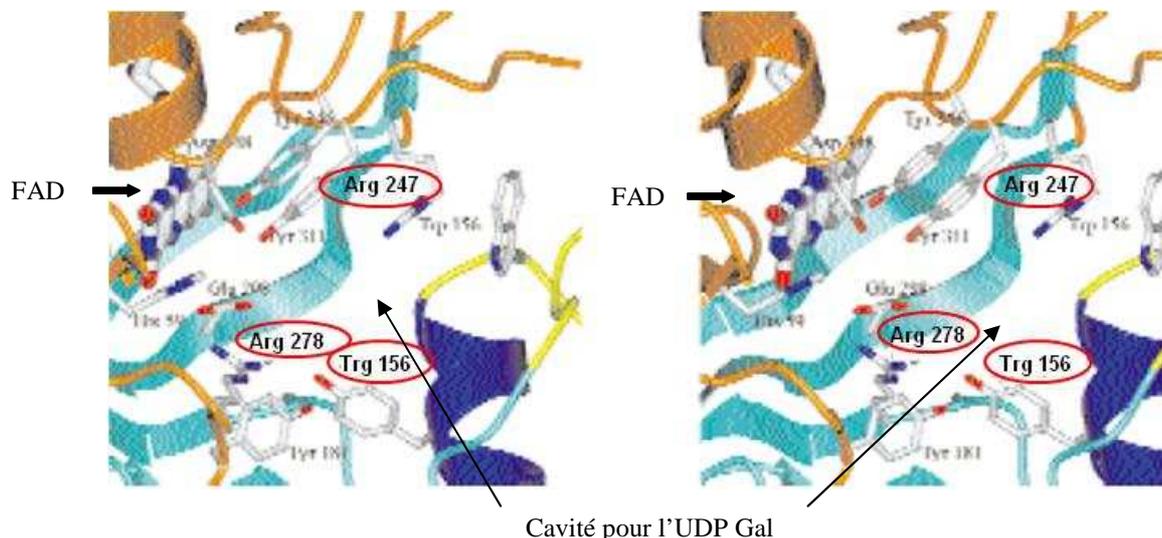
<sup>85</sup> Kovensky, J.; Sinaÿ, P., *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3523-3525.

<sup>86</sup> Caravano, A.; Sinaÿ, P.; Vincent, S. P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1123-1125.

<sup>87</sup> Sadeghi-Khomami, A.; Blake, A. J.; Wilson, C.; Thomas, N. R., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4891-4894.

<sup>88</sup> Caravano, A.; Mengin-Lecreulx, D.; Brondello, J.-M.; Vincent, S. P.; Sinaÿ, P., *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5888-5898.

Galp montrent que certains acides aminés communs aux trois souches d'UDP-Galp mutase sont nécessaires à la reconnaissance par l'enzyme (Figure 14). Le Tryptophane 156 semble former des interactions de type  $\pi$ -stacking avec l'uridine. Le rôle des Tyrosines 151, 311, 346 et peut-être 181 est important pour la reconnaissance de la partie galactose. D'autre part, il est évident que les arginines 247 et 278 interagissent avec le pyrophosphate du nucléotide-sucre.



**Figure 14** : Structure de la poche de l'UDP-Galp mutase d'*Escherichia coli*<sup>70</sup>

En 2004, Kiessling et ses collaborateurs ont cherché à savoir quel groupe nucléophile lié à l'enzyme serait susceptible d'attaquer la position anomérique du nucléotide-sucre et d'induire ainsi la rupture de la liaison C-O anomérique comme l'avaient suggéré Blanchard et ses collaborateurs (Schéma 10 voie B).<sup>74</sup> Or, le site actif des différentes mutases étudiées ne présente pas de résidu nucléophile commun. De plus, la présence de la flavine à proximité de la position présumée de l'UDP-Galactose dans le site actif intrigue. L'étude du rôle du cofacteur dans l'isomérisation semble donc être l'une des clés de ce mécanisme comme nous allons le voir.

### III.2.2. ROLE DE LA FLAVINE

Le FAD est un cofacteur qui joue un rôle essentiel dans les réactions d'oxydo-réduction à un ou deux électrons des voies métaboliques.<sup>89</sup> La partie isoalloxazine (flavine) peut exister sous 3 formes différentes : oxydée, partiellement réduite ou totalement réduite. Une étude de titration potentiométrique montre que la présence du substrat à proximité de la flavine réduite stabilise le radical flavosemiquinone (FADH<sup>•</sup>), et également qu'à pH 7 la flavine réduite est anionique (FADH<sup>-</sup>) plutôt que neutre (FADH<sub>2</sub>) (Schéma 11).<sup>90</sup>

<sup>89</sup> Ghisla, S.; Massey, V., *Eur. J. Biochem.* **1989**, *181*, 1-17.

<sup>90</sup> Fullerton, W. B.; Daff, S.; Sanders, D. A. R.; Ingledew, W. J.; Whitfield, C.; Chapman, S. K.; Naismith, J. H., *Biochemistry* **2003**, *42*, 2104-2109.

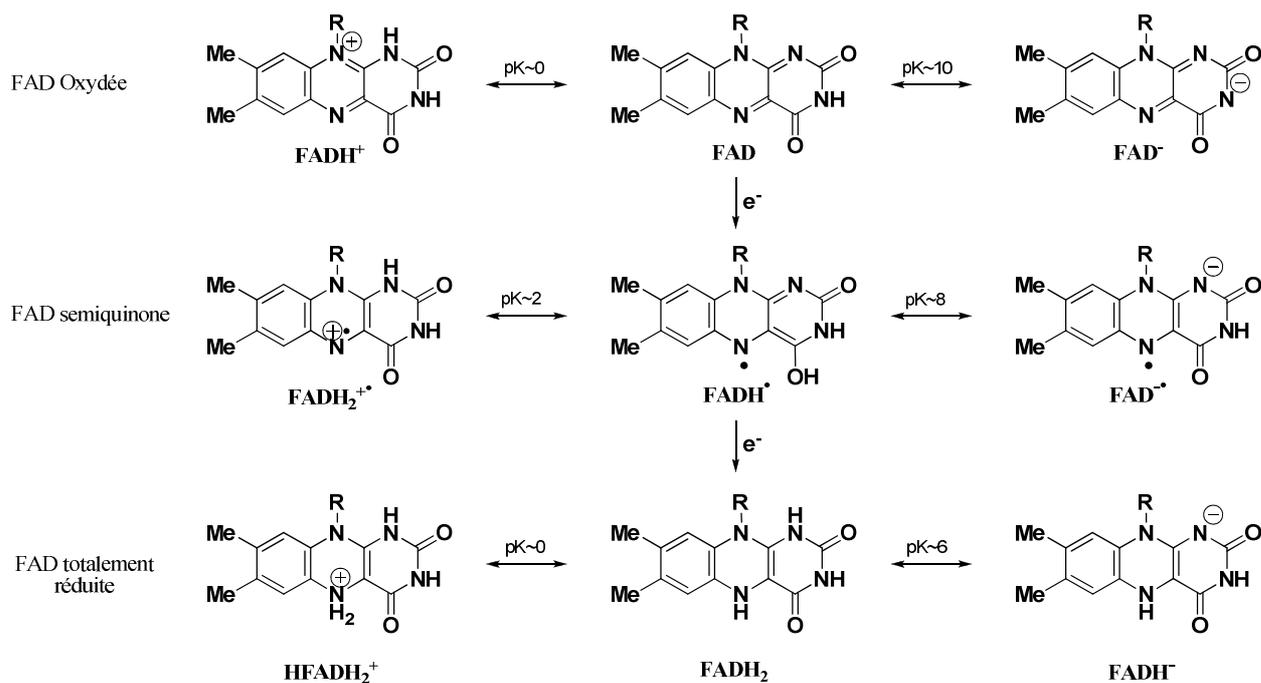


Schéma 11 : Les différents états d'oxydoréduction de la flavine<sup>91</sup>

Ces différentes études n'ont cependant pas permis de connaître l'état d'oxydation de la flavine dans le site actif et par conséquent son implication réelle dans le mécanisme. Cependant il est maintenant bien établi que, pour que la mutase soit active, la réaction doit avoir lieu en milieu réducteur. *In vitro*, la mutase est utilisée en présence d'un excès de dithionite de sodium. En effet, lorsque l'apoenzyme est reconstituée avec le FAD oxydé en absence de dithionite de sodium, l'activité de l'enzyme est à peine détectable.<sup>68</sup>

Les travaux de Liu et ses collaborateurs sur les analogues de FAD modifié sur la partie cycle isoalloxazine se sont avérés particulièrement utiles pour mieux comprendre le rôle de la flavine. Les analogues 1-déaza **B25** et 5-déaza de FAD **B26** (Figure 15) ont été préparés et l'enzyme reconstituée avec chacun de ces analogues.<sup>68</sup> Avec l'analogue 1-déaza, l'activité de l'enzyme est comparable à celle de l'enzyme reconstituée avec FAD, alors qu'avec le 5-déaza-FAD, l'enzyme est catalytiquement inactive. L'azote en position 5 du FAD est donc nécessaire à l'activité de la flavoenzyme.

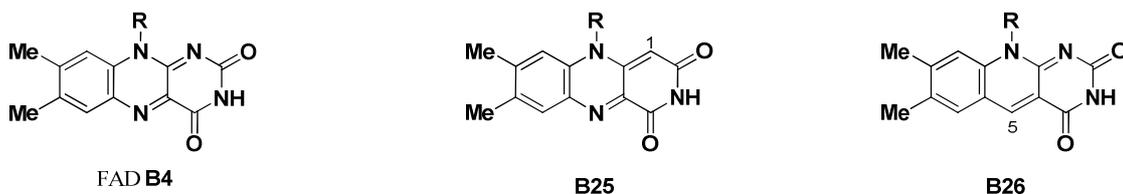


Figure 15 : Structure du FAD et de ses analogues déaza

<sup>91</sup> Edwards, A. M., General Properties of Flavoproteins. pp 1-10.

Il faut noter que les deux analogues ont la même affinité (forte) pour l'enzyme que FAD. Les effets sur l'activité sont de nature électronique et ne sont pas dûs à un changement de conformation du cofacteur de l'enzyme puisque les 3 composés sont des systèmes conjugués. De plus, il a été montré que l'activité de la mutase augmente considérablement avec le pH,<sup>68</sup> ce qui suggère le passage par une étape de déprotonation pour augmenter la nucléophilie et ainsi l'activité de la flavine. Compte tenu des évidences accumulées, il devient nécessaire d'envisager un rôle nucléophile actif de la flavine dans le mécanisme d'isomérisation.

En outre, la détermination du pKa de la flavine par spectroscopie fluorescente (pKa ~6,7) nous indique qu'à pH physiologique la majorité du cofacteur réduit se trouve sous forme anionique comme l'avait observé Fullerton *et al.*<sup>90</sup> Ainsi, la déprotonation de l'azote 1 devrait augmenter la densité électronique du cycle de la flavine et ainsi faire croître la nucléophilie de l'azote 5.

Ce résultat associé à la proximité du cofacteur et du substrat dans le site actif amène Kiessling et ses collaborateurs à envisager l'attaque nucléophile de l'azote en position 5 de la flavine sur le sucre nucléotide. Un adduit cofacteur-substrat **B28** de type iminium serait ainsi formé (Schéma 12).<sup>92</sup>

L'observation par spectroscopie UV révèle un pic d'absorbance à 500 nm en présence de l'enzyme réduite et d'UDP-Galp, qui n'existe pas si l'UDP remplace l'UDP-Galp. Or il a été montré en 1976 que la formation d'un ion iminium sur l'azote N5 de la flavine conduit à l'apparition d'un tel pic d'absorbance UV.<sup>93</sup> Ces observations étayent l'hypothèse de la formation d'un iminium dérivé de la flavine. La preuve irréfutable de l'existence de cet adduit est apportée en 2004 par une expérience de piégeage. En effet, l'équipe de Kiessling a mis en réaction l'UDP-Galp, la flavoenzyme ainsi qu'une source d'hydrure le NaBH<sub>3</sub>CN. Après traitement, le dérivé de substrat extrait est associé à la flavine et non à l'enzyme. L'adduit iminium est donc formé avec le cofacteur FAD et non avec l'enzyme comme précédemment suggéré. Les analyses UV et surtout la spectrométrie de masse permettent de confirmer que le produit obtenu correspond à l'adduit flavine-substrat réduit **B29** (Schéma 12).

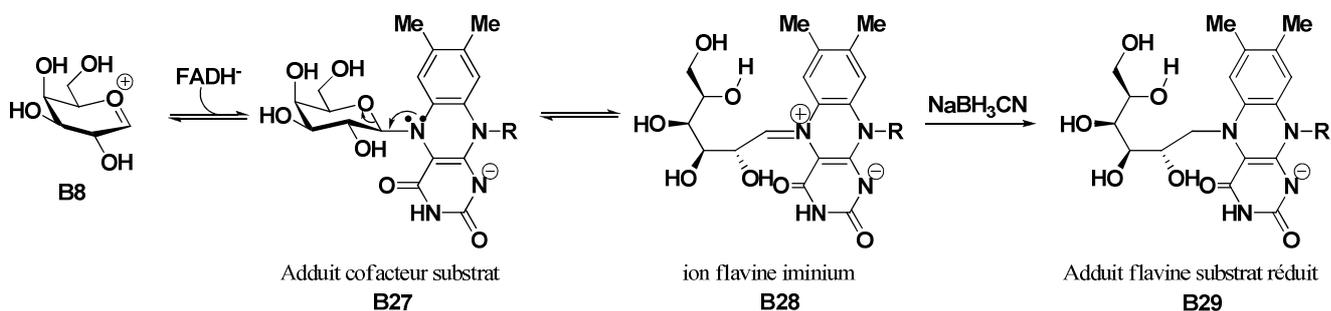


Schéma 12 : Mise en évidence de l'adduit Flavine-Gal

Ce résultat est extrêmement important dans la mesure où il confirme le passage par un mécanisme de type B mettant en jeu un intermédiaire covalent flavine-galactose **B27**.

<sup>92</sup> Soltero-Higgin, M.; Carlson, E. E.; Gruber, T. D.; Kiessling, L. L., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 539-543.

<sup>93</sup> Williams, R. F.; Bruice, T. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 7752-7768.

Cependant, cette étude ne permet pas de conclure sur le chemin moléculaire emprunté. En effet, la flavine *N*-glycosylée peut être obtenue par différents mécanismes : Le transfert mono-électronique de la flavine réduite sur un intermédiaire oxocarbénium suivi d'un couplage radicalaire, ou une attaque nucléophile de type  $S_N1$  ou  $S_N2$ , peuvent être envisagés. Malgré de nombreuses spéculations à ce sujet,<sup>68,90,92</sup> aujourd'hui aucune preuve formelle ne permet de privilégier l'une des deux voies. Cependant comme nous l'avons vu précédemment l'isomérisation est réversible, or le principe de réversibilité microscopique implique qu'une liaison soit coupée par un processus de nature similaire (monoélectronique ou anionique) à celui utilisé pour sa formation.<sup>94</sup> Donc la coupure de la liaison C-N sur le composé **B9** résulte soit d'un clivage homolytique après une recombinaison radicalaire soit d'une addition-élimination mais pas d'un mélange des deux voies (Schéma 8). De plus il n'existe pas de précédent au clivage homolytique de liaison C-N sur des hemiaminals tels que les composés **B9** ou **B12**, alors qu'il y a un précédent d'addition-élimination sur un motif carbonylé.<sup>93</sup> Ceci nous permet donc de privilégier le mécanisme par addition nucléophile plutôt que le couplage radicalaire pour la formation des adduits cofacteur-galactose **B9** et **B12**.

Ces résultats ont permis une avancée significative dans la compréhension du mécanisme mis en jeu dans l'isomérisation en révélant un rôle essentiel et encore inconnu, pour une flavine dans une réaction enzymatique. La formation d'un adduit covalent flavine-galactose **B9**, après coupure de la liaison anomérique C-O, permet la contraction de cycle par un mécanisme d'ouverture-cyclisation *via* un ion iminium **B10**. Toutefois, même si de grandes avancées ont été réalisées dans le mécanisme de l'isomérisation catalysé par l'UDP-Galp mutase, ce dernier n'est toujours pas complet. Très récemment de nouveaux éléments ont pu être apportés par l'équipe de Pinto.

En effet, une étude plus détaillée du site actif de la mutase vient d'être publiée par Pinto, Liu et leurs collaborateurs. Ces travaux réalisés en combinant des études de STD RMN (« différence de transfert de saturation») avec à un modèle de « binding » du nucléotide-sucré avec la flavine oxydée, permettent de mieux appréhender les relations entre la structure du substrat et l'activité de l'enzyme.<sup>69</sup> L'enzyme n'ayant pas pu être cristallisée en présence de son substrat, le mode de liaison de l'UDP-Galp dans le site actif n'est cependant toujours pas élucidé précisément à ce jour.

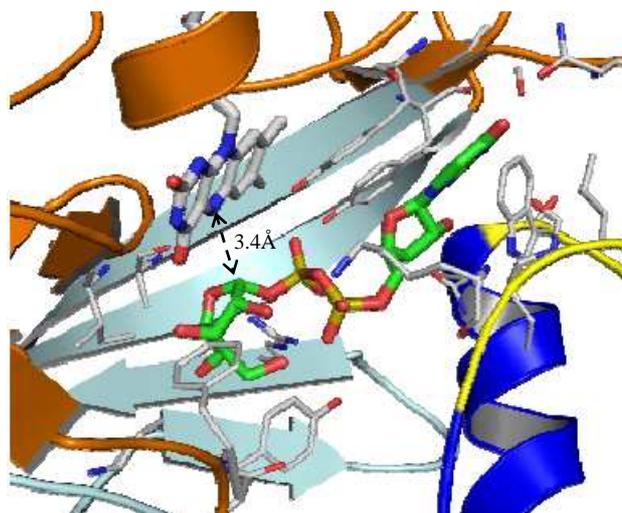
L'expérience STD-RMN nous permet de saisir comment les substrats se lient à l'enzyme en solution. Appliquée à l'UDP-Galp mutase, elle révèle tout d'abord que l'UDP-Galp et l'UDP-Galf sont reconnus de manière identique par l'enzyme oxydée même si cette dernière est inactive. Cependant l'UDP seul est plus affiné que les nucléotides-sucrés. Ceci est en accord avec les intensités STD épitope qui montrent que les protons de l'uridine sont les plus proches du site actif de la protéine. La charpente saccharidique quant à elle se trouve plus éloignée.

---

<sup>94</sup> Miller, S. M., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 497-498.

Les interactions du motif UDP avec la mutase sont donc essentielles à une bonne reconnaissance par le site actif.<sup>95</sup>

Une simulation par dynamique moléculaire basée sur les résultats STD permet d'obtenir une conformation de plus basse énergie pour l'UDP-Galf dans le site actif en accord avec le mécanisme réactionnel faisant intervenir un adduit flavine-galactose et la coupure de la liaison anomérique (Figure 16). En effet, ainsi le positionnement de l'UDP-Galf est similaire à celui de l'UDP-Galp. Le carbone anomérique se situe à 3,4Å de l'azote de l'isoalloxazine. Cette distance combinée à la conformation « tordue » adopté par l'UDP-Galf est favorable à la coupure de la liaison C-O.

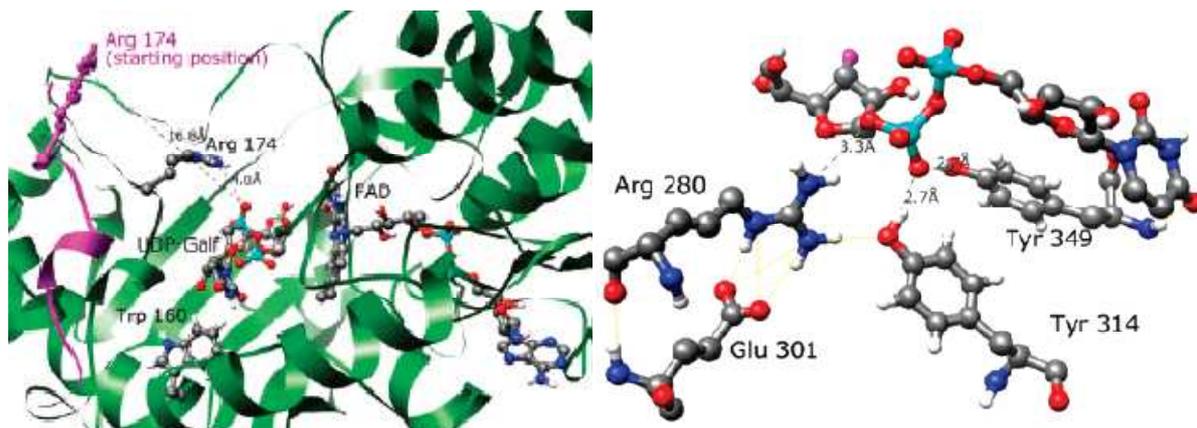


**Figure 16 :** Positionnement présumé de l'UDP-Galf dans le site actif de l'UGM. Les domaines 1, 2 et 3 sont respectivement représentés en orange, bleu et cyan. Les deux boucles flexibles sont en jaune.

Les simulations avec l'UDP-Galp mutase réduite de *K. pneumoniae* révèlent que la boucle flexible (principale différence entre les structures cristallines de mutase) a une grande mobilité. Cette boucle viendrait en fait se refermer sur le site actif pendant la contraction de cycle. Ce mouvement est bien illustré par la position de l'arginine 174 (Figure 17a). Ce résidu essentiel à l'activité<sup>96</sup> se déplace de 18Å de façon à placer l'azote porté par sa chaîne latérale à une distance de 4-5Å du premier oxygène du phosphate. L'arginine 174 est donc susceptible de faciliter le départ de motif UDP puis de stabiliser la charge négative ainsi formée. De même l'arginine 280 et les tyrosines 314 et 349 semblent être correctement positionnées pour stabiliser la charge négative de l'UDP (Figure 17b). Ces observations sont en accord avec les précédentes études de mutagenèse.<sup>96</sup> Cependant, les tyrosines semblent former des interactions avec le premier phosphonate (Figure 17) et non avec le second comme précédemment supposé. De plus une fois que la mutase a adopté sa conformation « active », c'est-à-dire que la boucle est refermée sur le site actif, l'UDP est protégé de la diffusion et reste suffisamment proche du galactose pour réagir avec l'oxocarbénium furanose intermédiaire.

<sup>95</sup> Yuan, Y.; Wen, X.; Sanders, D. A. R.; Pinto, B. M., *Biochemistry* **2005**, *44*, 14080-14089.

<sup>96</sup> Chad, J. M.; Sarthy, K. P.; Kiessling, L. L.; Sanders, D. A. R., *Biochemistry* **2007**, *46*, 6723-6732.



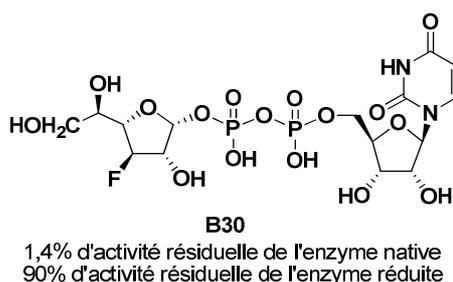
**Figure 17 :** a) mouvement de la boucle mobile d'UGM avec UDP-Galf. La position de l'arginine 174 pendant 1,5 ns est représentée en gris puis les 2,5 ns suivantes en rose b) positionnement favorable des résidus Arg 280, Tyr 314 et Tyr 349 pour une stabilisation de la charge négative de l'UDP.

Ces récentes avancées sur le mécanisme de l'isomérisation et sur la structure de l'enzyme devraient permettre d'optimiser la conception de nouveaux composés sur la base des interactions favorables et nécessaires mises en évidence dans le site actif de l'UDP-Galp mutase.

### III.3. INHIBITEURS DE L'UDP-GALP MUTASE

#### III.3.1. LES ANALOGUES FLUORES DE L'UDP-GALP OU DE L'UDP-GALF

Le dérivé 3-Fluoro de l'UDP-Galf présente une forte inhibition irréversible de l'enzyme oxydée (1,4% d'activité résiduelle) mais une faible inhibition de l'enzyme réduite d'*E. coli* avec activité résiduelle de 90% à une concentration de 1mM en inhibiteur et en UDP-Galf (Figure 18).<sup>81</sup>

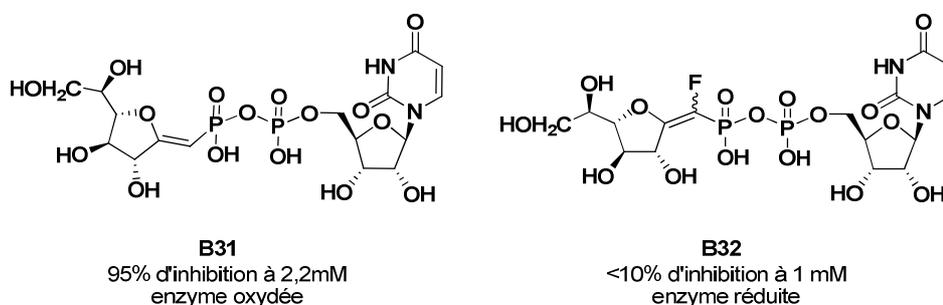


**Figure 18 :** Inhibition de la mutase d'*E. coli* par l'UDP-[3F]-Galf à 1mM

Sinaÿ et ses collaborateurs ont préparé des analogues de type exo-glycal de l'UDP-Galf. La présence d'un carbone hybridé  $sp^2$  en position anomérique permet de mimer l'intermédiaire (ou état de transition) oxocarbénium. De plus, la réactivité de cette double liaison pourrait permettre des additions nucléophiles et ainsi générer des adduits covalents avec l'enzyme. L'exo-glycal **B31** présente une inhibition de l'enzyme oxydée supérieure à 95% à une

concentration de 2,2 mM mais n'exerce pas d'inhibition sur la mutase réduite.<sup>97</sup> Ils ont également préparé les isomères fluorés Z et E **B32** (Figure 19) comme sondes mécanistiques. Cependant ces composés présentent une faible inhibition, inférieure à 10% à une concentration de 1 mM en inhibiteur et en UDP-Galf.<sup>86</sup>

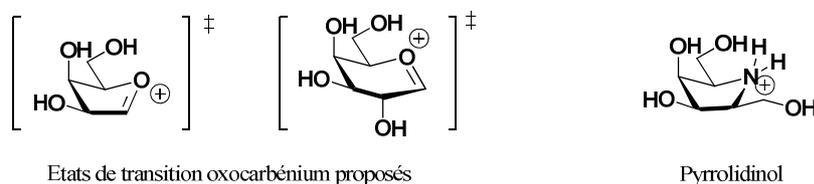
Ces composés de types exo-glycal sont de mauvais inhibiteurs de la mutase active.



**Figure 19 :** Inhibition de la mutase d'*E. coli* par les analogues exo-glycal de l'UDP-Galf

### III.3.2. LES PYRROLIDINES POLYHYDROXYLEES

Les iminosucres sont connus pour être de bons analogues de l'état de transition de type oxocarbenium. En effet, à pH physiologique, l'azote se protone, le pyrrolidinol mimant alors la distribution de charge comme la conformation de l'oxocarbenium (Figure 20).

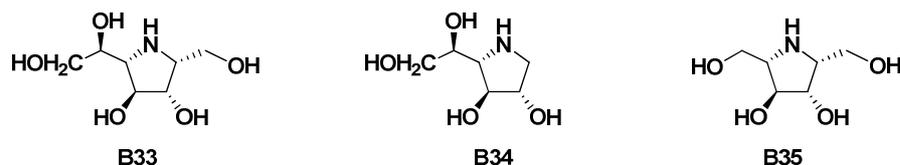


**Figure 20 :** Pyrrolidinol analogues de l'état de transition

Les analogues en série iminosucre du galactofuranose ont fait l'objet de quelques travaux par Fleet et ses collaborateurs à la fin des années 90. Les pyrrolidines polyhydroxylées **B33** à **B35** présentent des inhibitions assez intéressantes. En effet, ces composés peuvent induire de 67 à 81% d'inhibition de la conversion inverse (furanose→pyranose) de la mutase oxydée (non active) de *K. pneumoniae* ainsi qu'une inhibition de la biosynthèse de la paroi bactérienne de l'ordre de 60% à 200 µg/mL.<sup>98</sup> L'absence d'activité du dérivé de l'arabinose montre que ces composés doivent avoir un squelette de type hexose. (Tableau 3)

<sup>97</sup> Caravano, A.; Vincent, S. P.; Sinaÿ, P., *Chem. Commun.* **2004**, 1216-1217.

<sup>98</sup> Lee, R. E.; Smith, M. D.; Nash, R. J.; Griffiths, R. C.; McNeil, M. R.; Grewal, R. K.; Yan, X.; Besra, G. S.; Brennan, P. J.; Fleet, G. W. J., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 6733-6736.

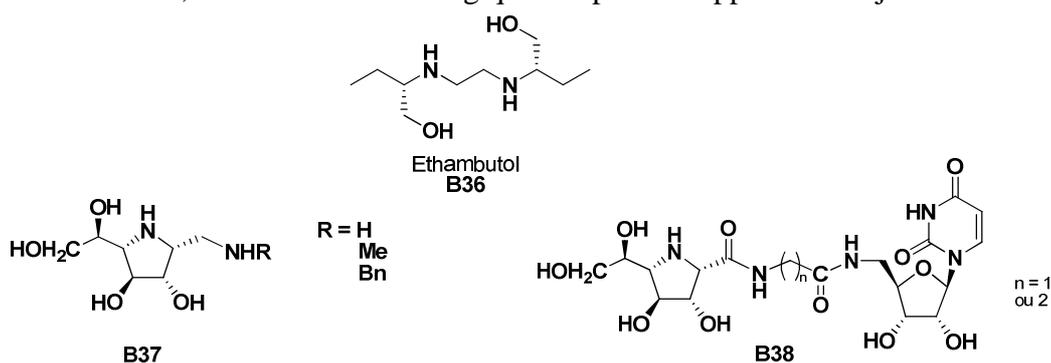


Composé à 200 µg/mL	B33	B34	B35
Inhibition de la biosynthèse de la paroi mycobactérienne (%)	63	56	67
Inhibition de la conversion Galp→Galf (%)	64	36	-
Inhibition de la conversion Galf→Galp (%)	67	81	-

**Tableau 3 :** Inhibition (%) des iminosucres simples synthétisés par l'équipe de Fleet

Les dérivés de configuration galactose **B33** et **B34** présentent des activités modérées mais néanmoins intéressantes de la mutase.

Ces résultats ont incité la même équipe à préparer des analogues du galactofuranose portant deux fonctions amines avec un arrangement semblable à celui d'un anti-mycobactérien l'éthambutol **B36** (Figure 21). Malgré cette analogie ces composés de type **B37** se sont avérés inactifs sur l'UDP-Galp mutase,<sup>99</sup> ce qui montre l'effet néfaste sur l'activité d'une fonction amine exocyclique. Enfin, ils ont synthétisé deux analogues de type iminogalactitols peptidonucléosidiques **B38**. Ces analogues possèdent un lien peptidique remplaçant le pyrophosphate qui devrait augmenter la stabilité et le transport de la molécule à travers les membranes (Figure 21). Ces composés sont les seuls mimes de donneur décrits avant nos travaux et comportent un lien peptidique en lieu et place du pyrophosphate. Cependant, à notre connaissance, leur évaluation biologique n'a pas été rapportée à ce jour.



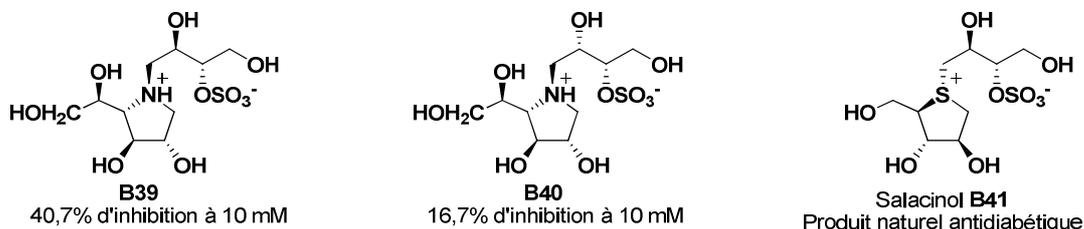
**Figure 21 :** Iminosucres analogues de l'Ethambutol

L'équipe de Pinto a synthétisé des dérivés zwitterioniques (**B39** et **B40**) de l'iminogalactitol apparenté au Salacinol **B41** qui est un produit naturel à propriété antidiabétique (Figure 22).<sup>100</sup> La présence de la charge de l'iminium mime l'état de transition oxocarbenium et devrait

<sup>99</sup> Lee, R. E.; Smith, M. D.; Pickering, L.; Fleet, G. W. J., *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8689-8692.

<sup>100</sup> Yoshikawa, M.; Murakami, T.; Shimada, H.; Matsuda, H.; Yamahara, J.; Tanabe, G.; Muraoka, O., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8367-8370.

permettre une meilleure stabilisation électrostatique dans le site actif. De plus, la chaîne polyhydroxylée contenant le contre-ion sulfate permettrait une meilleure stabilisation du composé. Cependant ces analogues présentent de très faibles inhibitions respectivement de 40,7 et 16,7% à une concentration de 10 mM.<sup>101</sup>

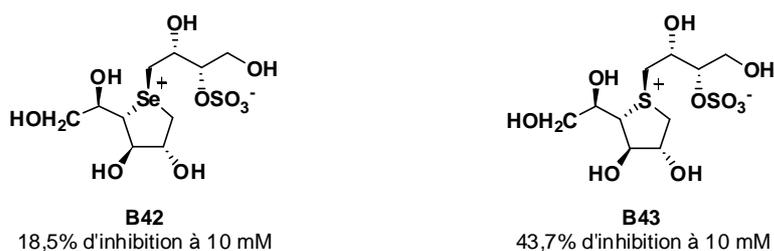


**Figure 22 :** Inhibition de la mutase de *K. pneumoniae* par les zwitterions préparés par l'équipe de Pinto

Ces exemples montrent que certains iminosucres exercent une inhibition de la biosynthèse de la paroi mycobactérienne et cela résulte probablement d'une action sur l'UDP-Galp mutase. Cependant aucun des inhibiteurs potentiels testés jusqu'ici ne possède de motif uridine ou phosphate, ce qui pourrait expliquer un manque d'activité de ces composés.

### III.3.3. LES AUTRES ANALOGUES DE SUCRES

D'autres composés possédant une charpente saccharidique ont été étudiés. Pinto et ses collaborateurs ont également évalué des analogues sulfonium et selenonium du motif galactofuranose tels que les composés **B42** et **B43**. Comme leur analogue azoté **B40**, ces composés montrent de très faibles inhibitions de 18,5% pour le selenonium **B42** et 43,7% pour le sulfonium **B43** à une concentration de 10 mM.<sup>101</sup> (Figure 23)

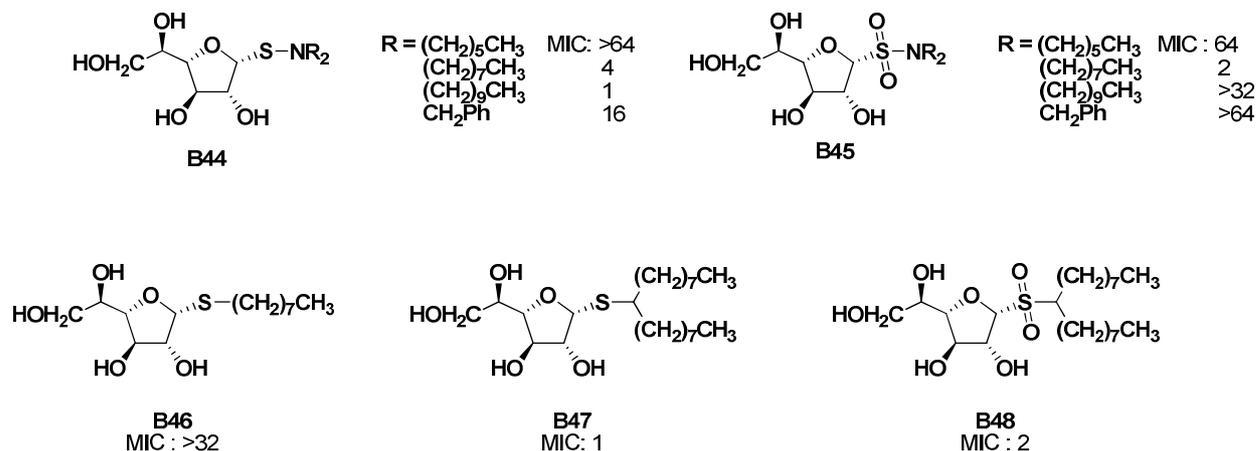


**Figure 23 :** Inhibition de la mutase de *K. pneumoniae* par les analogues sulfonium et selenonium du Galp

Récemment l'équipe de von Itzstein a réalisé la synthèse et l'évaluation comme antimycobactériens de plusieurs dérivés thioglycosidiques. Les concentrations minimales

<sup>101</sup> Veerapen, N.; Yuan, Y.; Sanders, D. A. R.; Pinto, B. M., *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 2205-2217.

d'inhibition de *Mycobacterium smegmatis* sont indiquées sur la Figure 24.<sup>102,103,104,105</sup> Cinq composés présentent des activités intéressantes (MIC inférieures à 5 µg/mL). Il s'agit de dérivés thioglycosidiques du galactofuranose portant des fonctions sulfénamide **B44**, sulfonamide **B45**, thioglycoside **B46**, **B47** et sulfone **B48**. Cela révèle l'importance du motif *N,N*-dioctyl sur un dérivé galactofuranosique. D'autre part, l'étude montre que le sulfonamide avec les chaînes décyle inhibent également *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium fortuitum* et *Mycobacterium abscessus* à moins de 5 µg/mL.



**Figure 24** : Concentration minimale d'inhibition (MIC en µg/mL) pour les analogues sulfénamides et sulfonamides de von Itzstein

Cependant, ces tests effectués *in vitro* ne nous donnent aucune information sur la cible biologique de ces molécules.

Les équipes de Kovensky et de Sinay ont synthétisé des inhibiteurs C-glycosidiques dans le but d'augmenter leur stabilité chimique mais aussi enzymatique. Ainsi la coupure de la liaison C-O dans l'UDP-C-Galp **B49**<sup>106</sup> et l'UDP-C-1,4-anhydro-β-Galp **B24** est rendue impossible. Leur évaluation biologique montre de nouveau une inhibition de l'enzyme native supérieure à celle, faible, de l'enzyme réduite (Tableau 4).<sup>88</sup>

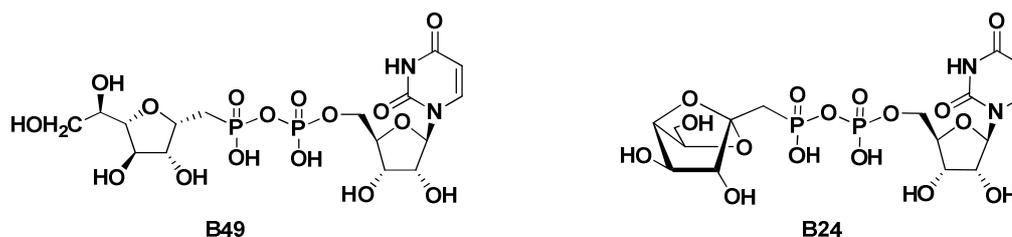
<sup>102</sup> Owen, D. J.; Davis, C. B.; Hartnell, R. D.; Madge, P. D.; Thomson, R. J.; Chong, A. K. J.; Coppel, R. S.; von Itzstein, M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2274-2277.

<sup>103</sup> Davis, C. B.; Hartnell, R. D.; Madge, P. D.; Owen, D. J.; Thomson, R. J.; Chong, A. K. J.; Coppel, R. S.; von Itzstein, M., *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 1773-1780.

<sup>104</sup> Von Itzstein, M.; Davis, C. B.; Thomson, R. J.; Hartnell, D. R.; Madge, P. D. O. An Antimicrobial Agent. *Int. Pat. Appl.* WO2003/070715, 2003.

<sup>105</sup> Von Itzstein, M.; Davis, C. B.; Thomson, R. J.; Hartnell, D. R.; Madge, P. D. O. Novel Sulfenamides. *Int. Pat. Appl.* WO2005/019237, 2005.

<sup>106</sup> Kovensky, J.; McNeil, M. R.; Sinay, P., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6202-6205.

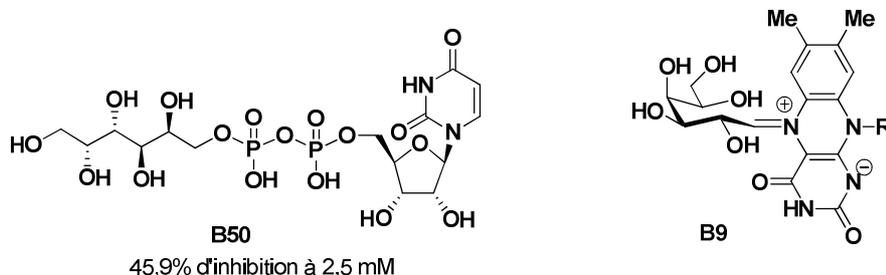


Inhibition à 1 µg/mL Inhibiteur, 1 mM UDP-Galf (%)	<b>B49</b>	<b>B24</b>
Enzyme oxydée	81-91	42-53
Enzyme réduite	14-2	34-32

**Tableau 4 :** Analogues C-glycosidiques de l'UDP-Galf

En 2007, les équipes de Liu<sup>107</sup> et de Vincent<sup>108</sup> se sont intéressées à la synthèse d'analogues de l'intermédiaire réactionnel acyclique **B9** (Figures 25 et 26).

L'UDP-GalOH **B50** de Liu a été conçu comme une sonde mécanistique susceptible de se lier à la flavine. L'UDP n'étant pas un bon groupe partant ce composé n'est pas substrat de l'enzyme et il montre une activité inhibitrice relative faible de la mutase réduite d'*E. coli*. de 45,9% à une concentration de 2,5 mM, similaire à celle de l'UDP (49,4%) et de l'UMP (50,6%) qui sont des inhibiteurs compétitifs de la mutase.

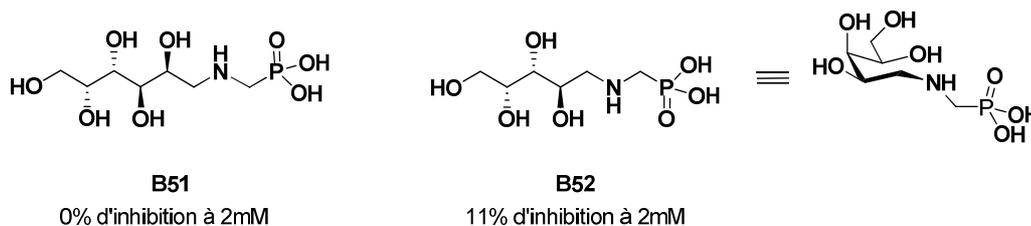


**Figure 25 :** Analogue acyclique de l'UDP-Galf

Les aminophosphonates acycliques de Vincent sont également de mauvais inhibiteurs de la mutase réduite d'*E. coli*. A 2 mM, le galactitol aminophosphonate **B51** n'inhibe pas l'enzyme tandis que son analogue lyxitol **B52** l'inhibe à 11%. Dans les mêmes conditions l'UDP inhibe la mutase à 36%. Ces résultats suggèrent donc un rôle important de l'uridine dans la conception de nouveaux inhibiteurs.

<sup>107</sup> Itoh, K.; Huang, Z.; Liu, H.-w., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 879-882.

<sup>108</sup> Pan, W.; Ansiaux, C.; Vincent, S. P., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4353-4356.



**Figure 26 :** Analogues acyclique du Galf monophosphate

Il est important de noter que dans le cadre de la synthèse d'intermédiaire **B9** c'est le composé de configuration *lyxo* **B52** et non *galacto* **B51** qui mime le mieux le motif « sucre acyclique ».

La majorité des analogues d'intermédiaires réactionnels et/ou états de transition préparés présente des inhibitions très faibles (de l'ordre du millimolaire) de l'UDP-Galp mutase inférieures à celle de l'UDP seul ( $IC_{50}$  de 200  $\mu$ M).<sup>109</sup> Les iminosucres simples de Fleet et ses collaborateurs ont des activités encourageantes et présentent également une inhibition de la biosynthèse des galactanes. En fait, le composé présentant, à ce jour, la plus forte inhibition n'est pas issu d'une conception rationnelle mais d'un criblage de librairie de composés comme nous allons le voir par la suite.

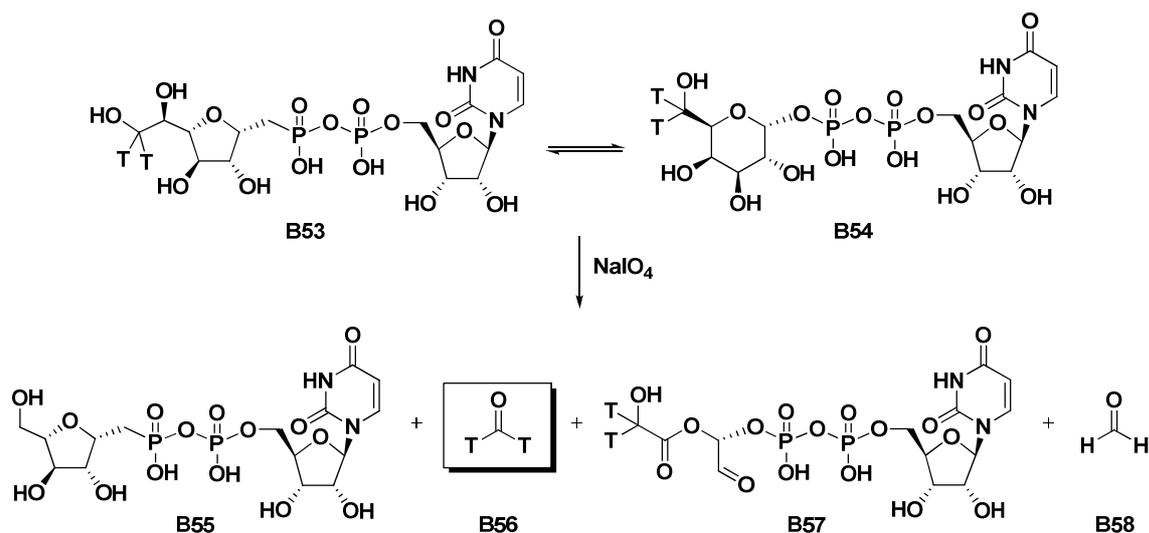
### III.3.4. LES COMPOSES ISSUS DU CRIBLAGE DE LIBRAIRIE

La recherche de nouveaux inhibiteurs de l'UDP-Galp mutase a connu un essor considérable ces dernières années en raison du développement de tests plus rapides adaptés au screening de librairies de composés.

Comme décrit précédemment la méthode la plus courante est basée sur la réaction inverse catalysée par la mutase et la quantification de produit obtenu est réalisée par la séparation par HPLC des isomères pyranoses et furanoses.<sup>62,73</sup> Cependant la disponibilité de l'UDP-Galf reste un facteur limitant pour cette méthodologie, d'ailleurs inapplicable au criblage.

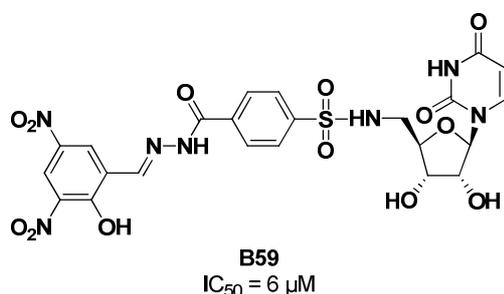
En 2003, Mc Neil et son équipe mettent au point un test basé sur la détection de formaldéhyde tritié **B56** issu de la coupure oxydante et sélective au  $NaIO_4$  de l'UDP-Galf **B53** (Schéma 13).<sup>109</sup>

<sup>109</sup> Scherman, M. S.; Winans, K. A.; Stern, R. J.; Jones, V.; Bertozzi, C. R.; McNeil, M. R., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, 47, 378-382.



**Schéma 13 :** Quantification de l'UDP-Galp par détection du formaldéhyde tritié après coupure oxydante au  $\text{NaIO}_4$

Ce test nécessite l'utilisation du substrat commercial UDP-[6- $^3\text{H}$ ]-Galp **B54** et a permis l'évaluation de 1300 composés possédant un motif uridine. Un seul composé actif a été identifié, le composé **B59** ci-dessous, qui présente 50% d'inhibition à une concentration de l'ordre de 6  $\mu\text{M}$ . (Figure 27). Malheureusement, ce composé n'a aucun effet inhibiteur sur la croissance de *M. tuberculosis*.



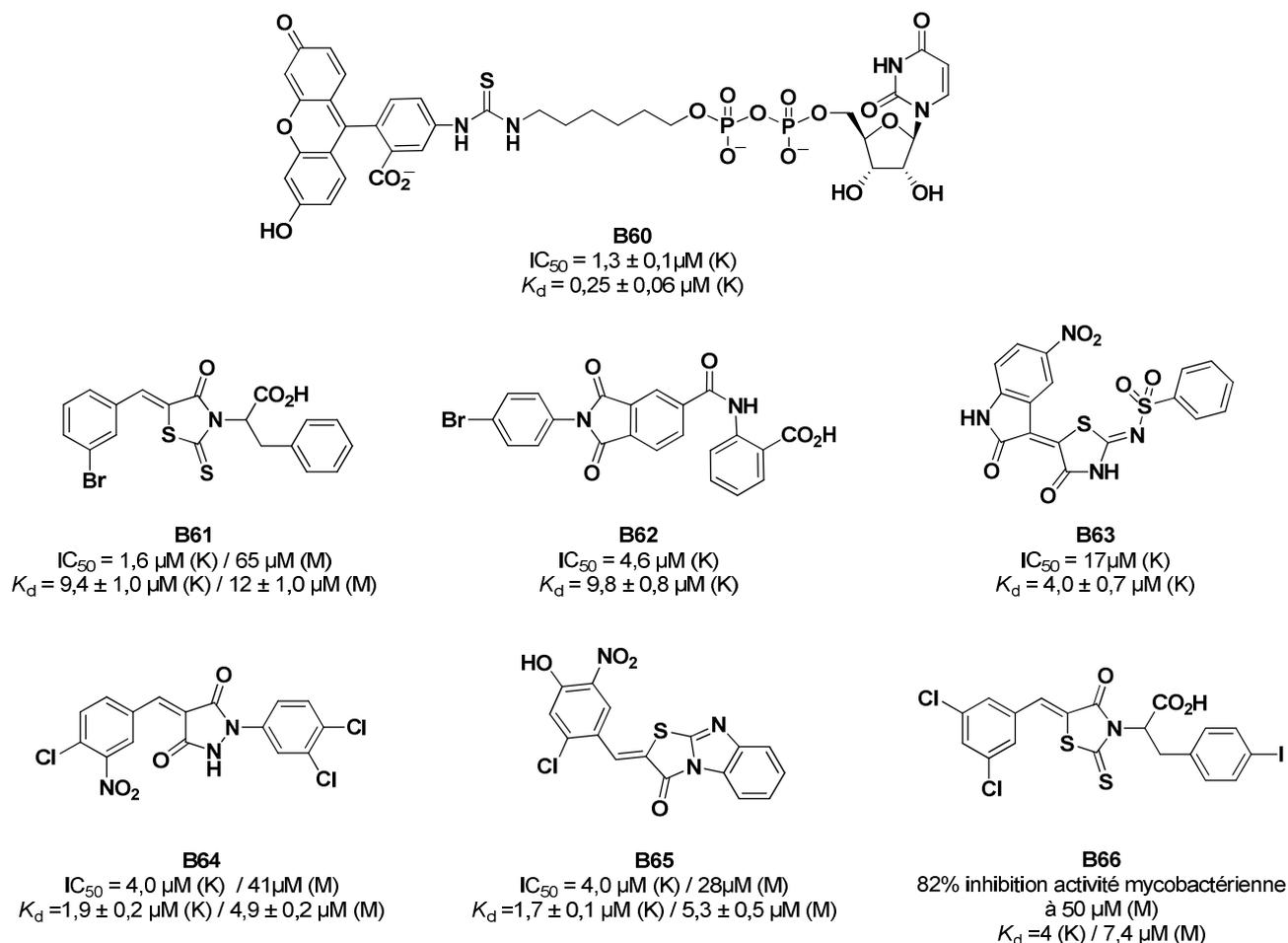
**Figure 27 :** Structure du composé **B59**

Kiessling et ses collaborateurs ont développé en 2004, un nouveau test reposant sur la polarisation de fluorescence.<sup>110</sup> Pour cela ils ont mis au point une sonde fluorescente **B60** qui reste à ce jour le meilleur ligand de l'UDP-Galp mutase ( $K_d = 0,25 \pm 0,06 \mu\text{M}$ ) (Figure 28). Le screening de plusieurs bibliothèques de petites molécules a permis d'identifier également de bons inhibiteurs de la mutase (Figure 28).<sup>110,111,112</sup>

<sup>110</sup> Soltero-Higgin, M.; Carlson, E. E.; Phillips, J. H.; Kiessling, L. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10532-10533.

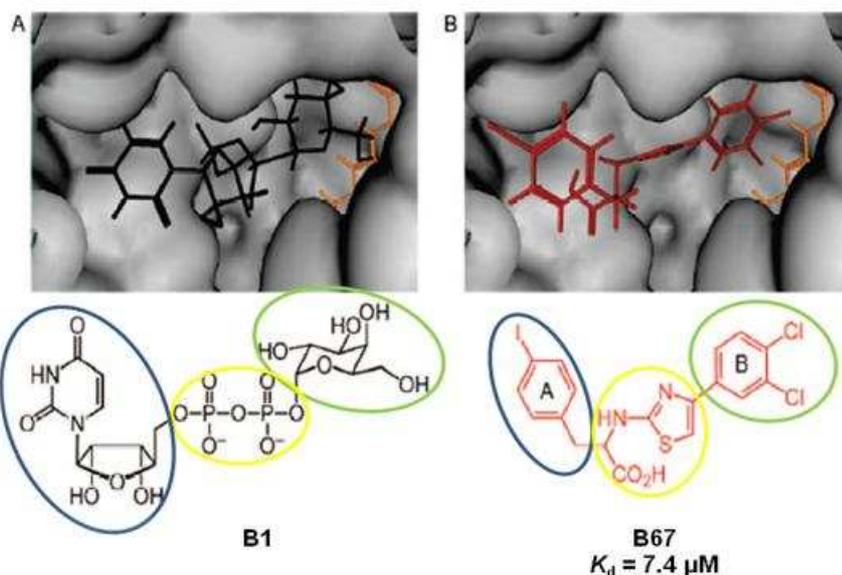
<sup>111</sup> Carlson, E. E.; May, J. F.; Kiessling, L. L., *Chemistry and Biology* **2006**, *13*, 825-837.

<sup>112</sup> Dykhuizen, E. C.; May, J. F.; Tongpenyai, A.; Kiessling, L. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6706-6707.



**Figure 28 :** Structure de la sonde fluorescence et des composés issus du screening. (M) et (K) représentent respectivement une UGM de *M. Tuberculosis* et une UGM de *Klesbiella pneumoniae*. L' $IC_{50}$  se rapporte à l'activité enzymatique d'UGM.

Ces composés très similaires en taille au substrat naturel semblent mimer les trois constituants de l'UDP-Galf, un noyau benzylique pour le sucre, un motif hétérocyclique à cinq membres fonctionnalisé sur les positions 1 et 3 pour le pyrophosphate et un second noyau benzénique pour l'uridine (Figure 29).<sup>110</sup>



**Figure 29** : Modélisation de l'UDP-Galf et du composé **B67** dans le site actif de la mutase<sup>112</sup>

Le développement de tests permettant le screening de bibliothèques de composés a donc permis d'identifier les meilleurs inhibiteurs de l'UDP-Galp mutase connus à ce jour. Ils ont également fait ressortir que la présence de l'uridine, ou d'une espèce analogue, semble améliorer l'affinité et ainsi l'inhibition de l'enzyme. D'autre part, les iminosucres semblent également être des analogues de sucre intéressants actifs sur la mutase et l'inhibition de la paroi cellulaire. Tenant compte de ces données, nous nous proposons de synthétiser des analogues de substrat en série iminosucre possédant un motif ou un analogue de l'uridine, afin d'augmenter leur activité sur l'UDP-Galp mutase.

### III.4. CONCLUSION

L'étude bioorganique de l'UDP-Galp mutase révèle que cette enzyme qui participe à la biosynthèse des galactanes est présente chez les procaryotes et quelques eucaryotes inférieurs. Elle a pu être clonée et surexprimée chez différentes souches de bactéries ce qui en facilite l'étude. Cette enzyme catalyse la conversion de cycle réversible de l'UDP-Galp en UDP-Galf. Une telle isomérisation n'étant apparentée à aucune autre transformation enzymatique décrite dans la littérature, l'étude de son mécanisme est un point essentiel au développement d'inhibiteurs potentiels. Le mécanisme actuellement admis repose sur la rupture de la liaison anomérique du sucre nucléotide au cours de la réaction *via* l'attaque nucléophile de l'azote en position 5 de la flavine sur le galactose. Il en résulte alors la formation d'un adduit covalent flavine-galactose. Ce mécanisme est le premier exemple d'addition nucléophile de la flavine dans un processus enzymatique. L'iminium intermédiaire facilite alors l'ouverture du cycle puis sa fermeture engendrant ainsi une contraction de cycle. Le mécanisme fait preuve d'une

originalité supplémentaire en impliquant le déplacement d'une boucle flexible de l'enzyme. Cette dernière se referme sur le site actif de l'enzyme assistant ainsi la stabilisation du motif  $^-$  UDP généré transitoirement au cours de l'isomérisation.

Il reste toutefois des zones d'ombre dans ce mécanisme. En effet, aucune information n'est disponible à ce jour sur le type mécanisme mis en jeu lors de l'attaque nucléophile de la flavine, s'agit-il d'une substitution d'ordre 1 ou d'ordre 2 ?

Divers inhibiteurs ont été conçus de façon rationnelle comme des analogues d'UDP-Galf ou UDP-Galp. Cependant, aucun ne présente d'inhibition satisfaisante de la mutase. Toutefois, les iminosucres analogues de l'état de transition présentent une inhibition faible, mais significative, de la biosynthèse des galactanes. De ces études résulte un manque d'exemples comprenant un motif uridine qui semble être important puisque ces composés montrent des activités inférieures à celle de l'UDP seule.

Quelques composés issus de criblage de librairie de composés ont toutefois montré des inhibitions intéressantes avec des  $IC_{50}$  de l'ordre du micromolaire. Ces composés possèdent un motif uridine ou un analogue aromatique.

Il ressort de ces études l'importance d'interaction de type  $\pi$ -stacking avec l'uridine ou un autre motif aromatique. Nous nous proposons donc de préparer des analogues de l'UDP-Galf basés sur un squelette iminosucre en conservant l'uridine.

La seconde famille d'enzymes impliquées : les Galf transférases est moins bien connue et nous présentons dans le paragraphe suivant l'état des lieux des avancées la concernant.

## IV. LES GALACTOFURANOSYL TRANSFERASES (GLFT)

### IV.1. LA BIOSYNTHESE DES GALACTANES

#### IV.1.1. LES GLYCOSYLTRANSFERASES

Les glycosyltransférases (GTs, EC 2.4.x.y) sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un résidu sucre issu d'un donneur activé à un accepteur, généralement une molécule portant une fonction hydroxyle, afin de former une liaison glycosidique. Ces enzymes jouent un rôle primordial dans la biosynthèse d'oligosaccharides, de polysaccharides et de glycoconjugués. Les glycosyltransférases sont divisées en deux groupes en fonction de leur mode d'action : les enzymes de Leloir (qui sont les plus courantes et utilisent comme sucre activé les nucléotides-sucres) et les enzymes dites non-Leloir. Ces dernières utilisent soit des glycosyle-1-phosphate, ou 1-pyrophosphate, soit des polyprénol phosphate ou pyrophosphates comme donneurs de glycoside ou encore d'autres donneurs comme le saccharose.<sup>113</sup> Ces enzymes présentes chez les eucaryotes et les procaryotes sont spécifiques du donneur et de l'accepteur de glycoside qui déterminent alors la nature du lien glycosidique formé.

Les difficultés rencontrées dans l'expression, la purification et la cristallisation des enzymes limite l'étude de leurs structures cristallines. Il existe tout de même plus de 100 structures décrites ce qui représente seulement 17 familles sur 78 répertoriées.<sup>114</sup> Les études comparatives effectuées montrent qu'elles possèdent toutes une organisation similaire. Neufs glycosyltransférases sont connues chez les mammifères et aucune ne catalyse la formation de liaison glycosidique entre deux motifs galactofuranoses. Cela rend d'autant plus importante l'étude de la biosynthèse des galactanes et les transférases impliquées dans ses processus fondamentaux.

Les galactofuranosyltransférases (GlFT) sont des glycosyltransférases spécifiques de l'UDP-Galf qui sont mises en jeu dans la biosynthèse des galactanes de la paroi bactérienne.<sup>115</sup> A ce jour deux de ces enzymes ont été identifiées et étudiées, GlFT1 et GlFT2.

#### IV.1.2. GLFT2

L'analyse du génome complet de *Mycobacterium tuberculosis*,<sup>65</sup> a permis de mettre en évidence le gène Rv 3808c dont les 4 premiers acides aminés recouvrent les 4 derniers de celui de l'enzyme mutase (Rv 3809c). L'analyse du gène montre qu'il possède un domaine constitué d'acides aminés caractéristiques des  $\beta$ -glycosyltransférases. Il a alors été cloné et exprimé dans *E. coli* et *M. smegmatis*. Son étude enzymatique révèle qu'il code pour la

---

<sup>113</sup> Leloir, L. F., *Annu. Rev. Biochem.* **1983**, 52, 1-16.

<sup>114</sup> Breton, C.; Šnajdrová, L.; Jeanneau, C.; Koca, J.; Imberty, A., *Glycobiology* **2006**, 16, 29R-37R.

<sup>115</sup> Mikusova, K.; Yagi, T.; Stern, R.; McNeil, M. R.; Besra, G. S.; Crick, D. C.; Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 33890-33897.

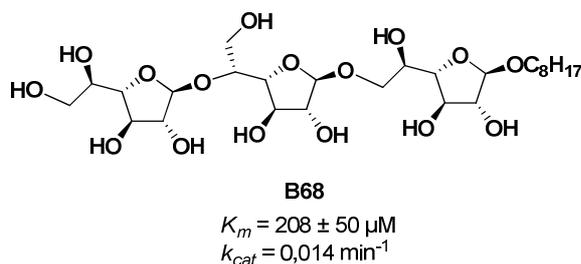
galactosyltransférase responsable de la polymérisation de la majeure partie des liens 5-Galf et 6-Galf, GlfT2.

En 2001, les premiers tests d'activité de cette transférase sont développés. Ils permettent d'affirmer qu'une seule enzyme catalyse la formation des liens glycosidiques Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5) et Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galf en alternance et en fonction de l'accepteur utilisé.<sup>116</sup> L'enzyme GlfT2 est donc une enzyme bifonctionnelle. Cependant aucun élément ne nous permet d'affirmer si elle possède un ou deux sites catalytiques pour ces deux activités distinctes. De plus il s'agit d'une enzyme « processive » dont l'affinité pour des accepteurs  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galf est supérieure à celle des  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-Galf.<sup>117</sup>

Une étude de spécificité de la GlfT2 réalisée par Lowary et ses collaborateurs en 2006 a permis de mettre en évidence plusieurs points.

Tout d'abord, la présence d'un motif Araf terminal non réducteur conduit à une chute de l'activité de l'enzyme d'autant plus importante si la liaison à former est de type  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6). L'hydroxyle en position 6 à l'extrémité non réductrice est donc nécessaire à l'activité.

Le second point est que l'enzyme a une grande affinité pour les substrats plus longs. En effet, le meilleur substrat connu à ce jour est l'analogue trisaccharidique **B68** représenté ci-dessous (Figure 30).<sup>118</sup>



**Figure 30** : Structure du trisaccharide Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galf

Très récemment, les travaux de Mikusova et ceux de Besra montrent que cette enzyme nécessite un digalactofuranoside pour poursuivre la polymérisation des galactanes.<sup>117, 119</sup> En effet, aucune élongation n'est observée sur un polysaccharide de type n-octyl  $\alpha$ -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-GlcNAcp **B69**, ni  $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-Rhap, ni  $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-GlcNAcp **B70** (Schéma 14). Une ou plusieurs autres enzymes, responsables de l'incorporation des premiers résidus galactofuranosiques, sont alors recherchées.

<sup>116</sup> Kremer, L.; Dover, L. G.; Morehouse, C.; Hitchin, P.; Everett, M.; Morris, H. R.; Dell, A.; Brennan, P. J.; McNeil, M. R.; Flaherty, C.; Duncan, K.; Besra, G. S., *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 26430-26440.

<sup>117</sup> Alderwick, L. J.; Dover, L. G.; Veerapen, N.; Gurcha, S. S.; Kremer, L.; Roper, D. L.; Pathak, A. K.; Reynolds, R. C.; Besra, G. S., *Protein Expression and Purification* **2008**, *58*, 332-341.

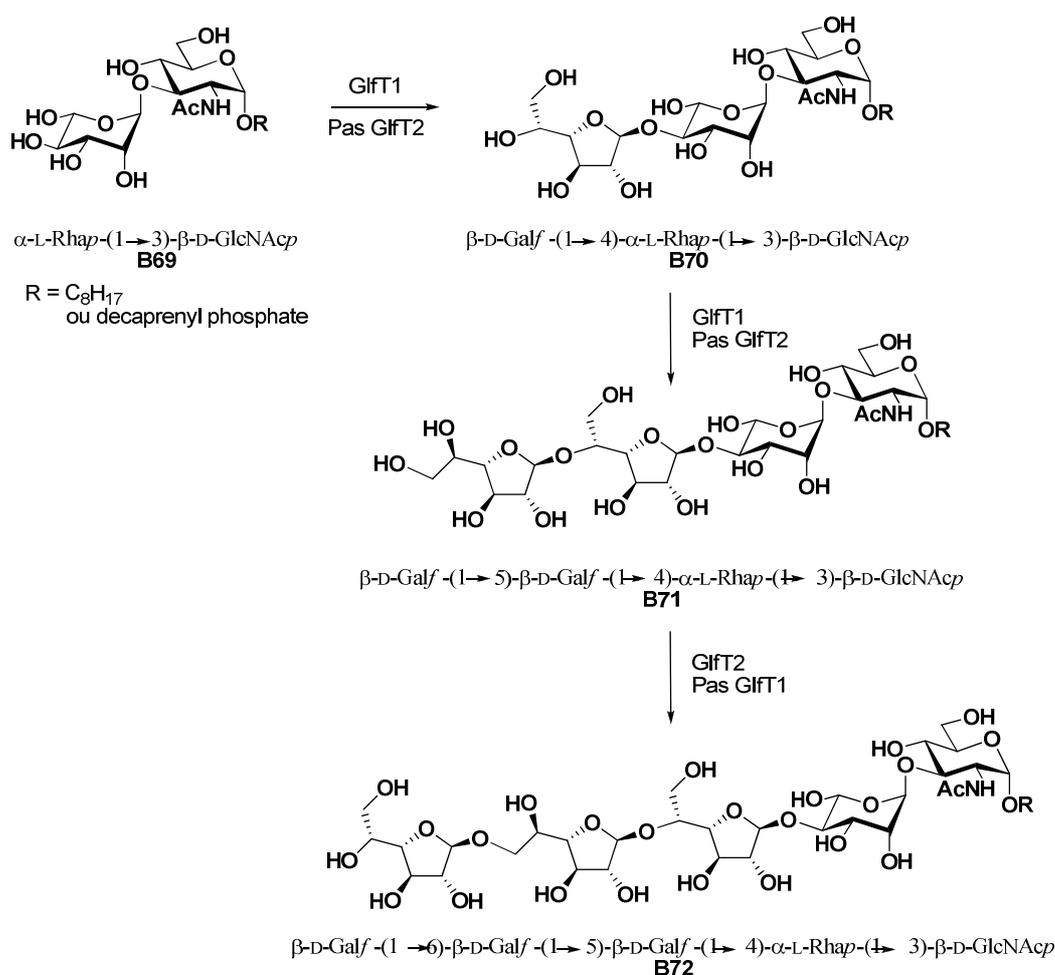
<sup>118</sup> Rose, N. L.; Completo, G. C.; Lin, S.-J.; McNeil, M. R.; Palcic, M. M.; Lowary, T. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6721-6729.

<sup>119</sup> Belanova, M.; Dianiskova, P.; Brennan, P. J.; Completo, G. C.; Rose, N. L.; Lowary, T. L.; Mikusova, K., *J. Bacteriol.* **2008**, *190*, 1141-1145.

### IV.1.3. GLFT1

En 2006, un nouveau gène de *Mycobacterium tuberculosis*, Rv 3782, a été découvert. Il se situe dans l'amas de gènes codant pour la biosynthèse des arabinogalactanes.<sup>65</sup> Il code pour une glycosyltransférase nécessitant un nucléotide-sucré donneur et fonctionnant avec inversion de configuration. De plus, il présente des similarités structurales avec certaines portions de Rv 3808c.<sup>120</sup> Il a été cloné et exprimé pour la première fois dans *M. smegmatis* ce qui a permis de montrer qu'il encodait pour une GlfT impliquée dans les premières étapes de la synthèse des galactanes.

En 2008, l'équipe de Mikusova confirme ces résultats et rapporte que cette enzyme est également bifonctionnelle. En effet, l'étude de son activité en présence de divers glycolipides natifs ou de synthèse prouve qu'elle catalyse l'insertion des deux premiers résidus galactofuranosiques *via* la formation d'une liaison  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) sur le rhamnose puis  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-Galf (Schéma 14).<sup>119</sup> Cependant cette enzyme est incapable de poursuivre l'extension de la chaîne galactofuranosique. Il semble donc que son activité soit relayée par celle de GlfT2.



**Schéma 14 :** Incorporation des premiers motifs galactofuranosés

<sup>120</sup> Mikusova, K.; Belanova, M.; Kordulakova, J.; Honda, K.; McNeil, M. R.; Mahapatra, S.; Crick, D. C.; Brennan, P. J., *J. Bacteriol.* **2006**, *188*, 6592-6598.

Depuis les travaux de Hagopian et Eylar dans les années 80,<sup>121</sup> il semblait acquis qu'à chaque type de liaison correspondait un type d'enzyme.

Les deux GlfT catalysant la synthèse des galactanes caractérisées à ce jour sont des enzymes bifonctionnelles, ce qui remet en cause ce dogme universellement accepté.

#### IV.1.4. AUTRES GALACTOSYLTRANSFERASES

Les Galf transférases ont été moins étudiées que l'UDP-Galp mutase mais elles ont suscité un regain d'intérêt ces dernières années. Des avancées considérables ont eu lieu en peu de temps même si quelques points restent encore à éclaircir. Entre autres, le nombre exact de galactofuranosyltransférases reste incertain. Si les enzymes permettant l'incorporation des 5 premiers résidus galactofuranosiques sont connues, aucune preuve n'a été à ce jour apportée concernant la capacité de GlfT2 à incorporer 25 résidus galactofuranosiques supplémentaires. De même, aucune information n'est disponible sur la régulation de l'élongation ainsi que l'incorporation du Galf terminal à l'extrémité réductrice.

Un nouveau gène, Rv 3786c, semblable à Rv 3782 a récemment été identifié.<sup>122</sup> Ceci, associé à l'évaluation de nouveaux substrats potentiels de type tri- et tetrasaccharide du galactofuranose lié au motif  $\alpha$ -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-GlcNAc<sub>p</sub> récemment synthétisés<sup>123</sup> devrait permettre de répondre à certaines de ces interrogations.

## IV.2. MECANISME PROPOSE

Les glycosyltransférases sont fréquemment comparées aux glycosidases (glycosylhydrolases) avec lesquelles elles présentent des analogies mécanistiques. En effet, deux types de mécanismes sont également envisageables pour les transférases, le mécanisme avec rétention ou celui avec inversion de configuration sur le carbone anomérique. Le mécanisme avec rétention de configuration n'est pas encore élucidé à ce jour. En revanche, il a été montré que le mécanisme avec inversion était, quant à lui, semblable à celui des glycosidases.<sup>114</sup>

Dans le cadre de l'étude des GlfT, le sucre nucléotide donneur est de configuration  $\alpha$  tandis que dans les galactanes la configuration du galactofuranose est  $\beta$ . Ceci implique que le mécanisme mis en œuvre est le mécanisme avec inversion de configuration.

Pour la première fois en 1996, des évidences structurales supportent un mécanisme de type S<sub>N</sub>2.<sup>124</sup> En effet, la présence d'une base catalytique, probablement un carboxylate, est mise en évidence. Elle active le groupe hydroxyle de l'accepteur de glycosyle **B73** par déprotonation

<sup>121</sup> Hagopian, A.; Eylar, E. H., *Arch. Biochem. Biophys.* **1986**, *128*, 422-433.

<sup>122</sup> Berg, S.; Kaur, D.; Jackson, M.; Brennan, P. J., *Glycobiology* **2007**, *17*, 25R-56R.

<sup>123</sup> Completo, G. C.; Lowary, T. L., *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4513-4525.

<sup>124</sup> Murray, B. W.; Takayama, S.; Schultz, J.; Wong, C.-H., *Biochemistry* **1996**, *35*, 11183-11195.

facilitant l'attaque nucléophile de l'accepteur sur le donneur **B2** (Schéma 15). De plus, les glycosyltransférases contiennent un cation métallique divalent de type Manganèse ou Magnésium. Cet ion métallique semble jouer le rôle de catalyseur électrophile en contribuant à la stabilisation du motif aglycone, UDP. Le groupement UDP est un bon nucléofuge et le carbone anomérique possède un fort caractère carbocationique donc le transfert du résidu galactose à un accepteur de glycoside est énergétiquement favorisé.

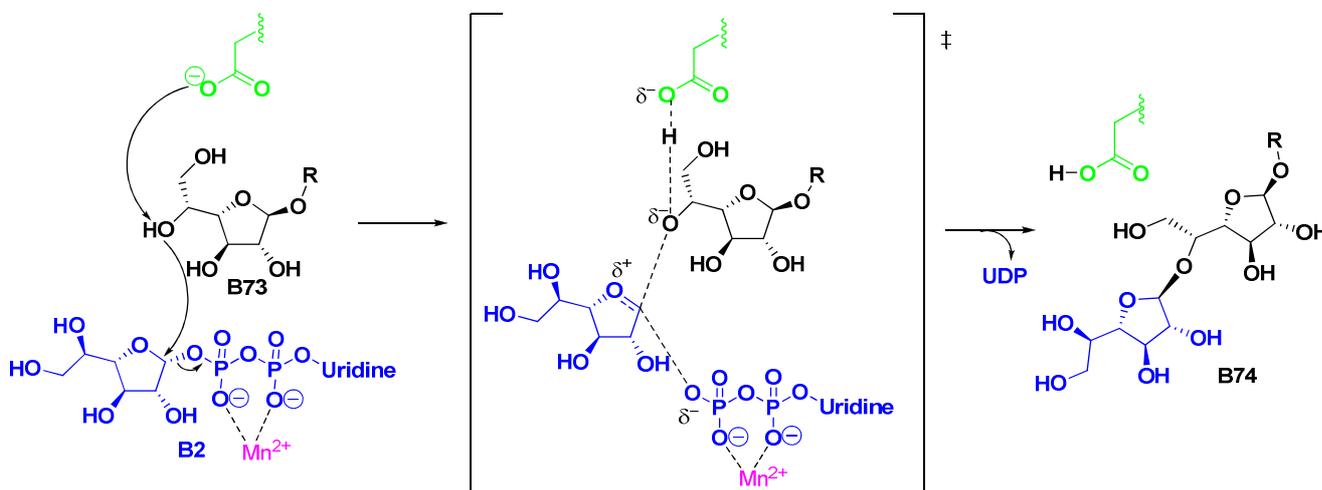


Schéma 15 : Mécanisme avec inversion de configuration proposé pour les GlfT

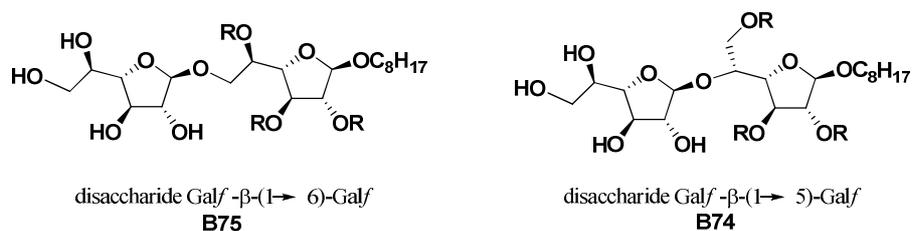
### IV.3. LES INHIBITEURS POTENTIELS DES GLFT

Différentes stratégies ont été utilisées pour trouver de nouveaux inhibiteurs de glycosyltransférases. La plus courante repose sur la conception d'analogues d'accepteurs, d'analogues de donneur et d'analogues d'états de transition. A ce jour, peu d'inhibiteurs synthétiques des GlfT ont cependant été rapportés et aucun analogue de donneur n'est connu pour avoir une activité inhibitrice sur GlfT1 ou GlfT2.

#### IV.3.1. ANALOGUES D'ACCEPTEURS

L'équipe de Reynolds rapporte en 2001 la synthèse d'analogues d'accepteurs reconnus comme substrats de GlfT2 et inhibiteurs de l'enzyme. Il est intéressant de noter que seuls les disaccharides méthylés sur la partie non réductrice sont de faibles inhibiteurs de l'enzyme (Tableau 5) et présentent une inhibition compétitive en présence de leurs analogues natifs à 0,5 mM. D'autre part, la présence de groupement benzyle induit un encombrement trop important pour que les composés benzylés soient reconnus comme substrats ou présentent une

activité inhibitrice. Quant aux analogues totalement hydroxylés ils n'inhibent pas l'enzyme mais sont de bons substrats de cette dernière.<sup>125</sup>



R = Bn	Pas substrat Pas d'inhibition	Pas substrat Pas d'inhibition
R = CH <sub>3</sub>	$K_m = 5,95$ mM $IC_{50} = 3,65$ mM	$K_m = 31,73$ mM $IC_{50} = 3,32$ mM
R = H	$K_m = 2,60$ mM Activité optimale à 4mM	$K_m = 3,77$ mM Activité optimale à 4mM

**Tableau 5** : Analogues de disaccharides de Reynolds

#### IV.3.2. ANALOGUES D'ETATS DE TRANSITION

En 2005, Thomas et ces collaborateurs ont synthétisé puis évalué deux composés de type 1-*N*-iminosucre (ou isoiminosucre). Ces analogues, en se protonant, développent une charge positive sur la position analogue au C-1 anomérique mimant ainsi l'état de transition oxocarbenium. (Figure 31) Ces composés inhibent faiblement les Galf transférases. En effet, les inhibitions des 1-*N*-iminosucres sous forme racémique sont de l'ordre de 40% à une concentration de 8 mM pour le composé **B76** tandis que le composé **B77** présente une  $IC_{50}$  de 4,8 mM.<sup>126</sup> Sous forme énantiopure, les inhibitions sont légèrement supérieures, respectivement 85 et 75% à 8 mM.<sup>127</sup>



**Figure 31** : 1-*N*-Iminosucres décrits par l'équipe de Thomas

La conception d'inhibiteurs est difficile à rationaliser compte tenu de la relative complexité du mode d'action des glycosyltransférases. Entre autre, l'état de transition est constitué de

<sup>125</sup> Pathak, A. K.; Pathak, V.; Seitz, L.; Maddry, J. A.; Gurcha, S. S.; Besra, G. S.; Suling, W. J.; Reynolds, R. C., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 3129-3143.

<sup>126</sup> Cren, S.; Gurcha, S. S.; Blake, A. J.; Besra, G. S.; Thomas, N. R., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 2418-2420.

<sup>127</sup> Cren, S.; Wilson, C.; Thomas, N. R., *Org. Lett.* **2005**, 7, 3521-3523.

quatre partenaires (donneur, accepteur, nucléotide et cofacteur) ce qui rend son étude d'autant plus compliquée.

Un grand nombre de procédés fondamentaux mettent en jeu des glyconjugués ou des oligosaccharides. L'intérêt pour l'étude de leur biosynthèse ne cesse donc de croître. Ces 20 dernières années ont ainsi connu une recrudescence du développement d'analogues de sucres comme inhibiteurs des glycosidases et glycosyltransférases.

La famille d'analogues glycosidiques qui a retenu notre attention et qui est, à notre avis, la plus fascinante, est celle des iminosucres.<sup>12,13</sup> Ces composés possèdent un atome d'azote en lieu et place de l'oxygène endocyclique ce qui leur confère des propriétés chimiques et biologiques remarquables (Figure 32).



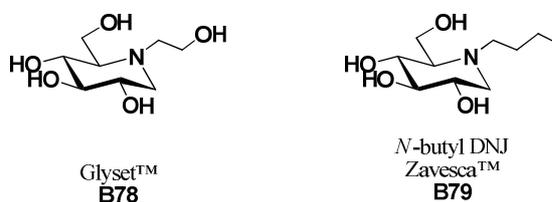
**Figure 32 :** *Glycosides et Imino-C-glycosides*

## V. LES IMINOSUCRES

### V.1. ACTIVITE BIOLOGIQUE DES IMINOSUCRES

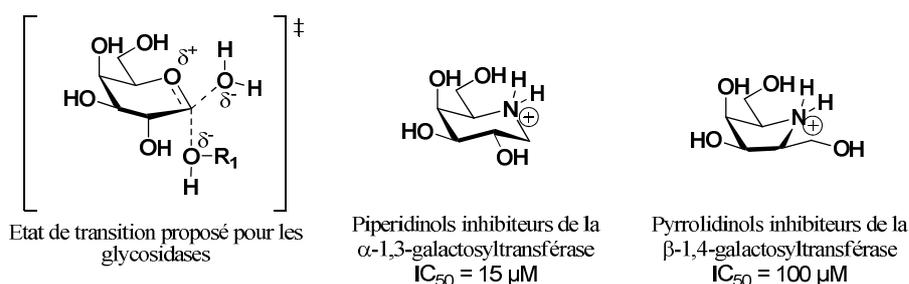
#### V.1.1. GENERALITES<sup>128</sup>

Depuis 1966 et la première publication de la synthèse de la désoxynojirimicyne (DNJ),<sup>129</sup> un inhibiteur puissant de l' $\alpha$ -glucosidase ( $K_i = 1 \mu\text{M}$ ),<sup>130</sup> le nombre des activités biologiques recensées et des méthodes de synthèse rapportées de ces composés n'a cessé d'augmenter.<sup>13</sup> En effet, il s'agit de très bons inhibiteurs de glycosidases, ayant notamment des activités sur le diabète, le cancer et les infections virales. A ce jour, deux médicaments ayant pour principe actif un iminosucre sont commercialisés, le Glyset<sup>TM</sup> **B78** et le Zavesca<sup>TM</sup> **B79** ; ils sont respectivement utilisés pour le traitement du diabète de type II et d'une maladie lysosomale: la maladie de Gaucher (Figure 33).



**Figure 33** : Deux médicaments de type iminosucres

Dans le cas des glycosidases, ces analogues de sucre sont considérés comme des mimes de l'état de transition de la réaction enzymatique et sont ainsi de meilleurs inhibiteurs que de simples analogues de substrat (Figure 34). En effet, à pH physiologique, l'iminosucre se protone et le cation formé mime la structure de l'état de transition ainsi que la distribution de charges. De plus, une fois protoné, l'iminosucre peut interagir avec les acides aminés du site actif (tels que les carboxylates), ce qui explique leur grande affinité pour les glycosidases.



**Figure 34** : Comparaison entre l'état de transition proposé pour les glycosidases et un iminosucre protoné

<sup>128</sup> Compain, P.; Martin, O. R., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 3077-3092.

<sup>129</sup> Paulsen, H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1966**, 5, 495-511.

<sup>130</sup> Kajimoto, T.; Liu, K.; Pedersen, R. L.; Zhong, Z.; Ichikawa, Y.; Porco, J. A.; Wong, C.-H., *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 6187-6196.

Les glycosyltransférases possédant un mécanisme probablement similaire à celui des glycosidases, les iminosucres constituent, dans ce cas également, des analogues de sucres très intéressants pour leur étude.

### V.1.2. LES PYRROLIDINOLS

De nombreux pyrrolidinols ont été étudiés dans le cadre de la recherche d'inhibiteurs de glycopyranosyltransférases. En effet, la structure d'un cycle à cinq membres mime bien la structure demi-chaise de l'état de transition (ou de l'intermédiaire) mis en jeu dans le mécanisme enzymatique, tandis que dans le cas des piperidinols, l'arrangement spatial des hydroxyles est semblable au substrat de départ (Figure 34). Ainsi, l'expérience a montré que les pyrrolidinols sont souvent des inhibiteurs plus puissants mais moins sélectifs pour les glycopyranosyltransférases.<sup>12, 128</sup>

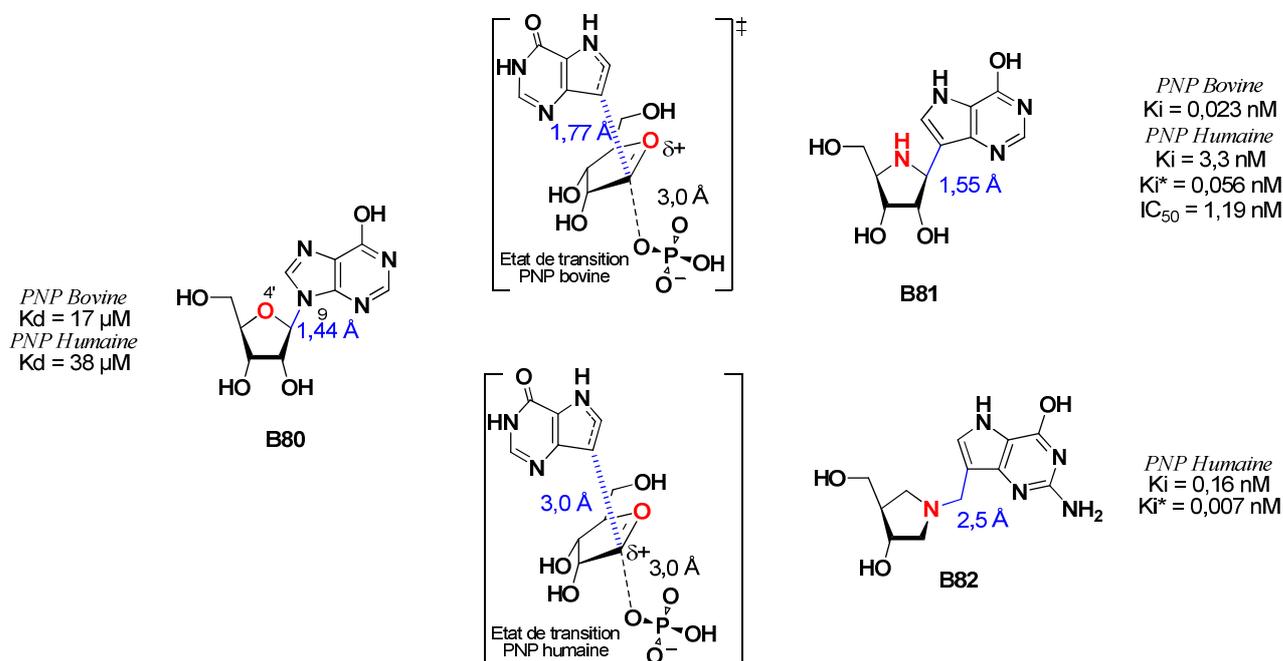
Un cas particulièrement remarquable de conception rationnelle d'inhibiteurs d'enzymes apparentées aux glycosidases et aux glycosyltransférases a été rapporté par les équipes de Schramm et Tyler. Ces derniers ont en effet développé les inhibiteurs les plus puissants de nucléosides phosphorylases sur la base de la structure de l'état de transition de la réaction, déterminée grâce à une étude approfondie par des effets isotopiques cinétiques.<sup>131</sup>

Les équipes de Schramm et Tyler se sont plus particulièrement intéressées à l'étude des PNP (Purine Nucléoside Phosphorylase) qui, en cas de déficience chez l'homme, entraîne une immunodéficience en cellule T.<sup>131</sup> Dans le but d'inhiber les PNP, ils ont, dans un premier temps, synthétisé le composé **B81**. Ce dernier n'est autre qu'un isostère du substrat de l'enzyme l'Inosine **B80** (Figure 35). Pour cela ils se sont appuyés sur la structure de l'état de transition de la PNP bovine. Le remplacement de l'atome d'azote en position 9 par un atome de carbone et de l'O en position 4' par un atome d'azote a permis d'augmenter l'affinité de ce composé pour l'enzyme d'un facteur  $7,39 \times 10^5$ . Cependant, cette affinité est 2,4 fois plus faible pour la PNP humaine. L'explication apparaît quelques années plus tard avec la structure cristalline de la PNP humaine et l'étude de l'état de transition associé. En effet, dans ce cas la base purique se trouve plus loin du carbone anomérique (3 Å au lieu de 1,77 Å), ce qui signifie également que l'état de transition de la PNP humaine est plus dissocié que celui de la PNP bovine. De manière à obtenir un analogue plus proche de cet état de transition, les équipes de Schramm et Tyler ont envisagé d'éloigner la base purique en introduisant un méthylène entre le carbone anomérique et la base. De plus, ils déplacent l'azote afin de centrer la charge sur la position anomérique, ce qui s'accompagne, pour des raisons de stabilité, de la suppression de la fonction hydroxyle en position 2'. Ils ont ainsi préparé le composé **B82** qui augmente l'affinité pour l'enzyme d'un facteur  $5,4 \times 10^6$  par rapport à l'Inosine **B80** (Figure 35).

---

<sup>131</sup> Schramm, V. L.; Tyler, P. C., Transition state analogue inhibitors of *N*-ribosyltransferases. In *Iminosugars: from synthesis to therapeutic applications*, Compain, P.; Martin, O. R., Eds. Wiley: Chichester, 2007; pp 177-208.

Les composés **B81** et **B82** sont actuellement en phase d'étude clinique. Le composé **B81** est en phase II dans le cadre du traitement de la leucémie et le composé **B82** est en phase I pour le traitement de maladies auto-immunes ainsi que la prévention du rejet de greffon.



**Figure 35 :** Structure des états de transition des PNP bovine et humaine ainsi que des analogues pyrrolidinols synthétisés<sup>132</sup>

Ces résultats constituent le plus bel exemple d'une synthèse d'inhibiteurs, basée sur un « design » rationnel de l'analogue en fonction des données expérimentales obtenues sur l'état de transition.

Les exemples précédents illustrent bien l'importance des iminosucres comme analogues glycosidiques d'oxocarbénium. L'étude des mécanismes enzymatiques mis en jeu dans la biosynthèse des galactanes ayant révélé le passage par un état de transition ou un intermédiaire de type galactofurano-oxocarbénium, nous nous proposons de synthétiser des analogues de substrats à charpente iminosaccharidique pour l'étude de l'UDP-Galp mutase ainsi que des analogues de donneurs et d'accepteurs des Galf transférases.

<sup>132</sup> Lewandowicz, A.; Tyler, P. C.; Evans, G. B.; Furneaux, R. H.; Schramm, V. L., *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 31465-31468.

## V.2. OBJECTIFS SYNTHETIQUES ET STRATEGIE ENVISAGEE

### V.2.1. CHOIX DES STRUCTURES

L'UDP-Galf étant un substrat commun aux deux familles d'enzymes, nos travaux se sont orientés vers la synthèse d'analogues de ce composé. Sur la base des considérations précédentes, nous avons décidé de mimer le motif galactopyranose par son analogue iminosucre, le motif 1,4-iminogalactitol. D'autre part, comme nous l'avons vu précédemment, l'uridine semble jouer un rôle essentiel dans la reconnaissance et le « binding » au site actif de la mutase. Nous avons donc envisagé la préparation de composés possédant ce motif. Compte tenu de la difficulté largement admise à synthétiser et surtout à purifier des composés possédant le lien pyrophosphate (problèmes de stabilité et difficulté à franchir les barrières cellulaires), nous nous proposons de mimer le motif pyrophosphate par un lien polaire à 5 atomes (Figure 36).

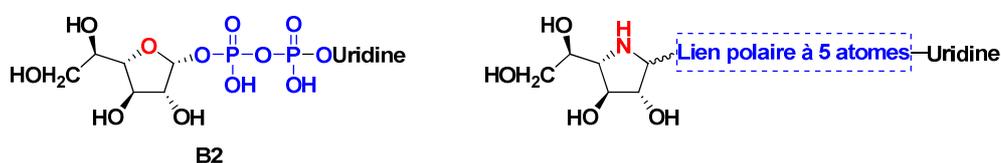


Figure 36 : Structures générales des analogues de substrats

Malgré des études tentant de rationaliser le mème idéal de ce motif, aucune conclusion n'a été apportée quant aux caractéristiques essentielles pour ce lien.<sup>133</sup>

Nous avons donc tenté d'élaborer des mèmes de pyrophosphate tenant compte de la polarité ainsi que de la longueur. Finalement, deux types de liens ont retenu notre attention. Tout d'abord, un lien alkylphosphonyle diversement fonctionnalisé et fonctionnalisable. De plus, ce lien sera élaboré de façon stéréocontrôlée dans le but de synthétiser les analogues UMP-1,4-iminogalactitols de l'UDP-Galf, soit avec une configuration  $\alpha$  comme le substrat naturel, soit avec une configuration  $\beta$  (Figure 37). Cette étude devrait permettre de juger de l'importance de la configuration du carbone anomérique dans la reconnaissance enzymatique.

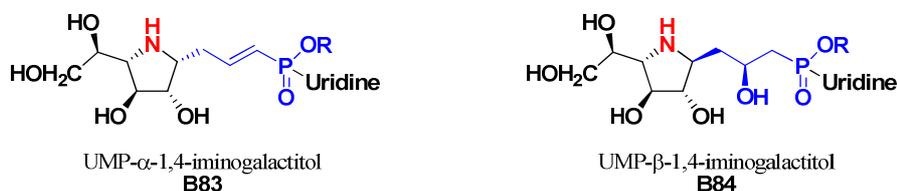
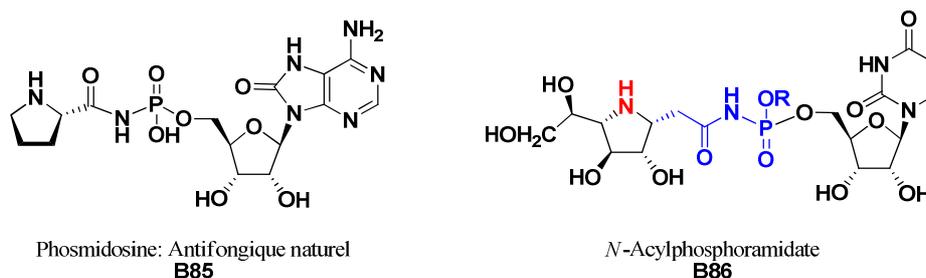


Figure 37 : Structures des analogues de substrats proposés

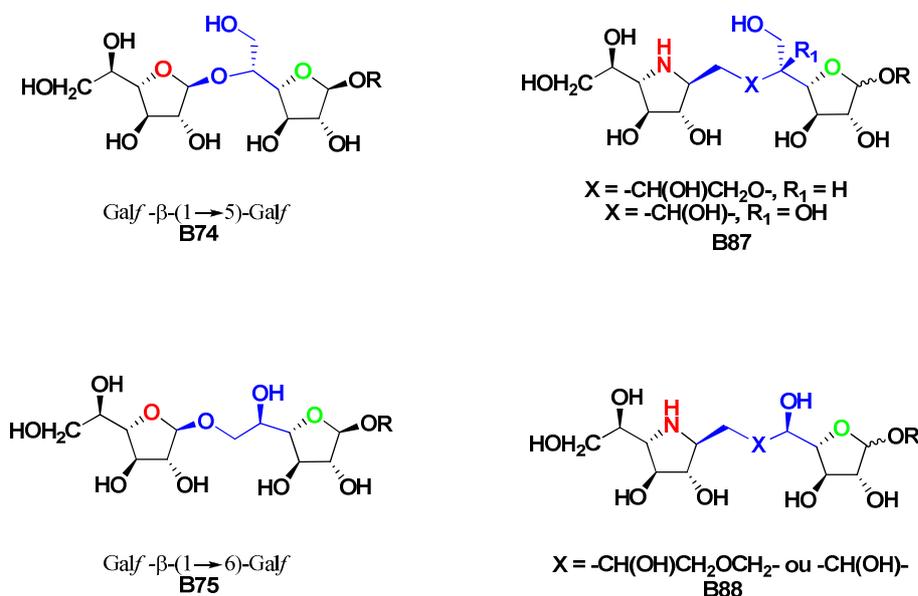
Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés au lien *N*-acylphosphoramidate. En effet, il est présent dans un antifongique naturel, la Phosmidosine **B85** et ne doit donc pas poser de problème pour pénétrer les cellules (Figure 38).<sup>134, 135</sup>

<sup>133</sup> Wang, R.; Steensma, D. H.; Takaoka, Y.; Yun, J. W.; Kajimoto, T.; Wong, C.-H., *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 661-672.



**Figure 38** : Structures des analogues de la phosmidosine

Par la suite, notre étude a porté sur la synthèse d'analogues d'accepteurs de glycosyle de type disaccharidique. Ces derniers posséderont à l'extrémité réductrice un motif galactofuranoside et à l'extrémité non réductrice un dérivé 1,4-iminogalactitol (**B87** et **B88**). Ces analogues seront préparés avec un lien glycosidique de type  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5) ou  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) de configuration identique à celle présente dans les galactanes **B74** et **B75** (Figure 39).



**Figure 39** : Structures générales des analogues de disaccharides du Galf

### V.2.2. SYNTHÈSE STEREODIVERGENTE ENVISAGÉE

<sup>134</sup> Matsuura, N.; Onose, R.; Osada, H., *J. Antibiot.* **1996**, 49, 361-365.

<sup>135</sup> Kakeya, H.; Onose, R.; Phillip, C.-C. L.; Onozawa, C.; Matsumura, F.; Osada, H., *Cancer Res.* **1998**, 58, 704-710.

La stratégie que nous avons envisagée consiste en une approche stéréodivergente permettant l'accès à des composés de type 1,4-iminogalactitols diversement substitués en position pseudo anomérique C-1 (Schéma 16). Tout d'abord, les analogues **B83**, de configuration  $\alpha$ , de l'UDP-Galf sont obtenus *via* une réaction de métathèse croisée sur le dérivé 1-C-allyl-1,4-iminogalactitol **B89**. Le squelette iminosucre est issu d'une addition nucléophile stéréosélective assistée par un acide de Lewis sur la *N*-glucosylamine **B90**, suivie d'une cyclisation avec inversion de configuration pour obtenir le composé en série *galacto*. Le composé **B90** est obtenu par *N*-glycosylation de l'intermédiaire clé commun aux deux voies de synthèse, le 2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl glucofuranose **B91**. Dans un second temps, les analogues **B84**, de configuration  $\beta$ , sont obtenus *via* la réduction de la liaison N-O d'un composé bicyclique **B92**. Ces analogues bicycliques de l'UDP-Galf, proviennent d'une étape de cycloaddition 1,3-dipolaire sur une nitrone à charpente saccharidique de configuration *galacto*, **B93**. Cette nitrone est synthétisée à partir de l'intermédiaire commun **B91**, *via* le passage par un oxime à chaîne ouverte.

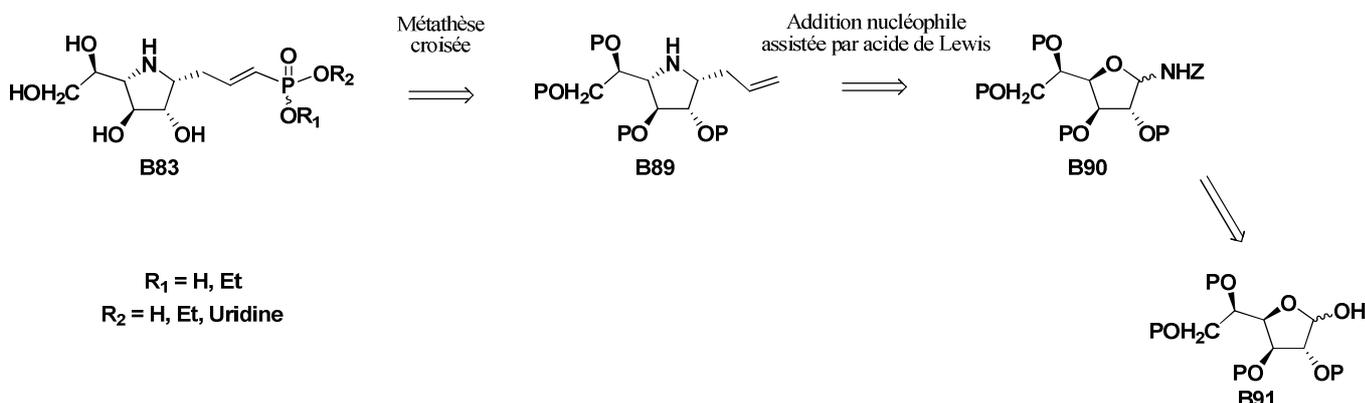
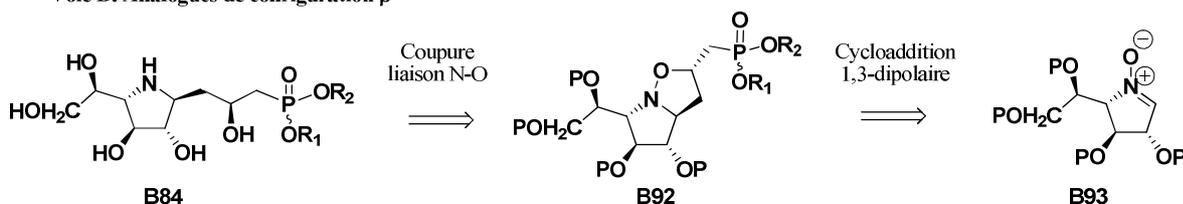
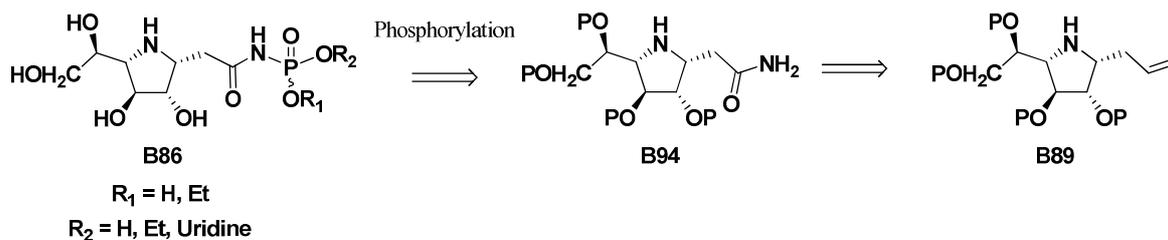
Voie A: Analogues de configuration  $\alpha$ Voie B: Analogues de configuration  $\beta$ 

Schéma 16 : Approche stéréodivergente

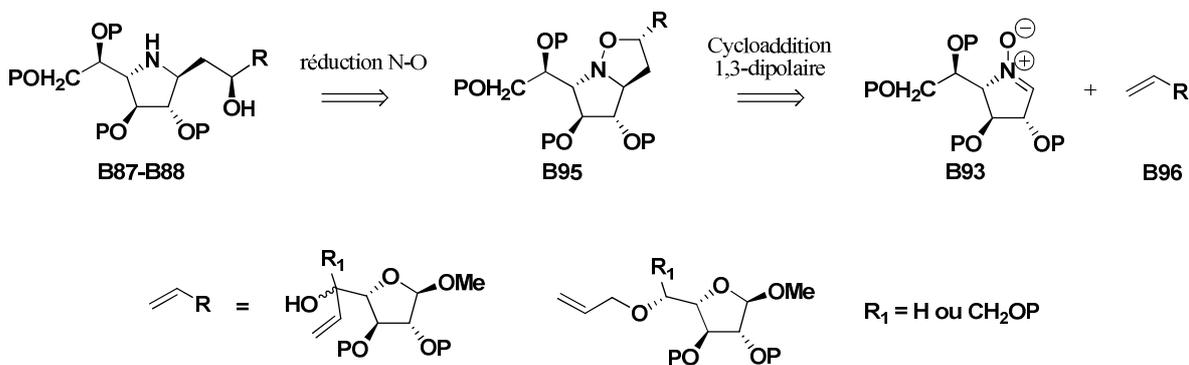
Cette approche est modulable et peut conduire à l'obtention d'autres analogues de l'UDP-Galf toujours en maîtrisant la configuration du carbone pseudo-anomérique.

L'analogue **B86** possédant un lien phosphoramidate est ainsi préparé à partir de l'amide **B94**. Cet amide de configuration  $\alpha$  est issu, par exemple, de la fonctionnalisation de l'iminogalactitol **B89** obtenu *via* la voie A (Schéma 17).



**Schéma 17 :** *Obtention du lien phosphoramidate*

De même, le remplacement du dipolarophile phosphoré utilisé pour la cycloaddition 1,3-dipolaire (Schéma 16 voie B) peut conduire à l'obtention d'analogues d'accepteurs de glycosyle mis en jeu dans la réaction catalysée par les GlfT. Ces disaccharides sont ainsi obtenus avec une configuration  $\beta$  identique à celle des motifs Galf dans les galactanes. En effet, les iminosucres de type **B87-B88** sont issus de cycloaddition sur la nitrone **B93** avec des dipolarophiles (allyl ou vinyl) à charpente saccharidique **B96** (Schéma 18).



**Schéma 18 :** *Obtention d'analogues de disaccharides*

## VI. CONCLUSION

Dans le cadre d'un programme de recherche de nouveaux anti-mycobactériens originaux, notre étude a porté sur la conception, la synthèse et l'évaluation biologique d'inhibiteurs potentiels de l'un des constituants de la paroi cellulaire mycobactérienne : les galactanes. Les progrès réalisés ces dernières années dans le domaine de la biochimie ont en effet permis d'élucider une partie de la biosynthèse des galactanes. Ce polysaccharide résulte de l'action consécutive d'au moins trois enzymes, Gif, GifT1 et GifT2 (Schéma 19). La première assure la conversion  $UDP\text{-Galp} \rightarrow UDP\text{-Galf}$ . Les transférases, quant à elles, garantissent à partir d'un donneur commun,  $UDP\text{-Galf}$ , l'incorporation d'unités galactofuranosiques au sein du polymère galactane. A ce jour, aucun médicament connu n'a pour cible biologique l'une de ces trois enzymes. Elles représentent donc des cibles de choix pour le développement de nouveaux principes actifs compte tenu de l'absence de glycoconjugués contenant des unités galactofuranosidiques chez les eucaryotes supérieurs.

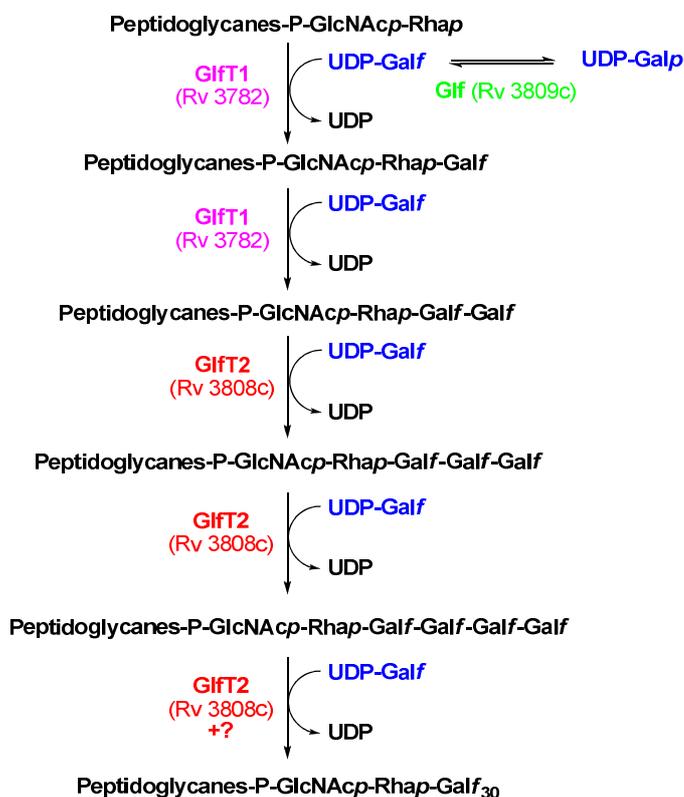


Schéma 19 : Procédé biosynthétique de formation des galactanes

Notre approche concernant la conception, la synthèse et l'évaluation biologique d'inhibiteurs de l' $UDP\text{-Galp}$  mutase et des  $Galf$  transférases s'est appuyée sur la notoriété croissante des iminosucres pour leur intérêt biologique et thérapeutique.<sup>13</sup>

CHAPITRE 2 : VERS LA SYNTHÈSE  
D'ANALOGUES NUCLEOTIDES-IMINOSUCRE  $\alpha$  DE  
L'UDP-GALF



Le premier objectif de ce travail est la synthèse d'analogues de l'UDP-Galf incorporant un iminogalactitol. Dans ce but il est nécessaire de développer au préalable une méthodologie efficace et diastéréosélective permettant l'accès à une charpente iminofuranosidique de configuration *galacto*. Nous avons donc envisagé la mise au point d'une synthèse stéréodivergente conduisant sélectivement à des composés de configuration «  $\alpha$  » ou «  $\beta$  » à partir d'un précurseur commun.

Dans ce chapitre nous nous concentrerons sur la synthèse d'analogues de configuration «  $\alpha$  » identique à celle du substrat naturel.

Après un bref rappel des méthodologies existantes pour la synthèse d'iminohexofuranoses, une première partie présentera la préparation du précurseur commun aux approches stéréodivergentes ainsi que la synthèse de *N*-benzyloxycarbonyl glucofuranosylamines.

Nous nous intéresserons ensuite à la synthèse stéréosélective de pyrrolidines simples de configuration  $\alpha$  portant diverses fonctionnalités en position pseudo-anomérique.

Afin de préparer des analogues nucléotidiques de l'UDP-Galf, nous envisagerons dans une quatrième partie la fonctionnalisation du dérivé 1-*C*-allyl-1,4-imino-D-galactitol par une réaction de métathèse croisée. Nous nous intéresserons ensuite à la synthèse d'un lien de type  $\beta$ -cétophosphonate, puis dans une dernière partie, nous étudierons la synthèse du lien *N*-acylphosphoramidate.

## I. NOTIONS BIBLIOGRAPHIQUES

### I.1. SYNTHÈSE DE DÉRIVÉS D'IMINOHEXOFURANOSES

#### I.1.1. SYNTHÈSE DU SQUELETTE IMINO GALACTITOL

De nombreuses stratégies de synthèse ont été développées pour préparer des iminosucres.<sup>136,137,138</sup> En particulier les analogues imino d'hexoses sous forme furanose ont déjà fait l'objet de plusieurs travaux. Par exemple, l'imino galactofuranose **B97** et son dérivé 1-désoxy **B98** ont été décrits par Paulsen<sup>139</sup> dans le cadre de ses études pionnières sur la synthèse d'analogues de monosaccharides dans lesquels l'oxygène endocyclique est remplacé par un atome d'azote (Figure 40).

---

<sup>136</sup> La Ferla, B.; Cipolla, L.; Nicotra, F., General strategies for the synthesis of iminosugars and new approaches towards iminosugar libraries. In *Iminosugars: Form synthesis to therapeutic applications*, Compain, P.; Martin, O. R., Eds. Wiley: Chichester, 2007; pp 25-61.

<sup>137</sup> La Ferla, B.; Nicotra, F., Synthetic Methods for the Preparation of Iminosugars. In *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*, Stütz, A. E., Ed. Wiley-VCH: New York, 1999; pp 68-92.

<sup>138</sup> El Ashry, E. S. H.; El Nemr, A., Synthesis of Naturally Occurring Nitrogen Heterocycles from Carbohydrates. Wiley-Blackwell: London 2005.

<sup>139</sup> Paulsen, H.; Steinert, K.; Heyns, K., *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 1599-1620.



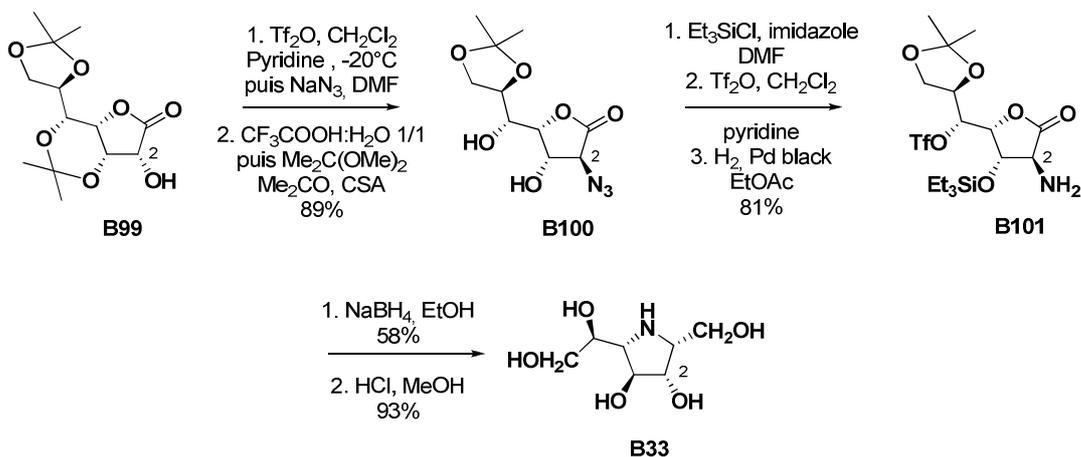
**Figure 40** : Structure des iminogalactofuranose **B97** et **B98**

Par la suite d'autres synthèses de **B98** ont été décrites, notamment par Fleet, BeMiller et Petrus,<sup>140</sup> et Lundt<sup>141</sup>.

Cependant, la synthèse diastéréosélective d'iminoalactitols portant en C-1 une liaison carbone-carbone (« C-glycosides d'iminoalactofuranose ») reste encore un défi synthétique. Quelques précédents ont été rapportés dans la littérature, mais les méthodologies manquent de généralité. La plupart des auteurs ont adopté une stratégie utilisant un sucre comme synthon chiral.

### 1.1.1. METHODOLOGIE DE FLEET

Fleet a développé une méthodologie utilisant l'heptonolactone **B99** comme précurseur chiral.<sup>98</sup> Elle consiste en l'introduction d'un motif azoture avec inversion de la configuration en position 2 suivie de plusieurs étapes de protection-déprotection (Schéma 20). L'activation de l'alcool en C-5 puis la réduction de l'azoture en amine est suivie de la réduction de la lactone, ce qui conduit la formation d'une pyrrolidine par substitution nucléophile intramoléculaire. Cette stratégie a également permis l'obtention d'une petite librairie de composés possédant un motif amide en position 1.<sup>99</sup>



**Schéma 20** : Méthodologie de l'équipe de Fleet

Cette méthode mène à un iminoalactitol substitué en position pseudo anomérique par un groupe  $\text{CH}_2\text{OH}$ , avec contrôle de la stéréosélectivité. Le composé ainsi formé est de configuration  $\alpha$ . Cependant, cette voie de synthèse utilise un nombre important d'étapes de

<sup>140</sup> Pham-Huu, D.-P.; Gizaw, Y.; BeMiller, J. N.; Petrus, L., *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 383-385.

<sup>141</sup> Lundt, I.; Madsen, R.; Al Daher, S.; Winchester, B., *Tetrahedron* **1994**, *50*, 7513-7520.

protection-déprotection, et de plus, ne permet pas de varier facilement le substituant et la configuration en C-1.

### I.1.2. METHODOLOGIE DE WIGHTMAN

La méthode décrite par Wightman en 1990,<sup>142</sup> utilise le mannofuranose **B102**<sup>143</sup> comme produit de départ (Schéma 21). Une réaction de Wittig permet alors l'introduction du groupement en position 1 *via* l'élongation de la chaîne carbonée. L'addition nucléophile d'ammoniaque sur l'ester insaturé **B103** suivie d'une cyclisation conduit à la formation de pyrrolidine **B104** sous forme d'un mélange de diastéréoisomères.

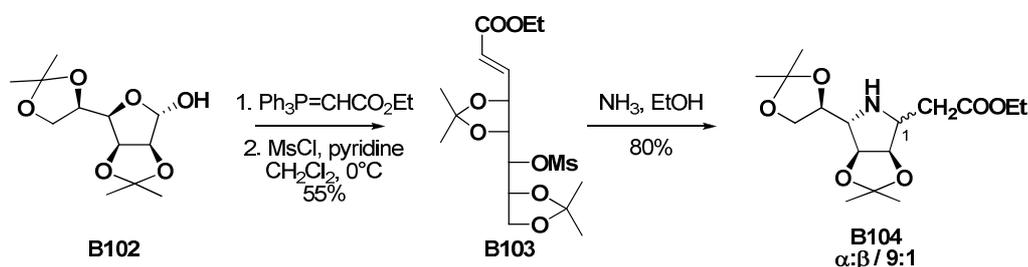


Schéma 21 : Synthèse de Wightman et ses collaborateurs

Malgré son efficacité, l'absence de stéréosélectivité de cette synthèse réduit considérablement son intérêt.

### I.1.3. METHODOLOGIE DE NICOTRA

La méthode la plus couramment utilisée pour synthétiser des pyrrolidines polyhydroxylées et substituées en C-1 est celle développée par l'équipe de Nicotra dans les années 90 (Schéma 22).<sup>144,145</sup> L'étape clé de cette synthèse est l'addition d'un organométallique sur une *N*-glycosylamine *N*-alkylée de type **B106**, ce qui conduit à la formation d'un amino-alcool acyclique **B107** précurseur du motif iminofuranose **B108**.

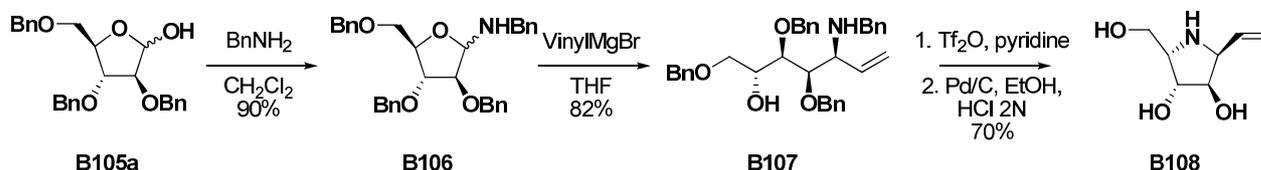


Schéma 22 : Méthodologie de l'équipe de Nicotra

<sup>142</sup> Robina, I.; Gearing, R. P.; Buchanan, J. G.; Wightman, R. H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 2622-2624.

<sup>143</sup> Collins, P. M.; Overend, W. G.; Shing, T. K. S., *J. Chem. Soc., Chem. Commun* **1982**, 297-298.

<sup>144</sup> Lay, L.; Nicotra, F.; Paganini, A.; Pangrazio, C.; Panza, L., *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 4555-4558.

<sup>145</sup> Cipolla, L.; Lay, L.; Nicotra, F.; Pangrazio, C.; Panza, L., *Tetrahedron* **1995**, 51, 4679-4690.

Cette méthodologie a fait l'objet de nombreuses variantes, dont l'addition de l'organométallique sur des *N*-glycosylhydroxylamines, par Dondoni et ses collaborateurs.<sup>146,147,148</sup>

Récemment, l'équipe de Behr a proposé une version modifiée de la stratégie de Nicotra (Schéma 23).<sup>149</sup> Le même hémiacétal pentofuranosidique **B105b** est utilisé comme substrat pour l'addition d'un vinylmagnésien. L'élongation de la chaîne hydroxylée est suivie de la dihydroxylation de la double liaison précédemment ajoutée. La fonction azotée est introduite *via* une double substitution nucléophile avec la benzylamine, ce qui conduit à la pyrrolidine **B111** avec une inversion de configuration des centres 1 et 4. Cependant, la dihydroxylation n'étant pas diastéréosélective, cette synthèse conduit à deux diastéréoisomères.

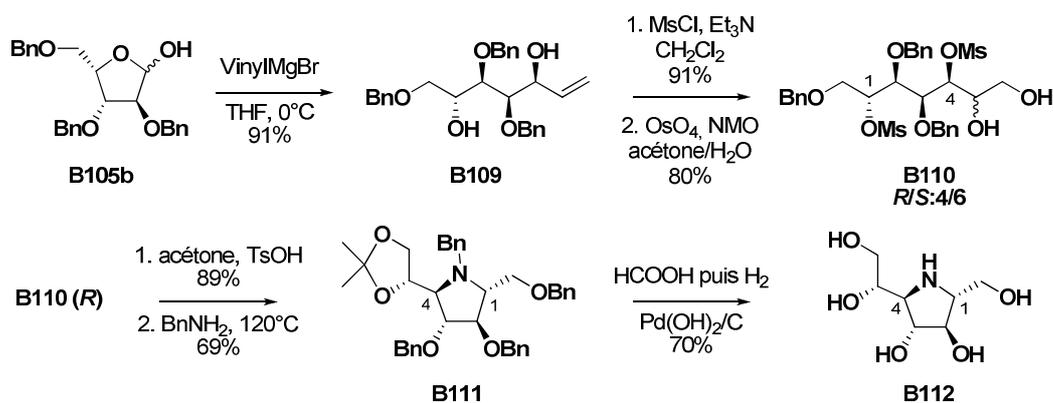


Schéma 23 : Synthèse de Behr et ses collaborateurs

Les points négatifs de cette synthèse sont le manque de modularité du motif introduit en position pseudo-anomérique ainsi que la nécessité d'une homologation de la chaîne carbonée.

La méthodologie proposée par Robina et Vogel repose, quant à elle, sur l'addition d'un organométallique sur le dérivé du mannofuranose **B113** qui conduit à l'alcool correspondant **B114** sans aucune sélectivité (Schéma 24).<sup>150</sup> La fonction azotée est introduite par substitution nucléophile régiosélective *via* l'azoture de triméthylsilyle. Une réduction suivie d'une substitution intramoléculaire en milieu basique conduit au motif iminohexofuranose **B116** avec une sélectivité en position anomérique de l'ordre de 3 pour 1 en faveur de l'isomère  $\beta$ .

<sup>146</sup> Dondoni, A.; Franco, S.; Junquera, F.; Merchán, F. L.; Merino, P.; Tejero, T.; Bertolasi, V., *Chem. Eur. J.* **1995**, *1*, 505-520.

<sup>147</sup> Dondoni, A.; Perrone, D., *Tetrahedron* **2003**, *59*, 4261-4273 ainsi que les références citées.

<sup>148</sup> Palmer, A. M.; Jäger, V., *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2547-2558.

<sup>149</sup> Behr, J. B.; Guillerme, G., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2369-2372.

<sup>150</sup> Moreno-Vargas, A. J.; Carmona, A. T.; Mora, F.; Vogel, P.; Robina, I., *Chem. Commun.* **2005**, 4949-4951.

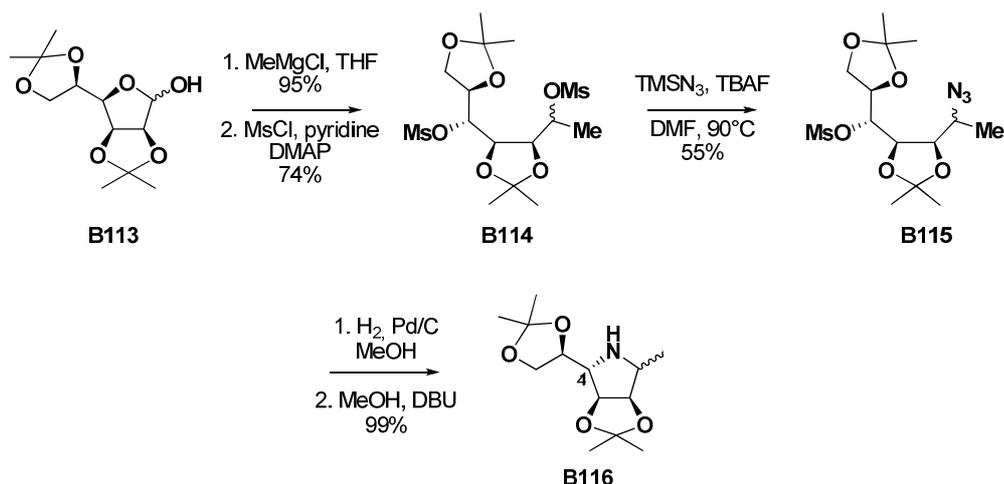


Schéma 24 : Synthèse de l'équipe de Robina

L'étude de ces deux variantes de la méthode de Nicotra appliquées à la synthèse d'iminosucres hexofuranosidiques révèle que la stéréosélectivité de l'addition de l'organométallique n'est généralement pas satisfaisante.

Récemment, l'équipe de Moriarty a décrit l'addition d'organométalliques sur la 1,4-hexonolactone **B117** suivie de l'addition d'ammoniaque (Schéma 25).<sup>151</sup> Cette réaction conduit par réarrangement à la formation d'une imine endocyclique de type 1-pyrroline. Une dernière étape de réduction stéréosélective permet alors l'obtention du motif iminohexitol **B119** de configuration  $\beta$ .

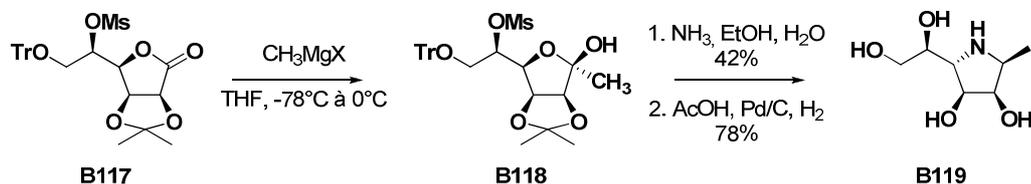


Schéma 25 : Méthodologie de Moriarty et ses collaborateurs

Cette synthèse, bien que stéréosélective, met en jeu un grand nombre d'étapes de protection-déprotection. De plus, seule l'introduction de chaînes alkyles simples a été étudiée, ce qui limite la fonctionnalisation de la position pseudo-anomérique.

#### I.1.4. LA STRATEGIE DE WONG ET SES COLLABORATEURS

Une voie de synthèse importante d'iminosucres hexofuranosidiques reste à mentionner. En 1995, Wong et ses collaborateurs<sup>152,153,154</sup> ont rapporté l'utilisation du pentofuranose **B105**

<sup>151</sup> Moriarty, R. M.; Mitan, C. I.; Branza-Nichita, N.; Phares, K. R.; Parrish, D., *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3465-3467.

<sup>152</sup> Wong, C.-H.; Hiranauma, S.; Shimizu, T.; Nakata, T.; Kajimoto, T., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 8247-8250.

<sup>153</sup> Saotome, C.; Kanie, Y.; Kanie, O.; Wong, C.-H., *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2249-2261.

comme substrat chiral (Schéma 26). L'allongement de la chaîne polyhydroxylée a lieu avec ouverture du sucre *via* une réaction de Wittig sur l'hémiacétal. Une succession d'étapes de fonctionnalisation et de protection permet l'obtention de l'alcool allylique **B121**. Une époxydation asymétrique dans les conditions de Sharpless conduit ensuite à la formation de l'époxyde **B122** avec contrôle de la stéréochimie. L'introduction de l'azote endocyclique est alors réalisée par substitution nucléophile d'un alcool libre *via* un azoture, suivie d'une réduction de ce dernier en amine. Une substitution intramoléculaire spontanée permet alors la formation du squelette pyrrolidine **B123**.

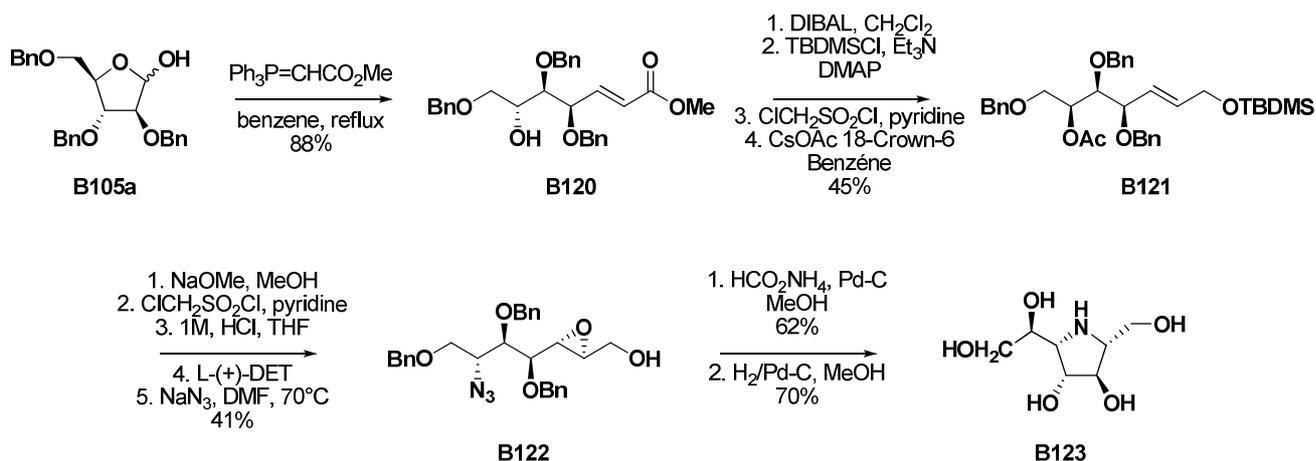


Schéma 26 : Méthodologie de l'équipe de Wong

Cette méthode qui conduit sélectivement à un composé de stéréochimie  $\beta$  nécessite cependant comme les autres citées, un nombre important d'étapes de protection-déprotection et ne permet pas de varier facilement le substituant en position pseudo-anomérique.

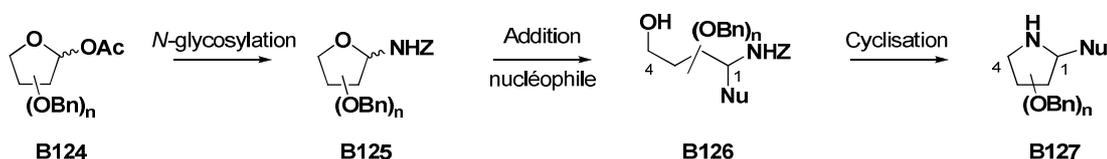
Aucune de ses méthodes ne satisfaisant vraiment nos attentes, nous avons cherché à développer une méthodologie de synthèse stéréosélective permettant un accès rapide et efficace à de nouveaux iminogalactitols substitués en C-1. Notre objectif a été de limiter les étapes de protection-déprotection et d'utiliser comme synthon chiral un hexofuranose.

## I.2. METHODOLOGIE DE SYNTHÈSE ENVISAGÉE

De manière à minimiser les étapes de la synthèse et notamment celles de protection, nous nous sommes appuyés sur une méthodologie de type de celle développée par Nicotra. Nous avons choisi d'utiliser comme produit de départ une glycosylamine hexofuranosidique, afin d'introduire au plus tôt la fonction azotée.

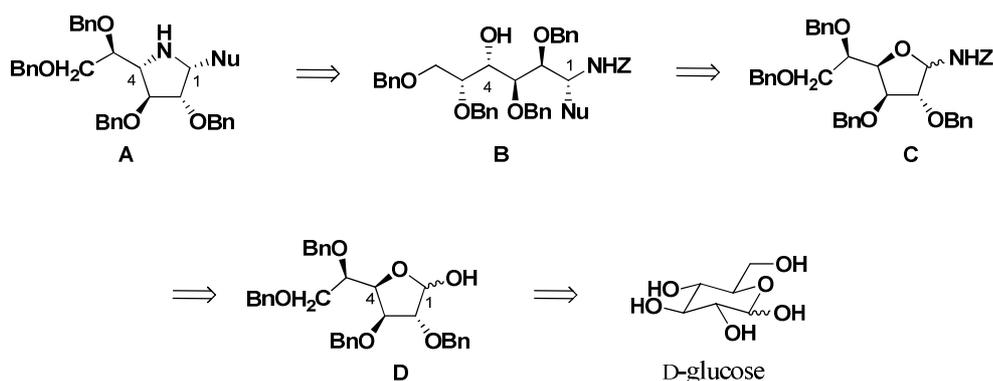
<sup>154</sup> Takebayashi, M.; Hiranuma, S.; Kanie, Y.; Kajimoto, T.; Kanie, O.; Wong, C.-H., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5280-5291.

Afin d'obtenir l'amino-alcool acyclique **B126** de manière stéréosélective, l'addition de l'organométallique a été remplacée par l'addition d'un nucléophile silylé. L'équipe de Kobayashi avait en effet publié, peu avant le début de cette étude, une méthodologie d'ouverture d'hémiaminals cycliques catalysée par un acide de Lewis avec un bon contrôle de la stéréochimie (Schéma 27).<sup>155</sup>



**Schéma 27** : Stratégie de Kobayashi et ses collaborateurs

Cette stratégie de synthèse permet, par l'addition d'un nucléophile silylé, l'introduction de groupements variés fonctionnalisables en position C-1 à un stade avancé de la synthèse, et donc une grande diversité de substituants en position pseudo-anomérique de l'iminosucre. Cette étape clé d'ouverture de cycle nous a permis d'envisager la rétrosynthèse suivante (Schéma 28) :



**Schéma 28** : Rétrosynthèse envisagée pour la synthèse d'iminogalactitols

Les iminogalactofuranoses **A** pourront être préparés par substitution nucléophile intramoléculaire, incluant une inversion de configuration sur la position 4, à partir des aminoalditols **B**. Les amino-alcools **B** seront issus d'une addition nucléophile, catalysée par un acide de Lewis, sur le *N*-acyl iminium issu de la galactofuranosylamine **5** correspondante. Le *N*-glycoside **C** sera obtenu par une substitution nucléophile assistée par un acide de Lewis sur l'hémiacétal **D**. Ce dernier sera lui-même préparé à partir du D-glucose.<sup>156</sup>

<sup>155</sup> Kobayashi, S.; Sugiura, M.; Hagio, H., *Helv. Chem. Acta* **2002**, 85, 3678-3691.

<sup>156</sup> Ferrières, V.; Bertho, J.-N.; Plusquellec, D., *Carbohydr. Res.* **1998**, 311, 25-35.



Nous avons choisi d'utiliser cette dernière méthodologie pour accéder à notre intermédiaire de synthèse, le tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranose **3**.

La synthèse du 2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranoside d'octyle décrite par V. Ferrières *et al.*<sup>166</sup> s'est avérée difficile à reproduire. Nous avons donc dû modifier les conditions de réaction de façon à optimiser la synthèse de ce précurseur.

Tout d'abord, une étape de glycosylation dans les conditions de Fischer nous permet d'obtenir l'acétal **1** à partir du glucose (Schéma 31). Cette première étape a été particulièrement difficile à reproduire et nous n'avons jamais atteint les rendements décrits dans la littérature. Finalement, en présence du chlorure de fer, et d'octanol, dans le dioxane fraîchement distillé, nous avons obtenu le glucofuranoside **1** avec un rendement de 65%. Une étape de protection des hydroxyles libres sous forme d'éthers de benzyle dans des conditions classiques conduit ensuite au composé **2** avec un bon rendement.

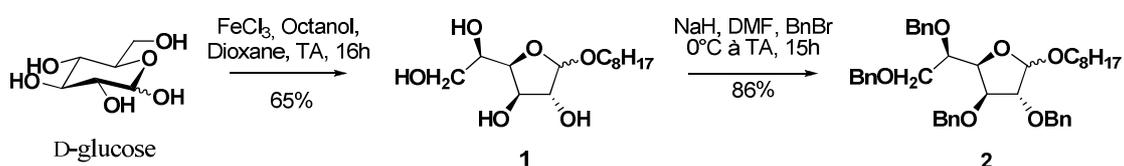


Schéma 31 : Obtention des intermédiaires **1** et **2**

L'hydrolyse du glycoside d'octyle a été réalisée dans des conditions acides, également mises au point dans notre laboratoire, et permet l'obtention de l'intermédiaire clé **3** (Schéma 32).<sup>166</sup>

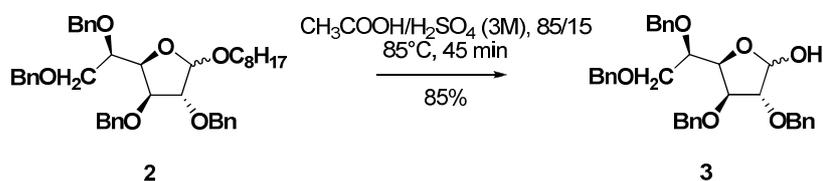


Schéma 32 : Synthèse du précurseur commun **3**

L'optimisation de ces étapes a permis de réaliser la synthèse de cet intermédiaire sur une échelle de 20 g de glucose avec un rendement global de 47%.

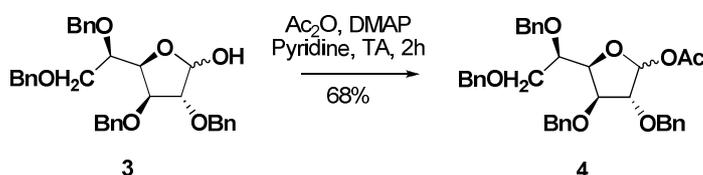
<sup>166</sup> Koto, S.; Morishima, N.; Miyata, Y.; Zen, S., *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1976**, 49, 2639-2640.

## II.2. PREPARATION DE *N*-GLUCOSYLAMINES

### II.2.1. METHODE RAPPORTEE PAR KOBAYASHI

L'équipe de Kobayashi a décrit en 2002 la synthèse de *N*-glucopyranosylamines et de *N*-pentofuranosylamines à partir du dérivé *O*-acétylé correspondant.<sup>155</sup> Cette méthodologie a été appliquée au glucofuranose 1-*O*-acétylé **4**.

Pour cela, nous avons préparé le dérivé **4** dans des conditions classiques d'acétylation à partir de l'hémiacétal **3** (Schéma 33). Il est à noter que cette acétylation est réalisée avec une conversion totale en produit attendu. Cependant, le composé **4** se dégrade lors de sa purification sur gel de silice, ce qui explique un rendement moyen de 68%. Par la suite le dérivé *O*-acétylé a été utilisé sans purification ultérieure.

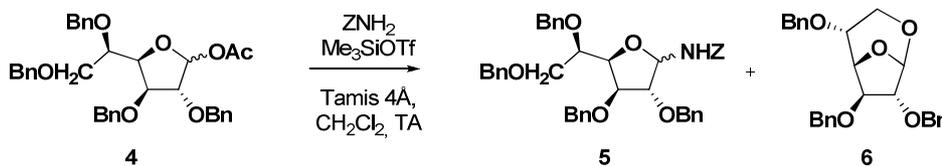


**Schéma 33** : Obtention du composé 1-*O*-acétylé **4**

La formation du composé **4** a été également décrite par V. Ferrières *et al.* en une étape à partir de l'intermédiaire **2**.<sup>156</sup> Cependant malgré plusieurs tentatives, les conditions publiées ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 53h) n'ont pas conduit entre nos mains au produit attendu mais à un mélange complexe de produits.

Une fois l'activation du groupement en position anomérique réalisée nous avons effectué la substitution nucléophile conduisant à la *N*-glucofuranosylamine. Pour cela, nous avons choisi d'utiliser les conditions de Kobayashi, qui consistent à faire réagir l'acétate de glycosyle avec le carbamate de benzyle en présence d'un acide de Lewis, le triflate de triméthylsilyle. Ces conditions ont l'avantage de conduire directement à la glycosylamine *N*-acylée.

Dans ces conditions, le composé **5** est obtenu avec un rendement de 58% à partir de **4**. Cependant, nous avons également observé la formation d'un produit secondaire, le 1,6-anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactofuranose **6** (Schéma 34).<sup>167</sup>

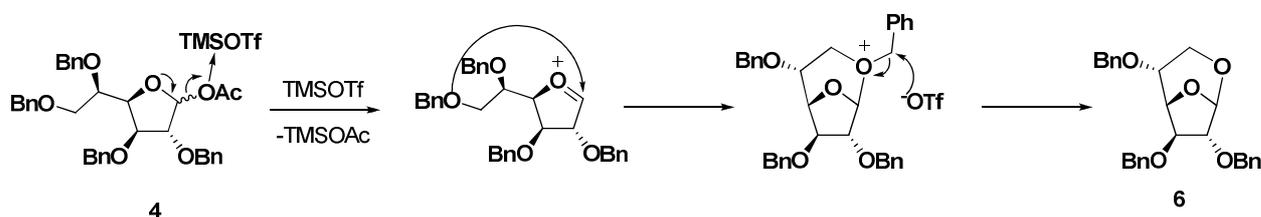


**Schéma 34** : Synthèse de la *N*-glucofuranosylamine **5**

En 1989, Hori *et al.* ont rapporté une telle *O*-débenzylation sélective en position 5 en présence d'un acide de Lewis, sur une charpente glucofuranique dont les positions 1 et 2 sont

<sup>167</sup> Köll, P.; John, H.-G.; Schulz, J., *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 613-625.

protégées.<sup>168</sup> Dans notre cas, le produit secondaire **6** résulte de l'attaque nucléophile intramoléculaire de l'oxygène en C-6 sur l'oxocarbénium intermédiaire (Schéma 35), avec *O*-désalkylation concomitante.



**Schéma 35** : Synthèse du 1,6-anhydro-2,3,5-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-galactofuranose **6**

De manière à limiter la quantité de composé anhydro **6** formé lors de cette étape, nous avons exploré différentes conditions réactionnelles. Dans un premier temps nous avons étudié l'influence de la nature de l'acide de Lewis, du solvant puis des quantités de nucléophile introduites.

#### *Influence de l'acide de Lewis*

Le remplacement du TMSOTf par  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  ne modifie pas les proportions relatives des composés **5** et **6** néanmoins cela conduit à une diminution de rendement (Tableau 6, essai 2). L'utilisation du triflate de bismuth permet une légère amélioration du rapport **5/6**, cependant 10% au moins de composé **6** est toujours obtenu (Tableau 6, essai 3).

Essai	Acide de Lewis	5 (%)	6 (%)	Rdt 5 (%)	Durée
1	TMSOTf	84	16	58	20 min
2	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	83	17	45	84h
3	$\text{Bi}(\text{OTf})_3$	90	10	43	20 min
4	$\text{SnCl}_4$	30	70	7	15 min
5	$\text{Sc}(\text{OTf})_3^{\text{a}}$	-	-	0	30 min
6	$\text{ZnCl}_2^{\text{a}}$	-	-	0	20 min
7	$\text{TiCl}_4^{\text{b}}$	-	-	6	20 min

Toutes les réactions sont réalisées avec 1,1 équiv. de carbamate de benzyle et 1 équiv. d'acide de Lewis sauf essai 2 (2 équiv.). Les pourcentages de conversion sont calculés par RMN  $^1\text{H}$  sur une base de **5+6**=100.

<sup>a</sup> Aucune réaction n'a lieu, 100 % du produit de départ est récupéré

<sup>b</sup> RMN du brut non exploitable à cause de la présence de produits de dégradation ; cependant nous observons des traces des composés **4**, **5** et **6**.

**Tableau 6** : Variation de l'acide de Lewis

<sup>168</sup> Hori, H.; Nishida, Y.; Ohru, H.; Meguro, H., *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1347-1353.

Le chlorure d'étain conduit à une inversion du rapport **5/6** qui est alors de 3/7 en faveur du composé bicyclique **6** (Tableau, 6 essai 4). D'autre part, l'utilisation du chlorure de zinc, un acide moins réactif selon la classification de Kobayashi,<sup>169</sup> n'induit aucune conversion tout comme le triflate de scandium. Enfin, on observe que l'utilisation d'un acide de Lewis plus fort,<sup>169</sup> le chlorure de titane, conduit à la formation d'un mélange complexe de produit attendu et de produit de dégradation.

La variation de l'acide de Lewis ne nous permet pas d'améliorer la *N*-glycosylation. En effet, le TMSOTf présente le meilleur compromis entre conversion et rendement, il a donc été utilisé pour les étapes d'optimisation suivantes.

#### Variation du solvant et de la quantité de nucléophile

Lorsque la réaction est réalisée dans l'acétonitrile le composé **6** n'est pas formé mais cette modification entraîne la chute du rendement en produit attendu (Tableau 7, essai 2).

D'autres modifications ont été effectuées pour concilier un bon rendement en composé **5** et diminuer la formation de **6**. Nous avons réalisé cette étape en présence d'une quantité catalytique d'acide de Lewis et observé à nouveau une diminution du taux de conversion (Tableau 7, essai 3).

Toutefois, de manière à limiter l'addition nucléophile compétitive de l'oxygène en C-6, nous avons augmenté la quantité de nucléophile azoté utilisé. Cela a permis l'obtention d'un mélange réactionnel propre en RMN. En effet, en présence de 2 et non plus 1,1 équivalents de carbamate de benzyle nous obtenons exclusivement la *N*-glucosylamine avec un rendement de 85% (Tableau 7, essai 5).

Cette étape a pu être réalisée dans les conditions optimisées à partir de 18.5 g d'hémiacétal **3**. Il en résulte la formation de 20 g de glucosylamine **5** avec 87% de rendement et ceci sans purification de l'acétate intermédiaire **4**.

Essai	Solvant	Durée	NH <sub>2</sub> Z (eq)	5 (%)	6 (%)	Rendement 5 (%)
1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	20 min	1,1	84	16	58
2 <sup>a</sup>	CH <sub>3</sub> CN	15 min	1,1	10	-	36
3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	7 jours	1,1	100	0	15
4 <sup>b</sup>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3h20	1,5	96	4	59
5 <sup>b</sup>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1h	2	100	0	85

Toutes les réactions sont réalisées avec 1 équiv. de TMSOTf sauf essai 3 (0.1 équiv.). Les pourcentages de conversion sont calculés par RMN <sup>1</sup>H sur une base de **5+6**=100.

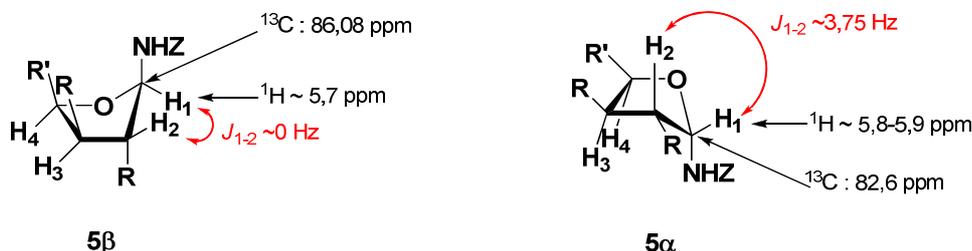
<sup>a</sup> Nous avons également observé la formation de produits de dégradations.

<sup>b</sup> Le temps de réaction est plus long car la quantité engagée est plus importante, 1.3 g et 5 g respectivement

**Tableau 7** : Variation de la quantité de carbamate de benzyle

<sup>169</sup> Kobayashi, S.; Busujima, T.; Nagayama, S., *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 3491-3494.

Le composé **5** est obtenu sous forme d'un mélange d'anomères  $\alpha/\beta$  en proportion 50/50. Les deux anomères **5 $\alpha$**  et **5 $\beta$**  ont cependant pu être séparés lors de la purification sur gel de silice et totalement caractérisés. La configuration des deux composés a pu être déterminée sur la base des analyses RMN (Schéma 36) et en accord avec la littérature.<sup>170</sup>



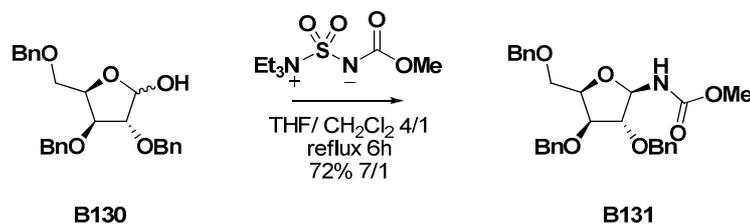
**Schéma 36** : Configuration de la N-glucofuranosylamine **5**  
 $R = \text{CH}_2\text{OBn}$  et  $R' = \text{CH}(\text{OBn})\text{CH}_2\text{OBn}$

Cette méthodologie nous a donc permis d'obtenir un intermédiaire clé de notre stratégie et ainsi de réaliser la première synthèse d'une N-benzyloxycarbonyl-glucofuranosylamine. Néanmoins, dans un souci d'économie d'étapes, nous nous sommes intéressés à d'autres méthodologies de formation de N-glucofuranosylamines ne nécessitant pas l'activation préalable de l'hémiacétal **3** en acétate.

## II.2.2. N-GLYCOSYLATION DE L'HEMIACETAL **3**

### II.2.2.1. N-glycosylation via le réactif de Burgess

En 2004, Nicolaou *et al.* ont rapporté une méthodologie utilisant le réactif de Burgess pour introduire une fonction carbamate en position anomérique, en une étape, sur un pyranose ou furanose (Schéma 37).<sup>171</sup>



**Schéma 37** : N-glycosylation via le réactif de Burgess

Après avoir préparé le réactif de Burgess benzylé, nous avons appliqué les conditions décrites à l'hémiacétal **3**. Cependant, cette méthode simple et tolérante divers groupes fonctionnels ou groupes protecteurs n'a pas permis l'obtention du composé **5** attendu.

<sup>170</sup> Serianni, A. S.; Baker, R., *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3292-3300.

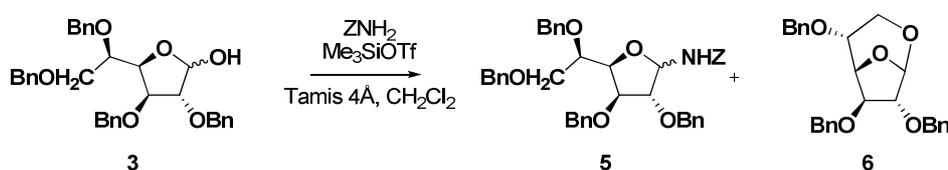
<sup>171</sup> Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Longbottom, D. A.; Nalbandian, A. Z.; Huang, X., *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5581-5606.

Nous avons alors étudié la réactivité de l'hémiacétal libre **3** dans les mêmes conditions de réaction que celles décrites par l'équipe de Kobayashi.

### II.2.2.2. *N*-glycosylation directe de l'hémiacétal **3**

#### *Optimisation des conditions de réaction*

Nous nous sommes ainsi rendus compte que la *N*-glycosylation *via* des carbamates en présence d'acide de Lewis ne nécessitait pas l'activation préalable de l'hémiacétal **3** en acétate **4** (Schéma 38). En effet, dans des conditions similaires à celles précédemment décrites, la conversion est totale et le composé attendu est isolé avec un rendement de 56%.



**Schéma 38** : Synthèse de la *N*-glucofuranosylamine **5** à partir de l'hémiacétal **3**

Néanmoins, nous observons également la formation du composé bicyclique **6**. Nous avons de nouveau cherché à optimiser les conditions de réactions en faisant varier les quantités et la nature de l'acide de Lewis (Tableau 8).

Sans acide de Lewis, nous n'avons observé aucune réaction (Tableau 8, essai 1), tandis qu'avec une quantité catalytique de TMSOTf la conversion est lente (Tableau 8, essai 4). De nouveau le triflate de triméthylsilyle permet d'obtenir rapidement le meilleur rendement en *N*-glucofuranosylamine **6** (Tableau 8, essai 2 et 3).

Essai	Acide de Lewis	Durée (h)	Conversion (%) <sup>b</sup>	Rdt 6 (%) <sup>b</sup>	Rdt 5 (%)
1	Pas d'acide	5 jours	0	-	-
2	TMSOTf	6.5	100	~20%	56 %
3	TMSOTf	0.5	93	n.d.	58 %
4	TMSOTf	0.5	20	n.d.	13 %
5	TMSOTf	0.5	81	n.d.	45 %
6	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O	6.5	100	14%	50 %
7	HNTf <sub>2</sub>	6.5	100	18%	48 %
8	Bi(OTf) <sub>3</sub>	6.5	100	24%	53 %
9	Sc(OTf) <sub>3</sub>	24	~0	-	-
10	Zn(OTf) <sub>2</sub>	24	n.d. <sup>c</sup>	-	7 %
11	MgBr <sub>2</sub>	24	0	-	-

Réaction réalisée avec 1 équiv. d'acide de Lewis sauf essai 3 (0.1 équiv.), avec 2 équiv. de carbamate de benzyle, et dans le dichlorométhane sauf essai 4 (acétonitrile). n.d.: non déterminé

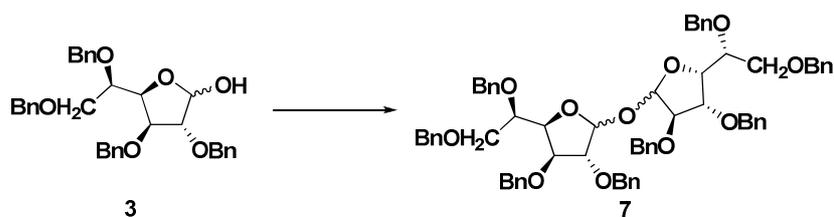
<sup>b</sup> % de conversion sont calculés par RMN <sup>1</sup>H des mélanges bruts

<sup>c</sup> Mélange réactionnel complexe et produits de dégradation.

**Tableau 8 :** Optimisation des conditions réactionnelles

L'emploi de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O, HNTf<sub>2</sub> et Bi(OTf)<sub>3</sub> donne aussi accès au produit attendu avec des rendements satisfaisants de l'ordre de 50%. L'utilisation de Sc(OTf)<sub>3</sub>, MgBr<sub>2</sub> ou encore Zn(OTf)<sub>2</sub> ne nous a pas permis d'obtenir le composé souhaité ou a conduit à un mélange complexe.

L'utilisation de l'acétonitrile (Tableau 8, essai 5) comme solvant nous a permis de mettre en évidence la formation d'un sous produit présent sous forme de traces dans les conditions standards et d'en isoler environ 20%. Le composé **7**, totalement caractérisé, est en fait issu de l'autocondensation de **3** sur lui-même formant ainsi le disaccharide lié en (1→1) (Schéma 39).



**Schéma 39 :** Disaccharide **7** issu de l'autocondensation de l'hémiacétal **3**

Il est important de noter que la différence entre taux de conversion et rendements résulte principalement des problèmes de séparation entre le composé **5** et les sous-produits formés à cause d'une trop faible différence de polarité.

Les conditions optimales sont les suivantes : 1 équivalent de TMSOTf et 2 équivalents de carbamate de benzyle en solution dans le dichlorométhane (0,1 M).

### *Champ d'application*

Afin de vérifier le champ d'application de cette réaction, nous l'avons étendue à d'autres amines désactivées ainsi qu'à des substrats pyranosidiques (Tableau 9). En série gluco- et galactopyranose, les carbamates de benzyle *N*-glycosylés **10** et **13** sont obtenus avec de bons rendements de 80 et 48%. La *N*-glycosylation de **5** et des substrats pyranosidiques a conduit aux *N*-tosyl glycosylamines correspondantes avec des rendements très satisfaisants de 50 à 70%. Lors de la synthèse de ces nouvelles *N*-glycosylamines nous n'avons pas observé la formation de composé issu d'une débenzylation partielle. Cependant, des difficultés de séparation de l'amine de départ et du produit final ont fait chuter le rendement en produit isolé.

Cette méthodologie a également donné l'accès à des *N*-glycosyl phosphoramidates en utilisant le phosphoramidate de diéthyle comme amine protégée. Néanmoins, malgré l'intérêt des composés obtenus comme mime de phosphate de glycosyle, il n'a pas été possible d'obtenir des rendements supérieurs à 42%. (Tableau 9, essais 3, 8 et 12).<sup>172</sup>

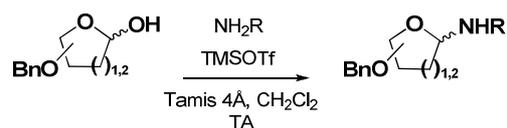
Il est à noter que l'utilisation d'amides, connus pour leur réactivité inférieure,<sup>173,174</sup> n'a pas conduit dans ces mêmes conditions aux *N*-glycosylamides attendues.

---

<sup>172</sup> Paulsen, H.; Pries, M.; Lorentzen, J.-P., *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 389-397.

<sup>173</sup> Kahne, D.; Walker, S.; Cheng, Y.; van Engen, D., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6881-6882.

<sup>174</sup> Tanaka, H.; Iwata, Y.; Takahashi, D.; Adachi, M.; Takahashi, T., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1630-1631.



Essai	Substrat	Amine protégée	Durée (h)	Produit	Yield (%)
1		NH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Bn	0,5	<b>5</b>	58
2 <sup>a</sup>		NH <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> Tol	12	<b>8</b>	70
3		NH <sub>2</sub> PO(OEt) <sub>2</sub>	5	<b>9</b>	32
4	<b>Glucufuranose 5</b>	NH <sub>2</sub> COPh	24		-
5		NH(CO <sub>2</sub> Bn)Bn	5		11
6		NH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Bn	22	<b>10<sup>b</sup></b>	80
7 <sup>a</sup>		NH <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> Tol	8	<b>11</b>	49
8		NH <sub>2</sub> PO(OEt) <sub>2</sub>	8	<b>12</b>	26
9		NH(CO <sub>2</sub> Bn)Bn	12		56
10		NH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Bn	22	<b>13</b>	48
11 <sup>a</sup>		NH <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> Tol	8	<b>14</b>	69
12		NH <sub>2</sub> PO(OEt) <sub>2</sub>	8	<b>15</b>	42
13		NH(CO <sub>2</sub> Bn)Bn	12		46

Conditions: TMSOTf, 1 équiv.; NH<sub>2</sub>R, 2 équiv. en solution dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

La conversion est totale dans chaque cas

<sup>a</sup> Réaction réalisées en présence de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O.<sup>175</sup>

<sup>b</sup> Composé décrit par Kobayashi et al.<sup>155</sup>

**Tableau 9 :** Variation des hémiacétals de départ et des amines désactivées

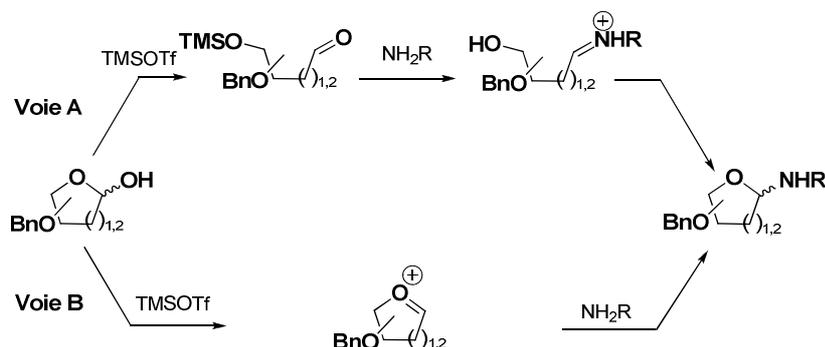
Nous avons ainsi mis au point une méthode directe et généralisable de synthèse de *N*-glycosylamines protégées. Il est à noter que les diverses *N*-glycosylamines obtenues sont le plus souvent sous forme d'un mélange d'anomères.

### Etude mécanistique

Cette réaction ayant lieu sur un hémiacétal libre, le problème du mécanisme réactionnel reste posé et il est possible de postuler deux mécanismes pour la formation de la liaison C-N (Schéma 40). Le premier (Voie A) passe par l'ouverture de l'hémiacétal catalysée par un acide de Lewis puis la formation d'une base de Schiff *N*-acylée. Le second (Voie B) consiste

<sup>175</sup> Colinas, P. A.; Bravo, R. D., *Tetrahedron Lett.* **2005** 46, 1687-1689.

en un mécanisme de type  $S_N1$  mettant en jeu un intermédiaire de type oxocarbenium semblable à celui d'une réaction de *O*-glycosylation.



**Schéma 40** : Mécanismes envisageables

Une indication concernant ce mécanisme a pu être obtenue en étudiant la réactivité du carbamate de benzyle de la benzylamine,  $NH(CO_2Bn)Bn$ . En effet, la formation de l'iminium n'étant pas vraiment favorisée avec une amine disubstituée encombrée cela devrait limiter le rendement en *N*-glucosylamine formée. Cependant, nous avons observé une conversion totale sur les trois différents hémiacétals glycosidiques testés, (Tableau 9, essais 5, 9 et 13). Bien que les analyses par RMN et spectrométrie de masse soient sans équivoque, les amines attendues n'ont malheureusement pas pu être isolées suffisamment pures pour être totalement caractérisées. En effet, plusieurs sous-produits sont formés et n'ont pas pu être séparés. A ceci s'ajoutent les problèmes de séparation entre l'amine de départ et la glycosylamine formée qui expliquent des rendements faibles de 11 à 56%.

En outre, la formation du disaccharide issu de l'hémiacétal **3** (Schéma 39), ne s'explique que par le passage par un intermédiaire oxocarbenium.

Un essai en présence de  $BF_3 \cdot Et_2O$ , de façon à favoriser l'ouverture, n'a pas conduit à une conversion totale même après 24h d'agitation.

Il est difficile de conclure de façon définitive, car il y a sans doute en fonction des conditions, les 2 types de mécanismes mis en jeu. Cependant, les indices recueillis nous permettent de privilégier le mécanisme de type  $S_N1$ .

Nous avons donc développé la synthèse en une étape de glycosylamine *N*-protégées. Ces glycosylamines sont intéressantes car elles sont plus stables que les glycosylamines *N*-benzylées, *N,N*-dibenzylées<sup>176</sup> et constitue des synthons très utiles pour l'homologation de la chaîne glycosidique par l'addition de réactifs organométalliques ou de nucléophiles silylés. Cette voie d'accès simple et efficace est d'autant plus intéressante que les *N*-glycosylamines sont des composés présents dans les nucléosides et les *N*-glycopeptides. Leurs propriétés

<sup>176</sup> Nagai, M.; Gaudino, J. J.; Wilcox, C. S., *Synthesis* **1992**, 163-168.

biologiques,<sup>177,178,179</sup> ont été récemment mises en évidence, en particulier pour les *N*-glycosylsulfonamides qui sont des inhibiteurs d'anhydrases carboniques.<sup>180</sup> La *N*-glucofuranosylamine **5** préparée avec un bon rendement a été engagée dans des réactions d'additions de nucléophiles silylés variés que nous décrivons par la suite.

---

<sup>177</sup> Schweizer, F., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 230-253.

<sup>178</sup> Lockhoff, O., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1611-1620.

<sup>179</sup> Arsequell, G.; Valencia, G., *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 3045-3094.

<sup>180</sup> Colinas, P. A.; Bravo, R. D.; Vullo, D.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5086-5090.

### III. SYNTHÈSE D' $\alpha$ -1,4-IMINO-C-GALACTOSIDES SIMPLES

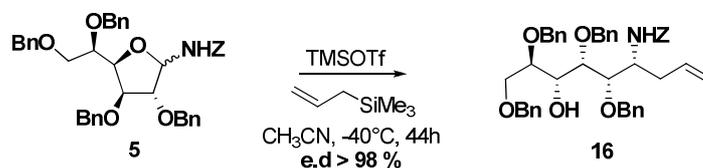
#### III.1. ADDITION NUCLEOPHILE ASSISTEE PAR ACIDE DE LEWIS

##### III.1.1. OPTIMISATION DES CONDITIONS AVEC L'ALLYLTRIMETHYLSILANE

Ayant préparé le *N,O* acétal **5**, nous avons testé l'addition nucléophile assistée par acide de Lewis dans les conditions décrites par Kobayashi.<sup>155</sup>

Pour cela nous avons choisi d'utiliser l'allyltriméthylsilane pour réaliser des réactions de type Hosomi-Sakurai et obtenir une amine homoallylée. De plus, le motif allyle présente l'avantage d'être facilement fonctionnalisable.

Cependant, malgré une stéréosélectivité totale et meilleure que celle décrite, nous obtenons un faible rendement de 35% en composé attendu **16** (Tableau 10, essai 1).



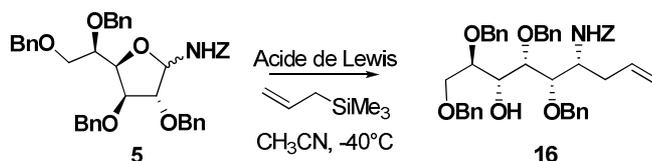
Essai	AllylSiMe <sub>3</sub> (équiv.)	TMSOTf (équiv.)	Durée (h)	Rendement (%)
1	2	0,2	44	35
2	6	1	62	56
3	7	0,5	65	74

**Tableau 10 :** Optimisation des conditions de l'addition nucléophile

L'optimisation des conditions de réaction, par addition fractionnée de 4 équivalents de nucléophile silylé et 0,5 équivalent d'acide de Lewis puis 1 équivalent de nucléophile et 0,25 équivalent d'acide toutes les 2 heures nous a permis d'augmenter le rendement de cette réaction (Tableau 10, essai 2). En effet, après 56h d'agitation supplémentaires à -40°C il ne reste plus que des traces de produit de départ.

Nous avons alors réitéré cet essai en introduisant les 6 équivalents d'allylTMS au début de la réaction en présence de 0,5 équivalent d'acide de Lewis. Un résultat similaire est observé sur plaque CCM, nous avons donc ajouté 1 équivalent supplémentaire de réactif. Après 17h d'agitation supplémentaires nous avons pu observer une conversion totale de la glucosylamine **5**. Ainsi, en présence de 7 équivalents d'allylTMS et d'une quantité sous-stœchiométrique de TMSOTf à -40°C dans l'acétonitrile, le produit **16** est obtenu avec un rendement de 74%. Cette addition est hautement stéréosélective puisque nous observons la formation d'un seul diastéréoisomère (Tableau 10, essai 3). Il est à noter que l'amino-alcool **16** a pu être synthétisé dans les mêmes conditions à une échelle de 10 g.

Dans un second temps et dans les mêmes conditions réactionnelles, nous avons étudié l'influence de l'acide de Lewis.



Essai	Acide de Lewis (équiv.)	Durée (h)	Rendement (%)
1	TMSOTf (0,1)	48	61
2	TMSOTf (0,5)	65	74
3	TMSOTf (1)	48	83
4	TMSOTf (1,25)	72	86
5	Bi(OTf) <sub>3</sub> (0,1)	48	52
6	Bi(OTf) <sub>3</sub> (0,5)	64	80
7	Bi(OTf) <sub>3</sub> (1,25)	48	81
8	TIPSOTf (0,1)	48	72
9	TIPSOTf (1)	64	80
10	TIPSOTf (1,25)	48	80
11	HNTf <sub>2</sub> (0,1)	48	36
12	HNTf <sub>2</sub> (0,5)	48	75
13	HNTf <sub>2</sub> (1,25)	48	53
14	Sc(OTf) <sub>3</sub> (1,25)	48	0
15	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O (1,25)	48	8

**Tableau 11 :** Variation de l'acide de Lewis

Les acides de Lewis silylés et le triflate de bismuth conduisent aux meilleurs résultats (Tableau 11, essai 1-10). La réaction est catalysée de façon plus efficace par le triflate de triméthylsilyle et conduit à la formation du produit attendu avec un bon rendement et un contrôle total de la stéréochimie de l'addition.

Cependant, l'utilisation d'un acide de Lewis fort et hautement oxophile tel que BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O fait chuter le rendement de façon brutale (Tableau 11, essai 15). Ce résultat peut être dû à la

présence de nombreux sites oxygénés sur le composé **5**. La chélation avec l'oxygène endocyclique serait donc moins favorisée et la formation de l'ion *N*-acyliminium réduite.

De manière surprenante, le triflate de scandium ne permet pas la formation du produit attendu (Tableau 11, essai 14) alors que l'on pourrait s'attendre à des résultats similaires à ceux obtenus avec le triflate de bismuth. En effet, ces deux acides de Lewis, plutôt azaphiles, devraient présenter le même type de réactivité vis-à-vis d'une réaction d'addition d'un nucléophile silylé sur une fonction de type imine.<sup>169</sup>

Enfin, nous avons obtenu de bons résultats avec HNTf<sub>2</sub> (Tableau 11, essai 11-13). Le bis(trifluorométhanesulfonyl)amine est le pré-catalyseur qui conduit après protodésilylation par un nucléophile silylé à la formation *in situ* d'un acide de Lewis fort et oxophile de type R<sub>3</sub>SiNTf<sub>2</sub>.<sup>181</sup> Cependant, HNTf<sub>2</sub> s'est avéré sensible à l'eau et à l'air ce qui a conduit à des résultats peu reproductibles.

Il est important de souligner l'absence d'influence de l'acide de Lewis sur la sélectivité de l'addition nucléophile. En effet, dans tous les cas, un seul diastéréoisomère est observé.

Pour la suite de cette étude nous avons souhaité utiliser une quantité sous-stœchiométrique d'acide de Lewis. L'utilisation de 0,5 équivalents de TMSOTf s'est avéré être le meilleur compromis.

### III.1.2. ADDITIONS DE DIVERS NUCLEOPHILES SILYLES

Afin de juger de l'efficacité et de la modularité de cette addition nucléophile nous avons fait varier le nucléophile silylé. Nous avons tout d'abord introduit d'autres chaînes aliphatiques insaturées puis un précurseur d'aldéhyde, divers motifs carbonylés et enfin un motif phosphonate.

#### III.1.2.1. Introduction de chaînes aliphatiques insaturées

L'utilisation du 3-triméthylsilyl-1,2-butadiène et du propargyltriméthylsilane ont permis respectivement l'introduction d'un motif propargylique et allénique avec des rendements modérés de 41 et 54% (Schéma 41). Ces deux composés sont obtenus diastéréoisomériquement purs.

---

<sup>181</sup> Ben Othman, R.; Bousquet, T.; Othman, M.; Dalla, V., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5335-5337.

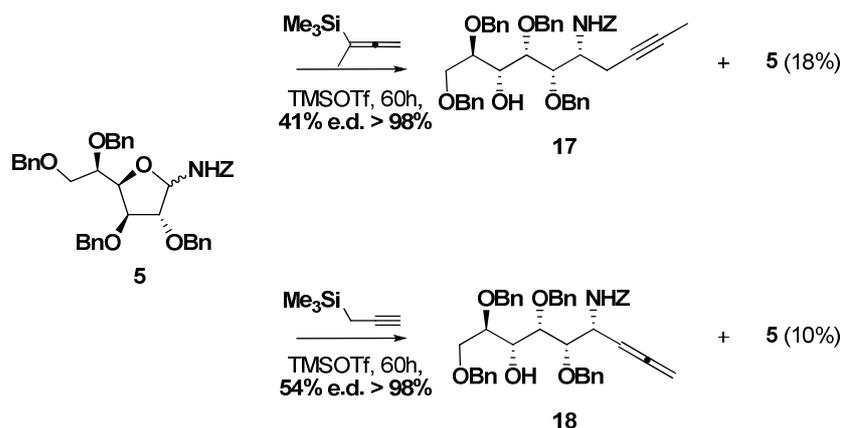


Schéma 41 : Utilisation du 3-triméthylsilyl-1,2-butadiène et du propargyltriméthylsilane

### III.1.2.2. Introduction d'un équivalent de formyle

Dans un premier temps, nous avons choisi le motif thiazole comme précurseur d'une fonction aldéhyde. Nous avons donc réalisé l'addition nucléophile en présence de 2-triméthylsilylthiazole (Schéma 42). Cependant, bien que ce composé soit connu pour effectuer des additions nucléophiles sur des aldéhydes,<sup>182,183,184</sup> seul le produit de départ a été isolé.

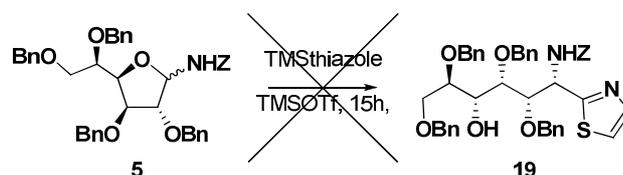


Schéma 42 : Utilisation du 2-Triméthylsilylthiazole

Nous avons alors envisagé, néanmoins sans résultat, l'utilisation d'un agent d'activation tel que le fluorure de tétrabutylammonium pour augmenter la nucléophilie du motif thiazole.<sup>185</sup>

Dans un second temps, une fonction nitrile a été introduite comme précurseur d'aldéhyde et autres dérivés d'acide carboxylique. En présence de 7 équivalents de cyanure de triméthylsilyle la réaction est complète après 15h d'agitation à  $-40^\circ\text{C}$  (Schéma 43). La rapidité de cette réaction résulte de la forte polarisation du TMS-CN, qui en fait un excellent nucléophile. Cependant, le dérivé **20** obtenu avec une conversion totale est sensible aux conditions de purification sur gel de silice, ce qui conduit à une chute du rendement.

<sup>182</sup> Dondoni, A.; Fogagnolo, M.; Medici, A.; Pedrini, P., *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 5477-5480.

<sup>183</sup> Dondoni, A.; Fantin, G.; Fogagnolo, M.; Medici, A.; Pedrini, P., *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 693-702.

<sup>184</sup> Dondoni, A.; Orduna, J.; Merino, P. S., *Synthesis* **1992**, 201-210.

<sup>185</sup> Friestad, G. K.; Ding, H., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 4491-4492.

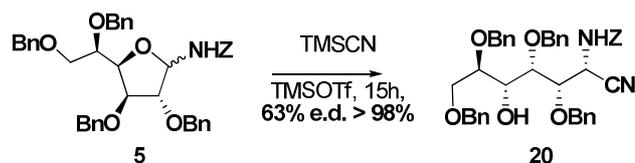
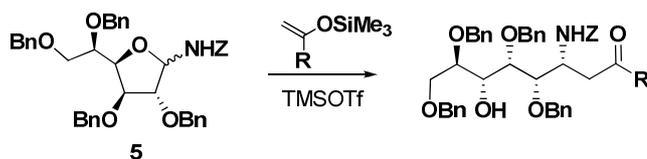
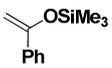
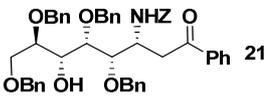
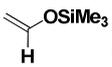


Schéma 43 : Utilisation du cyanure de triméthylsilyle

## III.1.2.3. Etude de la réactivité de divers éthers d'énols silylés

Tout d'abord, nous avons mis en réaction la *N*-glucosylamine **5** et le 1-phényl-1-triméthylsilyloxyéthylène. Dans des conditions similaires à celles précédemment décrites nous obtenons le dérivé de l'acétophénone **21** avec un rendement de 81% et sous forme d'un seul diastéréoisomère (Tableau 12, essai 1). La même réaction, réalisée avec le vinyloxytriméthylsilane n'a pas conduit au produit attendu et seule la *N*-glucosylamine **5** de départ a été isolée.



Essai	NuSiMe <sub>3</sub>	Durée	Produit	Rendement (%)
1	 <sup>a</sup>	72h	 <b>21</b>	81
2	 <sup>b</sup>	39h	-	-

<sup>a</sup> 7 équivalents de NuSiMe<sub>3</sub>, 0,5 équivalents d'acide de Lewis

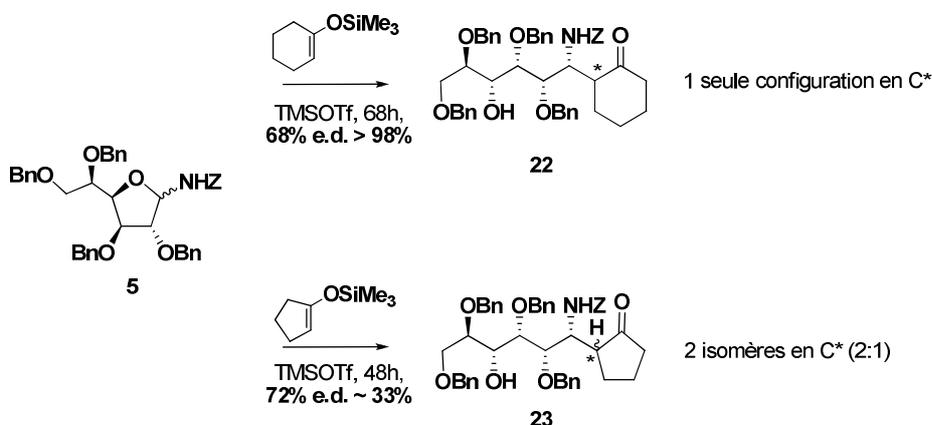
<sup>b</sup> 6 équivalents de NuSiMe<sub>3</sub>, 0,5 équivalents d'acide de Lewis

Tableau 12 : Utilisation de dérivé du triméthylsilyloxyéthylène

Les éthers d'énols silylés des cyclohexanone et cyclopentanone (Schéma 44) ainsi que le 2-triméthylsilyloxyfurane ont été testés (Schéma 45). Notons cependant que l'utilisation de ces éthers silylés implique la formation d'un nouveau centre asymétrique en position  $\alpha$  du groupement carbonyle.

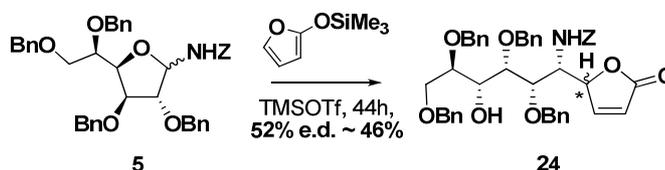
De manière assez surprenante, le dérivé 2-oxocyclohexyle **22** est obtenu sous forme d'un seul diastéréoisomère. Aucune trace d'un second isomère n'est observée sur la RMN du mélange brut, ni en CCM. En revanche, dans le cas du dérivé 2-oxocyclopentyle **23** nous observons clairement la formation d'un mélange de deux isomères inséparables en proportion 2 : 1.

Compte tenu des résultats précédents, il s'agit sans doute des isomères au niveau du centre stéréogène créé sur le cycle à cinq membres. Malheureusement, la configuration du carbone en position  $\alpha$  du carbonyle n'a pas pu être déterminée pour ces composés.



**Schéma 44 :** Utilisation des éthers d'énols silylé des cyclohexanone et cyclopentanone

L'utilisation du 2-triméthylsilyloxyfurane nous a semblé particulièrement intéressante puisqu'elle permettait l'accès à des précurseurs de mimes de disaccharide tels que le composé **24**. La réaction de **5** avec ce nucléophile silylé conduit à un mélange de diastéréoisomères en proportion 3/7 (Schéma 45). Chaque diastéréoisomère a pu être isolé et totalement caractérisé. Les isomères isolés diffèrent sans doute au niveau de la configuration du C\*, comme dans le cas du dérivé de la cyclopentanone.



**Schéma 45 :** Utilisation du 2-triméthylsilyloxyfurane

Cependant, la qualité du réactif silylé de départ a limité la reproductibilité de cette étape dans la mesure où, avec un nouveau flacon, nous n'avons pas pu renouveler ces résultats.

#### III.1.2.4. Cas d'un phosphonate silylé

Il est intéressant de noter que notre méthode permet également l'hydrophosphorylation d'imine par réaction avec le diéthyltriméthylsilylphosphite (Schéma 46). Nous avons observé une conversion totale du produit de départ par CCM et RMN avec formation d'un mélange complexe de plusieurs composés duquel nous avons pu isoler le phosphonate **25** avec un rendement de 12%. Sans que nous puissions l'expliquer, l' $\alpha$ -aminophosphonate **25** est cependant obtenu avec une faible diastéréosélectivité.

La synthèse d' $\alpha$ -amino phosphonates est d'autant plus intéressante que ces composés sont connus pour leurs activités biologiques remarquables.<sup>186</sup>

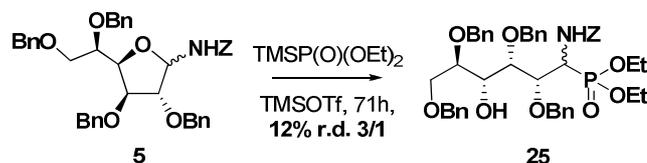


Schéma 46 : Utilisation du diéthyl triméthylsilylphosphite

### III.1.2.5. Utilisation du triméthylsilylisocyanate

L'utilisation du triméthylsilylisocyanate a conduit en une étape au composé cyclique original **26** incorporant une fonction aminal stable avec un rendement non optimisé de 58% (Schéma 47). Ce dérivé de l'aldéhydo-glucose est obtenu de manière totalement stéréosélective. Nous pensons que le produit **26** est issu de l'addition de l'isocyanate pour donner un intermédiaire tel que **26a** qui subit spontanément l'attaque nucléophile de l'oxygène en C-5, ce qui transforme la fonction isocyanate en carbamate cyclique.

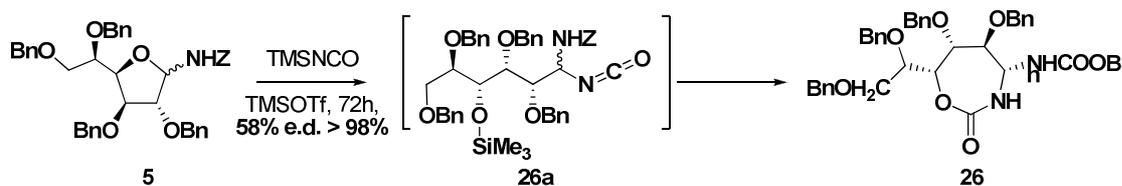


Schéma 47 : Utilisation du triméthylsilylisocyanate

## III.1.3. MECANISME ET STEREOCHIMIE DE L'ADDITION NUCLEOPHILE

### III.1.3.1. Mécanisme réactionnel présumé

L'étude de la réactivité des *N,O* acétals montre que l'ouverture du cycle peut avoir lieu de différentes façon. Comme nous l'avons vu précédemment, les *N*-glycosylamines conduisent à des ouvertures de cycle en présence de réactif de Grignard,<sup>144, 145,187,188,189,190,191,192,193,194</sup> ainsi qu'en présence d'hydruure de diisobutylaluminium.<sup>195,196</sup>

<sup>186</sup> Kafaski, P.; Lejczak, B., *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1991**, 63, 193-215.

<sup>187</sup> Behr, J. B.; Erard, A.; Guillerme, G., *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1256-1262.

<sup>188</sup> Behr, J. B.; Guillerme, G., *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 111-113.

<sup>189</sup> Behr, J. B.; Mvondo Evina, C.; N., P.; Guillerme, G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 1597-1600.

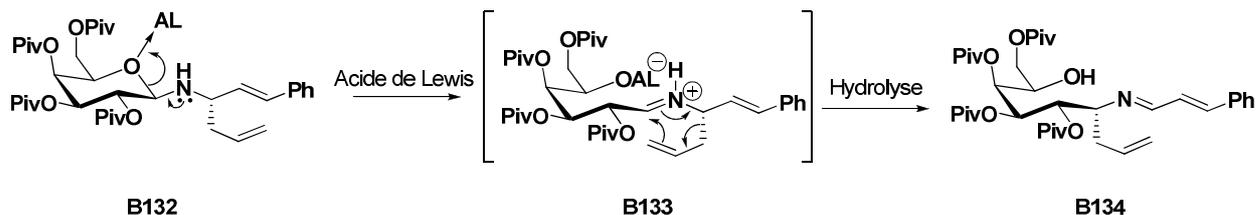
<sup>190</sup> Bosco, M.; Bisseret, P.; Constant, P.; Eustache, J., *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 153-157.

<sup>191</sup> Yoda, H.; Yamazaki, H.; Kiwauchi, M.; Takabe, K., *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, 11, 2669-2672.

<sup>192</sup> Yoda, H.; Katoh, H.; Takabe, K., *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 7661-7665.

<sup>193</sup> Cipolla, L.; La Ferla, B.; Peri, F.; Nicotra, F., *Chem. Commun.* **2000**, 1289-1290.

De plus, il a été montré qu'en présence d'acide de Lewis, la *N*-Galactosyl-*N*-homoallylamine **B132** subit un réarrangement d'aza-Cope cationique (Schéma 48).<sup>197</sup>



**Schéma 48** : Réarrangement d'aza-Cope de la *N*-Galactosyl-*N*-homoallylamine en présence d'acide de Lewis

Ce type de réarrangement implique la formation d'un ion iminium acyclique intermédiaire issu de la chélation de l'oxygène endocyclique par l'acide de Lewis et ainsi l'ouverture du cycle.

Les précédents résultats nous confortent donc dans l'idée que la première étape de ce mécanisme est l'ouverture du *N, O* acétal **B135**.

La suite du mécanisme est l'addition d'un nucléophile sur l'ion *N*-acyliminium intermédiaire **B136**, ce qui conduit à la formation d'une amine  $\alpha$  substituée *O*-silylée **B137** qui subit une désilylation pour conduire aux produits obtenus **16** à **26** et à la régénération de TMSOTf (Schéma 49).

<sup>194</sup> Cipolla, L.; Palma, A.; La Ferla, B.; Nicotra, F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2161-2165.

<sup>195</sup> Kawana, M., *Chem. Lett.* **1981**, 1541-1542.

<sup>196</sup> Hirota, K.; Monguchi, Y.; Kitade, Y.; Sajiki, H., *Tetrahedron* **1997**, 53, 16683-16698.

<sup>197</sup> Deloisy, S.; Kunz, H., *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 791-794.

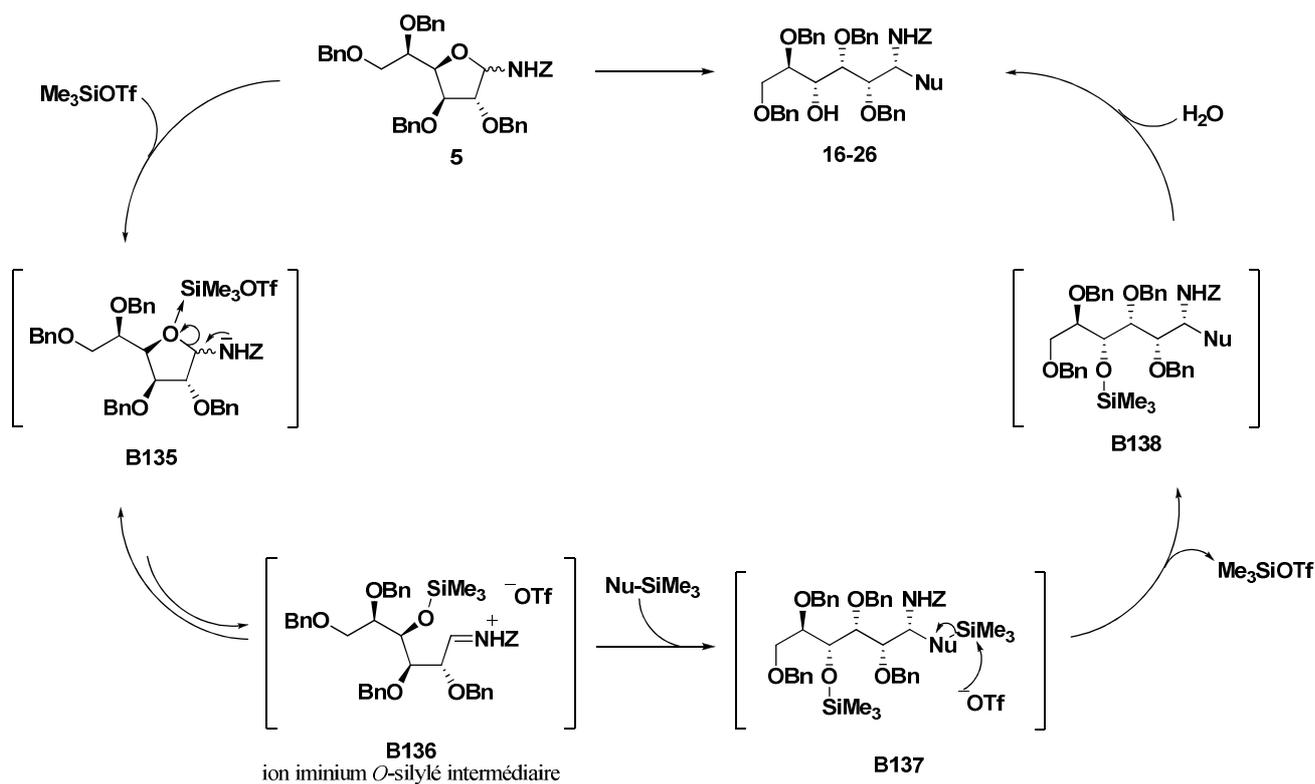


Schéma 49 : Mécanisme de l'addition nucléophile assisté par acide de Lewis

L'équipe de Kobayashi a effectué un suivi RMN de la réaction dans le chloroforme deutéré. Ils ont ainsi bien montré que le premier produit formé était l'éther silylé **B140** qui conduit après hydrolyse à l'alcool **B141** correspondant (Schéma 50).<sup>198</sup>

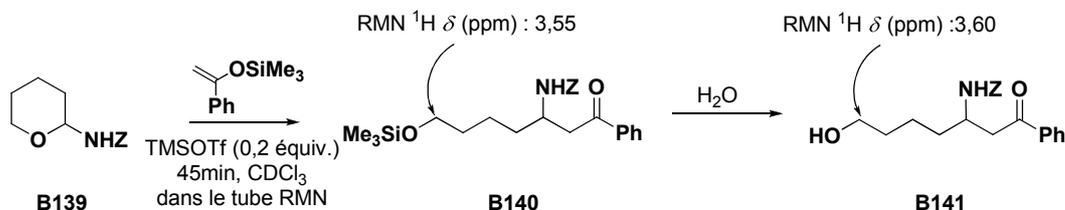


Schéma 50 : Mise en évidence d'un intermédiaire éther silylé

On note également que le TMSOTf est régénéré *in situ* par l'attaque nucléophile de l'ion TfO<sup>-</sup> sur le nucléophile silylé. La réaction nécessite donc l'utilisation combinée du TMSOTf et d'un nucléophile silylé pour être catalytique.

Dans le cas des acides de Lewis silylés, du triflate de bismuth et de HNTf<sub>2</sub>, la réaction est initiée par l'action de l'acide introduit (ou Me<sub>3</sub>SiNTf<sub>2</sub> dans le cas du sulfonimide) et entretenue par la génération *in situ* du TMSOTf. Ceci explique la faisabilité de la réaction en présence de quantités sous-stoechiométriques et catalytiques de ces acides de Lewis.

<sup>198</sup> Sugiura, M.; Kobayashi, S., *Org. Lett.* **2001**, 3, 477-480.

## III.1.3.2. Stéréochimie de l'addition

Les réactions d'homologation de la chaîne carbonée avec la création d'une nouvelle liaison carbone-carbone ou carbone-azote ont lieu avec une très grande stéréosélectivité puisque toutes les réactions conduisent à la formation d'un seul isomère au niveau du carbone 1. Lorsqu'un seul centre asymétrique est formé nous observons un excès diastéréoisomérique supérieur à 98%. Dans le cas où un second centre stéréogène est formé nous pouvons observer la formation d'un mélange de diastéréoisomères.

Cependant, à ce stade de la synthèse nous ne pouvons pas déterminer facilement la configuration du nouveau centre stéréogène. Le modèle proposé par Kobayashi nous permet néanmoins de supposer que le contrôle de la stéréochimie de l'addition résulte d'une différenciation des diastéréofaces de l'ion iminium.<sup>155,198</sup> La présence d'un environnement asymétrique en  $\alpha$  du carbone électrophile influence l'approche du nucléophile. En présumant de la formation d'une liaison hydrogène entre l'oxygène du motif benzyloxy en position 2 (Schéma 51 vert) et l'hydrogène de l'iminium, on fixe la conformation de l'intermédiaire iminium. On peut alors observer que la face *Si* est encombrée par la présence de la chaîne polyhydroxylée. L'addition a donc lieu par la face *Re*, la moins encombrée de l'intermédiaire iminium mis en jeu, conduisant à l'obtention d'un produit d'addition de configuration relative *syn*.

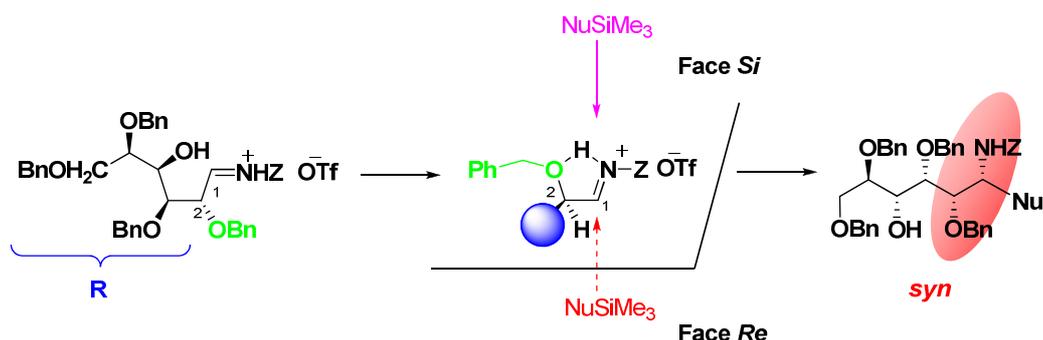
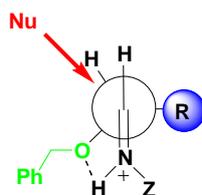


Schéma 51 : Modèle stéréochimique prédictif

La formation de liaison hydrogène dans l'acétonitrile est appuyée par les travaux de Ciuffarin.<sup>199</sup> Ces résultats ainsi que les travaux des équipes de Kiyooka et Mann sur la réaction de Hosomi-Sakurai corroborent le passage par l'état de transition de type Cram chélaté justifiant ainsi la formation majoritaire voire exclusive du produit d'addition *syn* (Schéma 52).<sup>200,201</sup>



<sup>199</sup> Ciuffarin, E.; Loi, A.; Isola, M.; Lupetti, A.; Sagramora, L.; Senatore, L., *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1047-1051.

<sup>200</sup> Kiyooka, S.-i.; Shiomi, Y.; Kira, H.; Kaneko, Y.; Tanimori, S., *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1958-1960.

<sup>201</sup> Ella-Menye, J.-R.; Dobbs, W.; Billet, M.; Klotz, P.; Mann, A., *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 1897-1900.

### Schéma 52 : Modèle chélaté de l'état de transition

Ce modèle prédictif *via* la formation d'un cycle à 5 par chélation intramoléculaire révèle qu'il n'y a pas d'assistance de l'acide de Lewis. Ceci est en accord avec nos observations qui ont montré l'absence d'influence de l'acide de Lewis sur la diastéréosélectivité de l'addition.

La détermination exacte de la configuration du centre stéréogène portant l'amine et par conséquent la stéréochimie de l'addition sera effectuée après cyclisation et obtention du squelette pyrrolidine.

## III.2. SYNTHÈSE DE PYRRIDINOLS

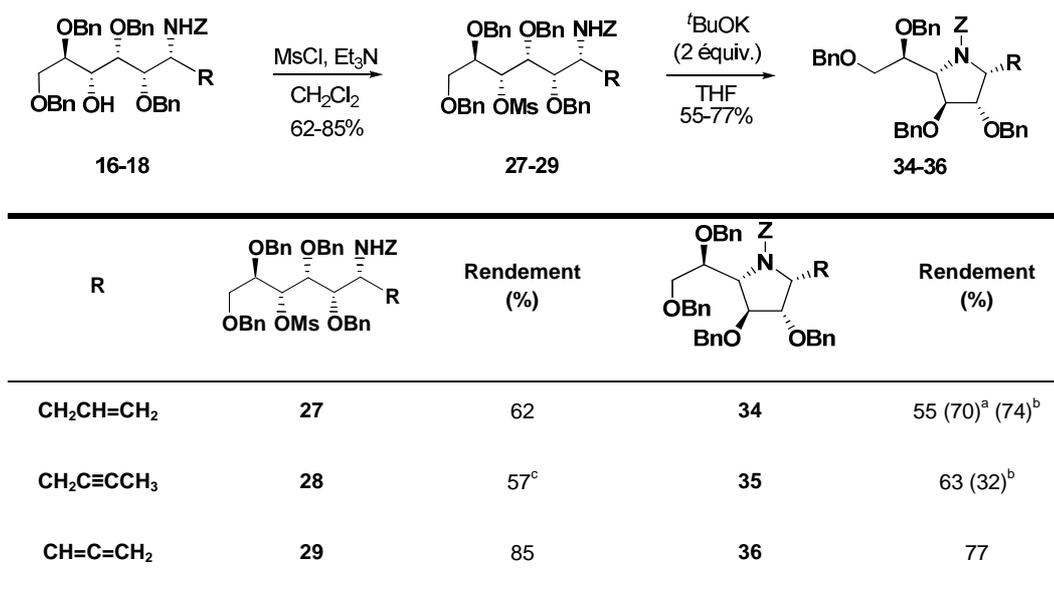
La préparation de dérivés 1,4-imino-*C*-galactosides à partir des différents amino-alcools est réalisée par une séquence classique de deux étapes. Dans un premier temps, l'hydroxyle libre en position 4 est activé avec du chlorure de mésyle. Puis, le traitement basique de cet intermédiaire conduit à la substitution nucléophile intramoléculaire du mésylate par l'amine désactivée avec inversion de configuration sur le carbone 4 et donc passage de la configuration *D-gluco* à la configuration *D-galacto* (Tableau 13, Schéma 51 à 53).

### III.2.1. SYNTHÈSES D'IMINO GALACTITOLS SUBSTITUÉS PAR DES MOTIFS ALIPHATIQUES INSATURES

Les composés mésylés **27**, **28** et **29** ont été obtenus avec de bons rendements et conduisent aux imino-*C*-galactofuranosides originaux **34**, **35** et **36** après traitement du sulfonate correspondant par le *tert*-butoxyde de potassium (Tableau 13). Dans le cas du dérivé allylé en position pseudo-anomérique **27**, la mésylation conduit à un brut réactionnel suffisamment propre, d'après les analyses RMN, pour être engagé dans l'étape suivante sans purification ultérieure. Les composés mésylés étant sensibles aux conditions de purification sur gel de silice, cela permet d'augmenter le rendement en produit **34** de 15%. Nous avons ainsi pu obtenir le dérivé 1-*C*-allyl **34** avec un bon rendement de 74% sur 3 étapes à partir de la *N*-glucosylamine **5** sans purification des intermédiaires réactionnels.

Nous avons procédé de façon similaire avec le composé **28**, ce qui nous a permis d'obtenir la pyrrolidine polyhydroxylée **35** avec un rendement de 32% sur 3 étapes.

Cependant, l'obtention de l'imino-*C*-galactitol **36** pur, requiert la purification de chaque intermédiaire réactionnel. En effet, sans purification des intermédiaires **5** et **29**, le dérivé allénique **36** est obtenu sous forme d'un mélange inséparable avec une impureté non identifiée.



<sup>a</sup> Rendement sur deux étapes à partir de **17**

<sup>b</sup> Rendement sur trois étapes à partir de **5**

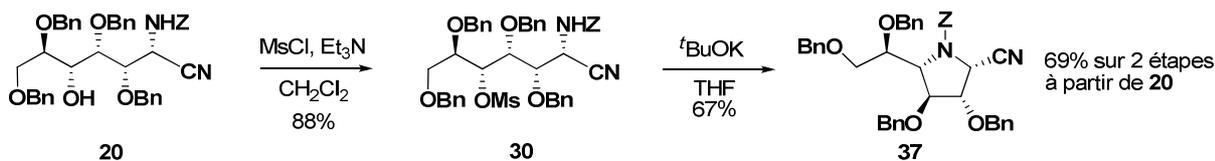
<sup>c</sup> Non optimisé

**Tableau 13 :** Synthèse d'iminoalactitols substitués par une chaîne aliphatique insaturée

Nous avons ainsi préparé trois nouveaux iminoalactitols diastéréoisomériquement purs qui possèdent un motif aliphatique insaturé en position pseudo-anomérique

### III.2.2. SYNTHÈSES D'IMINOALACTITOLS SUBSTITUÉS PAR GROUPE CN

L'obtention de l'iminoalactitol 1-C-CN **37** s'est avérée délicate. En effet, ce composé est très sensible à la présence de base. Ainsi, en présence de 2,5 équivalents de base nous avons observé majoritairement la formation de produits d'aromatation (Tableau 14, essai 1). Afin de limiter la formation de pyrroles et autres dérivés insaturés nous avons diminué la quantité de base ; cependant ceci conduit à une forte diminution de la conversion et à l'obtention d'un faible rendement de 21% (Tableau 14, essai 2). Dans les mêmes conditions l'utilisation d'une base plus faible ne permet que l'obtention de traces du produit attendu (Tableau 14, essai 3). Seule l'augmentation du temps de réaction nous permet d'isolé la pyrrolidine **37** avec un rendement correct (Tableau 14, essai 4). Cependant, nous observons toujours la formation de sous-produit issu de réaction d'aromatation.

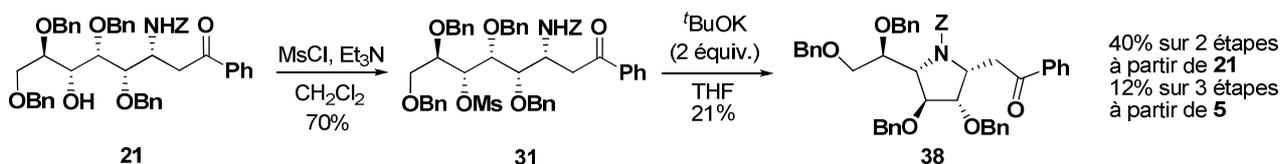


Essai	Base	Durée	Conversion	Rendement (%)
1	<sup>t</sup> BuOK (2.5 équiv.)	16h	Totale	-
2	<sup>t</sup> BuOK (1 équiv.)	13h30	Partielle	21
3	<sup>t</sup> BuOK (1 équiv.)	23	Totale	67
4	DBU (1 équiv.)	14h30	Faible	traces

Tableau 14

### III.2.3. SYNTHÈSES D'IMINO GALACTITOLS SUBSTITUÉS PAR DES MOTIFS CARBONYLES

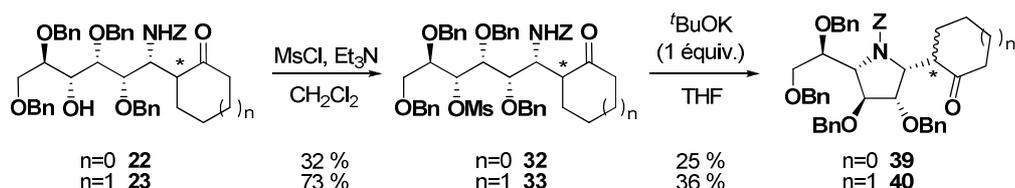
Le composé **38** dérivé de l'acétophénone est obtenu avec un rendement de 12% sur les trois étapes sans purification des intermédiaires (Schéma 53). Les faibles rendements obtenus résultent de l'instabilité et donc de la dégradation de l'imino galactitol **38**.

Schéma 53 : Synthèse du phényloctulose **38**

Les 2-(oxocyclohexyl) et 2-(oxocyclopentyl) iminogalactitols **39** et **40** ont été préparés à partir de leurs analogues **22** et **23** avec des rendements faibles non optimisés (Schéma 54).

Dans le cas du dérivé cyclohexyle les deux étapes d'activation et de cyclisation ont conduit à une conversion incomplète et l'obtention d'un mélange complexe. Les produits secondaires n'ont cependant pas pu être isolés et caractérisés. L'imino galactitol **39** a finalement été isolé sous forme d'un seul diastéréoisomère avec de faibles rendements de 32% sur l'étape d'activation et 25% sur celle de cyclisation.

Dans le cas du dérivé cyclopentyle seule l'étape de cyclisation n'est pas complète et nous observons à nouveau la formation d'un mélange complexe. Les deux diastéréoisomères du composé **40** sont isolés en proportion 67 : 33 avec un faible rendement de 36%.



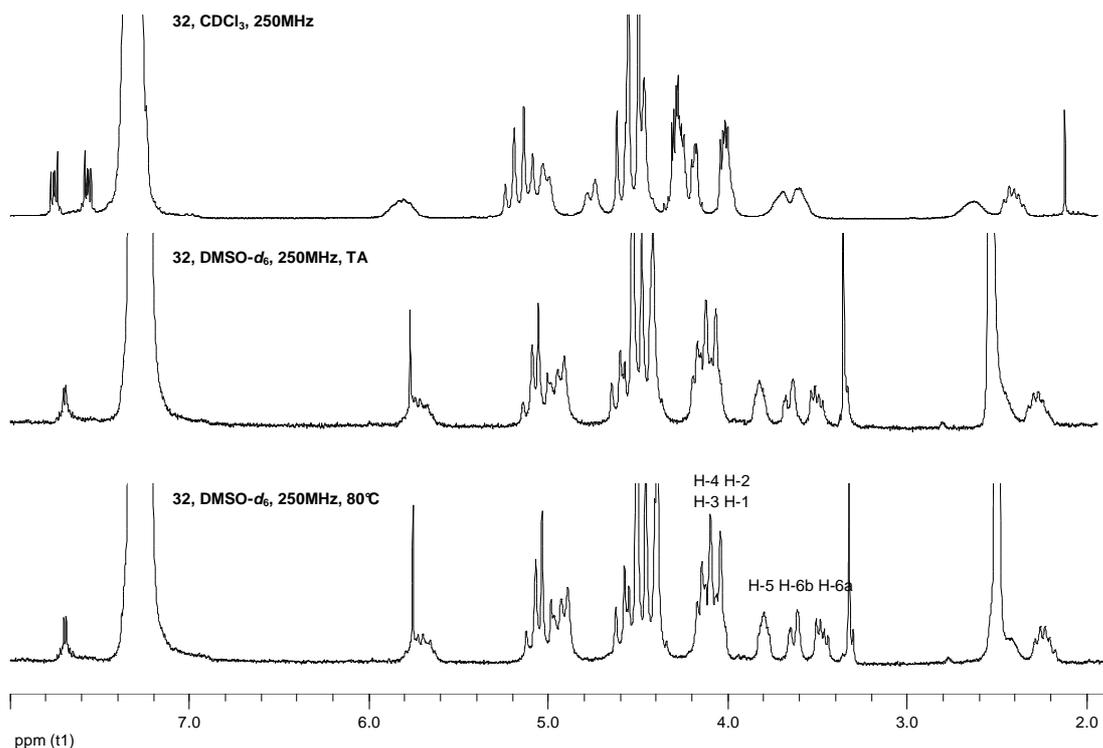
**Schéma 54** : Synthèse des 2-(oxocyclohexyl) et 2-(oxocyclopentyl) iminogalactitols **39** et **40**

Cette méthodologie nous a permis l'accès à sept nouveaux et originaux iminogalactitols obtenus de façon hautement stéréosélective. Néanmoins nous n'avons toujours pas pu déterminer la stéréochimie de l'addition ainsi que la configuration relative du nouveau centre stéréogène C-1 formé.

### III.3. ELUCIDATION DE LA STEREOCHIMIE DES PRODUITS OBTENUS

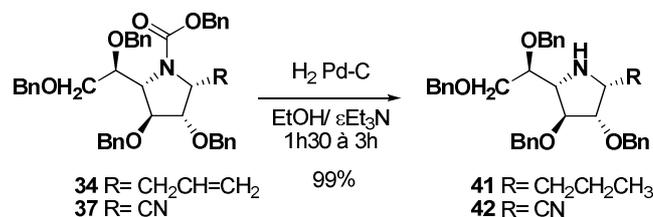
Nous avons observé la formation d'un seul et unique diastéréoisomère dont il est alors nécessaire de déterminer la configuration. Cependant, nous avons un problème de résolution et de dispersion des signaux sur les spectres RMN. Les composés **34** à **40** existent en effet sous forme de rotamères consécutifs à une rotation contrainte autour de la liaison N-C=O à température ambiante. Ceci complique les spectres et provoque un élargissement des raies qui rendent difficile, voire impossible l'interprétation des spectres, et donc la détermination de la stéréochimie des produits obtenus.

De manière à vérifier la présence de ces rotamères, nous avons enregistré le spectre RMN de la pyrrolidine **34** dans le DMSO- $d_6$  à 80°C. Nous avons ainsi pu constater, un affinement des raies sur les spectres proton  $^1\text{H}$  mais également sur ceux du carbone  $^{13}\text{C}$ , dû à l'accélération de l'interconversion des rotamères (Figure 41). On observe, à cette température, le spectre moyen des deux espèces présentes.



**Figure 41** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **34** réalisés à 250MHz dans le chloroforme deutéré à 25°C, puis dans le DMSO à 25°C et à 80°C

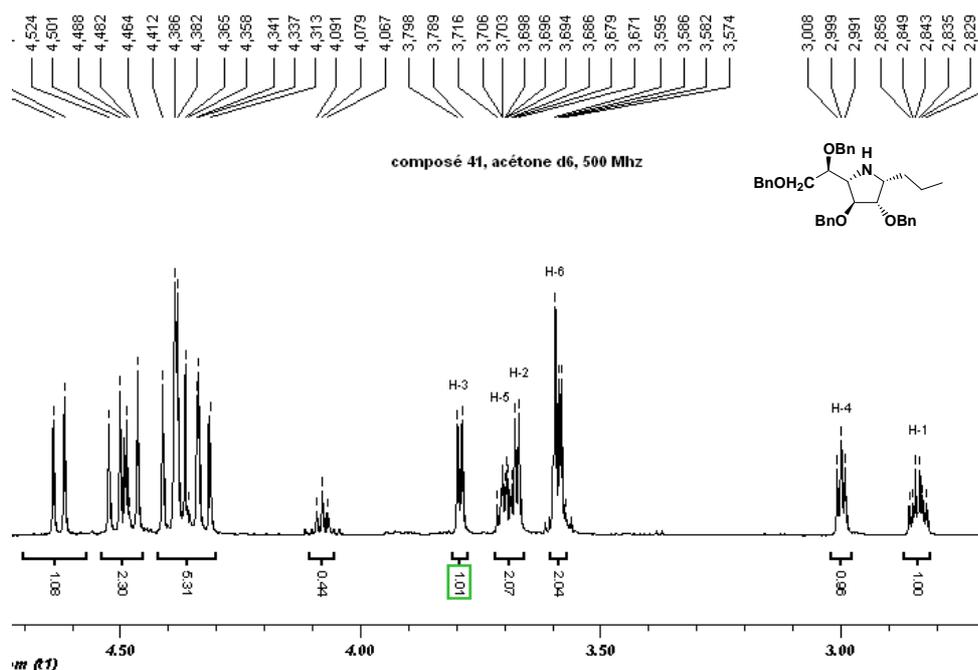
Malgré la meilleure qualité des spectres, la résolution ne nous permet toujours pas d'attribuer précisément les signaux et de mesurer les constantes de couplages. Nous avons donc réalisé une hydrogénolyse sélective du carbamate en présence de palladium sur charbon et de triéthylamine (Schéma 55), de façon à s'affranchir de ces problèmes conformationnels.



**Schéma 55** : Synthèse des pyrrolidines N-déprotégées **41** et **42**

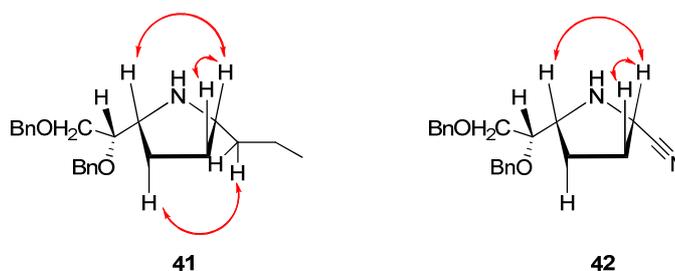
Bien que dans le cas du composé **34** l'hydrogénolyse entraîne évidemment la réduction de la double liaison carbone-carbone, les pyrrolidines N-déprotégées **41** et **42** sont synthétisées de manière quantitative.

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  de ces deux composés sont alors simplifiés et permettent une attribution précise des signaux (Figure 42).



**Figure 42 :** Agrandissement du spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **41**, à 500 MHz dans l'acétone deutérée.

L'étude de la multiplicité et des constantes de couplage des signaux caractéristiques du motif pyrrolidinique vont dans le sens d'une configuration 1,2-*cis* donc  $\alpha$ -D-galactofuranose. En effet, nous observons bien la présence d'un couplage entre les protons des positions 1 et 2 ( $J_{1,2} \sim 4$  et 5,2 Hz) qui serait faible ou inexistant dans le cas d'un composé de configuration  $\beta$ . De plus, les expériences NOESY montrent en particulier une connectivité entre les protons H-1 et H-4 ainsi que H-1 et H-2, en accord avec une configuration  $\alpha$  des composés **41** et **42** (Schéma 56).

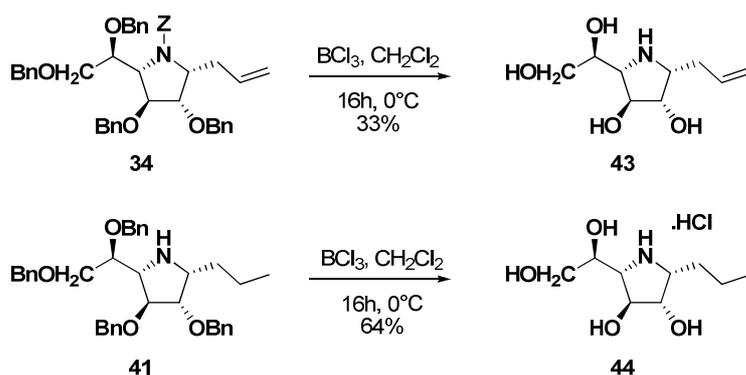


**Schéma 56 :** Représentation des connectivités Noesy des composés **41** et **42**

Pour des raisons de clarté, les substituants OBn ne sont pas représentés en C-2 et C-3.

Nous avons également réalisé la *O*-débenzylation du composé **41** ainsi que celle du composé **34** associée à la déprotection de l'azote endocyclique. Pour cela nous avons opté pour une débenzylation en présence de trichlorure de Bore et nous avons obtenu les iminosucre libres **43** et **44** (Schéma 57). Nous verrons que cette méthode de débenzylation<sup>202</sup> nous permettra dans la suite de ces travaux l'accès à différents composés déprotégés.

<sup>202</sup> Williams, D. R.; Brown, D. L.; Benbow, J. W., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1923-1925.

Schéma 57 : N et O-déprotection des pyrrolidines **34** et **41**

Afin de confirmer la stéréochimie des composés obtenus nous avons choisi de comparer les constantes de couplages obtenues avec celles obtenues pour le composé **B33** décrit par l'équipe de Fleet (Tableau 15).<sup>98</sup>

	42	41	44	43	B33
$J_{1,2}$ (Hz)	5,2	4	3,5	3	5,8
$J_{2,3}$ (Hz)	3,2	0	0,7	1	3,1
$J_{3,4}$ (Hz)	5	4,5	3	2,5	5,5
$J_{4,5}$ (Hz)	5	4	5	8	5,5

Tableau 15 : Valeurs des constantes de couplage dans des structures iminogalactitols

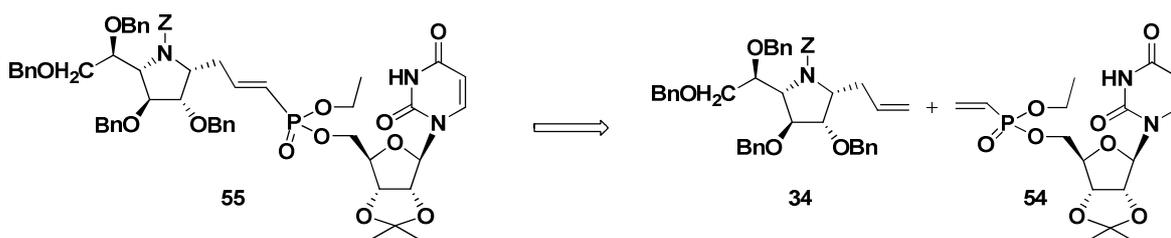
Ces résultats appuient donc l'hypothèse que les pyrrolidines **34** et **37** sont de configuration  $\alpha$ , et par analogie les composés **35** à **40**. Ces observations corroborent également l'idée que les produits d'addition **16** à **26** soient de configuration 1,2-*syn* comme attendu.

En conclusion, nous avons mis au point une nouvelle méthodologie de synthèse performante d'iminohexofuranoses originaux **34** à **40**, de configuration *galacto* diversement fonctionnalisés en position pseudo-anomérique. La réalisation de ces étapes avec un contrôle total de la stéréochimie, nous permet l'accès à de nouveaux iminogalactitols, avec formation d'un nouveau centre asymétrique en C-1 de configuration relative  $\alpha$ .

Comme nous allons le voir par la suite, ces  $\alpha$ -iminogalactofuranoses constituent des intermédiaires de choix pour l'obtention de mimes de substrat plus élaborés. Nous nous sommes plus particulièrement attachés à la fonctionnalisation du motif 1-C-allyl-1,4-imino-D-galactitol. Dans un premier temps, la fonctionnalisation a eu lieu *via* une réaction de métathèse croisée, puis ce même dérivé a été utilisé comme précurseur d'un lien phosphoramidate.

#### IV. SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE NUCLEOTIDES-SUCRES VIA UNE REACTION DE METATHESE CROISEE

A partir de l' $\alpha$ -iminogalactitol **34**, nous avons poursuivi notre travail vers la synthèse d'analogues de l'UDP-Galf. Pour cela, une stratégie convergente, utilisant la métathèse croisée d'oléfines a été envisagée : elle devrait permettre l'introduction de motifs UridineMonoPhosphate par formation d'une double liaison carbone-carbone entre l'iminosucre et le vinyl UMP **54** (Schéma 58).



**Schéma 58** : Rétrosynthèse envisagée pour l'analogue nucléosidique **55**

Avant de nous intéresser à la mise au point de la synthèse de l'analogue **55** de l'UDP-Galf, nous allons rappeler les caractéristiques essentielles de la métathèse croisée. Nous rapporterons ensuite l'étude modèle de la réactivité du précurseur **34**. Enfin, nous décrirons nos travaux pour synthétiser des analogues plus proches de l'UDP-Galf.

##### IV.1. LA METATHESE CROISEE

La métathèse croisée d'oléfine fut observée pour la première fois en 1964 avec le phénomène de redistribution des oléfines à haute température.<sup>203</sup> Ce procédé est alors utilisé pour la polymérisation d'oléfine en chimie lourde.<sup>204,205,206</sup> Depuis le début des années 1990, l'intérêt pour les couplages par métathèse croisée n'a cessé de croître, ce qui coïncide avec la commercialisation des premiers catalyseurs de métathèse.

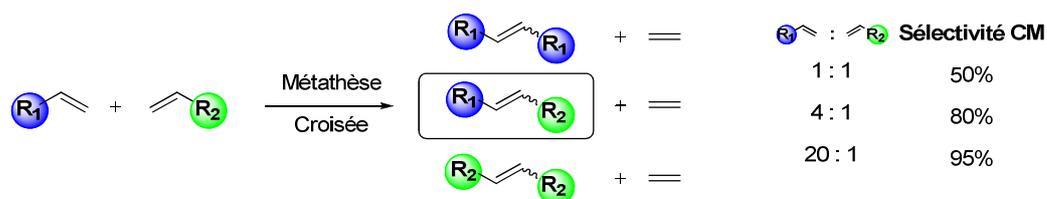
La réaction de métathèse croisée permet l'obtention d'oléfines dissymétriques à partir d'un mélange d'oléfines (Schéma 59). Les principales limitations de cette réaction sont la formation de produit issu d'homodimérisation des oléfines ainsi que la réversibilité des réactions, ce qui induit une sélectivité statistique de la métathèse croisée (CM).

<sup>203</sup> Banks, R. L.; Bailey, G. C., *Ind. Eng. Chem. Prod. Des. Dev.* **1964**, *3*, 170-173.

<sup>204</sup> Schuster, M.; Blechert, S., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2036-2056.

<sup>205</sup> Phillips Petroleum Company, *Hydrocarbon Process* **1967**, *46*, 232.

<sup>206</sup> Freitas, E. R.; Gum, C. R., *Chem. Eng. Prog.* **1979**, *75*, 73-76.



**Schéma 59** : Distribution statistique des produits obtenus en CM en fonction des proportions d'oléfine introduite

Les résultats expérimentaux de métathèse croisée obtenus avec divers types d'oléfines ont permis à l'équipe de Grubbs de proposer un classement empirique des oléfines en CM basé sur leur réactivité.<sup>207</sup> Ce modèle permet de prédire l'efficacité ainsi que la chimio-, régio- et stéréosélectivité de la réaction.

#### IV.1.1. CHOIX DES OLEFINES

Pour déterminer la réactivité d'une oléfine il faut examiner son aptitude relative à homodimériser. On peut alors classer les oléfines selon quatre groupes distincts de réactivité décroissante, le type I étant le plus réactif et le type IV le moins réactif en CM.

Type I : Homodimérisation rapide engendrant de nombreux produits issus de seconde CM

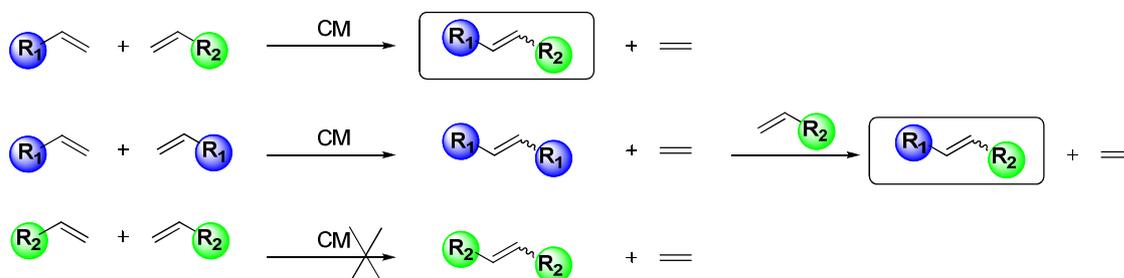
Type II : Homodimérisation lente avec peu de produits issus de seconde CM

Type III : Pas d'homodimérisation

Type IV : Spectateur en CM

De manière générale, l'encombrement stérique et les propriétés électroniques de l'oléfine influent sur la réactivité de cette dernière. Ainsi une double liaison carbone-carbone riche en électrons et faiblement encombrée fera partie du type I, tandis que l'augmentation de l'encombrement stérique et la diminution du « nuage électronique » de l'oléfine donne accès à des doubles liaisons de type II ou III.

L'équipe de Grubbs a également montré qu'il est préférable d'avoir deux oléfines de réactivité et donc de type différent pour augmenter la sélectivité d'une CM (Schéma 60).



**Schéma 60** : Réaction de CM entre une oléfine de type I (bleu) et une oléfine de type II ou III (vert)

<sup>207</sup> Chatterjee, A.; Choi, T.-L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360-11370.

## IV.1.2. MECANISME

Les travaux d'Yves Chauvin en 1970 ont permis la compréhension du mécanisme de la réaction de métathèse croisée.<sup>208</sup> Cette réaction consiste en une redistribution de doubles liaisons carbone-carbone.

La première réaction catalytique met en jeu le catalyseur de métathèse qui réagit avec une oléfine de type II ou III (Schéma 61). Ceci conduit *via* une réaction de cycloaddition [2+2] à la formation d'un métallacyclobutane intermédiaire A. Une rétro-cycloaddition permet alors de générer un nouveau carbène métallique ou carbénoïde. C'est ce carbène métallique B qui va ensuite catalyser la réaction de métathèse, par la formation du métallacyclobutane C par une seconde cycloaddition [2+2] avec une oléfine hautement réactive. Une nouvelle rétro-cycloaddition conduit alors à un carbène intermédiaire D. Ce dernier après un cycle similaire de cycloaddition et rétro-cycloaddition conduit à la formation d'une nouvelle oléfine. Si cette dernière étape a lieu avec une oléfine de type I, l'oléfine formée sera réactive vis-à-vis d'une seconde métathèse. Tandis que si la réaction est réalisée avec une oléfine moins réactive l'oléfine dissymétrique obtenue n'engendrera pas d'autre réaction de métathèse, conduisant donc à l'arrêt de la réaction.

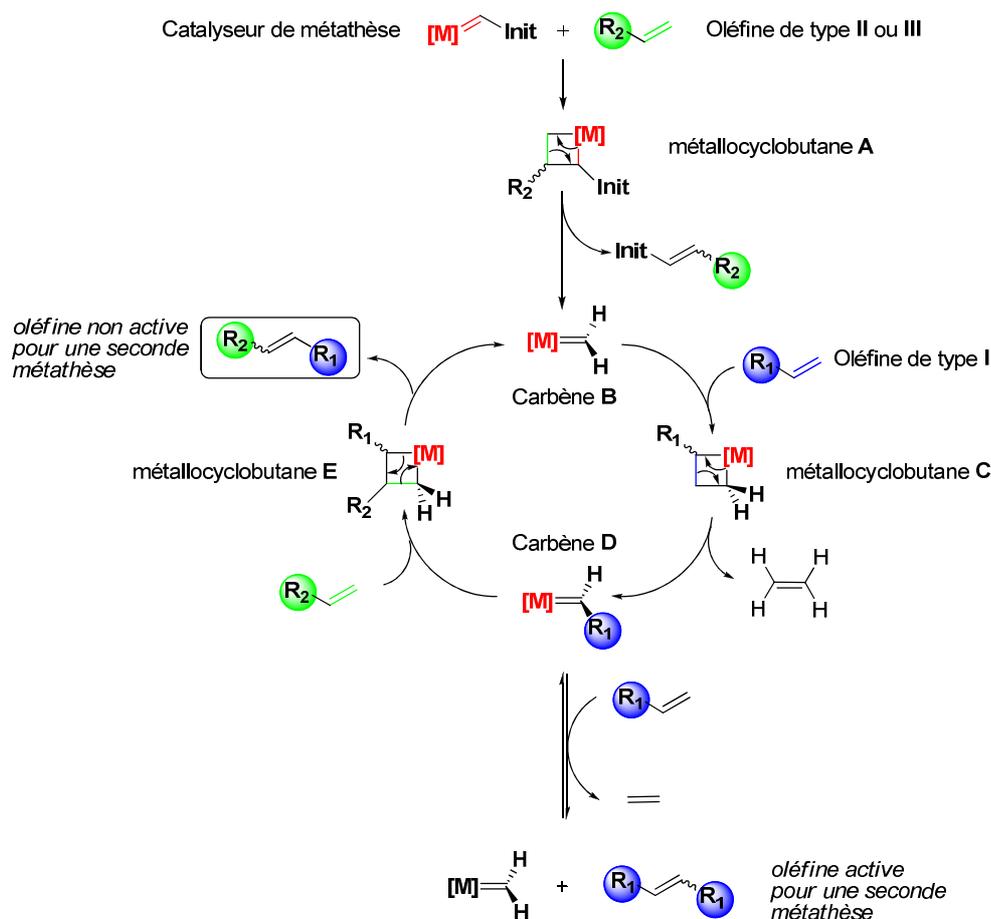
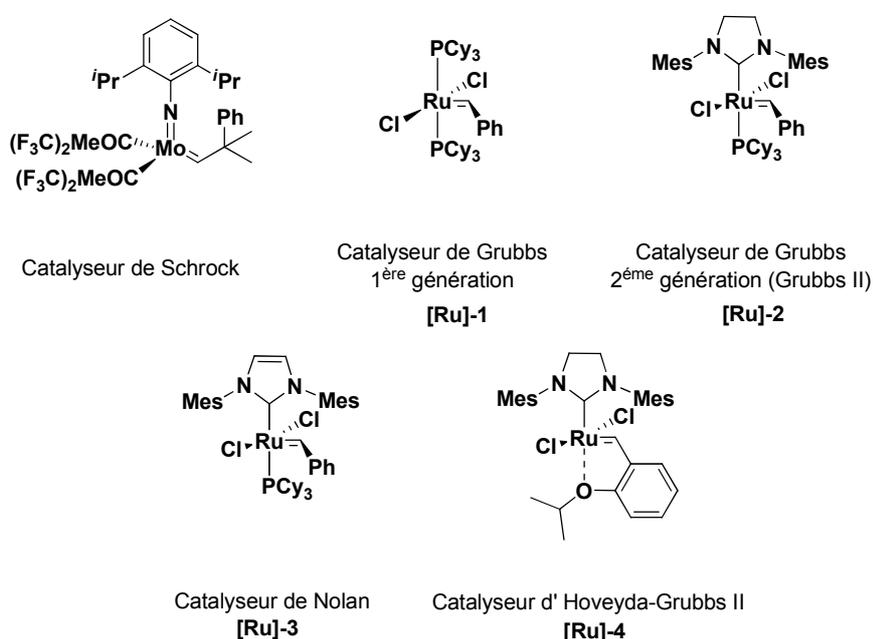


Schéma 61 : Mécanisme de la réaction de métathèse croisée d'oléfines

<sup>208</sup> Hérisson, J. L.; Chauvin, Y., *Makromol. Chem.* **1970**, *141*, 161-176.

## IV.1.3. CHOIX DU CATALYSEUR

La nature du catalyseur est l'un des autres facteurs important influençant cette réaction (Figure 43). Le catalyseur de Schrock qui est à base de molybdène a fait son apparition en 1999.<sup>209</sup> Ce catalyseur possède une grande activité mais possède une tolérance limitée aux groupements fonctionnels encombrés. En 1995, le catalyseur de Grubbs 1<sup>ère</sup> génération est commercialisé.<sup>210</sup> Cependant ce catalyseur sensible à l'air doit être utilisé à une température inférieure à 45°C. C'est pourquoi quelques années plus tard les catalyseurs de Grubbs II et de Nolan ont été développés.<sup>211,212,213,214,215</sup> Ils permettent l'utilisation de températures réactionnelles plus élevées et surtout possèdent une plus grande réactivité. Ils seront donc privilégiés pour les réactions de CM qui sont moins favorables entropiquement que les autres réactions de métathèse.<sup>214</sup>



**Figure 43 :** Les catalyseurs de métathèse les plus fréquemment utilisés

Le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs II est apparu par la suite.<sup>216</sup> Il se présente sous forme d'un chélate qui tend à stabiliser le complexe de Ru. Ce catalyseur robuste et recyclable fonctionne souvent mieux que les catalyseurs de Grubbs II et Nolan.<sup>217</sup>

<sup>209</sup> Schrock, R. R., *Tetrahedron* **1999**, 55, 8141-8153.

<sup>210</sup> Schwab, P.; France, M. B.; Ziller, J. W.; Grubbs, R. H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 2039-2041.

<sup>211</sup> Fürstner, A.; Thiel, O. R.; Ackermann, L.; Schanz, H.-J.; Nolan, S. P., *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 2204-2207.

<sup>212</sup> Chatterjee, A. K.; Grubbs, R. H., *Org. Lett.* **1999**, 1, 1751-1753.

<sup>213</sup> Morgan, J. P.; Grubbs, R. H., *Org. Lett.* **2000**, 2, 3135-3138.

<sup>214</sup> Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C. W.; Grubbs, R. H., *Org. Lett.* **1999**, 1, 953-956.

<sup>215</sup> Huang, J.; Stevens, E. D.; Nolan, S. P.; Petersen, J. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 2674-2678.

<sup>216</sup> Kingsbury, J. S.; Harrity, J. P. A.; Bonitatebus Jr, P. J.; Hoveyda, A. H., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 791-799.

<sup>217</sup> Hoveyda, A. H.; Gillingham, D. G.; Van Veldhuizen, J. J.; Kataoka, O.; Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Harrity, J. P. A., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 8-23.

IV.1.4. METATHÈSES CROISÉES D'OLEFINES D'IMINOSUCRES ET DE PHOSPHONATE :  
PRECEDENTS

Peu d'exemples d'utilisation d'iminosucre comme partenaire de métathèse croisée sont rapportés dans la littérature. En effet, notre groupe a décrit le premier couplage d'imino-C-glycopyranosides avec divers partenaires vinyliques fonctionnalisés, dont le vinyl phosphonate de diéthyle.<sup>218</sup> Puis, l'équipe de Dondoni a rapporté l'utilisation d'allyl iminopyranoses et furanoses.<sup>219</sup> Le manque d'engouement pour ce type de réaction très convergente sur de tels substrats résulte de la présence d'une amine endocyclique, réputée défavorable à toute réaction de métathèse.<sup>220</sup> En effet, une amine est susceptible de chélater le métal du carbène et ainsi le rendre inactif. C'est pourquoi l'utilisation de groupement protecteur désactivant la nucléophilie de cet atome d'azote est essentielle au bon fonctionnement de cette réaction.

D'autre part, la mise en jeu d'oléfines substituées par des hétéroatomes a considérablement augmenté ces dernières années.<sup>221</sup> Cependant, l'utilisation en métathèse croisée de vinyl phosphonate ou analogues n'a fait l'objet que de trois publications.<sup>222,223,218</sup> L'équipe de Grubbs a montré qu'il s'agissait d'une oléfine de type III, n'induisant aucune homodimérisation.<sup>207,218</sup> De plus, en présence du catalyseur de Grubbs II les vinylphosphonates conduisent à de bons rendements en produit de couplage et une bonne stéréosélectivité en faveur du composé trans.

La réactivité de la pyrrolidine allylée **34**, vis-à-vis d'une homodimérisation puis d'une CM en présence d'un partenaire modèle le diéthylvinylphosphonate a été étudiée.

---

<sup>218</sup> Godin, G.; Compain, P.; Martin, O. R., *Org. Lett.* **2003**, 5, 3269-3272.

<sup>219</sup> Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Perrone, D., *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 5508-5518.

<sup>220</sup> Compain, P., *Adv. Synth. Catal.* **2007**, 349, 1829-1846.

<sup>221</sup> Van de Weghe, P.; Bisseret, P.; Blanchard, N.; Eustache, J., *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 5078-5108.

<sup>222</sup> Chatterjee, A. K.; Choi, T.-L.; Grubbs, R. H., *Synlett* **2001**, 1034-1038.

<sup>223</sup> Lera, M.; Hayes, C. J., *Org. Lett.* **2001**, 3, 2765-2768.

## IV.2. ETUDE MODELE DE LA REACTION DE METATHESE CROISEE AVEC UN VINYLPHOSPHONATE SIMPLE

### IV.2.1. OPTIMISATION DES CONDITIONS DE METATHESE CROISEE

#### IV.2.1.1. Métathèse croisée en présence du catalyseur de Grubbs deuxième génération

Dans un premier temps le couplage par métathèse croisée a fait l'objet d'une étude modèle sur le composé diéthylvinylphosphonate commercial qui devrait présenter la même réactivité que le dérivé UMP **54**. Sachant que le diéthylvinylphosphonate est un bon partenaire de métathèse croisée, nous avons d'abord vérifié la réactivité de notre dérivé allylé **34**. La confirmation que nous avons bien deux oléfines de réactivité différente nous fait alors espérer une bonne sélectivité de la réaction.<sup>207</sup>

Nous avons engagé le composé **34** dans une réaction d'homodimérisation en présence du catalyseur de Grubbs deuxième génération (Schéma 62) et n'avons observé qu'une faible conversion (rendement isolé de 25%).

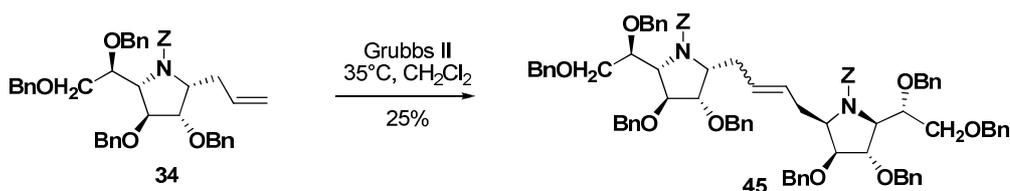


Schéma 62 : Synthèse de l'homodimère **45**

Ce résultat révèle une faible réactivité du substrat allylé **34** en présence du catalyseur de Grubbs II, dans des conditions similaires à celles décrites pour d'autres iminosucres substitués par des oléfines.<sup>218,219</sup>

Nous avons pourtant essayé la métathèse croisée avec le diéthylvinylphosphonate (Schéma 63) Malgré des quantités de catalyseur variables de 5 à 10 mole % nous n'avons pu détecter que des traces du produit de couplage attendu par spectrométrie de masse.

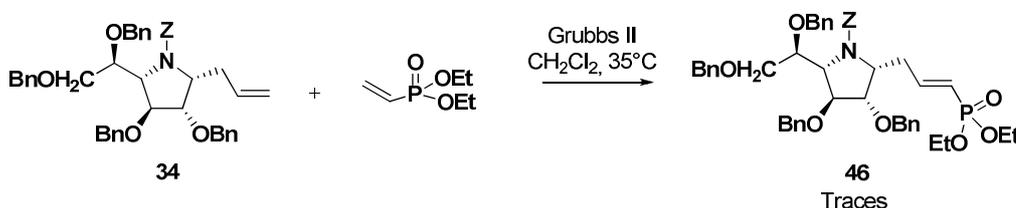


Schéma 63 : Essai d'obtention du produit de couplage **46**

Il était pourtant légitime de penser que cette réaction devait être favorable. En effet, la principale limitation de la réaction de métathèse sur un substrat de type iminosucre est la présence d'une amine insaturée qui est susceptible d'inactiver le catalyseur par chélation. Or dans notre cas l'azote endocyclique est désactivé puisqu'il est protégé par un groupement

benzyloxycarbonyle (Z). La formation du métallocarbène devrait donc se faire sans problème. De plus, l'introduction de ce groupement protecteur et donc du carbonyle qui pourrait également générer la formation d'un métallacycle intermédiaire par chélation du complexe métallique et du carbonyle ne devrait pas avoir lieu. En effet, la formation d'un chélate à 7 chaînons n'est pas favorisée (Schéma 64).<sup>224</sup>

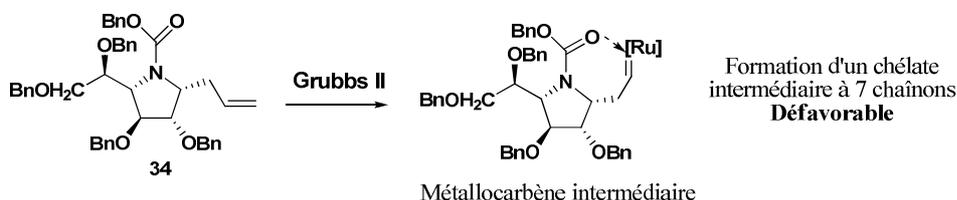


Schéma 64

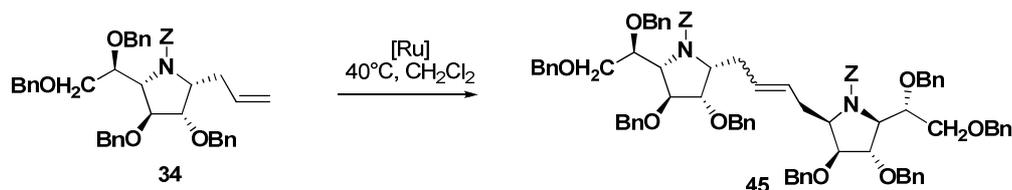
De plus d'après la classification établie par l'équipe de Grubbs, il semblerait que le dérivé **34** soit une oléfine de type I, donc, à priori, facilement homodimérisable.<sup>207</sup>

Nous avons donc persévéré et choisi de comparer différents catalyseurs au ruthénium utilisés en métathèse croisée.

#### I.1.1.1. Influence du catalyseur sur l'homodimérisation

Nous avons réalisé la réaction d'homodimérisation en présence du catalyseur de Nolan et obtenu un rendement très satisfaisant de 63% en composé **45**, bien que la conversion soit incomplète (Tableau 10). C'est à notre connaissance le premier cas rapporté de métathèse croisée où une si grande différence de réactivité est observée entre le catalyseur de Grubbs II et son analogue insaturé.

Lors de l'essai de cette réaction avec le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs II, nous avons rapidement observé une conversion quasi-totale en produit attendu. Cependant, lors de la purification nous avons été confrontés à la présence d'impuretés non identifiées et difficilement séparables du composé **45**. Compte tenu de la couleur verte de ces sous-produits, il est envisageable qu'ils soient issus de la dégradation du catalyseur, ce qui expliquerait le rendement moyen de 51% en homodimère **45** pur (Tableau 16). La présence de rotamères a empêché de déterminer la stéréochimie de la double liaison à ce stade de la synthèse.



<sup>224</sup> Fürstner, A.; Langemann, K., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9130-9136.

Catalyseur [Ru]	Quantité [Ru] (mol%)	Durée (h)	34 (%)	45 (%)
Nolan [Ru-3]	10	44	21	63
Hoveyda-Grubbs [Ru-4]	5	16	Traces	53

**Tableau 16** : Optimisation des conditions de préparation de l'homodimère **45**

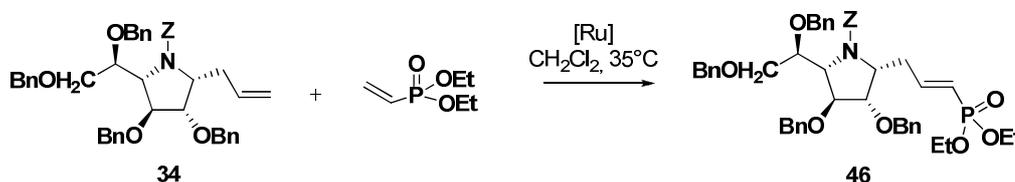
Cette étude a permis de vérifier la réactivité de notre dérivé 1-C-allyl et de synthétiser un précurseur d'analogue de disaccharide en série iminosucre. Au vu de ces résultats satisfaisants nous avons alors réalisé la métathèse croisée avec le partenaire phosphonate en testant successivement ces deux catalyseurs.

#### IV.2.1.2. Influence du catalyseur sur la métathèse croisée avec le diéthylvinylphosphonate.

La réaction de métathèse croisée avec le partenaire modèle a pu être réalisée dans des conditions similaires à celles précédemment utilisées. Nous avons ainsi pu constater la formation du produit de couplage attendu **46** lors de l'utilisation de chaque catalyseur avec des rendements satisfaisants de 68 à 75% (Tableau 17).

On note à nouveau que dans le cas de l'utilisation du catalyseur d'Hoveyda une conversion quasi-totale est observée en une nuit. En ce qui concerne le catalyseur de Nolan, même après l'ajout de 5 mol% de catalyseur et 28 heures d'agitation supplémentaire, la réaction reste incomplète.

La formation de l'homodimère est également observée et le composé **45** est ainsi isolé dans les deux cas avec un rendement de l'ordre de 10%.



Catalyseur [Ru]	Quantité [Ru] (mol%)	Durée (h)	34 (%)	45 (%)	46(%)
Nolan [Ru-3]	10	44	9	8	68
Hoveyda-Grubbs [Ru-4]	5	16	Traces	10	75

Tableau 17 : Optimisation des conditions de métathèse croisée

Le composé **46** est obtenu uniquement sous forme de l'isomère *trans*. En effet, le calcul des constantes de couplage réalisé d'après les spectres RMN  $^1\text{H}$  à  $80^\circ\text{C}$  découplé du phosphore  $^{31}\text{P}$  est sans équivoque,  $J_{\text{CH}=\text{CH}} \sim 17$  Hz (Figure 44).

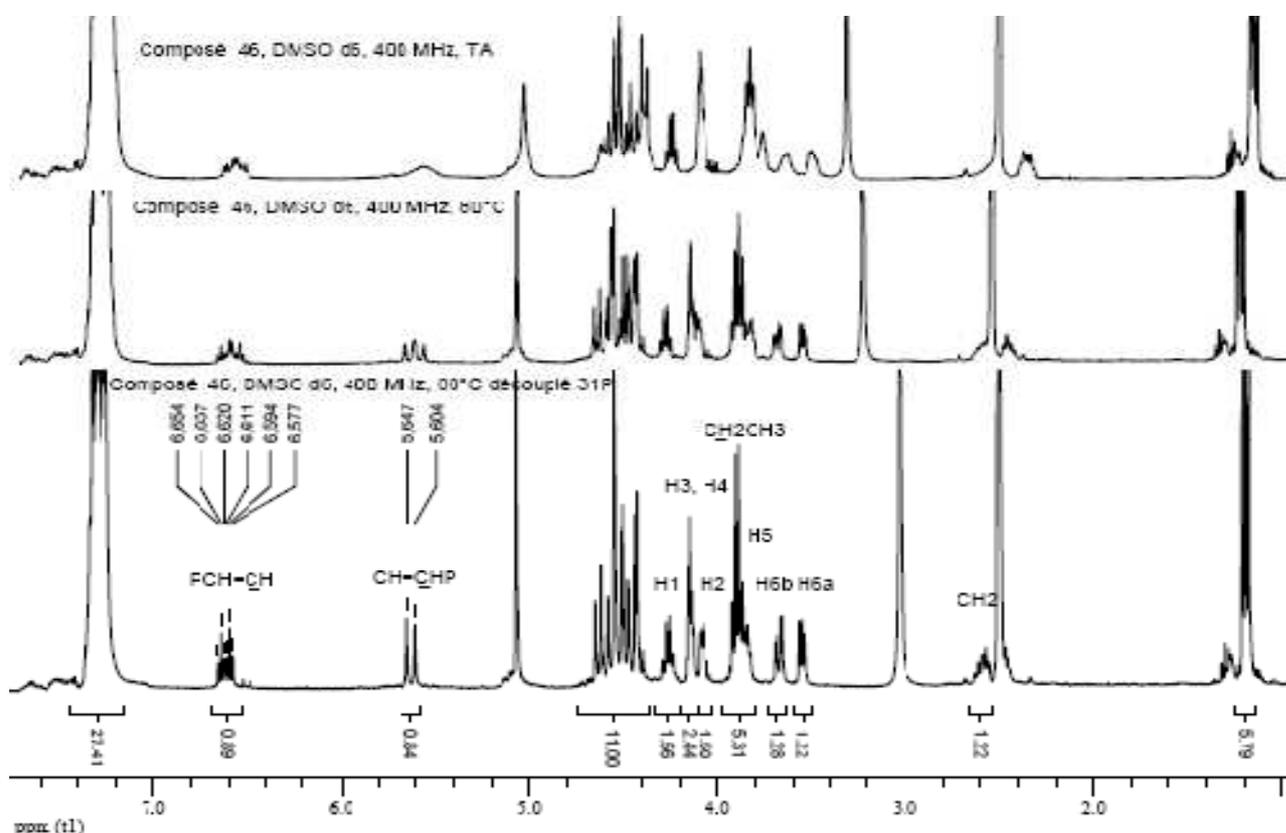


Figure 44 : Spectre  $^1\text{H}$  RMN du composé **46** dans le  $\text{DMSO } d_6$ , à TA, à  $80^\circ\text{C}$  ainsi que découplé du  $^{31}\text{P}$

Après plusieurs essais, l'étude modèle de la réaction de métathèse croisée entre le dérivé 1-C-allyl **34** et un vinylphosphonate a permis la mise au point des conditions optimales suivantes : utilisation de 5 mol% de catalyseur d'Hoveyda-Grubbs II durant une nuit au reflux du dichlorométhane.

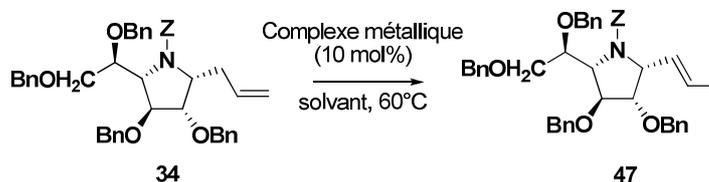
## IV.2.1.3. Cas du substrat 1-propényl-1,4-iminogalactitol

Nous sommes également intéressés à une réaction, à priori moins favorable, mettant en jeu le dérivé 1-*C*-propényl-1,4-iminogalactitol **47**, isomère du 1-*C*-allyl-1,4-iminogalactitol **34**.

Le composé **47** est préparé par isomérisation du composé **34** en présence d'une quantité catalytique de complexe métallique.

Un premier essai, catalysé par le palladium dichloro bis-acétonitrile dans les conditions décrites par Lowary<sup>225</sup>, nous a permis d'isoler le produit attendu avec un rendement satisfaisant de 52% (Tableau 18, essai 1). En augmentant le temps de réaction nous avons pu améliorer le rendement pour obtenir 61% du composé **47** (Tableau 18, essai 2). Ce rendement modéré résulte d'un problème de séparation avec une impureté de polarité très proche. Lors du troisième essai, nous avons pu observer une influence de l'échelle sur laquelle est réalisée la réaction. En effet, en passant de 100 à 200 mg (ou plus) de produit de départ, dans des conditions identiques, nous avons remarqué que nous passons d'une conversion totale à une conversion de l'ordre de 66%. Ainsi pour l'essai 3 nous avons isolé 53% du produit **47** attendu et 14% du produit de départ **34** le reste des fractions contenant des impuretés difficilement séparables (Tableau 18, essai 3).

Hanessian *et al.*<sup>226</sup> ayant récemment montré qu'en présence de catalyseur de Grubbs II, à haute température dans le méthanol, divers motifs allylés s'isomérisent en dérivés propényles, nous avons reproduit ces conditions réactionnelles. En présence du catalyseur d'Hoveyda-Grubbs, le produit attendu **47**, a été isolé avec 69% de rendement non optimisé (Tableau 18, essai 4).



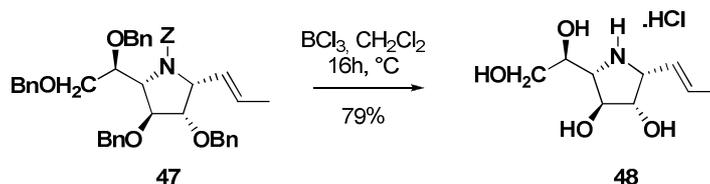
Essai	Complexe métallique	Solvant	Durée	Rendement (%)
1	Pd(ACN) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Toluène	10h	52
2	Pd(ACN) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Toluène	5 jours	61
3	Pd(ACN) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Toluène	5 jours	53
4	Hoveyda-Grubbs [Ru-4]	MeOH	18h	69

**Tableau 18** : Isomérisation du dérivé 1-*C*-allyl **34** en 1-*C*-propényl **47**

<sup>225</sup> Chang, G. X.; Lowary, T. L., *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 4561-4564.

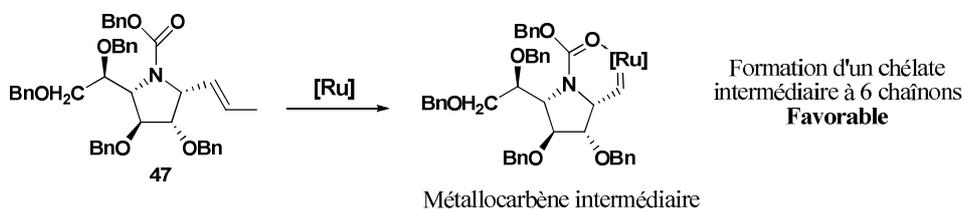
<sup>226</sup> Hanessian, S.; Giroux, S.; Larsson, A., *Org. Lett.* **2006**, 8, 5481-5484.

Ce composé a pu être déprotégé en présence de  $\text{BCl}_3$ .<sup>202</sup> Nous avons ainsi obtenu le chlorhydrate **48** avec un bon rendement de 79% (Schéma 65).



**Schéma 65** : N et O-déprotection du dérivé 1-C-propenyl **47**

Pour terminer, il faut noter que nous avons réalisé plusieurs tentatives d'homodimérisation du propenyl **47**, dans les conditions optimisées précédemment, mais seul le produit de départ a pu être isolé. Ceci peut s'expliquer par la formation favorable d'un métallocarbène intermédiaire qui désactiverait le catalyseur (Schéma 66).<sup>224</sup>



**Schéma 66**

Plusieurs travaux récents ont montré que ce type de chélate non réactif peut être réactivé en présence d'acide de Lewis. La compétition entre les deux coordinations de la fonction carbonyle permet ainsi la réalisation de la réaction de métathèse.<sup>224,227,228</sup> Nous avons donc introduit l'acide de Lewis utilisé dans ce cas, le  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$  en quantité catalytique dans le mélange réactionnel de manière à limiter la coordination intramoléculaire du carbène métallique. Cela n'a cependant pas permis d'isoler de produit d'homodimérisation.

L'isomérisation du composé 1-C-allyle en 1-C-propényle donne accès à un équivalent du dérivé 1-C-vinyle, qui n'est pas lui-même accessible directement à partir des glycosylamines dans nos conditions. Néanmoins ce dérivé n'est pas réactif dans les conditions de métathèse croisée que nous avons mises au point.

L'optimisation de la réaction de métathèse croisée nous a permis de synthétiser des imino-C-galactofuranoside N et O-protégés originaux. L'étape suivante consiste donc en leur déprotection.

<sup>227</sup> Yang, Q.; Xiao, W.-J.; Yu, Z., *Org. Lett.* **2005**, 7, 871-874.

<sup>228</sup> Bai, C.-X.; Lu, X.-B.; He, R.; Zhang, W.-Z.; Feng, X.-J., *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 4139-4142.

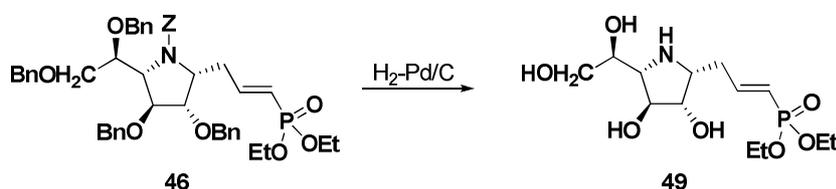
## IV.2.2. OPTIMISATION DES CONDITIONS DE N ET O-DEPROTECTION DE L'IMINOSUCRE 46

### IV.2.2.1. Déprotection de l'azote endocyclique et des éthers de benzyle.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à la déprotection des éthers de benzyle et de l'azote endocyclique. La méthode la plus couramment utilisée étant l'hydrogénolyse, nous l'avons donc essayée bien qu'elle induise une réduction de la double liaison.

#### Par hydrogénéolyse

Nous avons fait quelques essais de déprotection en présence d'hydrogène et de palladium sur charbon dans les conditions fréquemment utilisées au laboratoire (Tableau 19) cependant les conditions neutres classiques n'induisent aucune conversion. Or, il a été montré que la présence d'une fonction amine non aromatique sur le substrat retarde la débenzylation.<sup>229</sup> C'est pourquoi nous avons légèrement acidifié notre mélange réactionnel dans l'espoir de désactiver l'amine et favoriser la réaction. Ceci nous a permis d'observer un début de déprotection. L'équipe de Griffin a montré que la vitesse de *O*-débenzylation est fonction du solvant utilisé.<sup>230</sup> Ainsi, par exemple le THF permet une réaction 8 fois plus rapide que le méthanol. Nous avons donc réalisé l'hydrogénéolyse dans le THF sans grand succès puisque cela n'a pas permis une débenzylation totale du produit de couplage **46**. Seuls des mélanges de mono et didébenzylation sont observés.



Essai	Solvant	HCl	Durée (h)	Conversion
1	EtOH	-	18	nulle
2	EtOH	2 gouttes	5	partielle
3	THF	2 gouttes	17	partielle

**Tableau 19 :** Conditions d'hydrogénéolyse du composé **46**

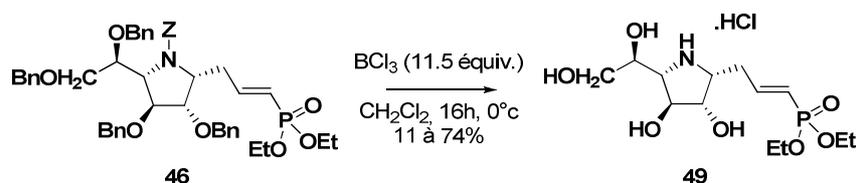
<sup>229</sup> Czech, B. P.; Bartsch, R. A., *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 4076-4078.

<sup>230</sup> Hawker, S.; Bhatti, M. A.; Griffin, K. G., *Chim. Oggi.* **1992**, *49*, 49-51.

Les hydrogénolyses dans des conditions douces ne permettant pas l'accès au composé déprotégé **49** nous nous sommes rapidement orientés vers une méthode plus efficace, la débenzylation en présence d'un acide de Lewis, le trichlorure de bore.<sup>202</sup>

#### Via l'utilisation du trichlorure de bore

Dans un premier temps nous avons pu isoler l'imino-galactitol **49** avec un rendement modeste de 11% (schéma 67). A ce stade nous avons été confrontés à un problème de purification puisque la conversion semble totale et qu'aucune impureté n'a été détectée sur le spectre RMN <sup>1</sup>H du produit brut. En effet, le composé **49** est obtenu sous forme de chlorhydrate cependant la purification sur résine échangeuse d'anion n'est pas satisfaisante puisque le produit probablement sous forme anionique est retenu sur la résine. Le chlorhydrate obtenu étant trop polaire pour être purifié sur gel de silice, nous avons opté pour une purification sur colonne de silice phase inverse apolaire (C18). Ainsi nous avons pu synthétiser et purifier le composé débenzylé **49** avec un bon rendement de 74%.



**Schéma 67** : N et O-déprotection du produit de couplage **46**

Nous avons mis au point des conditions de O-débenzylation permettant en une seule étape de déprotéger les éthers de benzyle et l'atome d'azote endocyclique, tout en conservant la double liaison carbone-carbone. Cette méthode de choix sera utilisée dans la suite de ces travaux pour la déprotection de nombreux imino-galactitol perbenzylés.

Il est intéressant de noter que la préparation de ce composé nous a certes permis d'optimiser les conditions nécessaires à l'avancement de ces travaux mais nous a également permis d'obtenir un dérivé phosphonique protégé analogue du Galf-1-pyrophosphate et du Galf-1-phosphate. La dernière étape d'optimisation consiste alors en la déprotection de l'acide phosphonique.

#### IV.2.2.2. Déprotection de l'acide phosphonique.

D'après la littérature, l'agent de déprotection susceptible de répondre au mieux à nos attentes est le bromure de triméthylsilyle.<sup>231,232</sup>

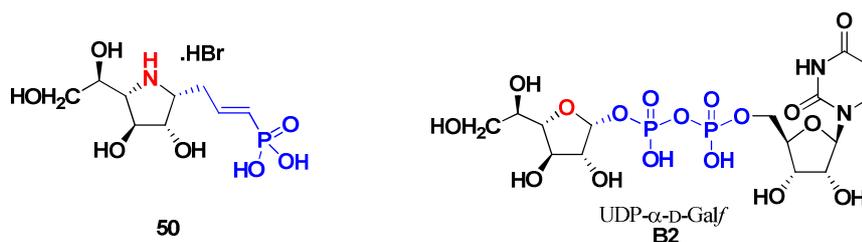
<sup>231</sup> Vidil, C.; Morère, A.; Garcia, M.; Barragan, V.; Hamdaoui, B.; Rochefort, H.; Montero, J.-L., *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 447-450.

<sup>232</sup> Ladame, S.; Fauré, R.; Denier, C.; Lakhdar-Ghazal, F.; Wilson, M., *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 2070-2072.



**Schéma 68** : Synthèse de l'acide phosphonique **50**

Notre premier analogue de type acide phosphonique a été ainsi synthétisé de façon satisfaisante (Schéma 68). (Figure 45). L'élaboration de la partie nucléosidique pour obtenir un analogue de l'UDP-Galf, fait l'objet de la suite de ce travail.

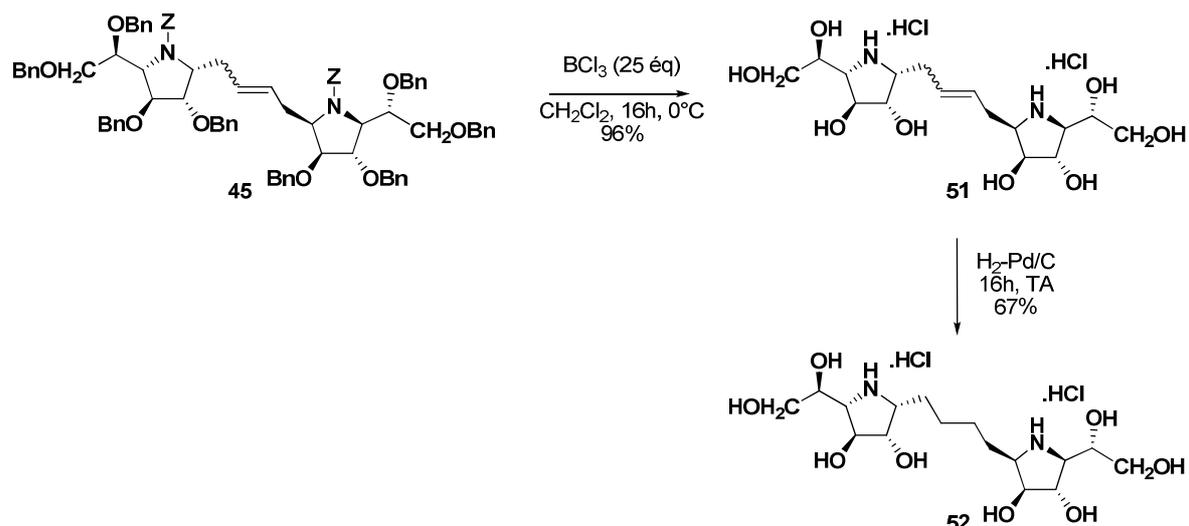


**Figure 45** : Similitudes structurales du composé **50** et de l'UDP-Galf

L'étude de la réaction de métathèse modèle nous a conduit à la synthèse de deux composés possédant un motif analogue du pyrophosphate (protégé ou non). Ces composés sont des intermédiaires de synthèse avancés qui présentent également un intérêt biologique de part leur structure et ont été testés comme inhibiteurs potentiels de l'UDP-Galp mutase et les Galp transférases.

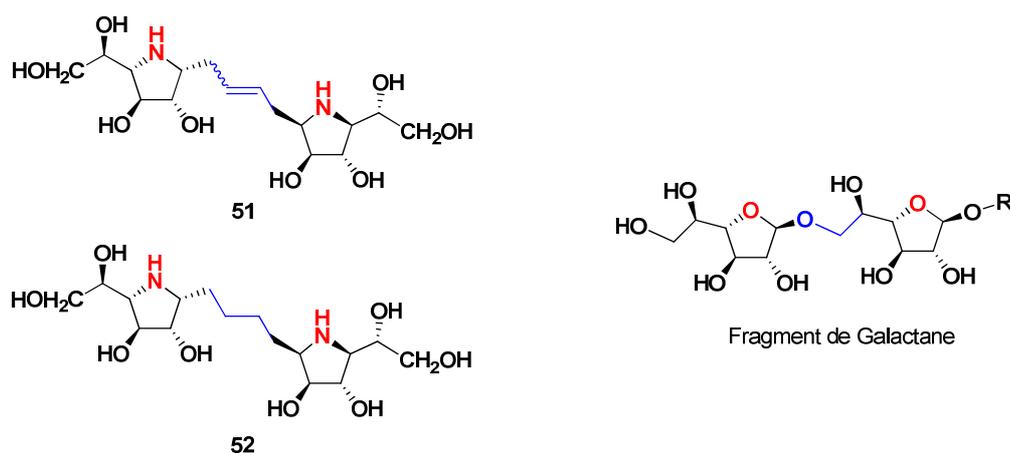
### IV.3. SYNTHÈSE D'UN ANALOGUE DE SUBSTRAT DIMÉRIQUE

Comme nous l'avons vu précédemment l'étude de la réactivité du dérivé 1-C-allyl-iminogalactitol nous a permis de préparer le précurseur d'analogue de substrat dimérique **45**. Nous avons donc poursuivi la synthèse par une étape de *N* et *O*-déprotection. Cette déprotection a conduit à la synthèse du composé **51** avec un excellent rendement de 96% sous forme d'un mélange *Z/E* en proportion 1/1,86 (Schéma 69). Une hydrogénation catalytique a ensuite permis l'obtention de l'analogue saturé **52** du composé **51** (Schéma 69).



**Schéma 69** : Synthèse des homodimères déprotégés **51** et **52**

Nous avons ainsi synthétisé de manière rapide et efficace deux analogues disaccharidiques (**51** et **52**) d'une portion des galactanes (Figure 46).



**Figure 46** : Analogies structurales entre les homodimères **51** et **52** et un fragment de galactane

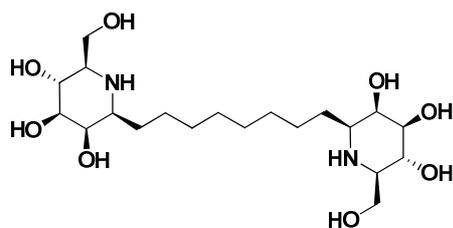
L'intérêt pour ces structures homodimériques est apparu avec la mise en évidence de la reconnaissance de « clusters » de résidus sucres par certaines glycosidases.<sup>233,234</sup> De plus, en 1998, il a été montré qu'un homodimère simple du mannose, le composé **B142**, présente une activité sur deux types de glycosidases (Figure 47).<sup>235,236</sup>

<sup>233</sup> Lee, Y. C.; Lee, R. T., *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321-327.

<sup>234</sup> DeFrees, S. A.; Gaeta, F. C. A.; Lin, Y.-C.; Ichikawa, Y.; Wong, C.-H., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7549-7550.

<sup>235</sup> Johns, B. A.; Johnson, C. R., *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 749-752.

<sup>236</sup> Asensio, J. L.; Cañada, F. J.; Garcia-Herrero, A.; Murillo, M. T.; Fernandez-Mayoralas, A.; Johns, B. A.; Kozak, J.; Zhu, Z.; Johnson, C. R.; Jiménez-Barbero, J., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11318-11329.



**B142**  
 $IC_{50} = 20 \mu\text{M}$  amyloglucosidases  
 $IC_{50} = 49 \mu\text{M}$   $\alpha$ -mannosidases  
 $IC_{50} = 1,75 \text{ mM}$   $\beta$ -glucosidases

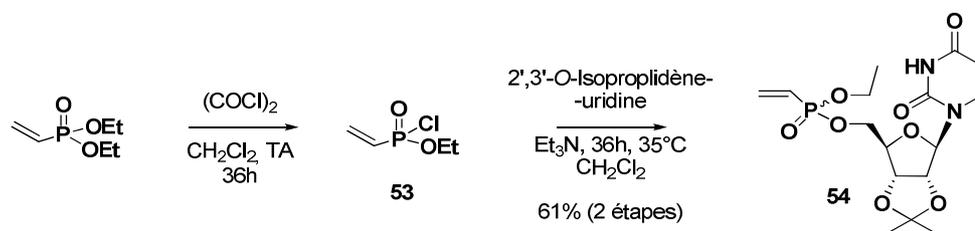
**Figure 47 :** Structure et activité biologique de l'homodimère du mannose

Cette méthodologie de synthèse a été adaptée à la préparation de substrats plus complexes et analogues proches de l'UDP-Galf. Pour accéder à ces analogues, la préparation d'un partenaire vinylique comprenant un motif UMP a été mise au point.

#### IV.4. APPLICATION A LA SYNTHÈSE D'IMINOSUCRE URIDINE MONOPHOSPHATE

##### IV.4.1. PRÉPARATION DU PARTENAIRE DE MÉTATHÈSE VINYL URIDINE MONOPHOSPHATE (VINYL UMP)

La méthodologie décrite par Duran et ses collaborateurs a été utilisée pour synthétiser le composé **54**.<sup>237</sup> Il s'agit de la réaction de phosphonodiester commerciaux avec le chlorure d'oxalyle qui conduit au dérivé chloré correspondant. Nous avons réalisé cette substitution sur le diéthylvinylphosphonate commercial et obtenu le dérivé chloré **53** de manière quantitative. Ce dernier étant grandement sensible à l'humidité il n'a pu être caractérisé que sous forme de brut réactionnel. Cet intermédiaire **53** très réactif vis à vis des nucléophiles a été immédiatement couplé à un nucléotide, le 2',3'-O-isopropylidène uridine, en présence de triéthylamine. Le produit de couplage **54** est isolé sous forme d'un mélange de *P*-diastéréoisomères en proportion 1/1 avec un bon rendement de 61% sur les deux étapes consécutives (Schéma 70).



**Schéma 70 :** Synthèse du partenaire de métathèse **54** issu de l'UMP

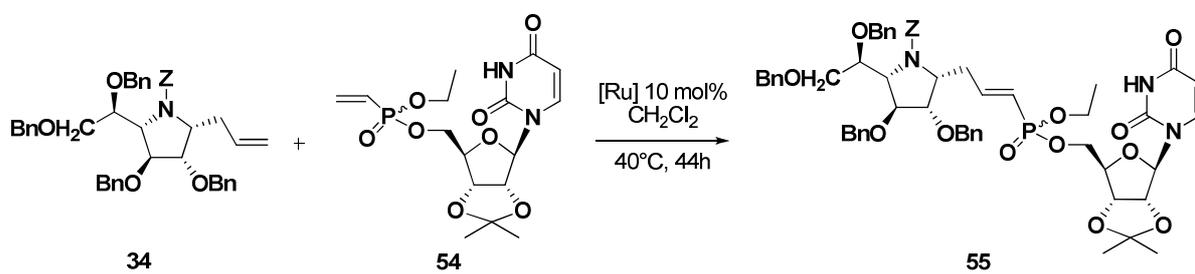
<sup>237</sup> Lapeyre, C.; Bedos-Beval, F.; Duran, H.; Baltas, M.; Gorrichon, L., *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2445-2447.

Cette stratégie nous a permis d'obtenir le partenaire vinyle UMP désiré de façon très efficace en 2 étapes à partir du vinylphosphonate commercial. Nous avons alors étudié la réaction de métathèse croisée sur le dérivé 1-C-allyl **34** en présence du partenaire **54**.

#### IV.4.2. SYNTHÈSE DU COMPOSÉ **53** PAR MÉTATHÈSE CROISÉE

La synthèse du dérivé **55** par couplage du dérivé 1-C-allyl **34** avec le partenaire vinylique **54** a été réalisée dans les conditions précédemment optimisées. Nous avons ainsi pu constater qu'en présence de 10 mol% de catalyseur de Nolan, la conversion est incomplète. Toutefois, cette réaction conduit au composé souhaité **55** avec un rendement de correct de 51% et à l'obtention de 8% d'homodimère **45** (Tableau 20).

Le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs II s'est avéré dans ce cas également plus performant, conduisant à une conversion quantitative du produit de départ **34**. Cependant, contrairement aux essais précédents, la réaction a nécessité l'ajout supplémentaire de 5 mol% de catalyseur pour être complète après une nuit d'agitation. Nous avons isolé le produit de couplage **55** avec un rendement de 61% et l'homodimère **45** avec un rendement de 13% (Tableau 20). Dans les conditions de purification utilisées, nous avons rencontré un problème de séparation entre le produit formé et le vinyl UMP **54** induisant une diminution du rendement.



Catalyseur [Ru]	34 (%)	45 (%)	55(%)
Nolan [Ru-3]	8	9	51
Hoveyda-Grubbs [Ru-4]	Traces	13	61

**Tableau 20** : Condition d'obtention du produit de couplage **55**

L'isomérisie *trans* de la double liaison carbone-carbone a pu être établis comme précédemment, par l'étude des constantes de couplage ( $J_{\text{CH}=\text{CH}} \sim 18$  Hz) sur le spectre RMN du proton à 80°C découplé des signaux du phosphore <sup>31</sup>P.

L'utilisation de la réaction de métathèse nous a permis d'obtenir en une étape un précurseur protégé d'analogue de l'UDP-Galf. Les étapes suivantes de la synthèse consistent donc en la déprotection des différentes fonctionnalités.

## IV.4.3. OBTENTION D'UN ANALOGUE DE SUBSTRAT NATUREL

En nous appuyant sur les résultats obtenus lors de la synthèse du composé **50**, nous avons dans un premier temps procédé à la déprotection des éthers de benzyle en présence de trichlorure de bore. Cette déprotection en milieu acide a conduit à l'obtention d'un phosphonate totalement déprotégé. En effet, une seule étape a permis le clivage des éthers de benzyle, du carbamate de benzyle et de l'isopropylidène de la partie nucléotidique avec un bon rendement de 78% (Schéma 71). Le chlorhydrate **56** est obtenu sous forme d'un mélange 1/1 de *P*-diastéréoisomères.

Dans un second temps, nous avons réalisé la déprotection du phosphonate d'éthyle en présence de bromure de triméthylsilyle, ce qui a conduit à l'obtention de l'acide phosphonique **57** avec un rendement correct de 54%. Il est remarquable de noter que ces conditions n'altèrent pas les autres fonctionnalités de la molécule.

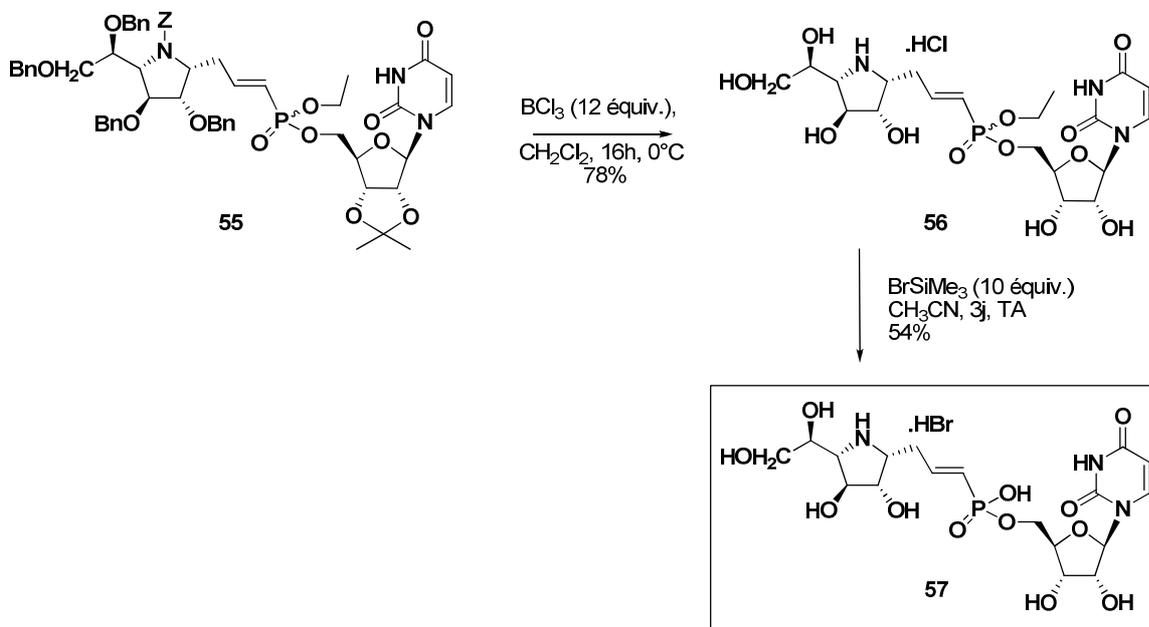
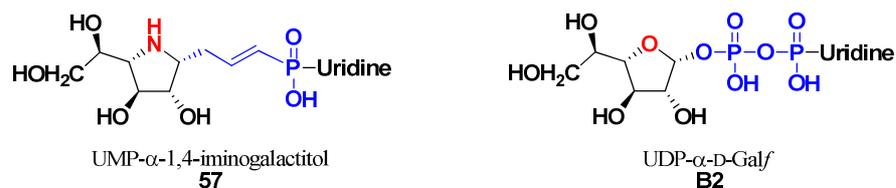


Schéma 71 : Préparation de l'analogue nucléosidique **57**

En résumé, nous venons de décrire une synthèse diastéréosélective rapide et efficace qui permet l'accès en 2 à 3 étapes à des analogues de l'UDP-Galf.

Nous avons tout d'abord synthétisé le premier analogue de substrat dimérique contenant deux motifs iminofuranose. Puis nous avons préparé deux types d'analogues de l'UDP-Galf possédant ou non le motif uridine sous forme de phosphonate et d'acide phosphonique. Ainsi, nous avons préparé l'analogue **57** dans lequel un motif polaire à 5 atomes mime le motif pyrophosphate.

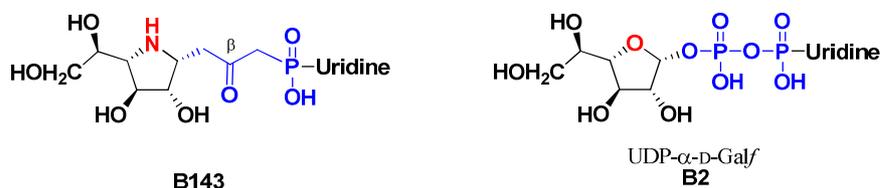
Ce composé, obtenu de manière sélective avec la configuration  $\alpha$  identique à celle du substrat naturel, constitue à notre connaissance l'analogue le plus proche de l'UDP-Galf synthétisé à ce jour (Figure 48).



**Figure 48 :** Analogies structurales du nucléoside **57** et de l'UDP-Galp

L'évaluation biologique de ces différents composés comme inhibiteurs de l'UDP-Galp mutase et des Galp transférases sera discutée dans le chapitre 5 de ce manuscrit.

Les travaux de Wong, qui rapportent la conception et la synthèse de mimes du lien pyrophosphate, montrent à quel point il est difficile de concevoir un mime proche à la fois en longueur, géométrie, polarité et basicité.<sup>133</sup> Toutefois dans un souci d'optimisation de la structure d'un tel lien, nous avons souhaité fonctionnaliser la double liaison en introduisant un motif carbonylé susceptible de mimer les interactions avec le premier phosphate (Figure 49).



**Figure 49 :** Structure envisagée de l'analogue  $\beta$ -cétophosphonate **B143** de l'UDP-Galp

## V. PREPARATION DE $\beta$ -CETOPHOSPHONATE

### V.1. PAR FONCTIONNALISATION DE LA DOUBLE LIAISON EXOCYCLIQUE

Notre idée était d'introduire cette fonction cétonique par oxydation d'une fonction alcool introduite en position  $\beta$  du phosphonate. Dans ce but, divers essais ont été réalisés sur le substrat modèle **46**.

Dans un premier temps, une hydroboration a été essayée dans les conditions décrites par Srebnik et ses collaborateurs.<sup>238</sup> Malheureusement, la totalité du produit de départ **46** a été recouvrée (Schéma 72).

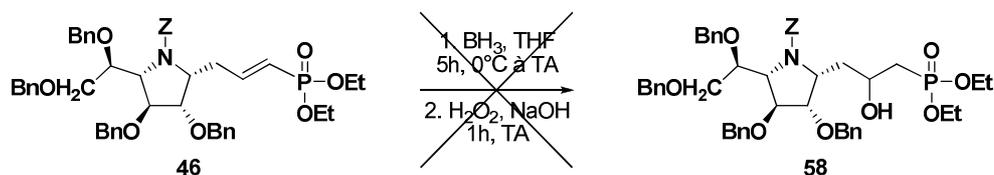


Schéma 72 : Essai d'hydroboration de l'oléfine **46**

Nous avons alors tenté sans succès d'époxyder la double liaison (Schéma 73).<sup>239</sup>

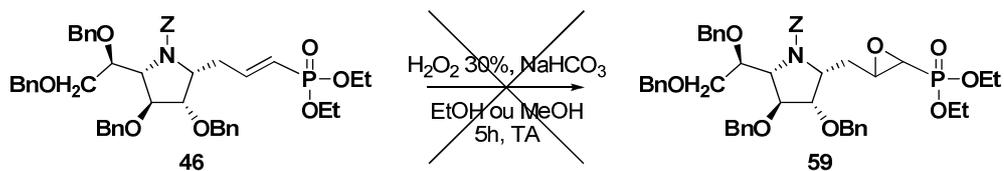


Schéma 73 : Essai d'époxydation de l'alcène **46**

Par manque de temps les méthodes complémentaires d'époxydation de la double liaison<sup>240,241,242,243,244,245,246</sup> n'ont pas pu être expérimentées mais devraient faire l'objet de recherches à venir.

Nous nous sommes finalement orientés vers une méthodologie différente permettant l'accès à un dérivé  $\beta$  cétophosphonate.

<sup>238</sup> Peragment, I.; Srebnik, M., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 217-219.

<sup>239</sup> Iorga, B.; Eymery, F.; Savignac, P., *Synthesis* **1999**, *2*, 207-224.

<sup>240</sup> Sturtz, G.; Pondaven-Raphalen, A., *Bull. Soc. Chem. Fr.* **1983**, 125-130.

<sup>241</sup> Öhler, E.; Zbiral, E.; El-Badawi, M., *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5599-5602.

<sup>242</sup> Öhler, E.; El-Badawi, M.; Zbiral, E., *Chem. Ber.* **1988**, *118*, 4099-4130.

<sup>243</sup> Cristau, H.-J.; Yangkou, M. X.; Geze, A.; Beziat, Y.; Gasc, M.-B., *J. Organomet. Chem.* **1998**, *571*, 189-193.

<sup>244</sup> Stoianova, D. S.; Whitehead, A.; Hanson, P. R., *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5880-5889.

<sup>245</sup> Qi, X.; Xu, L.; Zhou, Z.-B.; Peng, X.-J., *Hecheng Huaxue* **2004**, *12*, 278-282.

<sup>246</sup> Cristau, H.-J.; Pirat, J.-L.; Drag, M.; Kafarski, P., *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9781-9785.

## V.2. PAR L'ADDITION NUCLEOPHILE SUR LE 1-C-ACETALDEHYDE-1,4-IMINO GALACTITOL **60**

### V.2.1. RETROSYNTHESE ENVISAGEE

Afin de contourner les précédents problèmes, nous avons revu l'approche rétro-synthétique à partir du dérivé 1-C-allyl **34** (Schéma 74). L'obtention du composé **C** a été imaginée à partir du phosphonate correspondant **B**. L'introduction du motif phosphoré a été envisagée *via* l'addition du lithien du méthane phosphonate de diméthyle sur l'aldéhyde **A** issu de l'oxydation de la double liaison.

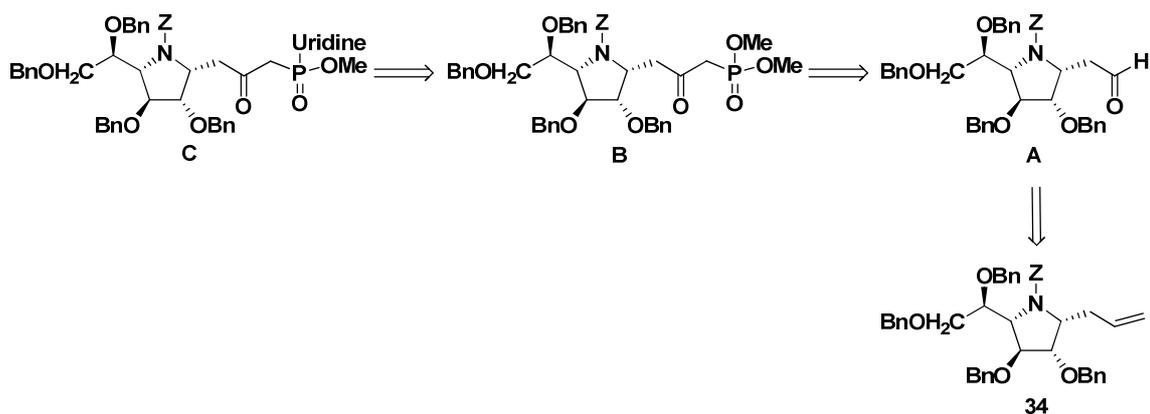


Schéma 74 : Rétrosynthèse envisagée pour le  $\beta$ -cétophosphonate **66**

Nous avons, dans un premier temps, étudié l'oxydation de la double liaison du groupe allyle en aldéhyde.

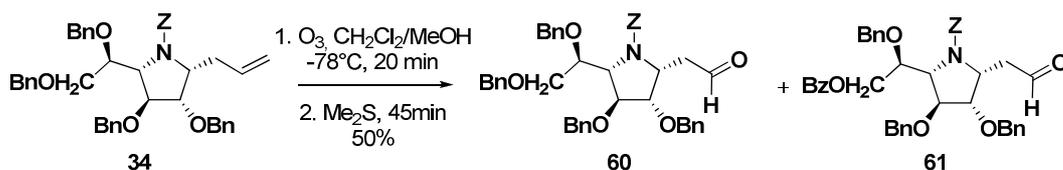
### V.2.2. PREPARATION DE L'ALDEHYDE

La méthode de choix pour effectuer cette transformation est bien sûr l'ozonolyse qui a permis d'isoler l'aldéhyde **60** attendu avec un rendement de 50% (Schéma 75). Cependant ce dernier se trouve être sous forme d'un mélange inséparable avec le composé **61** également oxydé en position benzylique en position 6.<sup>247,248</sup>

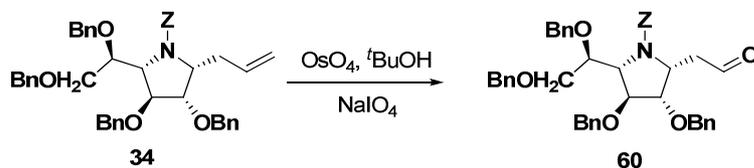
En effet, nous avons pu observer sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  un pic à 166,4 ppm caractéristique du carbonyle d'un groupement benzoate. De plus, l'étude du spectre RMN  $^1\text{H}$  révèle la présence de signaux aromatiques plus déblindés que ceux des benzyles ainsi que l'apparition d'un signal vers 4,5 ppm caractéristique du groupement  $\text{CH}_2$  en  $\alpha$  d'un benzoate au lieu de 3,6-3,7 ppm pour le même motif en  $\alpha$  d'un benzyle.

<sup>247</sup> Hirama, M.; MShimizu, M., *Synthetic Commun.* **1983**, *13*, 781-786.

<sup>248</sup> Smith, A. B., III; Nolen, E. G.; Shirai, R.; Blase, F. R.; Otha, M.; Chida, N.; Hartz, R. A.; Fitch, D. M.; Clark, W. M.; Sprengeler, P. A., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7837-7848.

Schéma 75 : Synthèse de l'aldéhyde **60** par ozonolyse

Nous avons donc préféré utiliser une réaction de type Johnson-Lemieux qui nous a permis d'obtenir l'aldéhyde **60** sans traces de sous produit issu d'oxydation de benzyle. Différents solvants sont utilisés dans les protocoles décrits dans la littérature.<sup>249,250,251</sup> Nous avons tout d'abord utilisé un mélange acétone/H<sub>2</sub>O qui nous permis d'obtenir l'aldéhyde **60** avec un faible rendement de 34% résultant d'une conversion toujours incomplète après 24h (Tableau 21, essai 1). Nous avons alors utilisé un co-solvant plus polaire, le MeOH : cependant, suite à des problèmes de solubilité du composé **34** nous avons dû ajouter de l'acétone. Ces conditions ont conduit à une conversion complète en 3h, et nous avons pu isoler l'aldéhyde **60** avec un rendement correct de 50% (Tableau 21, essai 2). Nous avons ensuite utilisé un mélange biphasique H<sub>2</sub>O/THF qui nous a permis de synthétiser le composé attendu avec un rendement légèrement supérieur (Tableau 21, essai 3).<sup>249,250</sup> Une publication récente faisant état de conditions standards optimisées pour cette réaction a alors attirée notre attention. L'équipe de Jin a rapporté en 2004, l'utilisation d'un additif basique tel que la 2,6-lutidine pour augmenter le rendement et la vitesse de la réaction.<sup>251</sup> En appliquant ces conditions nous avons obtenu l'aldéhyde attendu **60** avec un excellent rendement de 91% à partir de 3 g du dérivé allylé **34** et avec uniquement 0,5 mol% de tétraoxide d'osmium.



Essai	OsO <sub>4</sub> tBuOH	Solvants	Durée (h)	Additif (2 équiv)	Rendement
1	1 mol%	H <sub>2</sub> O/Acétone (1/2)	24	-	34%
2	1 mol%	MeOH/H <sub>2</sub> O/Acétone (2/1/2)	3	-	50%
3	1 mol%	H <sub>2</sub> O/THF (1/1)	3	-	57%
4	0,5 mol%	H <sub>2</sub> O/Dioxane (1/3)	3	2,6-Lutidine	91%

<sup>249</sup> Pappo, R.; Allen Jr., D. S.; Lemieux, R. U.; Johnson, W. S., *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478-479.

<sup>250</sup> Hanessian, S.; H., S.; Munro, A.; Therrien, E., *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7219-7233.

<sup>251</sup> Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z., *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217-3219.

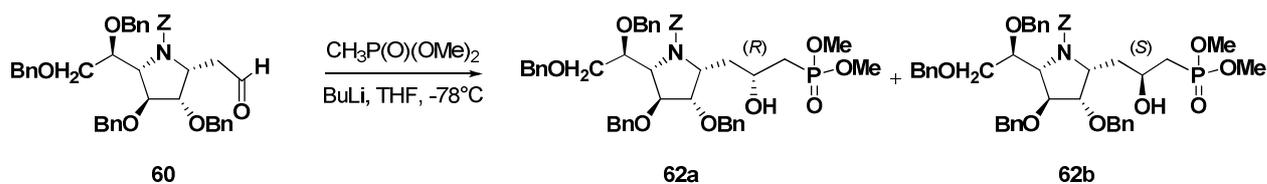
**Tableau 21** : Optimisation des conditions de la synthèse de l'aldéhyde **60**

Ayant pu préparer l'aldéhyde **60** avec de bons rendements, nous nous sommes ensuite intéressés à l'introduction du motif phosphonate.

### V.2.3. ADDITION DU LITHIEN DU METHANEPHOSPHONATE DE DIMETHYLE

#### V.2.3.1. Conditions de réactions

Nous avons envisagé l'introduction du motif phosphonate par l'addition d'une solution de l'anion du méthylphosphonate de diméthyle sur l'aldéhyde **60** précédemment synthétisé.<sup>252</sup> Deux essais ont été réalisés en présence ou non d'un acide de Lewis afin d'optimiser la sélectivité de l'addition du dérivé lithié (Tableau 22). Nous avons ainsi constaté que l'ajout au préalable de 5 équivalents de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  permet une inversion de la sélectivité de l'addition. Cependant, à ce stade nous ne pouvons pas déterminer la configuration du nouveau carbone asymétrique formé.



Essai	$\text{LiCH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OMe})_2$	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	62a (%) <sup>a</sup>	62b (%) <sup>a</sup>	Rendement (%)
1	5 eq	-	60	40	44
2	5 eq	5 eq	33	66	50

<sup>a</sup> pourcentage déterminé après l'étude du spectre RMN  $^1\text{H}$  du mélange brut

**Tableau 22** : Synthèse du  $\beta$ -hydroxyphosphonate **62**

Quelques essais ont été entrepris avec le lithien du méthane phosphonate de dibenzyle,<sup>253</sup> qui ont conduit à des mélanges complexes. Nous avons donc poursuivi avec le méthane phosphonate de diméthyle.

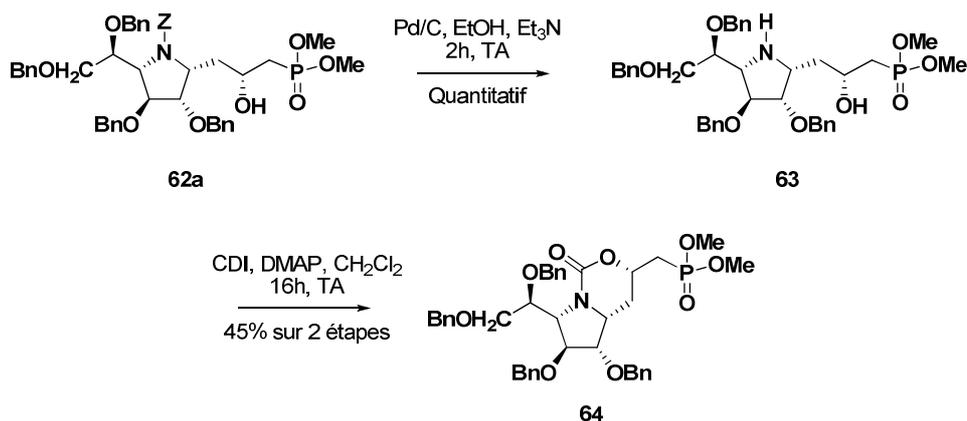
Nous avons réalisé deux étapes supplémentaires menant à un produit de conformation bicyclique rigide de façon à étudier la configuration du produit obtenu

<sup>252</sup> Dondoni, A.; Marra, A.; Pasti, C., *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 305-317.

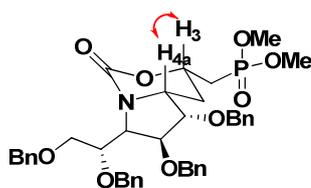
<sup>253</sup> Wone, D. W. G.; Rowley, J. A.; Garofalo, A. W.; Berkman, C. E., *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 67-76.

V.2.3.2. Détermination de la configuration du produit **62**

Dans un premier temps nous avons effectué une hydrogénolyse sélective du carbamate de benzyle du composé **62a**. Une fois l'amino-alcool **63** obtenu, nous avons engagé le brut réactionnel dans une cyclisation en présence de carbonyldiimidazole, ce qui a conduit à la formation du carbamate cyclique **64** (Schéma 76).<sup>254</sup>

Schéma 76 : Synthèse du carbamate cyclique **64**

L'étude des spectres RMN à deux dimensions et plus particulièrement le spectre NOESY du composé **64** a permis d'établir la configuration relative des carbones asymétriques du bicyclic. Une connectivité entre le proton en position 4a et celui en position 3 est observée, or elle ne peut exister que s'ils sont en relation *cis*, ce qui permet de déduire la configuration du carbone en position  $\beta$  du phosphonate (Schéma 77).

Schéma 77 : Connectivité Noesy déterminante observée sur le bicyclic **64**

Ce résultat nous permet de déduire que le composé **62a** est de configuration absolue 8-*S* et **62b**, 8-*R*.

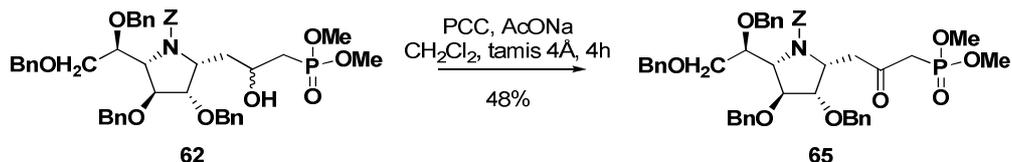
A ce stade, la poursuite de notre synthèse vers l'obtention d'analogues de type  $\beta$ -cétophosphonate **66**, nécessitait l'oxydation de l'alcool situé en position 8.

<sup>254</sup> Cimarelli, C.; Giulli, S.; Palmieri, G., *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1308-1317.

V.2.4. OXYDATION DU  $\beta$ -HYDROXYPHOSPHONATE

Nous avons réalisé l'oxydation de cet alcool secondaire en présence de chlorochromate de pyridinium (PCC).<sup>255,256</sup> Nous avons ainsi préparé le  $\beta$ -cétophosphonate **65** avec un rendement satisfaisant de 48% (Schéma 78).

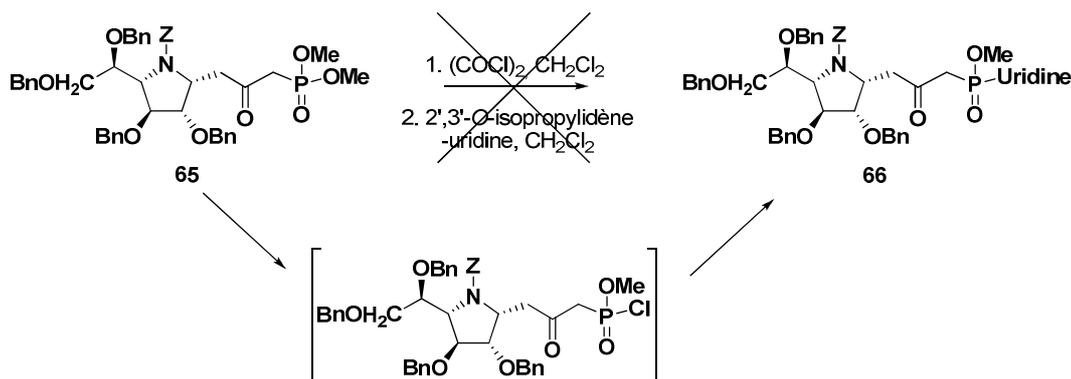
Il est intéressant de noter que le composé **65** peut être obtenu à partir de l'aldéhyde **60**, sans purification de l'intermédiaire **62**, avec un rendement de 45%.

Schéma 78 : Synthèse du  $\beta$ -cétophosphonate **65**

Le cétophosphonate **65** préparé, nous avons concentré nos efforts sur le déplacement de l'un des deux motifs OMe par l'uridine.

## V.2.5. FONCTIONNALISATION DU PHOSPHONATE

L'emploi de la méthodologie précédemment utilisée pour fonctionnaliser le vinyle phosphonate, ne nous a malheureusement pas permis de former le composé attendu (Schéma 79). Une faible conversion en dérivé chloré a pu être observée en CCM et spectrométrie de masse, néanmoins nous n'avons pas pu isoler le produit **66** attendu même à l'état de traces.

Schéma 79 : Essai de fonctionnalisation du composé **65**

Une seconde voie de synthèse a été envisagée. Il s'agit de la mono déalkylation du phosphonate en présence d'iodure de sodium suivie de la formation du chlorure de

<sup>255</sup> Corey, E. J.; Suggs, J. W., *Tetrahedron Lett.* **1975**, 31, 2647-2650.

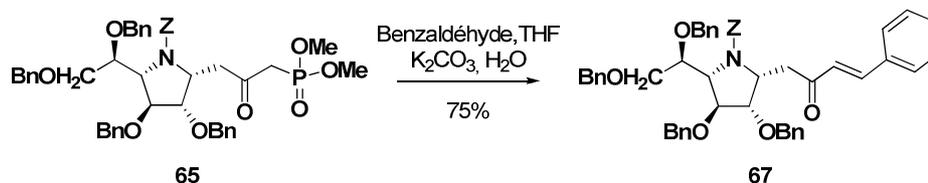
<sup>256</sup> Lubineau, A.; Billault, I., *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5668-5671.

phosphonyle correspondant.<sup>253</sup> Une étape supplémentaire de substitution nucléophile permettrait alors l'obtention du dérivé attendu. Cependant, face à l'essai infructueux de substitution nucléophile par le dérivé de l'uridine nous n'avons pas poursuivi cette synthèse.

Le  $\beta$ -cétophosfonate **65** étant un précurseur d'oléfine (Réactif de Wittig-Horner) il nous a en revanche semblé intéressant de préparer des molécules possédant un lien complètement carboné entre l'uridine et l'iminogalactitol en analogie avec des composés actifs existants.

#### V.2.6. OLEFINATION D'HORNER-EMMONS

Nous avons testé la faisabilité cette réaction avec un substrat simple. En nous inspirant des travaux de l'équipe de Kiessling (voir Chapitre 1 section III.3.4) et des structures d'inhibiteurs issus du criblage de librairie de molécule nous avons envisagé d'utiliser le benzaldéhyde comme « mime » de l'uridine (Schéma 80).



**Schéma 80** : Oléfination d'Horner-Emmons du précurseur **65**

La déprotection en présence de BCl<sub>3</sub> a été testée, conduisant à un mélange complexe de produits. L'alternative par hydrogénolyse avec du Nickel de Raney a aussi échoué.

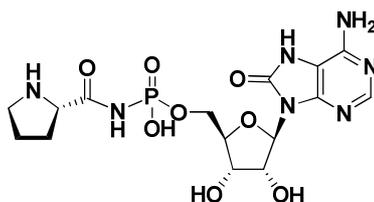
Par manque de temps, et vu les difficultés rencontrées, nous n'avons pas poursuivi cette synthèse.

Dans la suite de ce travail nous présenterons la synthèse d'autres analogues de l'UDP-Galf, dans lequel le motif pyrophosphate n'est plus mimé par un lien C-3 phosphonate mais est remplacé par un lien phosphoramidate.

## VI. SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE LA PHOSMIDOSINE

VI.1. LE LIEN *N*-ACYLPHOSPHORAMIDATE

La phosmidosine est un produit naturel possédant un lien *N*-acylphosphoramidate unique liant une pyrrolidine à un nucléoside (Figure 50). Ce composé a été isolé pour la première fois en 1991.<sup>257</sup> Il présente des activités antibiotiques et antifongiques mais également antitumorales.<sup>258,259</sup>



B144

Figure 50 : Structure de la Phosmidosine

Deux autres produits naturels possèdent un lien *N*-acylphosphoramidate : l'Agrocin 84 qui est un antibiotique<sup>260,261</sup> et la Dinogunellin<sup>262</sup> dont la structure complète n'est pas clairement établie (Figure 51).

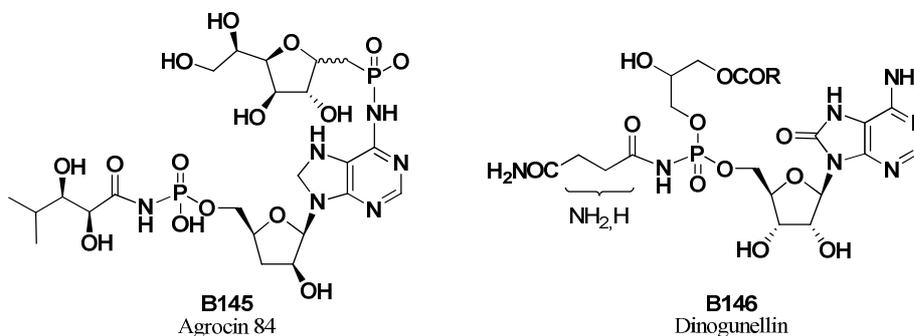
B145  
Agrocin 84B146  
Dinogunellin

Figure 51 : Structures de la Dinogunellin et de l'Agrocin 84

Des composés synthétiques portant un motif *N*-acylphosphoramidate présentent également des activités biologiques intéressantes. C'est le cas du composé **B147** qui est un analogue du substrat de l'aspartate-semialdéhyde déshydrogénase (E.C. 1.2.1.11) et pour laquelle il présente une inhibition compétitive ( $K_i = 92 \pm 40 \mu\text{M}$ ) (Figure 52).<sup>263</sup> Le composé **B148**

<sup>257</sup> Uramoto, M.; Kim, C. J.; Shin-ya, K.; Kusakabe, H.; Isono, K.; Phillips, D. R.; McCloskey, J. A., *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 375-381.

<sup>258</sup> Matsumura, F.; Onose, R.; Osada, H., *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 361-365.

<sup>259</sup> Kakeyda, H.; Onose, R.; Phillip, C.-C. L.; Onozawa, C.; Matsumura, F.; Osada, H., *Cancer Res.* **1998**, *58*, 704-710.

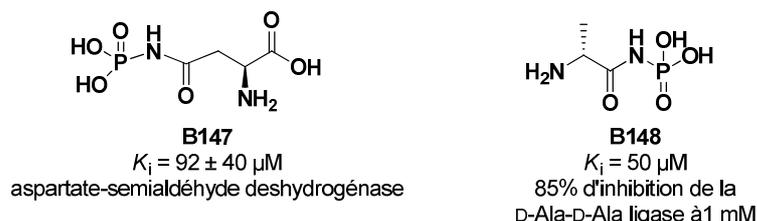
<sup>260</sup> Roberts, W. P.; Tate, M. E.; Kerr, A., *Nature* **1977**, *265*, 379-381.

<sup>261</sup> Tate, M. E.; Murphy, P. J.; Roberts, W. P.; Kerr, A., *Nature* **1979**, *280*, 697-699.

<sup>262</sup> Hatano, M.; Hashimoto, Y., *Toxicon* **1974**, *12*, 231-236.

<sup>263</sup> Cox, R. J.; Gibson, J. S.; Mayo Martin, M. B., *ChemBioChem* **2002**, *3*, 874-886.

quant-à lui est un analogue de l'acide 3-(*R*)-amino-2-oxobutylphosphonique et inhibe 85% de la D-Ala-D-Ala ligase à une concentration de 1 mM.<sup>264</sup>



**Figure 52 :** Structures de motif *N*-acylphosphoramidate biologiquement actif

Ces précédents nous ont donc conduits à imaginer des analogues de l'UDP-Galf dans lesquels le motif pyrophosphate serait mimé par un lien phosphoramidate (Figure 53). Ceci revient à remplacer le méthylène en position  $\alpha$  du phosphonate des précédentes structures par un isostère, le groupe amino.



**Figure 53 :** Analogue de l'UDP-Galf envisagé portant un lien *N*-acylphosphoramidate

### VI.1.1. METHODOLOGIE DE SYNTHÈSE

#### VI.1.1.1. Données bibliographiques

La construction d'un lien de type *N*-acylphosphoramidate est décrite selon différentes méthodes (Schéma 81).<sup>265</sup>

La voie **A** consiste à former la liaison P-N par déprotonation de l'amide avec une base forte, puis à réaliser la phosphorylation en présence de chlorophosphonate.<sup>263,264,266,267</sup>

La voie **B** repose sur la phosphorylation d'un acide *N*-acylphosphoramidique ou dérivé.<sup>268</sup> Compte tenu du fait qu'il faut avoir préparé au préalable le dérivé *N*-acylphosphoramidique cette voie est plutôt utilisée pour fonctionnaliser le phosphoramidate.

<sup>264</sup> Chakravarty, P. K.; Greenlee, W. J.; Parsons, W. H.; Patchett, A. A.; Combs, P.; Roth, A.; Bush, R. D.; Mellin, T. N., *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1886-1890.

<sup>265</sup> Robles, J.; Pedroso, E.; Grandas, A., *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 4856-4861.

<sup>266</sup> Mizrahi, V.; Modro, T. A., *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 3533-3539.

<sup>267</sup> Adams, L. A.; Charmant, J. P. H.; Cox, R. J.; Walter, M.; Whittingham, W. G., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 542-553.

<sup>268</sup> Zioudrou, C., *Tetrahedron* **1992**, 18, 197-204.

La construction de la liaison C-N est réalisée par la voie **C** qui correspond à l'acylation du motif phosphoramidate par un dérivé activé d'acide tel que les halogénures d'acyle. Cependant, cette méthodologie conduit fréquemment à l'obtention d'un mélange dû à la formation de l'amide avec coupure de la liaison N-P.<sup>269</sup>

Une réaction de type Arbuzov permet d'obtenir la création de liaison P-N en présence de trialkylphosphite et d'un *N*-haloamide *via* la voie **D**.<sup>270</sup>

La voie **E** conduit à la formation du motif phosphoramidate attendu *via* la réaction de phosphore pentahalogéné et d'un amide suivi par un traitement en présence d'alcoolate.<sup>271</sup>

Enfin, la voie **F** repose sur les méthodes de synthèse d'oligonucléotides adaptés par les équipes de van Boom et Grandas.<sup>265,272</sup> Elle consiste en la phosphitylation d'un amide en présence d'un phosphoramidite suivie d'une étape d'oxydation du phosphore.

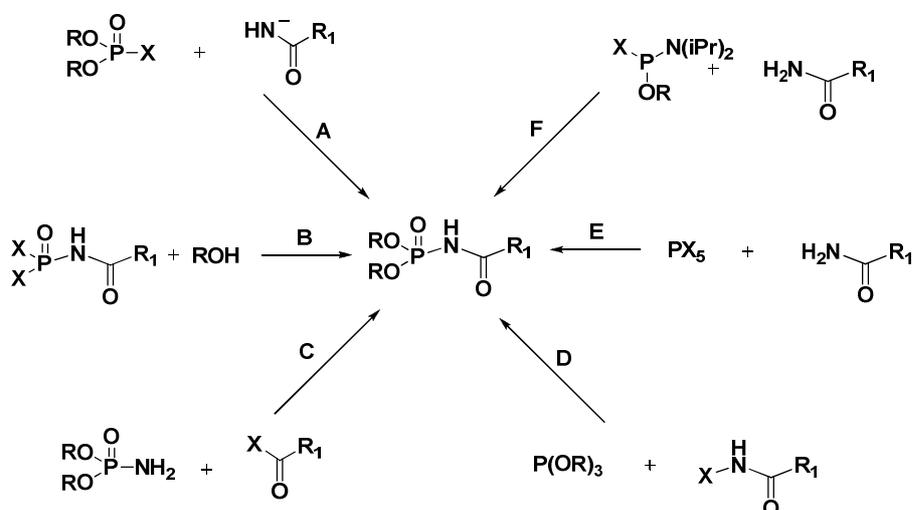


Schéma 81 : Voies de synthèse du motif *N*-acylphosphoramidate

#### VI.1.1.2. Rétrosynthèse envisagée

Au vu des précédentes observations, la formation de la liaison N-P est la méthodologie la plus fréquemment utilisée. Nous avons donc opté pour la synthèse du lien phosphoramidate à partir de l'amide correspondante (Schéma 82). L'amide **A** est obtenue, quant à elle, à partir de l'aldéhyde **60** précédemment préparé.

<sup>269</sup> Challis, B. C.; Iley, J. N., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1987**, 1489-1494.

<sup>270</sup> Desmarchelier, J. M.; Fukuto, T. R., *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 4218-4220.

<sup>271</sup> Sprecher, M.; Kost, D., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1016-1026.

<sup>272</sup> Filippov, D.; Timmers, C. M.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H., *Nucleosides Nucleotides* **1997**, *16*, 1403-1406.

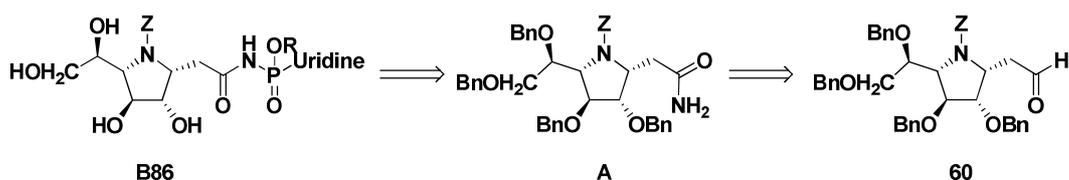


Schéma 82 : Rétrosynthèse envisagée pour l'analogue de la phosmidosine

Dans une première partie, nous nous intéresserons donc à la synthèse de l'amide intermédiaire puis dans un second temps à l'étape sensible de phosphorylation.

### VI.1.2. PREPARATION DE L'AMIDE

Nous avons d'abord pensé préparer l'amide **71** à partir de l'acide carboxylique **68** correspondant (schéma 83). L'oxydation de l'aldéhyde en acide carboxylique a lieu avec le 2,2,6,6-tetraméthyl-1-piperidinyloxy (TEMPO) et l'hypochlorite de calcium comme co-oxydant.<sup>273</sup> Nous avons ainsi pu isoler l'acide carboxylique **68** avec un rendement correct de 52% (Schéma 83). Compte tenu de la forte polarité de l'acide, la purification sur gel de silice nécessite l'ajout d'une faible quantité d'acide acétique à l'éluant. Ceci permet en effet de limiter la diffusion du produit sur la colonne. Cependant, la purification reste l'étape limitante de cette synthèse puisque malgré une conversion totale de l'aldéhyde de départ en acide carboxylique, seuls 52% d'acide sont recouverts. C'est pourquoi nous avons choisi d'utiliser l'acide **68** brut pour la formation de l'amide *via* le chlorure d'acyle correspondant.

Cependant, l'activation de l'acide **68** en chlorure d'acyle n'a pas eu lieu. Seul le produit de départ est isolé.

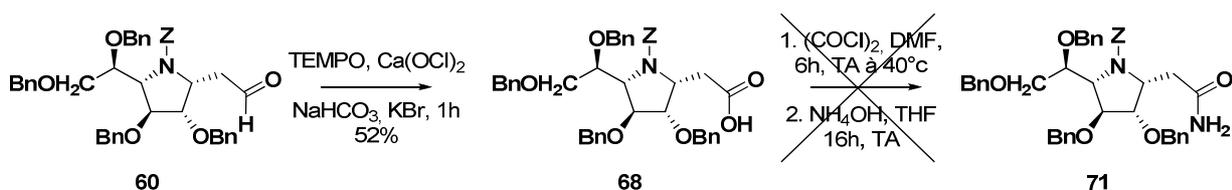


Schéma 83

Face à ces difficultés, nous avons choisi une synthèse tandem en un pot. A partir de l'aldéhyde **60**, la formation de l'intermédiaire nitrile est réalisée en présence d'iode et d'ammoniaque, l'ajout de peroxyde d'hydrogène au milieu réactionnel permettant normalement l'obtention de l'amide.<sup>274</sup> Cette réaction ne permet d'isoler que le dérivé nitrile intermédiaire **69** et ce avec un rendement de 58% (Schéma 84).

<sup>273</sup> Barroca, N.; Jacquet, J.-C., *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 673-689.

<sup>274</sup> Shie, J.-J.; Fang, J.-M., *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 1158-1160.

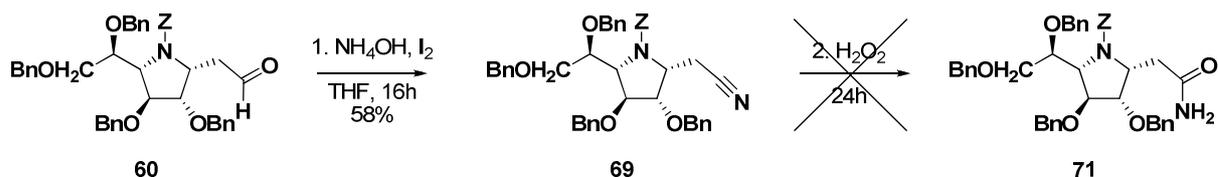


Schéma 84

Nous avons alors essayé de former l'amide à partir du nitrile **69** dans des conditions classiques sans succès (Schéma 66).<sup>275</sup>

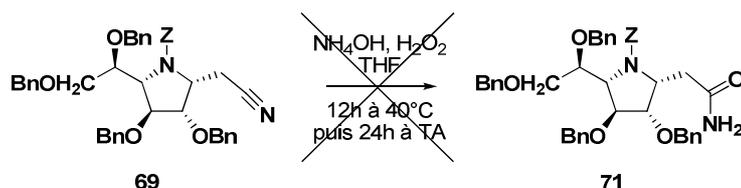
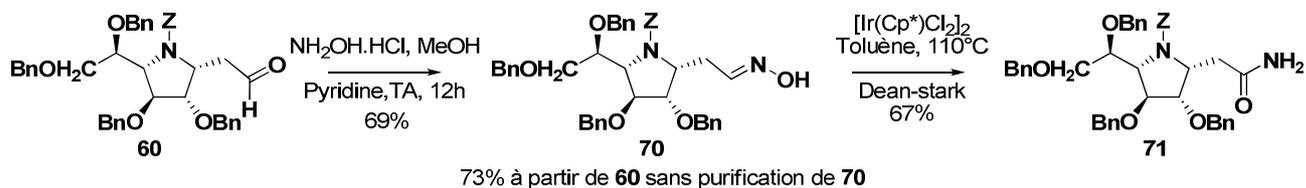


Schéma 85

La stabilité du nitrile **69** nous a amenés à revoir notre méthodologie d'accès à l'amide attendue **71**. L'équipe de Williams décrit en 2007 une synthèse « one pot » d'amides catalysée par l'iridium *via* l'oxime correspondante.<sup>276</sup> Dans un premier temps nous avons réalisé cette synthèse étape par étape. Ceci nous a permis d'isoler l'oxime intermédiaire **70** sous forme d'un mélange *E/Z* en proportion 66/34 dans des conditions classiques (Schéma 86). Puis nous avons converti le précurseur **70** en l'amide attendue **71** après un réarrangement catalysé par un complexe d'iridium avec 67% de rendement.

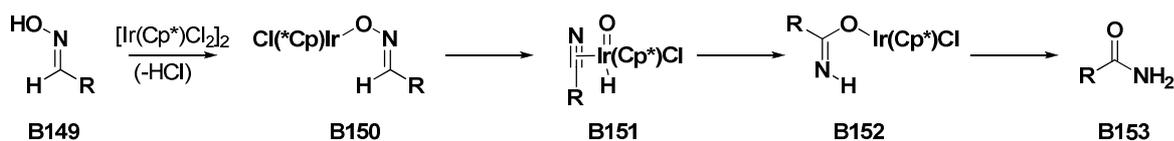
Schéma 86 : Synthèse de l'amide **71**

Ces deux étapes peuvent également être réalisées sans purification de l'oxime intermédiaire **70** conduisant à l'amide **71** avec un bon rendement de 73%.

D'un point de vue mécanistique les auteurs proposent un mécanisme par analogie avec le réarrangement de Beckmann (Schéma 87). Cependant, il semblerait que l'isomérisation *E/Z* de l'oxime ait lieu plus rapidement que le réarrangement. En effet, lors de la réaction sur le mélange *E/Z* de composé **70** nous avons isolé uniquement l'amide **71** et aucune trace d'un éventuel isomère qui n'aurait pas réagi.

<sup>275</sup> Humphries, M. J.; Ramsden, C. A., *Synthesis* **1999**, 6, 985-992.

<sup>276</sup> Owston, N. A.; Parker, A. J.; Williams, J. M. J., *Org. Lett.* **2007**, 9, 73-75.



**Schéma 87** : Mécanisme proposé pour la synthèse d'un amide catalysé à l'iridium

L'utilisation de cette méthode nous a permis de synthétiser le dérivé 1-C-carboxamidométhyl-1,4-iminogalactitol **71** qui devrait nous permettre de poursuivre la synthèse par *N*-phosphorylation.

### VI.1.3. REACTION DE PHOSPHORYLATION

Pour la création de la liaison N-P à partir du dérivé **71**, nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux travaux de l'équipe de Sekine traitant de la synthèse de la phosmidosine *via* la voie F (Schéma 62).<sup>277,278</sup>

Dans un premier temps nous avons appliqué les conditions standards de phosphitylation et d'oxydation à notre substrat ; cependant nous n'avons pas observé la formation du produit attendu **72** (Tableau 23, essai 1). Comme au sein du laboratoire des variations de réactivité ont pu être observées entre le tétrazole en solution et le tétrazole solide, nous avons réitéré cette réaction en présence d'activateur sous forme solide. Ce second essai a donné des traces du produit attendu (Tableau 23, essai 2). Nous avons alors modifié l'agent de phosphitylation. L'utilisation du diisopropylaminophosphite de dibenzyle nous a permis d'isoler 10% de produit attendu **72** sous forme d'un mélange inséparable avec une impureté de même polarité (Tableau 23, essai 3). Nous avons ensuite changé le tétrazole pour un dérivé plus acide, le 5-mercapto-1-méthyl-1*H*-tétrazole (MMT), susceptible d'accélérer la réaction. Cependant, nous n'avons pu identifier que des traces du produit attendu (Tableau 23, essai 4). Tous les essais précédents ayant eu lieu à température ambiante, nous avons donc opté pour une augmentation de la température du mélange réactionnel.

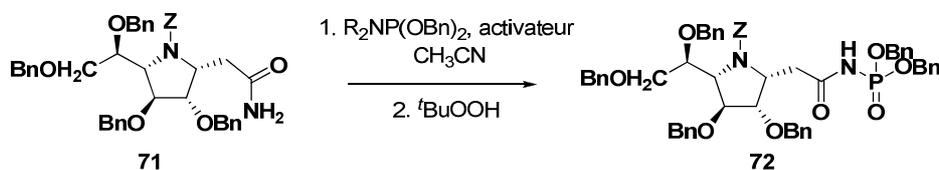
Bien que les phosphitylations soient en principe effectuées à 0°C voire à température ambiante, nous avons pu noter par CCM une considérable augmentation du taux de conversion qui avoisine alors 100% lorsque la réaction est conduite à 40°C. Cependant, nous obtenons alors un mélange complexe de produits difficilement séparables. De plus, nous avons remarqué que le produit attendu tend à se dégrader sur gel de silice. C'est pourquoi nous n'isolons que des traces de composé **72** (Tableau 23, essai 5).

L'utilisation du MMT comme activateur n'apportant aucune amélioration, nous avons donc poursuivi avec le tétrazole solide. Nous avons maintenu la température à 40°C, de manière à obtenir une conversion totale, et nous avons ainsi isolé 5% du produit attendu avec les mêmes problèmes de purification (Tableau 23, essai 6). Nous avons alors neutralisé la silice par ajout

<sup>277</sup> Moriguchi, T.; Yanagi, T.; Kunimori, M.; Wada, T.; Sekine, M., *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8229-8238.

<sup>278</sup> Sekine, M.; Okada, K.; Seio, K.; Kakeya, H.; Osada, H.; Obata, T.; Sasaki, T., *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 314-326.

de 2% de triéthylamine à l'éluant, cependant cela n'a pas permis l'obtention du produit **72** pur. Seule l'utilisation d'un éluant contenant 0,5% de triéthylamine nous permet finalement d'isoler le *N*-acylphosphoramidate **72** pur avec un rendement de 36% (Tableau 23, essai 7).



Essai	R <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	Activateur	Durée (h)	Température	Rendement (%)
1	Et <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	Tétrazole (6 équiv.) <sup>a</sup>	48	TA	-
2	Et <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	Tétrazole (3 équiv.) <sup>b</sup>	25	TA	Traces
3	<sup>i</sup> Pr <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	Tétrazole (3 équiv.) <sup>b</sup>	25	TA	10 <sup>c</sup>
4	<sup>i</sup> Pr <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	MMT (3 équiv.)	5	TA	Traces
5	<sup>i</sup> Pr <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	MMT (3+1 équiv.)	5	40°C	Traces
6	<sup>i</sup> Pr <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	Tétrazole (3 équiv.) <sup>b</sup>	2	40°C	5
7	<sup>i</sup> Pr <sub>2</sub> NP(OBn) <sub>2</sub>	Tétrazole (3 équiv.) <sup>b</sup>	2	40°C	36

<sup>a</sup> tétrazole en solution

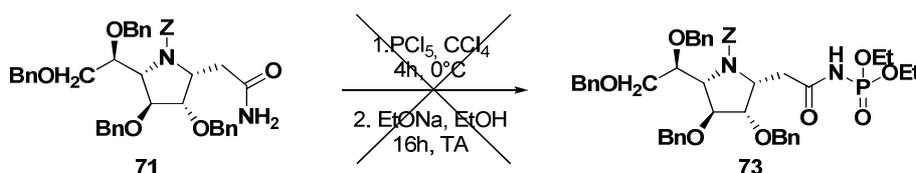
<sup>b</sup> tétrazole solide

<sup>c</sup> mélange de deux produits non séparables

**Tableau 23** : Optimisation des conditions de phosphorylation

Ces conditions de *N*-phosphorylation n'étant pas satisfaisantes, nous avons testé d'autres méthodologies de synthèse.

Nous avons considéré une synthèse exotique de la liaison N-P mettant en jeu la voie **E** (Schéma 81), sans succès.<sup>271</sup> Seul le produit de départ **71** est isolé après 20h de réaction (Schéma 88).



**Schéma 88**

Dans le cadre de l'étude de la formation de la liaison N-P, il nous reste à essayer la phosphorylation *via* le diéthylchlorophosphate sur l'anion de l'amide **71** (Schéma 81, voie A).<sup>267</sup> Nous nous sommes à nouveau trouvés confrontés à des problèmes de séparation et de dégradation sur gel de silice. Cependant le composé attendu **73** est obtenu avec 35% de rendement non optimisé (Schéma 89).

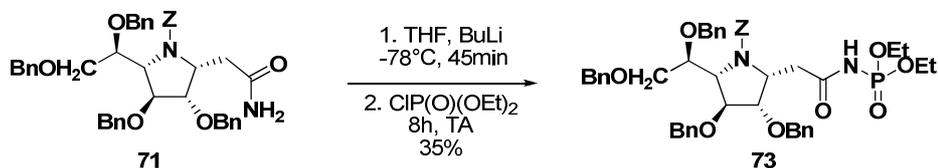


Schéma 89 : Synthèse du N-acylphosphoramidate **73**

Nous avons également envisagé la création de la liaison C-N par acylation du diéthylphosphoramidate commercial *via* l'acide carboxylique **68** (Schéma 81, voie C). Néanmoins, dans les conditions décrites dans la littérature nous n'avons observé que des traces du produit attendu (schéma 90).<sup>279</sup>

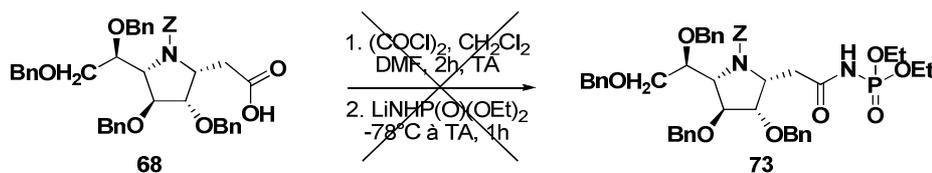


Schéma 90

En résumé, deux stratégies de synthèse ont conduit à des résultats similaires, la phosphorylation de l'acétamide **71** suivie d'une oxydation (Tableau 23, essai 7) et la phosphorylation de l'anion de l'amide **71** (Schéma 89).

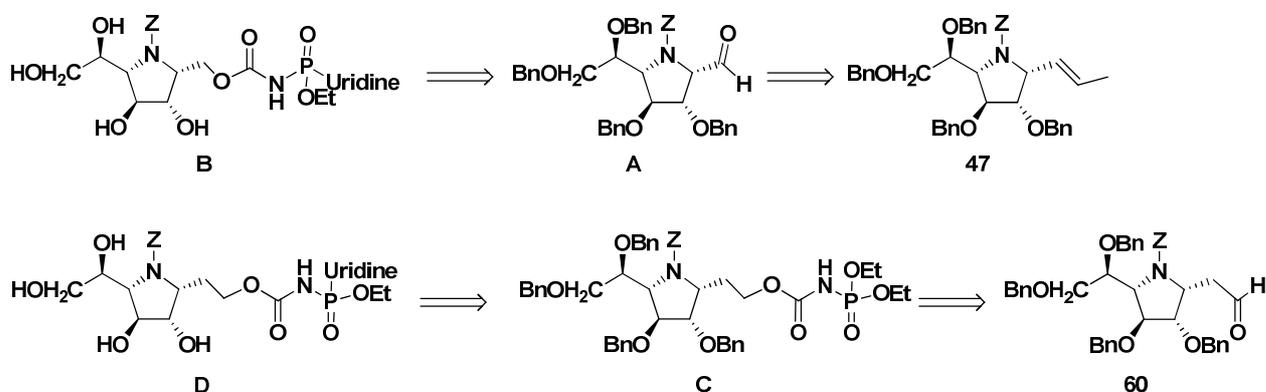
A ce jour, aucun travail supplémentaire n'a été réalisé avec ces analogues de la phosmidosine, leur faible stabilité n'étant pas compatible avec la méthodologie de synthèse envisagée. Par conséquent, nos efforts se sont orientés vers la synthèse d'analogues du motif N-acylphosphoramidate.

<sup>279</sup> Adams, L. A.; Cox, R. J.; Gibson, J. S.; Mayo-Martin, M. B.; Walter, M.; Whittingham, W., *Chem. Commun.* **2002**, 2004-2005.

## VI.2. SYNTHÈSE D'UN LIEN DE TYPE *N*-(ALKOXYCARBONYL)-PHOSPHORAMIDATE

Notre attention s'est portée sur la formation d'un lien légèrement plus long, *N*-(alkoxycarbonyl)-phosphoramidate. Il peut être obtenu en une étape, dans des conditions douces, par condensation de l'isocyanate de diéthylphosphonyle sur un alcool.<sup>280,281</sup>

Dans un premier temps, nous avons envisagé de réaliser cette synthèse sur l'aldéhyde dérivé du 1-*C*-propényl-iminogalactitol **47** de manière à former un lien non plus à 6 mais à 5 atomes entre l'iminosucre et l'uridine (Schéma 91). Cependant compte tenu de la relative instabilité de ces aldéhydes en position pseudo anomérique,<sup>282</sup> nous nous sommes d'abord concentrés sur la formation d'un *N*-(alkoxycarbonyl)-phosphoramidate sur l'aldéhyde **60** précédemment synthétisé (Schéma 91).



**Schéma 91** : Rétrosynthèse envisagée pour le lien *N*-(alkoxycarbonyl)-phosphoramidate

Afin d'étudier la faisabilité de cette étape, nous avons tout d'abord préparé l'alcool **74** par réduction de l'aldéhyde **60** en présence d'une source d'hydrure. L'alcool **74** a été obtenu avec un rendement correct non optimisé de 67% (Schéma 92). Le composé **75** a ensuite été synthétisé avec 84% de rendement (Schéma 92). Ces deux étapes ont été réalisées sans purification de l'intermédiaire **74**, ce qui a permis d'isoler le produit **75** avec un rendement remarquable de 88%. Ce composé semble être stable dans les conditions de purification sur gel de silice ainsi qu'à l'air et à la lumière.

<sup>280</sup> Zwierzak, A.; Pilchowaska, S., *Synthesis* **1982**, 922-924.

<sup>281</sup> Singh, J.; Gurney, E.; Hategan, G.; Yu, P.; Zembower, D.; Zhou, N. Sulfonamide peri-substituted bicyclics for occlusive artery disease. *Int. Pat. Appl.* WO20060079520, 2006.

<sup>282</sup> Dondoni, A.; Perrone, D., *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 9375-9378.

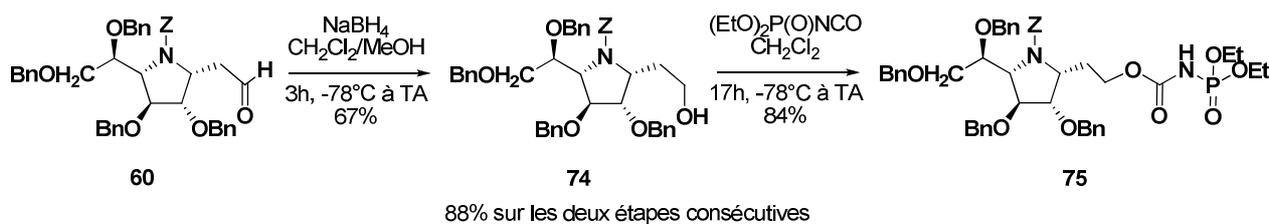


Schéma 92 : Synthèse du composé 75

Nous avons alors essayé d'introduire le motif uridine. Dans un premier temps, le chlorure de phosphoryle est préparé et immédiatement engagé dans une réaction de substitution, comme nous l'avons réalisé précédemment sur le diéthylvinylphosphonate. Cependant, cette réaction a conduit à la formation d'un mélange complexe de produits non identifiés. Nous nous sommes donc orientés vers la mono désalkylation du phosphonate par l'iodure de sodium.<sup>283</sup> Malheureusement, seule la dégradation du lien *N*-(alkoxycarbonyl)-phosphoramidate a été observée. Nous n'avons obtenu que le précurseur 74 (Schéma 93).

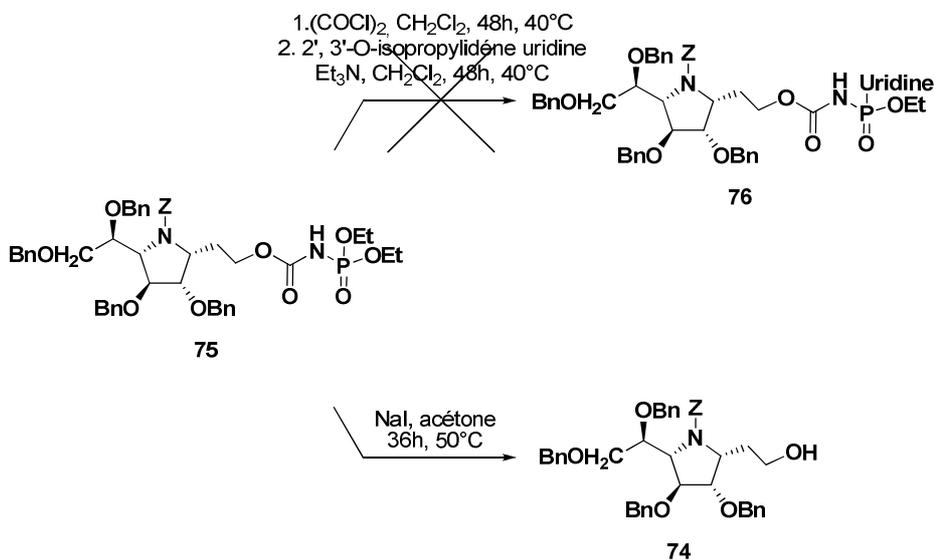
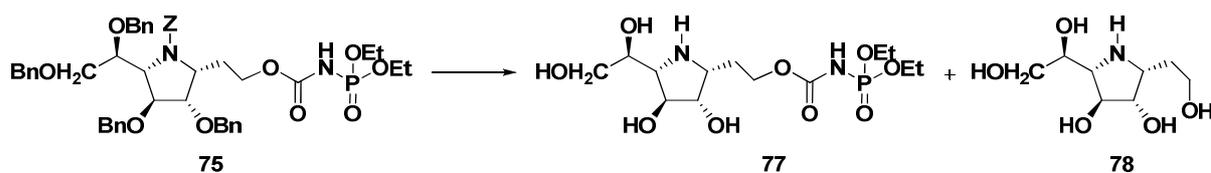


Schéma 93 : Essai de fonctionnalisation du précurseur 75

De manière à pouvoir juger de l'influence d'un tel motif comme mime de pyrophosphate nous avons souhaité évaluer l'activité biologique du dérivé 75 déprotégé. Pour cela, nous avons essayé différentes conditions de *O*-débenzylation. Cependant quelle que soit la méthode utilisée, nous avons obtenu dans tous les cas un mélange équimolaire non séparable du produit attendu et de l'alcool déprotégé (Tableau 24). L'instabilité en milieu acide du lien *N*-(alkoxycarbonyl)-phosphoramidate avait été précédemment décrite par l'équipe de Zwierzak.<sup>280</sup>

<sup>283</sup> Turhanen, P. A.; Ahlgren, M. J.; Järvinen, T.; Vepsäläinen, J. J., *Synthesis* **2001**, 4, 633-638.



Essai	Milieu réactionnel	Durée	Pression	Température	Résultat
	$\text{BCl}_3$ , DCM	32h		0°C	Mélange
	$\text{H}_2$ , Pd/C, AcOH	4 jours		TA	Mélange
	$\text{H}_2$ , Pd/C, EtOH, $\epsilon$ AcOH	2 jours	200 à 400 Psi	TA	Débenzylation incomplète
	$\text{H}_2$ , Ni Raney, MeOH	30h		TA	Débenzylation incomplète
	$\text{H}_2$ , Ni Raney, MeOH	16h		40°C	Débenzylation incomplète
	$\text{H}_2$ , Ni Raney, MeOH	36h		40°C	Mélange

**Tableau 24 :** Essai de N et O-déprotection du composé 75

La faible stabilité des divers phosphoramidates synthétisés ne nous a pas encouragés à persévérer dans la recherche de voies de synthèse permettant l'accès à des analogues de l'UDP-Galf possédant ce motif. Cependant, les essais réalisés ont permis la mise au point de différentes méthodologies d'accès à des iminogalactitols fonctionnalisés en position pseudo-anomérique par des groupements clé fonctionnalisables (aldéhyde, amide, acide carboxylique et alcools).

## VII. CONCLUSION

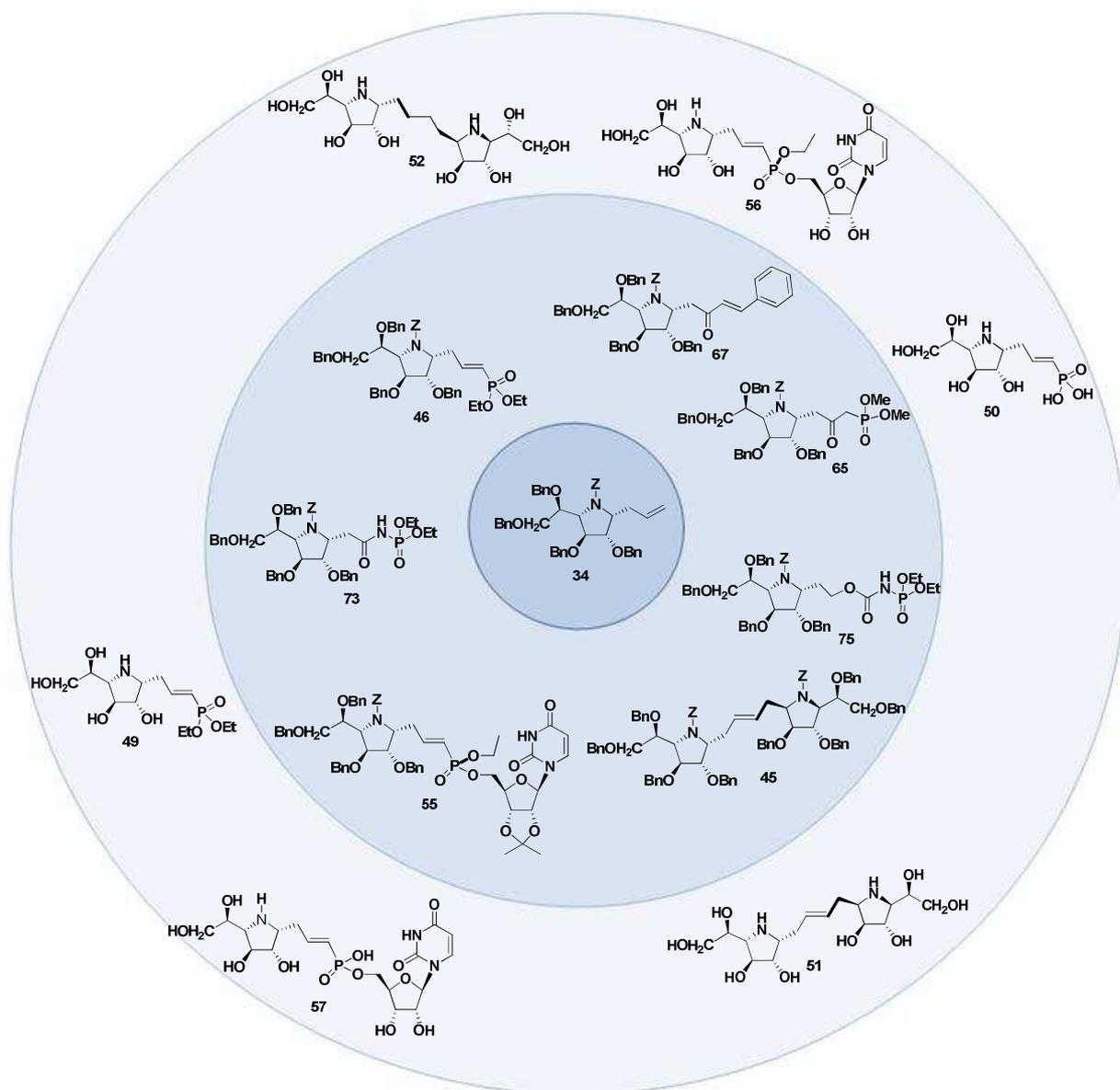
Nous avons développé, à partir du glucopyranose commercial, une synthèse rapide et efficace permettant l'accès à des analogues proches de l'UDP-Galf.

Dans un premier temps nous avons mis au point la synthèse performante de *N*-glycosylamines protégées, en une étape à partir de l'hémiacétal correspondant.

Puis une addition nucléophile catalysée par un acide de Lewis nous a permis de préparer des amino-alcools dérivés du glucose à chaîne ouverte de manière totalement diastéréosélective.

La cyclisation de ces amino-alcools a permis la préparation de pyrrolidines polyhydroxylées avec le passage de la configuration *gluco* à *galacto*. Ces iminogalactitols sont obtenus diastéréosélectivement avec une configuration  $\alpha$  identique à celle du substrat naturel (UDP-Galf) des deux familles d'enzymes intervenant dans la biosynthèse des galactanes.

La fonctionnalisation de l'un de ces iminofuranoses originaux, le 1-*C*-allyl-1,4-imino-D-galactitol **34**, a permis l'accès à divers analogues de l'UDP-Galf comme nous le montre la Figure 54.

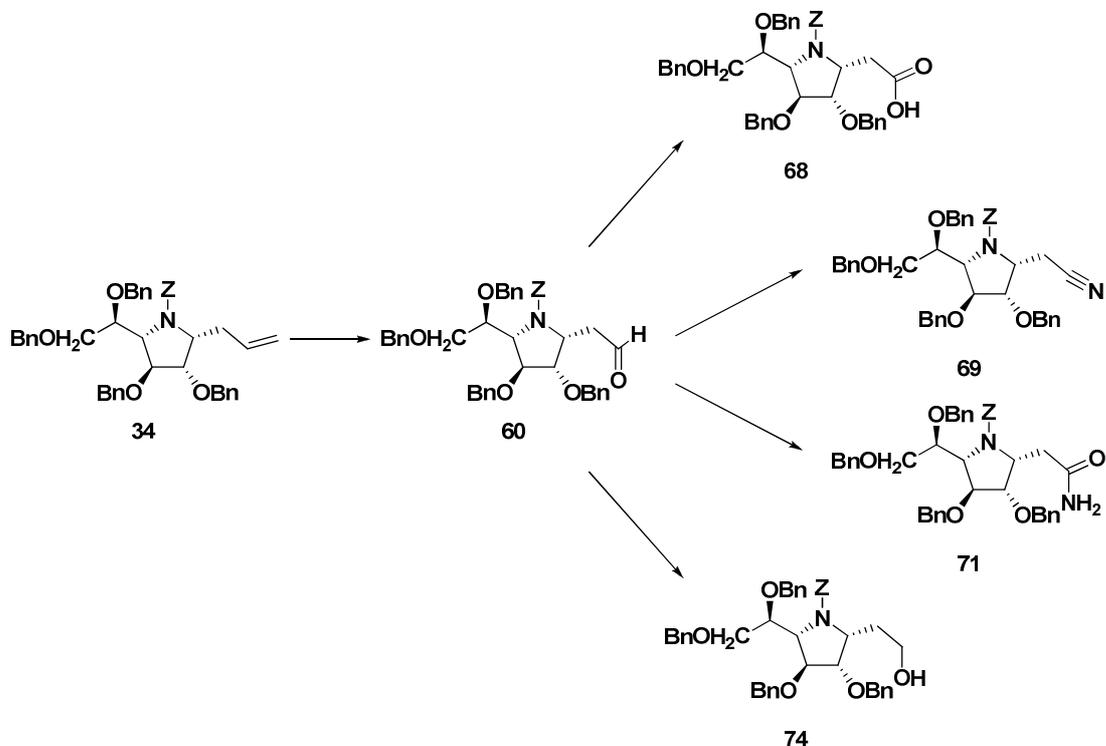


**Figure 54 :** Analogues de l'UDP-Galf préparé à partir du composé **34**.

Dans un premier temps *via* un couplage par métathèse croisée catalysée par le catalyseur d'Hovda-Grubbs II, nous avons eu accès à trois familles de composés susceptibles d'agir sur la biosynthèse des galactanes : le pseudodisaccharide **46**, l'imino-glycosylpropenyl-phosphonate **45** et l'analogue de l'UDP-Galf **55** qui ont pu être partiellement et totalement déprotégés. Ainsi nous avons préparé, entre autres, l'imino-galactitol-nucléosidique **57** qui constitue l'analogue le plus proche de l'UDP-Galf incorporant un iminosucre et conservant un des phosphates du lien P-O-P.

La fonctionnalisation de la double liaison créée lors de l'étape de métathèse croisée s'est révélée difficile. Nous nous sommes donc orientés vers une autre méthodologie de synthèse du dérivé  $\beta$ -cétophosphonate **65**. Dans ce cas l'introduction du motif phosphonate génère une fonction alcool qui est alors oxydée. Nous avons ainsi eu accès à un précurseur d'analogues plus fidèles de pyrophosphate. Néanmoins nous n'avons pas réussi à introduire le motif uridine ni même à déprotéger le  $\beta$ -cétophosphonate **65**.

La synthèse de l'acétaldéhyde **60** par oxydation du précurseur 1-C-allyl-1,4-iminogalactitol **34** a cependant pu être réalisée. L'obtention de nouveaux « building-block » iminogalactitols *via* le composé **60** a pu être mise au point ouvrant ainsi la voie à de nombreuses fonctionnalisations ultérieures et à la synthèse d'autres analogues de glycoconjugués dérivés du galactofuranose (Schéma 94).



**Schéma 94** : Obtention de divers iminogalactitols fonctionnalisés en position pseudo-anomérique

Finalement, nous avons travaillé à la synthèse d'iminogalactitols possédant en position pseudo-anomérique des motifs *N*-acylphosphoramidate **73** et *N*-alcoycarbonylphosphoramidate **75**. Cependant ces composés se sont avérés instables dans les conditions de fonctionnalisation et de déprotection, empêchant la poursuite de la stratégie envisagée.

CHAPITRE 3 : SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE  
L'UDP-GALF EN SÉRIE  $\beta$ -  
IMINO GALACTOFURANOSE



## I. INTRODUCTION ET TRAVAUX PRELIMINAIRES

Dans le cadre de la recherche de nouveaux inhibiteurs potentiels des deux types d'enzymes mises en jeu dans la biosynthèse des galactanes, nous proposons de développer une synthèse différente de celle décrite dans le chapitre précédent, pour accéder sélectivement à des analogues nucléotidiques de l'UDP-Galf de configuration  $\beta$ . Cette stratégie de synthèse est basée sur une cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitronne cyclique dérivée de sucre et un partenaire oléfinique dérivé de l'UMP.

Depuis la synthèse de la première nitronne en 1890 par Beckmann,<sup>284</sup> l'intérêt pour ces intermédiaires réactionnels n'a cessé de grandir. Nos travaux portant sur la synthèse d'analogues de l'UDP-Galf, nous allons plus particulièrement nous intéresser à la synthèse et à la réactivité des nitrones cycliques à cinq membres.

### I.1. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE : ACCES AUX NITRONES CYCLIQUES DE TYPE PYRROLINE-N-OXYDES

Ces dernières années les nitrones cycliques issues de sucres ont suscité une attention grandissante en raison de leur réactivité et de leur intérêt comme « pool » chiral. Deux méthodes principales sont rapportées dans la littérature : l'oxydation d'amines et d'hydroxylamines cycliques et la cyclisation d'oximes linéaires.<sup>285</sup>

En 1993, Brandi décrit la première synthèse de la nitronne **B156** par oxydation d'une hydroxylamine cyclique **B155** (Schéma 95).<sup>286</sup> Cette dernière est obtenue à partir du *O,O*-dibenzyl tartrate de diéthyle **B154** par réduction des esters d'éthyle suivie d'une ditosylation puis d'une double substitution nucléophile avec l'hydroxylamine. L'oxyde de mercure (II) permet alors l'oxydation de **B155** et conduit à la nitronne **B156** avec un rendement de 93%.

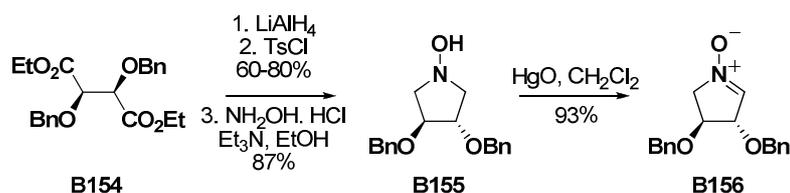


Schéma 95 : Oxydation de N-hydroxypyrrolidine symétrique

Les travaux de Goti ont par la suite utilisé divers oxydants moins toxiques que l'oxyde de mercure tels que le TPAP (perruthénate de tetrapropylammonium),<sup>287</sup> l'hypochlorite de

<sup>284</sup> Beckmann, E., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, 23, 3331-3341.

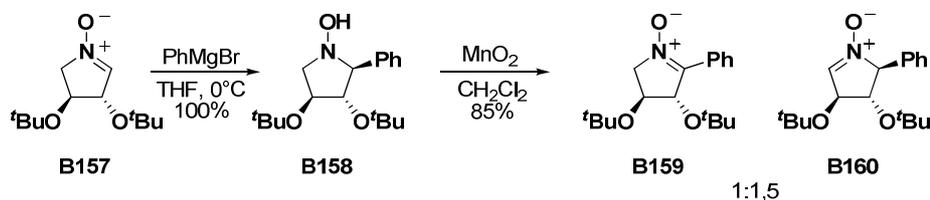
<sup>285</sup> Revuelta, J.; Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A., *Synthesis* **2007**, 485-504.

<sup>286</sup> Cicchi, S.; Hold, I.; Brandi, A., *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 5274-5275.

<sup>287</sup> Goti, A.; De Sarlo, F.; Romani, M., *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 6571-6574.

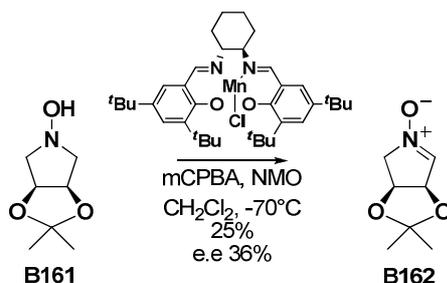
sodium<sup>288</sup> ou l'oxyde de manganèse,<sup>289</sup> entre autres,<sup>290</sup> pour obtenir des nitrones cycliques avec d'excellents rendements.

Ces 3,4-*trans*-dihydroxy-*N*-hydroxypyrrolidines possédant un axe de symétrie  $C_2$ , l'oxydation conduit donc toujours à un composé énantiopur. La principale limitation de cette méthodologie est la faible régiosélectivité de l'oxydation lorsque les hydroxylamines sont non symétriques comme le montre le schéma 96.<sup>291</sup>



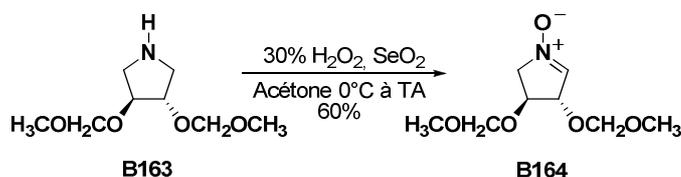
**Schéma 96** : Oxydation d'une *N*-hydroxypyrrolidine non symétrique

A ce jour, un seul exemple d'oxydation asymétrique de *N*-hydroxypyrrolidine a été rapporté. Cette oxydation a été réalisée en présence du catalyseur de Jacobsen et conduit à la nitronne **B162** avec un faible excès énantiomérique (Schéma 97).<sup>292</sup>



**Schéma 97** : Exemple d'oxydation asymétrique de *N*-hydroxypyrrolidine

L'oxydation de pyrrolidines avec divers oxydants permet également l'obtention de nitrones cycliques (Schéma 98).<sup>286,290,293</sup> Néanmoins le contrôle de la régiosélectivité est encore dans ce cas un facteur limitant.



**Schéma 98** : Exemple d'oxydation 3,4-dihydroxypyrrolidine

<sup>288</sup> Cicchi, S.; Corsi, M.; Goti, A., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7243-7245.

<sup>289</sup> Cicchi, S.; Marradi, M.; Goti, A.; Brandi, A., *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6503-6505.

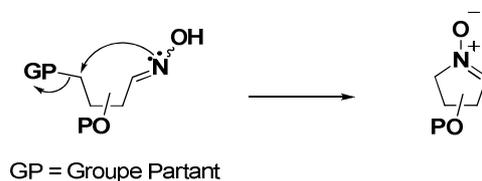
<sup>290</sup> Ballini, R.; Marcantoni, E.; Petrini, M., *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1316-1318.

<sup>291</sup> Goti, A.; Cicchi, S.; Mannucci, V.; Cardona, F.; Guarna, F.; Merino, P.; Tejero, T., *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4235-4238.

<sup>292</sup> Cicchi, S.; Cardona, F.; Brandi, A.; Corsi, M.; Goti, A., *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1989-1992.

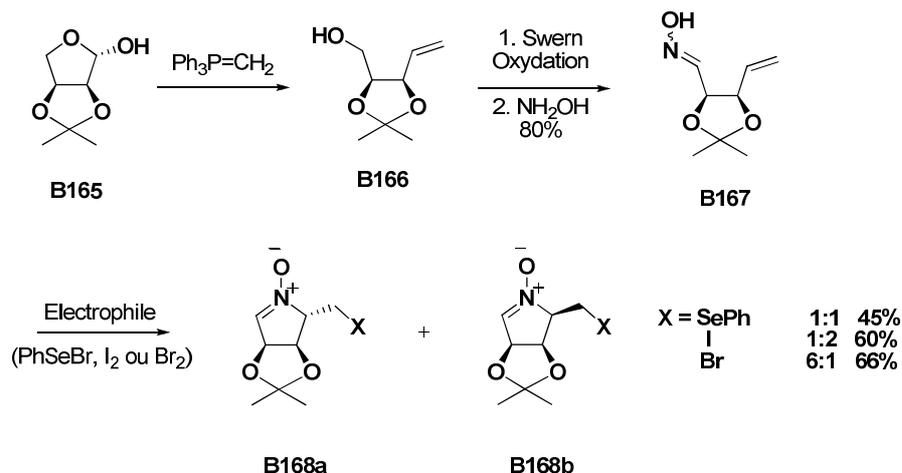
<sup>293</sup> Marcantoni, E.; Petrini, M.; Polimanti, O., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3561-3562.

La seconde approche méthodologique est la *N*-alkylation intramoléculaire d'oxime. Il n'existe pas de méthode générale néanmoins cette cyclisation implique la substitution interne d'un groupe partant par l'atome d'azote de l'oxime. L'addition nucléophile peut avoir lieu sur le carbone électrophile d'un ion « onium » ou d'un époxyde,<sup>294</sup> ou sur un carbone portant un groupe partant tel qu'un iode ou un mésylate (Schéma 99).



**Schéma 99** : *N*-alkylation d'oxime

Les premiers exemples de synthèse de nitronne par l'addition d'un électrophile sur une double liaison carbone-carbone pour générer un ion « onium » ont été réalisés par l'équipe de Grigg.<sup>295,296,297</sup> Ces travaux ont ensuite été appliqués aux nitrones cycliques de sucres par les équipes de Jäger<sup>298,299</sup> et de Wightman<sup>300</sup> (Schéma 100). Cette méthodologie conduit systématiquement aux deux diastéréoisomères **B168a** et **B168b** dans des proportions variables en fonction de l'électrophile utilisé.



**Schéma 100** : Synthèse de nitronne mettant en jeu un ion « onium »

En 1998, Holzapfel rapporte l'utilisation d'une oxime silylée substituée en position  $\gamma$  par un groupe partant.<sup>301</sup> L'ajout d'une source d'ions fluorures conduit alors à la désilylation puis à

<sup>294</sup> Duff, F. J.; Vivien, V.; Wightman, R. H., *Chem. Commun.* **2000**, 2127-2128.

<sup>295</sup> Grigg, R.; Hadjisoteriou, M.; Kennewell, P.; Markandu, J.; Thornton-Pett, M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1388-1389.

<sup>296</sup> Grigg, R.; Hadjisoteriou, M.; Kennewell, P.; Markandu, J., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1537-1538.

<sup>297</sup> Ali Dondas, H.; Grigg, R.; Thibault, S., *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7035-7045.

<sup>298</sup> Jäger, V.; Bierer, L.; Dong, H.-Q.; Palmer, A.; Shaw, D.; Frey, W., *J. Heterocycl. Chem.* **2000**, *37*, 455-465.

<sup>299</sup> Gulla, M.; Bierer, L.; Redcliffe, L.; Schmidt, S.; Jäger, V., *ARKIVOC* **2006**, (vii), 76-88.

<sup>300</sup> Hall, A.; Meldrum, K. P.; Therond, P. R.; Wightman, R. H., *Synlett* **1997**, 123-125.

<sup>301</sup> Holzapfel, C. W.; Crous, R., *Heterocycles* **1998**, *48*, 1337-1342.

L'attaque nucléophile de l'azote de l'oxime sur le carbone en position  $\gamma$ . La nitrone **B172** est ainsi obtenue après une double inversion de configuration en position C-4 (Schéma 101).

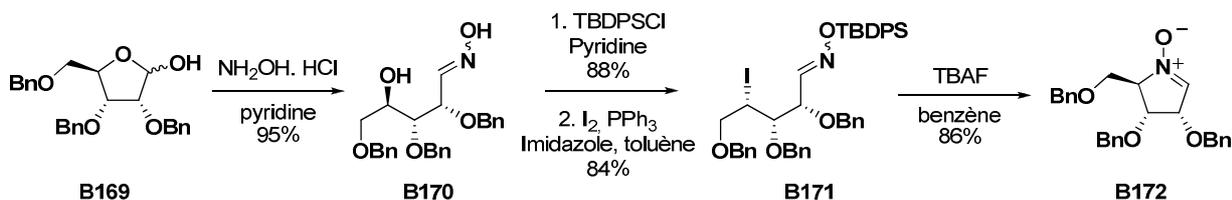


Schéma 101 : Méthodologie d'Holzappel

L'équipe de Tamura rapporte en 2002 une cyclisation similaire sur un tétrose qui fait intervenir directement une hydroxylamine *O*-silylée (Schéma 102).<sup>302</sup>

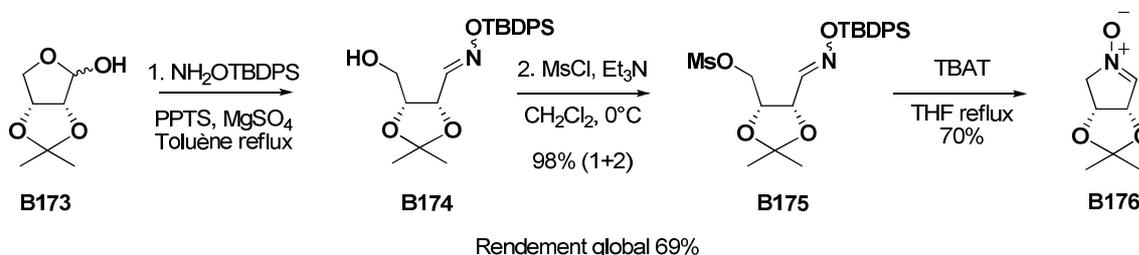


Schéma 102 : Méthodologie de Tamura

Cette méthode généralisable a été appliquée à la synthèse de plusieurs nitrones cycliques chirales. Il s'agit actuellement de la méthode la plus utilisée pour synthétiser les nitrones cycliques dérivées de sucres et la seule employée pour la synthèse de nitrones dérivées d'hexofuranoses, comme le composé **B179** (Schéma 103).<sup>303,304,305</sup>

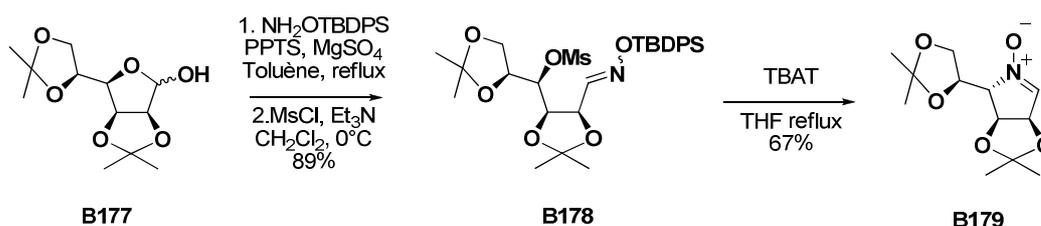


Schéma 103 : Synthèse d'une nitrone hexofuranosidique

On note enfin que la nitrone **B176** a également été synthétisée par les groupes de Goti<sup>306,307</sup> et Wightman<sup>308</sup> *via* la cyclisation d'une oxime non protégée, mais les rendements sont plus faibles (Schéma 104).

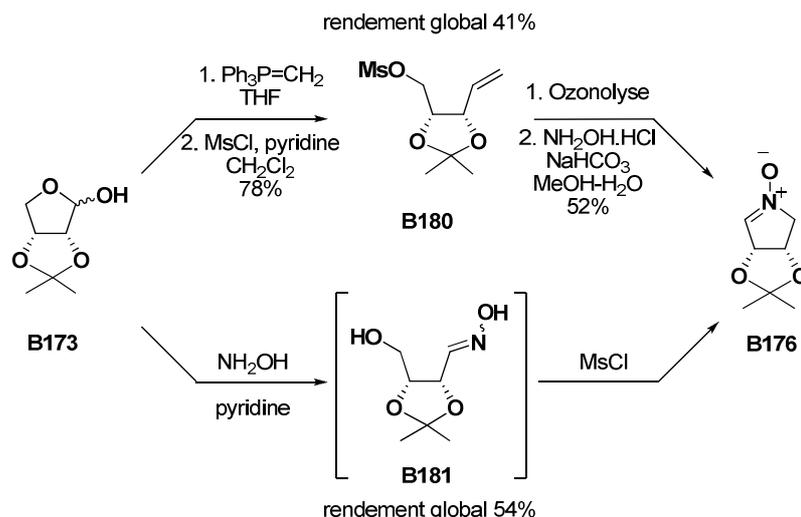
<sup>302</sup> Tamura, O.; Toyao, A.; Ishibashi, H., *Synlett* **2002**, 1344-1346.

<sup>303</sup> Toyao, A.; Tamura, O.; Takagi, H.; Ishibashi, H., *Synlett* **2003**, 35-38.

<sup>304</sup> Chevrier, C.; LeNouen, D.; Neuburger, M.; Defoin, A.; Tarnus, C., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5363-5366.

<sup>305</sup> Pillard, C.; Desvergnès, V.; Py, S., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6209-6213.

<sup>306</sup> Cicchi, S.; Corsi, M.; Brandi, A.; Goti, A., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1678-1681.

Schéma 104 : Synthèse de la nitrone **B176** selon Wightman et Goti

## I.2. CYCLOADDITION 1,3-DIPOLAIRE DE NITRONES

Les nitrones ont été largement utilisées en synthèse, notamment lors d'additions 1,2 car elles sont plus réactives que les imines.<sup>309,310,311,312,313,314</sup>

Elles ont suscité un intérêt tout particulier dans le cadre des réactions de cycloadditions 1,3-dipolaires depuis les années 70 et les travaux de Huisgen.<sup>315,316,317</sup> Huisgen a été le premier à entrevoir les perspectives offertes par cette réaction en terme de diversité structurale. En effet, la nature variable du dipôle-1,3 et du dipolarophile utilisés a rendu cette réaction très utile pour la construction d'hétérocycles à cinq membres.

La cycloaddition la plus couramment utilisée avec une nitronne conduit à la formation stéréospécifique d'une isoxazolidine *via* l'utilisation d'un alcène comme dipolarophile.<sup>318,319</sup> Le composé ainsi formé possède deux nouvelles liaisons (C-O et C-C) et peut contenir jusqu'à trois nouveaux centres asymétriques (Schéma 105).

<sup>307</sup> Cicchi, S.; Marradi, M.; Vogel, P.; Goti, A., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1614-1619.

<sup>308</sup> Closa, M.; Wightman, R. H., *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 3443-3450.

<sup>309</sup> Merino, P., *C.R. Chimie* **2005**, *8*, 775-788.

<sup>310</sup> Lombardo, M.; Trombini, C., *Synthesis* **2000**, 759-774.

<sup>311</sup> Merino, P.; Franco, S.; Merchan, F. L.; Tejero, T., *Synlett* **2000**, 442-454.

<sup>312</sup> Bloch, R., *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1407-1438.

<sup>313</sup> Enders, D.; Reinholdt, U., *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 1895-1946.

<sup>314</sup> Cardona, F.; Goti, A., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7832-7835.

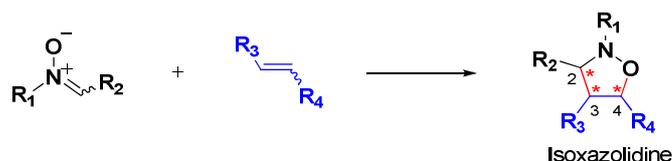
<sup>315</sup> Huisgen, R., *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357-396.

<sup>316</sup> Huisgen, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 565-598.

<sup>317</sup> Huisgen, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 633-645.

<sup>318</sup> Gothelf, K. V.; Jorgensen, K. A., *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 863-909.

<sup>319</sup> Jones, R. C. F.; Martin, J. N., Nitrones. In *Synthetic Application of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products*, Padwa, A.; Pearson, W. H., Eds. John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2002.



**Schéma 105 :** Réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitrone et une oléfine

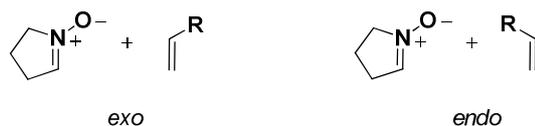
La régiosélectivité de l'addition est prévisible par la théorie des orbitales frontières. Dans le cas des nitrones cycliques, l'équipe de Houk a montré que l'état de transition le plus favorable est contrôlé par les interactions entre l'orbitale de plus basse énergie vacante (LUMO) du dipôle 1,3 et l'orbitale de plus haute énergie occupée (HOMO) du dipolarophile.<sup>320,321,322,323</sup> De plus, la LUMO du dipôle a le plus grand coefficient sur l'atome de carbone c'est donc lui qui va se lier au carbone le moins substitué qui est le site de la HOMO ayant le coefficient le plus élevé, comme pour de nombreux dipolarophiles (Schéma 106).



**Schéma 106 :** Régiosélectivité de l'addition et coefficients orbitaux d'une nitrone

Cette réaction concertée met en jeu un état de transition ordonné qui permet de prédire la configuration relative des positions 3 et 4 de l'isoxazolidine. Cette configuration relative est définie par la configuration de la double liaison carbone-carbone.

La configuration relative des positions 2 et 3 de l'isoxazolidine est plus difficile à prévoir, elle résulte de l'approche *endo* ou *exo* du dipolarophile par rapport au dipôle (Figure 55).



**Figure 55 :** Approches *exo* et *endo*

Cette approche est régie par des facteurs stériques mais également des facteurs orbitaux. Il est cependant à noter que dans le cas de cycloadditions 1,3-dipolaires, les interactions orbitales secondaires sont de moindre importance que pour les cycloaddition [4+2] comme la réaction de Diels-Alder. L'approche *exo* est donc favorisée par rapport à l'approche *endo*.<sup>324,325</sup>

<sup>320</sup> Houk, K. N.; Sims, J.; Duke Jr., R. E.; Strozier, R. W.; George, J. K., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7287-7301.

<sup>321</sup> Houk, K. N.; Sims, J.; Watts, C. R.; Luskus, L. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7301-7315.

<sup>322</sup> Houk, K. N., *Acc. Chem. Res.* **1975**, *8*, 361-369.

<sup>323</sup> Sims, J.; Houk, K. N., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 5798-5800.

<sup>324</sup> Tufariello, J. J.; Ali, S. A., *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 4647-4650.

<sup>325</sup> Tufariello, J. J., *Acc. Chem. Res.* **1979**, *12*, 396-403.

Enfin, lorsque le dipôle est chiral, la configuration relative entre le carbone asymétrique présent sur le dipôle et la position 2 du cycloadduit dépend de l'approche du dipolarophile qui peut avoir lieu sur les faces *Si* ou *Re*. Ainsi, la réaction peut donner deux types de diastéréoisomères, *syn* ou *anti*. Si l'on considère l'exemple suivant (Figure 1) l'approche se fait par la face la moins encombrée, face *Si*, alors le cycloadduit est *anti*, tandis que lorsque l'approche a lieu par la face la plus encombrée *Re* la stéréochimie du produit de cycloaddition est *syn* (Schéma 107).

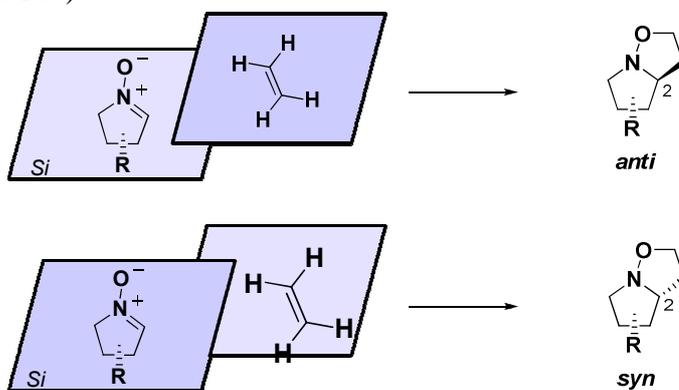


Schéma 107 : Cycloaddition *syn* et *anti*

De manière générale, la formation du cycloadduit *exo-anti* est favorisée.

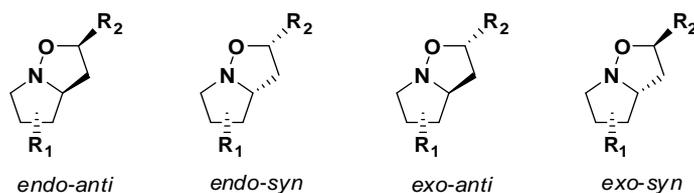


Figure 56 : Structure des isomères envisageables

Les nitrones cycliques de sucres ont été largement utilisées dans le cadre de la formation d'isoxazolidines comme précurseurs de produits naturels ou dérivés.<sup>326</sup>

### I.3. NITRONES DE SUCRES : PRECURSEURS D'IMINOSUCRES

On peut citer par exemple les travaux de Goti et ses collaborateurs qui ont préparé le dérivé **B182** avec un contrôle total de la stéréosélectivité (Schéma 108). Ce composé bicyclique est le précurseur de la 7-Désoxycasuarine et de la Hyacintacine A.<sup>327</sup>

<sup>326</sup> Fisera, L., *Top. Heterocycl. Chem.* **2007**, 7, 287-323.

<sup>327</sup> Cardona, F.; Faggi, E.; Liguori, F.; Cacciarini, M.; Goti, A., *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2315-2318.

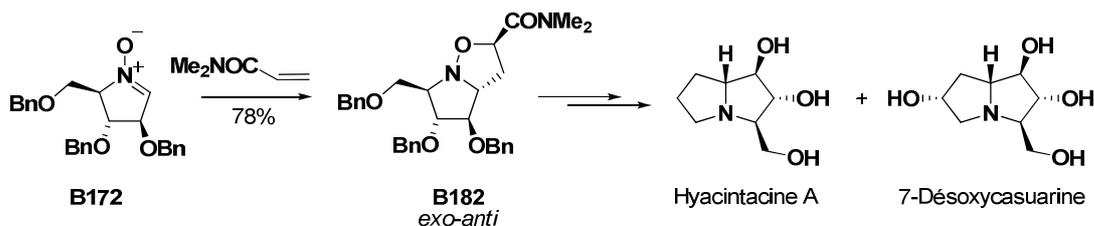


Schéma 108

La synthèse de la 7-Désoxycasuarine a également été réalisée par l'équipe de Carmona. Elle est, à nouveau, issue d'une isoxazolidine obtenue par cycloaddition. Dans ce cas le dipolarophile est l'alcool allylique qui conduit au composé attendu **B183** sous forme de deux diastéréoisomères dans un rapport 78 : 2 en faveur du composé *exo-anti* **B183a** (Schéma 109).<sup>328</sup>

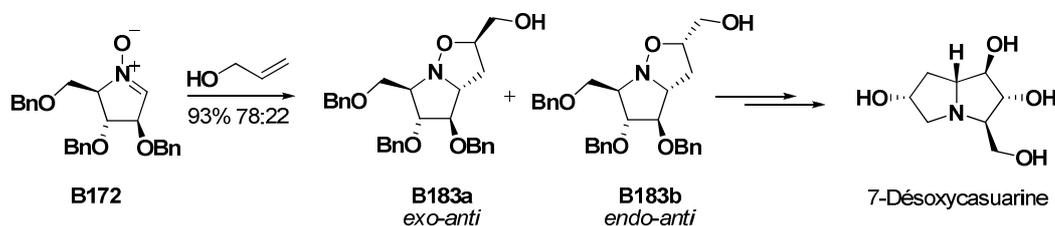


Schéma 109

Tamura et ses collaborateurs ont réalisé la synthèse totale de la Laccarin *via* l'isoxazolidine **B184a** obtenue avec une bonne stéréosélectivité (e.d. = 95%) (Schéma 110).<sup>302</sup>

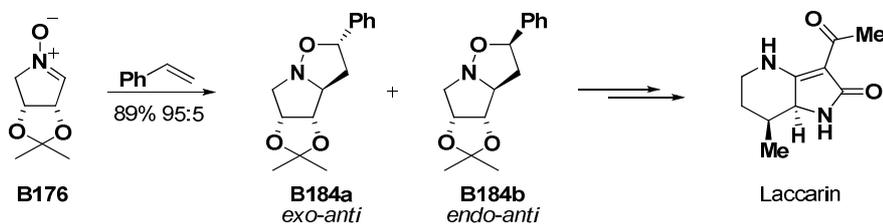
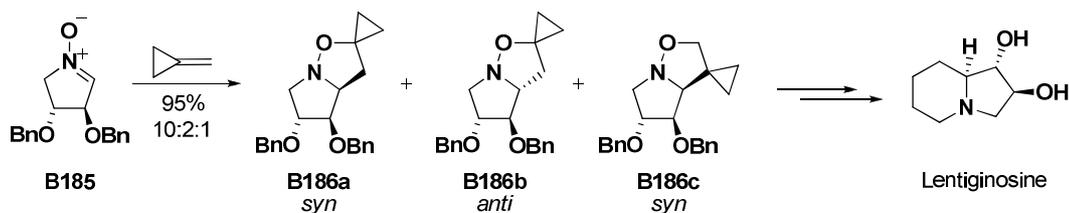


Schéma 110

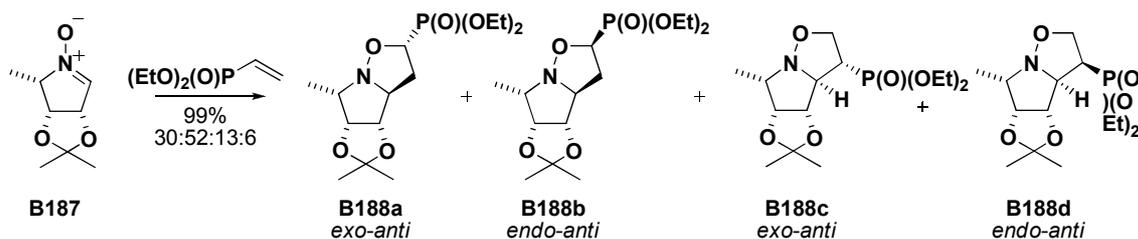
Ces exemples révèlent que la cycloaddition 1,3-dipolaire sur des nitrones cycliques apparentées aux furanoses a lieu avec une excellente régiosélectivité et une bonne stéréosélectivité *exo-anti*. Toutefois il existe des situations dans lesquelles la sélectivité est moins bonne. Brandi et ses collaborateurs ont préparé des composés spiraniques **B186** avec une sélectivité 10 : 2 : 1 (Schéma 111). Ils ont ainsi synthétisé la Lentiginosine.<sup>329</sup>

<sup>328</sup> Carmona, A. T.; Wightman, R. H.; Robina, I.; Vogel, P., *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 3066-3073.

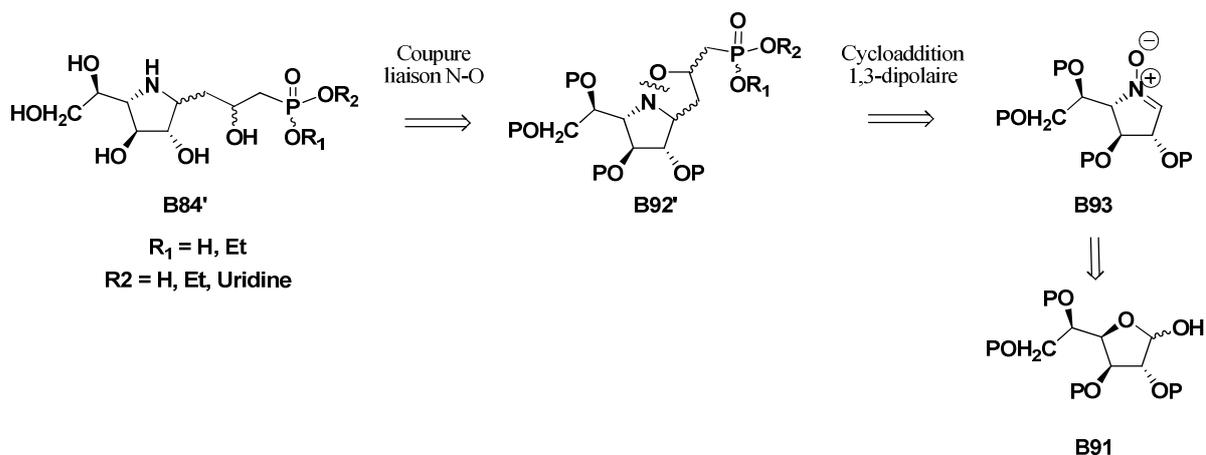
<sup>329</sup> Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F. M.; Frignoli, R.; Goti, A.; Picasso, S.; Vogel, P., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6806-6812.



En 2004, l'équipe de Defoin a réalisé la première cycloaddition 1,3-dipolaire avec pour dipolarophile le vinylphosphonate de diéthyle, ce qui a conduit à un mélange de deux paires de régioisomères avec une faible régio et stéréosélectivité (Schéma 112).<sup>304,330</sup>



Dans le cadre des travaux effectués au cours de cette thèse, nous avons envisagé l'obtention d'iminogalactitols **B84'** de configuration  $\beta$  par réduction de la liaison N-O de l'isoxazolidine **B92'** correspondante (Schéma 113). Nous avons donc concentré nos efforts sur l'obtention de cette dernière *via* la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire sur la nitroène à charpente saccharidique **B93**. Enfin, la nitroène **B93** proviendra elle-même de l'hémiacétal **B91** commun à nos deux approches, dont la synthèse est présentée dans le chapitre précédent.

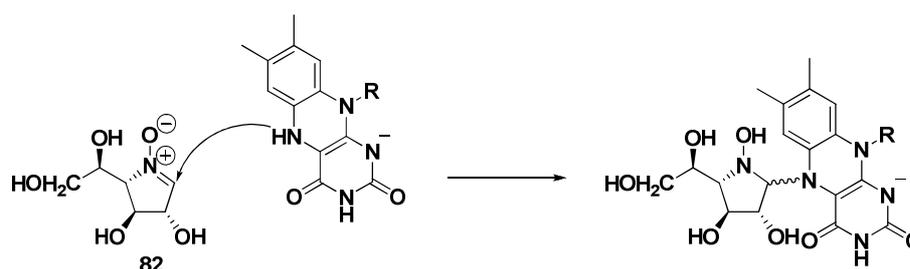


<sup>330</sup> Chevrier, C.; LeNouen, D.; Defoin, A.; Tarnus, C., *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2384-2392.

Dans un premier temps, nous avons réalisé la synthèse de la nitrone **B93**, qui est à notre connaissance la première nitrone galactofuranosidique rapportée. Puis nous nous sommes intéressés à la synthèse modèle de pyrrolidines de configuration  $\beta$  en utilisant des dipolarophiles phosphorés simples. Finalement nous avons appliqué cette méthodologie à la synthèse d'analogues nucléotidiques de l'UDP-Galf.

## II. SYNTHÈSE DE L'INTERMÉDIAIRE CLÉ : LA NITRONE **81**

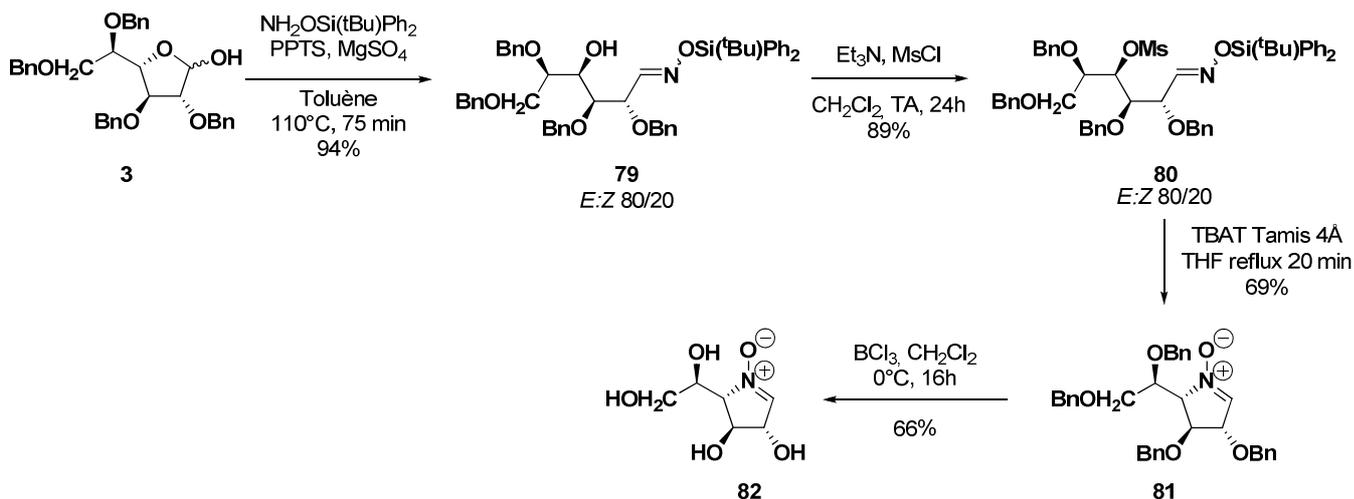
L'intermédiaire clé de la synthèse envisagée est la nitrone **81**. La synthèse de cette dernière a été mise au point par le docteur Valérie Desvergnès dans le cadre du développement d'une sonde mécanistique pour l'étude de l'UDP-Galp mutase. En effet, comme nous l'avons vu précédemment la flavine présente dans le site actif de l'enzyme forme un adduit covalent avec un intermédiaire ou état de transition de type oxocarbenium. La nitrone déprotégée **82** est un analogue de cet état de transition. De plus, elle est susceptible d'être à la fois un accepteur d'électrons si le mécanisme implique un transfert monoélectronique ou bien un accepteur de nucléophile dans le cas d'un mécanisme de type  $S_N1$  ou  $S_N2$ . Ainsi, la nitrone conduirait à la formation d'un adduit covalent comme le montre le schéma suivant.



**Schéma 114** : Utilisation de la nitrone déprotégée **82** comme sonde mécanistique

L'évaluation biologique de la nitrone a donc été réalisée et elle est rapportée dans le chapitre 5 de ce manuscrit.

La synthèse des nitrones **81** et **82** utilise comme produit de départ l'hémiacétal **3**. Cet intermédiaire commun aux deux stratégies stéréodivergentes est converti dans ce cas en oxime silylée acyclique **79**. Cette oxime est obtenue sous forme d'un mélange d'isomères (8/2), dans les conditions décrites par Tamura et ses collaborateurs (Schéma 115).<sup>302</sup> La condensation de la *O*-<sup>t</sup>butyldiphénylesilyl hydroxylamine sur l'hémiacétal **3** permet ainsi l'obtention de l'oxime acyclique (C1 : 153,9 et 154,9 ppm) sans trace de l'hydroxylamine cyclique correspondante (C1~80-90 ppm). L'oxime **79** est ensuite mésylée en O-4 puis cyclisée en présence d'une source d'ion fluorure, le tétrabutylammonium triphényldifluorosilicate (TBAT). Nous obtenons la nitrone **81** de configuration *galacto* avec un très bon rendement de 69% compte tenu du fait que seule l'oxime *Z* se cyclise. La déprotection sélective des éthers de benzyle en présence de la liaison N-O a pu être réalisée en présence de trichlorure de bore dans les conditions précédemment utilisées. Nous avons ainsi isolé la nitrone **82** avec un bon rendement de 66% sans aucune trace de sous produit.

Schéma 115 : Synthèse de l'intermédiaire clé **81** et de la nitrone déprotégée **82**

A ce jour, cette méthodologie constitue le premier exemple de synthèse d'une nitrone galactofuranosidique, sous forme protégée et déprotégée.

### III. CYCLOADDITION 1,3-DIPOLAIRE AVEC DES VINYLPHOSPHONATES SIMPLES

#### III.1. SYNTHÈSE DE L'IMINO GALACTITOL PHOSPHORE **84**

Dans un premier temps nous avons réalisé une étude modèle en appliquant la technique décrite par Defoin et son équipe, avec un dérivé phosphoré simple, le vinylphosphonate de diéthyle, et la nitrone **81**.<sup>304,330</sup> Cette dernière présentant un encombrement stérique plus important que la nitrone **B187** utilisée par Defoin, nous pouvions espérer une meilleure sélectivité de l'addition. Cependant, nous observons la formation d'un mélange de 3 isomères dans des proportions 1,1 : 1,8 : 1 non séparables sur gel de silice (Schéma 116), ce qui est en accord avec les résultats décrits dans la littérature.<sup>331,304,330</sup>

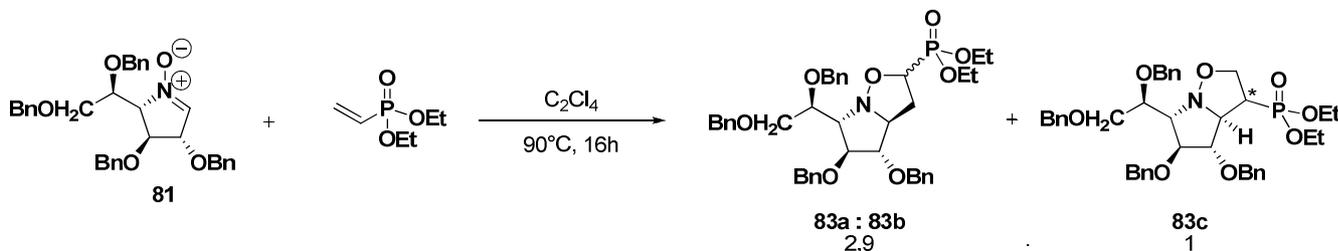


Schéma 116 : Cycloaddition 1,3-dipolaire avec un vinylphosphonate

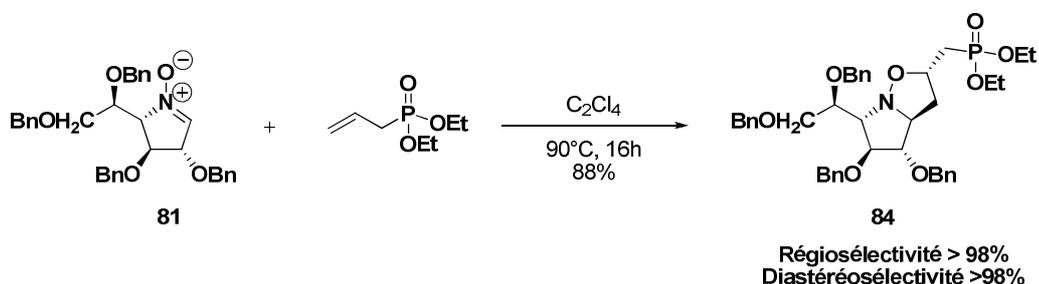
<sup>331</sup> Ye, Y.; Li, L.-Y.; Tian, L.; Liu, L.-Z., *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2004**, *179*, 2503-2508.

L'étude des spectres RMN du  $^{31}\text{P}$  et du  $^{13}\text{C}$  nous permettent cependant d'affirmer que nous avons obtenu les deux isomères *exo/endo* (**83a** et **83b**) du produit attendu ainsi qu'un de leur régioisomère le composé **83c**. En effet, nous avons pu isoler des signaux caractéristiques de chaque produit comme le montre le tableau 25. Ces valeurs sont en accord avec celles obtenues par Defoin et son équipe. Cependant n'ayant pu séparer ces différents isomères, nous n'avons pas pu les identifier précisément.

Isomères	C2 ( $\delta$ ppm)	C3 ( $\delta$ ppm)	P ( $\delta$ ppm)
83a	72,6 (d, $J_{\text{C-P}} \sim 136$ Hz)	36,5 (s)	13,54
83b	72,7 (d, $J_{\text{C-P}} \sim 139$ Hz)	36,3 (s)	14,09
83c	66,09	43,9 (d, $J_{\text{C-P}} \sim 147$ Hz)	11,11

**Tableau 25** : Déplacements chimiques caractéristiques des isomères obtenus en RMN  $^{13}\text{C}$  et  $^{31}\text{P}$

Nous avons alors utilisé un autre dipolarophile : l'allylphosphonate de diéthyle et nous avons eu la surprise d'isoler un seul et unique composé **84** avec un rendement de 88% (Schéma 117).



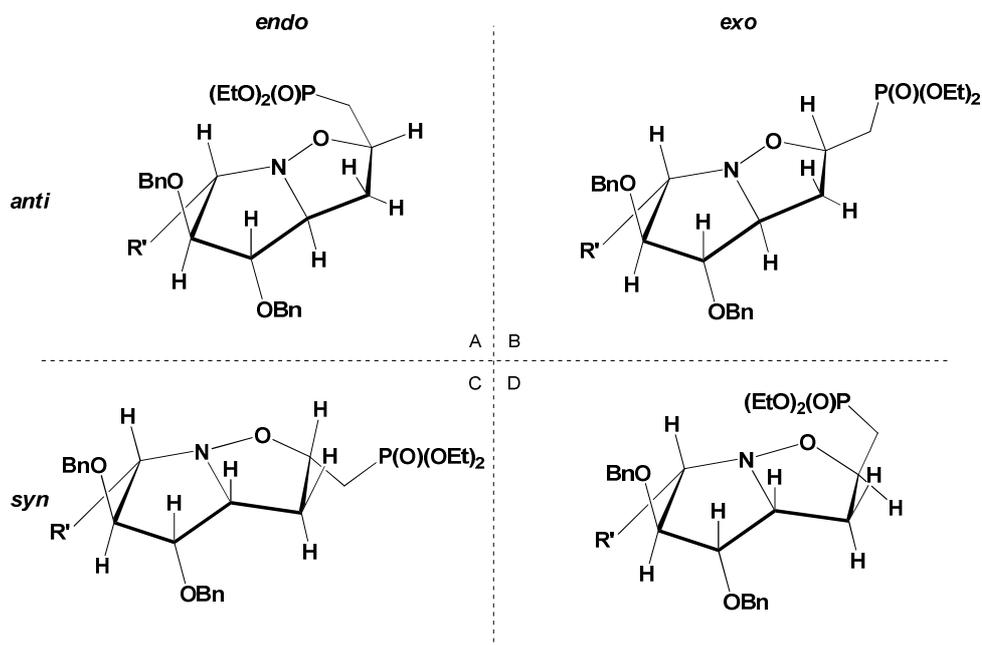
**Schéma 117** : Synthèse régio et diastéréosélective du bicyclic **84**

La différence de sélectivité entre le vinyl- et l'allylphosphonate est surprenante et n'a par ailleurs jamais été rapportée. En outre, à notre connaissance, une seule étude d'addition de ces deux dipolarophiles sur une nitroène a été effectuée.<sup>332</sup>

La détermination de la régiosélectivité a été faite sur la base des déplacements chimiques et de la multiplicité des signaux, qui confirment que la formation de la liaison carbone-carbone a lieu en position terminale du dipolarophile (Figure 58). Elle est donc conforme aux prédictions.

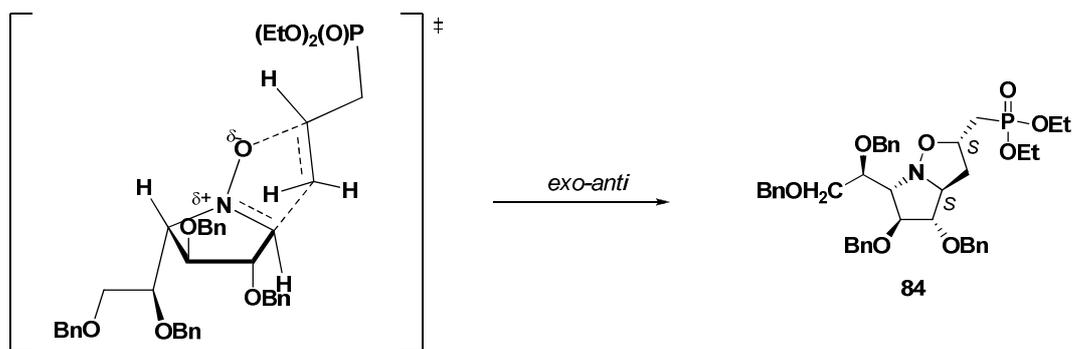
<sup>332</sup> Piotrowska, D. G., *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5363-5366.

Cette cycloaddition régiosélective peut alors conduire à la formation des quatre stéréoisomères suivants :



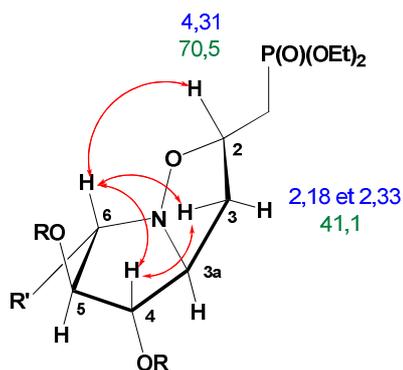
**Figure 57** : Structure des quatre stéréoisomères envisageables ( $R' = CH(OBn)CH_2OBn$ )

Or si l'on considère l'état de transition le plus favorable, sur la base des facteurs stériques, l'approche *exo-anti* est favorisée (Schéma 118). En effet, la face *Si* de la nitrone est particulièrement encombrée par la présence du groupement benzylique en position C-2 et de la chaîne alkyle en C-4. On présume alors que les deux nouveaux centres asymétriques formés sont de configuration absolue *S*.



**Schéma 118** : Stéréosélectivité de l'addition

La configuration absolue des deux nouveaux centres asymétriques du composé **84** ainsi obtenu a pu être déduite par l'étude du spectre RMN NOESY. En effet, nous avons pu mettre en évidence la présence d'interactions dipolaires caractéristiques comme nous le montre la figure 58 ci-dessous.

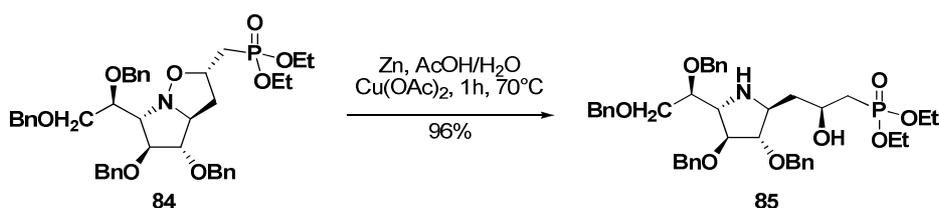


**Figure 58** : Couplages dipolaires observés et déplacements chimiques (ppm) en RMN  $^{13}\text{C}$  (Vert) et  $^1\text{H}$  (Bleu) pour le bicyclic **84**.  $R=\text{Bn}$  et  $R'=\text{CH}(\text{OBn})\text{CH}_2\text{OBn}$

La stéréosélectivité *exo-anti* de cette cycloaddition est la même pour de nombreuses autres réactions de nitrones cycliques de sucre.<sup>302,327,328</sup> L'addition d'allylphosphonate sur la nitrone **81** est fortement régio- et stéréosélective.

En une étape, une liaison C-C et une liaison C-O ont été créées avec un très bon contrôle des deux centres stéréogéniques formés, ce qui a ainsi conduit à un analogue original protégé du Galf-1-phosphate en série bicyclique.

La liaison N-O étant relativement faible ( $180 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), elle peut être aisément clivée en milieu réducteur. Différentes conditions sont décrites dans la littérature : on peut citer par exemple l'hydrogénolyse en présence de palladium ou de nickel de Raney,<sup>333,334,335</sup> l'utilisation de diiodure de samarium<sup>336</sup> ou encore la réduction catalysée à l'indium.<sup>337</sup> Nous avons choisi d'utiliser une réduction sélective, fréquemment utilisée, en présence de zinc et d'une quantité catalytique d'acétate de cuivre.<sup>338</sup> Nous avons ainsi pu obtenir l'iminogalactitol **85** de configuration  $\beta$  avec un excellent rendement de 96% (Schéma 119).



**Schéma 119** : Obtention du  $\beta$ -hydroxyphosphonate **85**

Pour mimer le motif pyrophosphate de façon plus fidèle, et en particulier son caractère de ligand bidentate, nous avons envisagé la synthèse du  $\beta$ -cétophosphonate correspondant.

<sup>333</sup> Revuelta, J.; Cicchi, S.; de Meijere, A.; Brandi, A., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1085-1091.

<sup>334</sup> Yu, C.-Y.; Huang, M.-H., *Org. Lett.* **2006**, 8, 3021-3024.

<sup>335</sup> Chevrier, C.; Defoin, A.; Tarnus, C., *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 4125-4135.

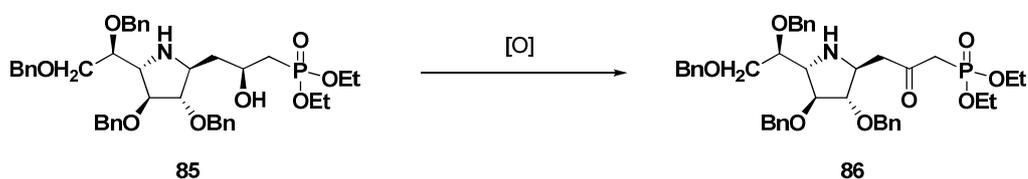
<sup>336</sup> Revuelta, J.; Cicchi, S.; Brandi, A., *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 8375-8377.

<sup>337</sup> Cicchi, S.; Bonanni, M.; Cardona, F.; Revuelta, J.; Goti, A., *Org. Lett.* **2003**, 5, 1773-1776.

<sup>338</sup> Karanjule, N. S.; Markad, S. D.; Sharma, T.; Sabharwal, S. G.; Puranik, V. G.; Dhavale, D. D., *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1356-1363.

Cependant, du fait de la présence d'une fonction amine non protégée, les conditions d'oxydation possibles du  $\beta$ -hydroxyphosphonate **85** sont restreintes puisque, entre autres, tous les oxydants métalliques sont à éviter.

Dans un premier temps, nous avons réalisé cette oxydation dans les conditions de Swern ; cependant nous n'avons isolé que des traces du composé attendu (Tableau 26, essai 1).<sup>339</sup> Nous nous sommes orientés vers des conditions sensiblement plus douces en utilisant l'anhydride trifluoroacétique, mais seul le produit de départ est caractérisé après la réaction (Tableau 26, essai 2).<sup>340,341</sup> Nous avons alors tenté une oxydation à l'iode hypervalent en présence d'IBX (acide 2-iodoxybenzoïque). Ce précurseur du réactif de Dess-Martin est connu pour oxyder les aminoalcools en aminocétones sans protection préalable de la fonction aminée. Nous n'avons à nouveau isolé que le produit de départ (Tableau 26, essai 3).<sup>342</sup> Dans le cas des amines primaires et secondaires la réaction nécessite l'ajout de 1 à 1,15 équivalents d'acide trifluoroacétique (TFA) de manière à protoner l'azote. Ayant omis l'ajout de TFA, il sera nécessaire de renouveler cet essai.



Essai	[O]	Produit attendu
1	(COCl) <sub>2</sub> , DMSO, Et <sub>3</sub> N, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -78°C	Traces
2	(CF <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O, DMSO, Et <sub>3</sub> N, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -78°C	-
3	IBX, DMSO	-

**Tableau 26 :** Essai d'oxydation du  $\beta$ -hydroxyphosphonate **85**

Face à ces échecs il reste à envisager une méthode moins élégante qui consisterait à protéger l'amine avant d'effectuer l'oxydation. L'introduction du motif carbamate de benzyle nous permettrait par exemple d'appliquer les conditions utilisées dans le chapitre précédent pour l'oxydation au PCC de  $\beta$ -hydroxyphosphonate en  $\beta$ -cétophosphonate. Cependant faute de temps nous n'avons pas pu effectuer cet essai.

Pour résumer, cette étude modèle nous a donc permis d'obtenir deux nouveaux composés, qui sont à notre connaissance les premiers exemples d'iminogalactitols 1-C-substitués de configuration  $\beta$ . Nous avons ensuite procédé à la déprotection de ces derniers.

<sup>339</sup> Cacatian, S. T.; Fuchs, P. L., *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7177-7187.

<sup>340</sup> Omura, K.; Sharma, A. K.; Swern, D., *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 957-962.

<sup>341</sup> Huang, S. L.; Omura, K.; Swern, D., *J. Org. Chem.* **1976**, 3329-3331.

<sup>342</sup> Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S.; Palmisanoj, G., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7272-7276.

## III.2. DEPROTECTION TOTALE

Comme dans le chapitre précédent, nous avons effectué une déprotection des dérivés **84** et **85** en deux temps, tout d'abord la *O*-débenzylation puis la déprotection de l'ester phosphonique.

La *O*-débenzylation a été réalisée sélectivement en présence de trichlorure de bore et nous a permis d'isoler la pyrrolidino-isoxazolidine **87** sous forme de chlorhydrate avec un très bon rendement de 91% (Schéma 120). Il est intéressant de souligner qu'au cours de cette étape la liaison N-O est restée intacte malgré l'utilisation d'un excès d'acide de Lewis, ce qui nous a permis d'accroître la diversité structurale du lien entre l'iminosucre et le phosphonate en conservant le motif original pyrrolidino-isoxazolidine.

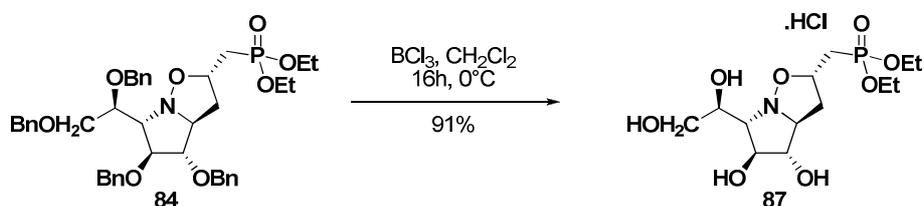


Schéma 120 : *O*-débenzylation du composé bicyclique **84**

En appliquant ces conditions à l'iminosucre **85** nous avons obtenu des résultats semblables. Nous avons pu isoler le chlorhydrate **88** avec un excellent rendement (Schéma 121).

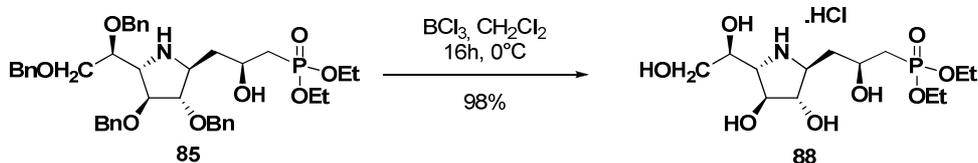
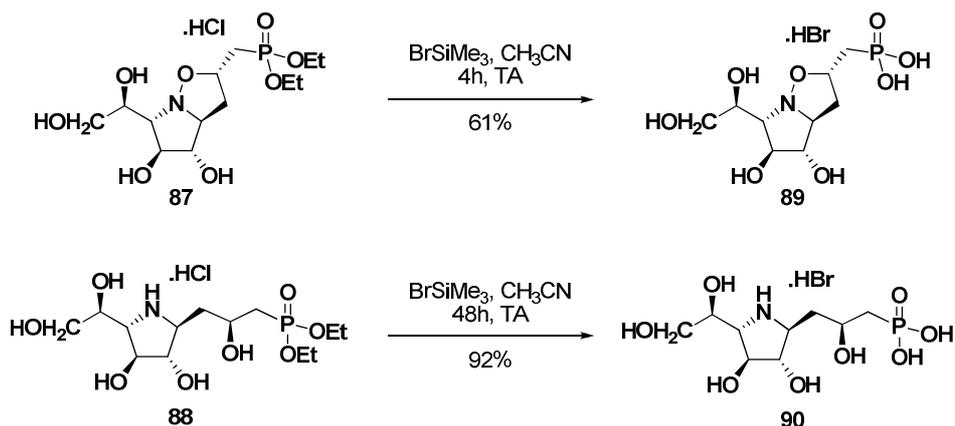


Schéma 121 : *O*-débenzylation du composé **85**

Les acides phosphoniques **89** et **90** sont alors obtenus avec de bons rendements par réaction avec le bromure de triméthylsilyle (TMSBr) (Schéma 122). Bien que la coupure de la liaison N-O soit décrite en présence de TMSI,<sup>343</sup> l'utilisation de TMSBr, moins réactif, nous permet de la conserver. Cependant, dans les conditions décrites par Montero et son équipe, c'est-à-dire avec l'ajout de pyridine au mélange réactionnel on observe un clivage partiel de la liaison N-O.<sup>231</sup>

<sup>343</sup> Yoon, K. S.; Lee, S. J.; Kim, K., *Heterocycles* **1996**, *43*, 1211-1221.

Schéma 122 : Synthèse des acides phosphoniques **89** et **90**

A ce stade, il nous a semblé pertinent d'étudier l'influence de la configuration du carbone pseudo-anomérique sur les constantes de couplages des iminogalactitols. Nous avons donc comparé les valeurs obtenues pour le composé **90** et celle d'un analogue de configuration  $\alpha$  : le composé **50**, ayant tous les deux un acide phosphonique à la même distance du carbone pseudo-anomérique.

Les constantes  $J_{1,2}$  et  $J_{2,3}$  sont particulièrement affectées par cette modification, ce qui va bien dans le sens d'une configuration 1,2-*trans* pour le composé **90** (Tableau 27).

$J_{1,2}$ (Hz)	2,1	8
$J_{2,3}$ (Hz)	0	7
$J_{3,4}$ (Hz)	2,4	7,5
$J_{4,5}$ (Hz)	8,8	8,5

Tableau 27 : Valeurs des constantes de couplages pour les composés **50** et **90**

En réalisant la cycloaddition 1,3-dipolaire d'une nitroène cyclique de configuration *galacto* avec un phosphonate insaturé comme dipolarophile, nous avons eu accès de manière régio- et stéréosélective à des analogues originaux de galactofuranosides de configuration relative  $\beta$ . De manière à synthétiser des analogues proches de l'UDP-Galf, il fallait introduire le motif uridine, ce que nous avons réalisé en fonctionnalisant le dipolarophile.

#### IV. APPLICATION A LA SYNTHÈSE D'UN IMINOSUCRE-URIDINE MONOPHOSPHATE

La synthèse d'analogues de l'UDP-Galf requiert la synthèse d'un dipolarophile contenant le motif uridine, ce qui nécessite la substitution d'un des éthyles du phosphonate par l'uridine. Pour cela nous avons appliqué la même stratégie que celle utilisée précédemment avec le vinyl phosphonate.<sup>237</sup> La mise au point de cette étape ainsi que les premiers essais de cycloadditions ont été réalisés par Alphert Christina, étudiant de Master de l'Université de Leiden (Pays-Bas) en stage au sein du laboratoire pour une durée de six mois. Le diéthyl allylphosphonate n'étant pas commercial, au moment de cette synthèse, nous l'avons dans un premier temps synthétisé *via* une réaction d'Arbuzov dans des conditions classiques (Schéma 123).<sup>344</sup> La réaction du dérivé allylé **91** fraîchement distillé avec du chlorure d'oxalyle a permis l'obtention de l'intermédiaire chiral chloré **92**. Ce dernier a immédiatement été engagé dans une réaction de substitution avec la 2',3'-*O*-isopropylidène uridine et en présence de triéthylamine pour conduire au dérivé de l'uridine **93** attendu avec un bon rendement de 60% à partir de l'allylphosphonate.

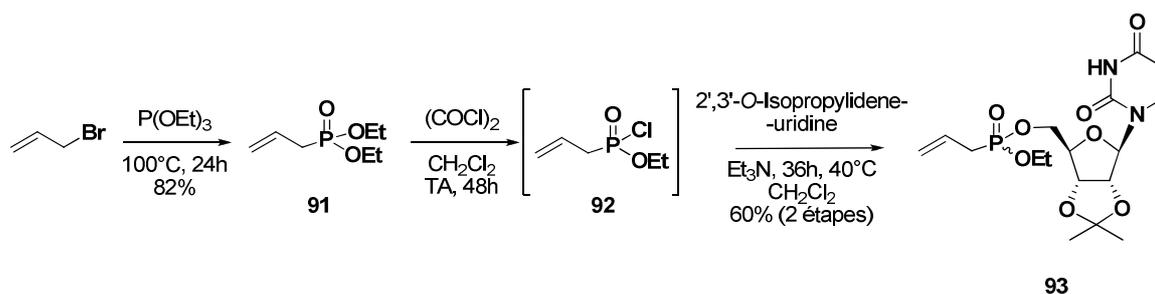
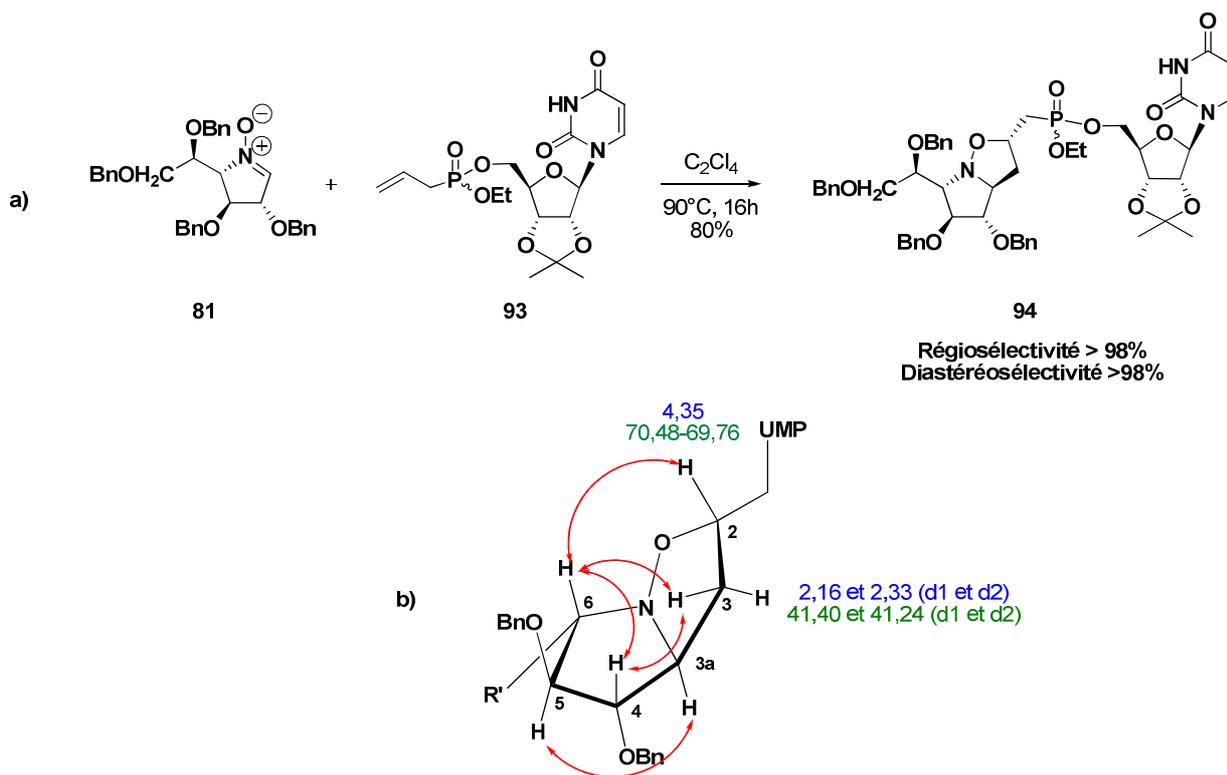


Schéma 123 : Synthèse du dipolarophile UMP

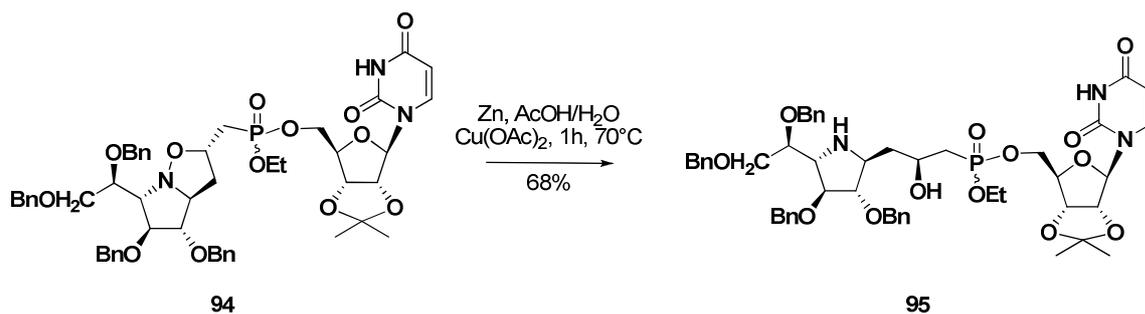
A partir de ce dérivé de l'UMP, la synthèse a été poursuivie par une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de **93** avec **81** dans le but d'accéder à l'analogue bicyclique de l'UDP-Galf. Bien que les spectres RMN des composés de cette série à partir de **94** soient compliqués par la présence des deux diastéréoisomères du phosphore en proportions 1/1, ils montrent sans ambiguïté que nous avons un seul et unique régio- et diastéréoisomère comme lors de l'étude modèle (Schéma 124). La configuration absolue des deux nouveaux centres asymétriques a pu être déduite par l'étude du spectre RMN NOESY.

<sup>344</sup> Dappen, M. S.; Pellicciari, R.; Natalini, B.; Monahan, J. B.; Chiorri, C.; Cordi, A. A., *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 161-168.



**Schéma 124 :** a) Synthèse du bicyclic **94** b) Couplages dipolaires observés et déplacements chimiques caractéristiques (ppm) en RMN  $^{13}\text{C}$  (Vert) et  $^1\text{H}$  (Bleu)

La réduction de la liaison N-O nous a permis d'isoler le précurseur benzylé **95** analogue de l'UDP-Galf avec un bon rendement non optimisé de 68% (Schéma 125). Le produit **95** a tendance à trainer sur colonne de gel de silice. Le mélange brut étant propre nous l'avons utilisé sans purification dans la suite de ces travaux.



**Schéma 125 :** Obtention de l'iminoalactitol **95**

L'étape suivante consiste à déprotéger les groupements hydroxyles afin d'obtenir nos analogues nucléosidiques de l'UDP-Galf en série  $\beta$ .

La séquence de déprotection en deux étapes nous a permis d'isoler les deux uridinyl phosphonates d'éthyle **96** et **98** ainsi que les deux acides phosphoniques analogues de l'UDP-Galf de configuration  $\beta$ , le bicyclic **97** et l'iminoalactitol **99** (Schéma 126).

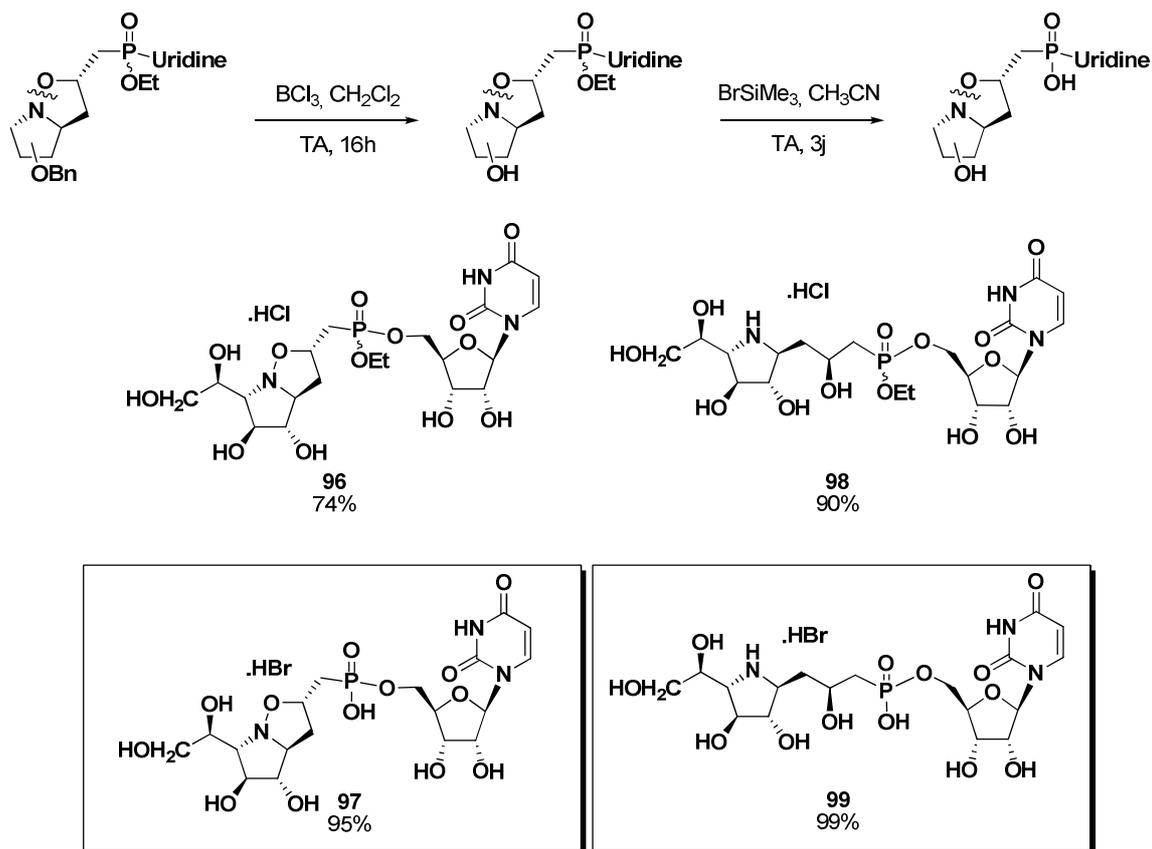


Schéma 126 : Obtention des analogues de l'UDP-Galf **96** à **99**

L'utilisation du trichlorure de bore nous a permis en une étape de cliver les éthers de benzyle et l'isopropylidène de l'uridine. Cette séquence chimiosélective nous a permis d'isoler nos deux cibles : le composé **99** analogue iminosucre nucléotide de l'UDP-Galf et **97** : un analogue bicyclique original et de conformation rigide.

Nous avons ainsi préparé les premiers analogues de l'UDP-Galf en série iminogalactitol de configuration  $\beta$ . Ces analogues possèdent en lieu et place du pyrophosphate, reliant la charpente iminosaccharidique à l'uridine, un lien 2-hydroxypropyl phosphonate de même longueur (Figure 59).

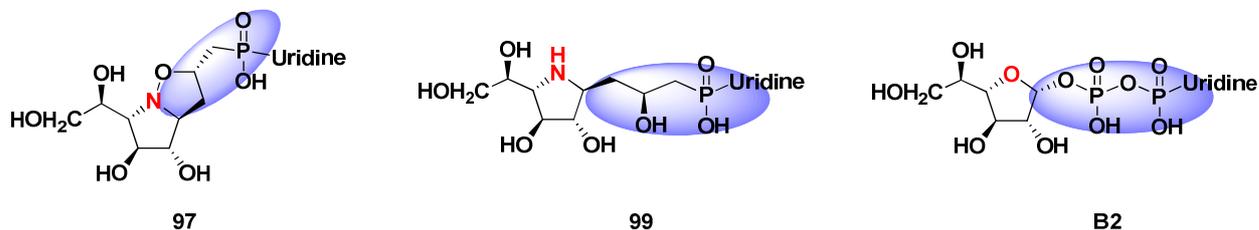


Figure 59 : Nature du lien avec l'UMP dans les analogues de l'UDP-Galf **97** et **99**

Les dérivés **98** et **99** sont d'autant plus intéressants dans le cadre de l'étude des transférases car la présence du groupement hydroxyle en  $\beta$  du phosphonate est susceptible de mimer la chélation bidentate du pyrophosphate avec un cation métallique divalent probablement présent dans le site actif de l'enzyme.

## V. CONCLUSION

Le développement d'une synthèse efficace de la première nitrone apparentée au galactofuranose nous a permis d'envisager une synthèse complémentaire de celle précédemment décrite dans le chapitre 2 permettant l'accès à de nouveaux iminogalactitols liés à différents groupements en position pseudo-anomérique et de configuration relative  $\beta$ .

La cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitrone de sucre de configuration *galacto* et un dérivé uridinyl allylphosphonate a permis le développement d'une synthèse rapide (4 à 5 étapes) et efficace d'analogues de Galf-1-phosphate et de l'UDP-Galf avec un régio- et stéréocontrôle total. Cette réaction associée à une succession de déprotections chimiosélectives nous a permis d'accéder à 8 analogues de l'UDP-Galf ou du Galf-1-phosphate, bicycliques ou linéaires, possédant ou non le motif uridine (Schéma 127). Ces mimes de substrat sont des inhibiteurs potentiels de l'UDP-Galp mutase et des Galf transférases. Leur activité biologique a été évaluée sur ces deux familles enzymes et sera rapportée dans le chapitre 5 de ce mémoire.

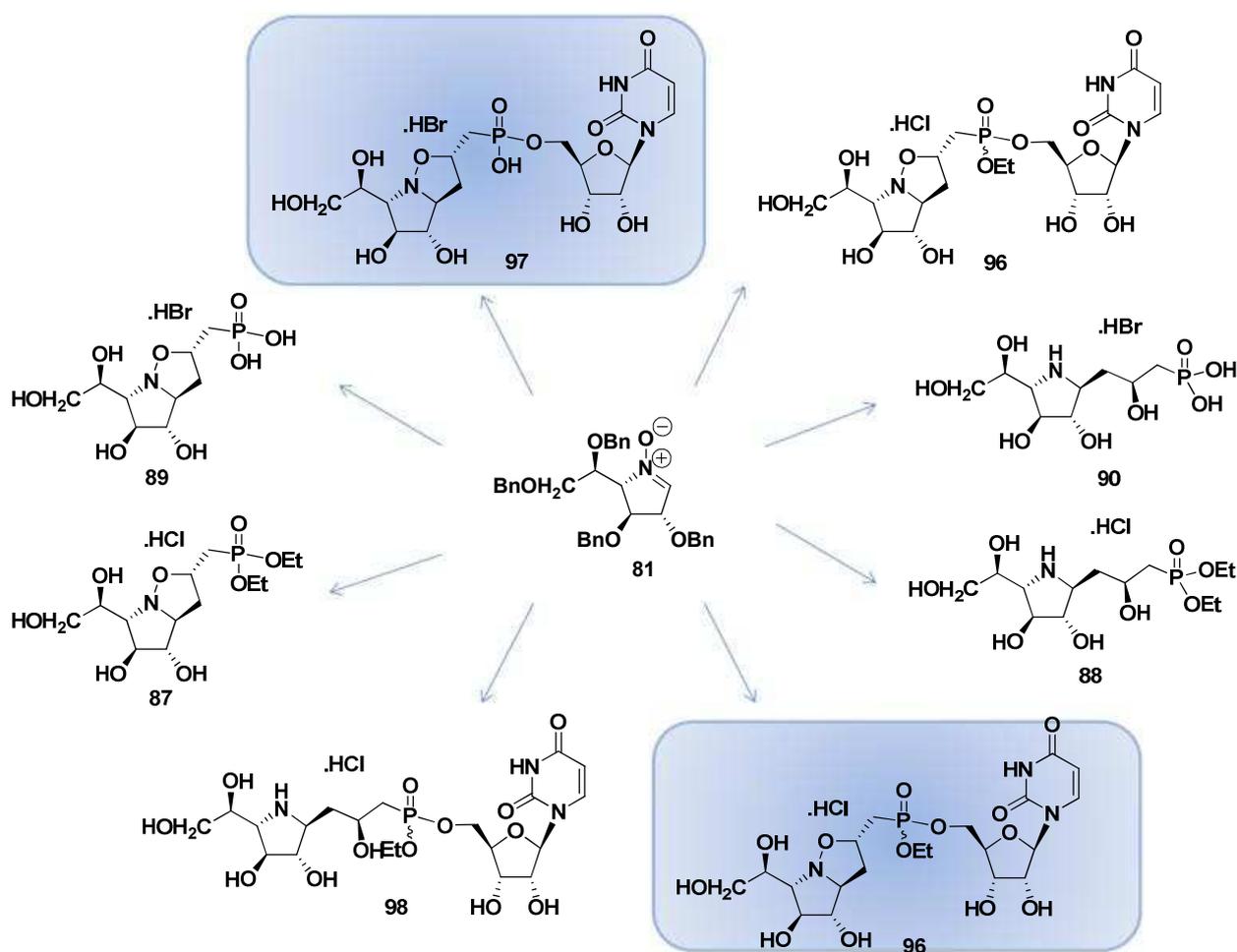


Schéma 127 : Structures des analogues  $\beta$  de l'UDP-Galf

## CHAPITRE 4 : LA SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE DISACCHARIDES DU GALF



Dans le cadre de la recherche d'inhibiteurs des galactosyltransférases mycobactériennes, nous nous sommes intéressés à deux types d'analogues de disaccharides du galactofuranose. Il s'agit d'imino-disaccharides dans lesquels le lien glycosidique entre l'unité iminosucre et l'unité sucre est soit de type oxaalkyle, soit totalement carboné ; dans ce dernier cas nous parlerons d'imino-C-disaccharides (Figure 60).

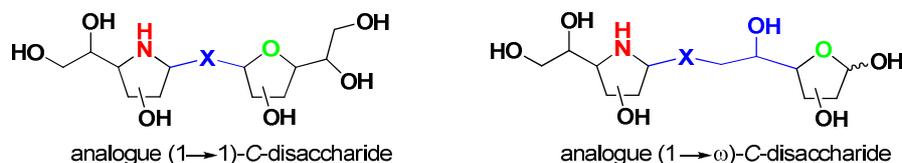


**Figure 60 :** Représentation des imino-disaccharides envisagés

Après un bref rappel des travaux préliminaires concernant les imino-C-disaccharides, nous présenterons, dans un premier temps, sur la synthèse d'imino-disaccharides avec un lien oxaalkyle. Puis, nous consacrerons la troisième partie de ce chapitre à la synthèse des imino-C-disaccharides.

## I. LES IMINO-C-DISACCHARIDES

Un imino-C-disaccharide est un analogue de disaccharide dans lequel l'une au moins des deux unités saccharidiques est remplacée par un iminosucre et le lien entre ces deux unités est entièrement carboné. Il existe deux principales classes d'imino-C-disaccharides, les analogues linéaires (Figure 61) et les analogues non linéaires (ou ramifiés).<sup>345</sup> On appelle imino-C-disaccharides linéaire les analogues de disaccharides (1→1) ou (1→6) et non linéaires les analogues (1→2), (1→3), (1→4) ou (1→5). Dans le cadre de ces travaux nous n'aborderons pas les analogues non linéaires très largement développés par l'équipe de Vogel.<sup>346,345</sup>



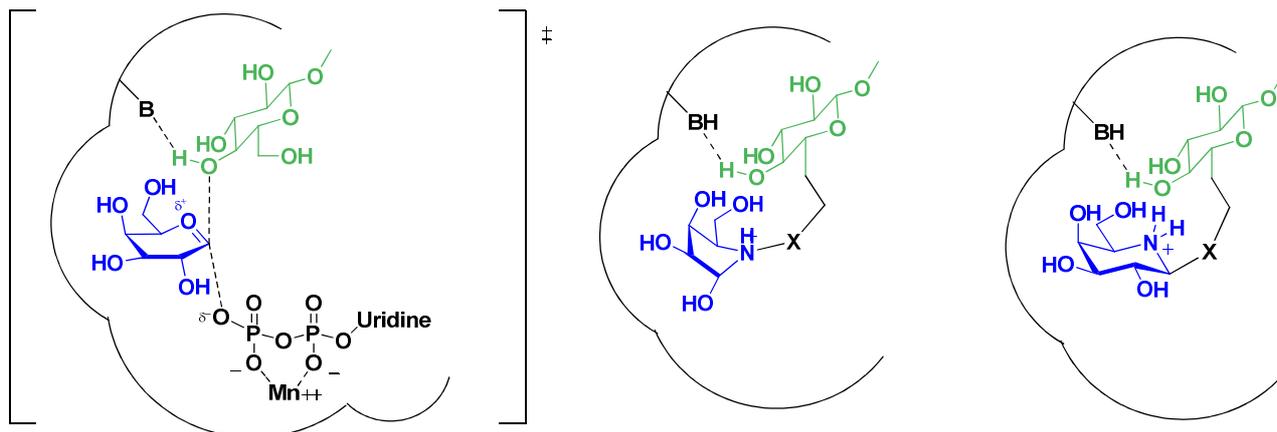
**Figure 61 :** Structures envisageables pour les imino-C-disaccharide en série hexofuranose-hexofuranose ; X : CH<sub>2</sub>, CH(OH), CHY

<sup>345</sup> Vogel, P.; Gerber-Lemaire, S.; Juillerat-Jeanneret, L., Imino-C-disaccharides and analogues: synthesis and biological activity. In *Iminosugars: From synthesis to therapeutic applications*, Compain, P.; Martin, O. R., Eds. Wiley: Chichester, 2007; pp 87-123.

<sup>346</sup> Robina, I.; Vogel, P., *Synthesis* **2005**, 675-702.

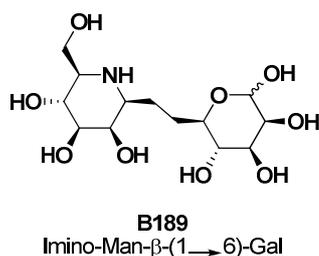
Ces molécules sont particulièrement intéressantes comme sondes mécanistiques ou inhibiteurs de glycosidases agissant sur des oligosaccharides. En effet, il a été montré qu'un iminosucre est un meilleur inhibiteur s'il possède un motif aglycone susceptible d'interagir avec le site actif de l'enzyme.<sup>347</sup> Or, un analogue de disaccharide inclut les fonctions et la stéréochimie du motif osidique auquel le substrat est normalement lié.

De plus, nous avons vu précédemment que le mécanisme des glycosyltransférases implique un état de transition similaire à celui des glycosidases. Il est donc envisageable qu'un imino-(C)-disaccharide mime également l'état de transition d'une glycosyltransférase<sup>153</sup> comme le montre la figure 62 et qu'il possède une activité inhibitrice.



**Figure 62 :** Etat de transition d'une galactosyltransférase (avec inversion) et structures des imino-(C)-disaccharide susceptibles de le mimer

En 1994, l'équipe de Johnson a synthétisé le premier imino-C-disaccharide constitué d'un iminomannitol et d'une unité galactosidique liés par deux carbones, analogue du Man- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Gal, **B189** (Figure 63).<sup>348</sup>

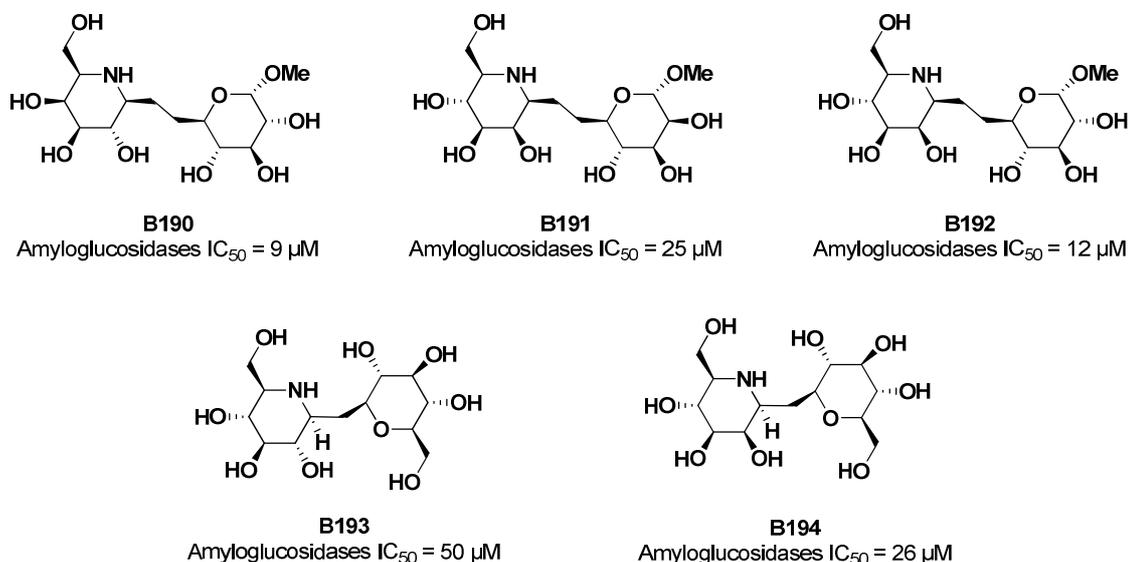


**Figure 63 :** Structures du premier imino-C-disaccharide linéaire

<sup>347</sup> Legler, G., The catalytic Efficiency of Glycoside Hydrolases and Models of the Transition State Based on Substrate Related Inhibitors. In *Carbohydrate mimics*, Chapleur, Y., Ed. Wiley, VCH: Weinheim, 1998; pp 463-487.

<sup>348</sup> Johnson, C. R.; Miller, M. W.; Golebiowski, A.; Sundram, H.; Ksebati, M. B., *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8991-8994.

Quelques années plus tard les analogues **B190** à **B192** sont synthétisés par la même équipe et montrent des inhibitions de glucosidases intéressantes, tout comme les analogues **B193** et **B194** qui possèdent un bras espaceur court de type méthylène (Figure 64).<sup>349,236</sup>



**Figure 64** : Structures des imino-C-disaccharides linéaires de l'équipe de Johnson

Depuis de nombreuses structures linéaires ont été préparées et quelques exemples sont représentés dans la figure 65.

Les équipes de Wightman, Mootoo et van Boom ont synthétisé le même type de composés que ceux décrits par Johnson en utilisant des sucres ou des iminosucres de différentes configurations et des liens à un ou deux atomes de carbone.<sup>299,350,351</sup> C'est également ce qu'ont réalisé Dondoni et Nicotra (**B201** à **B206**), néanmoins l'originalité de leurs structures provient de l'introduction de motifs furanosidiques.<sup>352,353,354</sup> Des modifications du lien reliant la partie aglycone ont également été réalisées, par notre équipe qui a préparé l'imino-C-disaccharide **B195** possédant un lien hydroxylé.<sup>355</sup>

<sup>349</sup> Johns, B. A.; Pan, Y. T.; Elbein, A. D.; Johnson, C. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4856-4865.

<sup>350</sup> Leeuwenburgh, M. A.; Picasso, S.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Vogel, P.; van Boom, J. H., *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1185-1189.

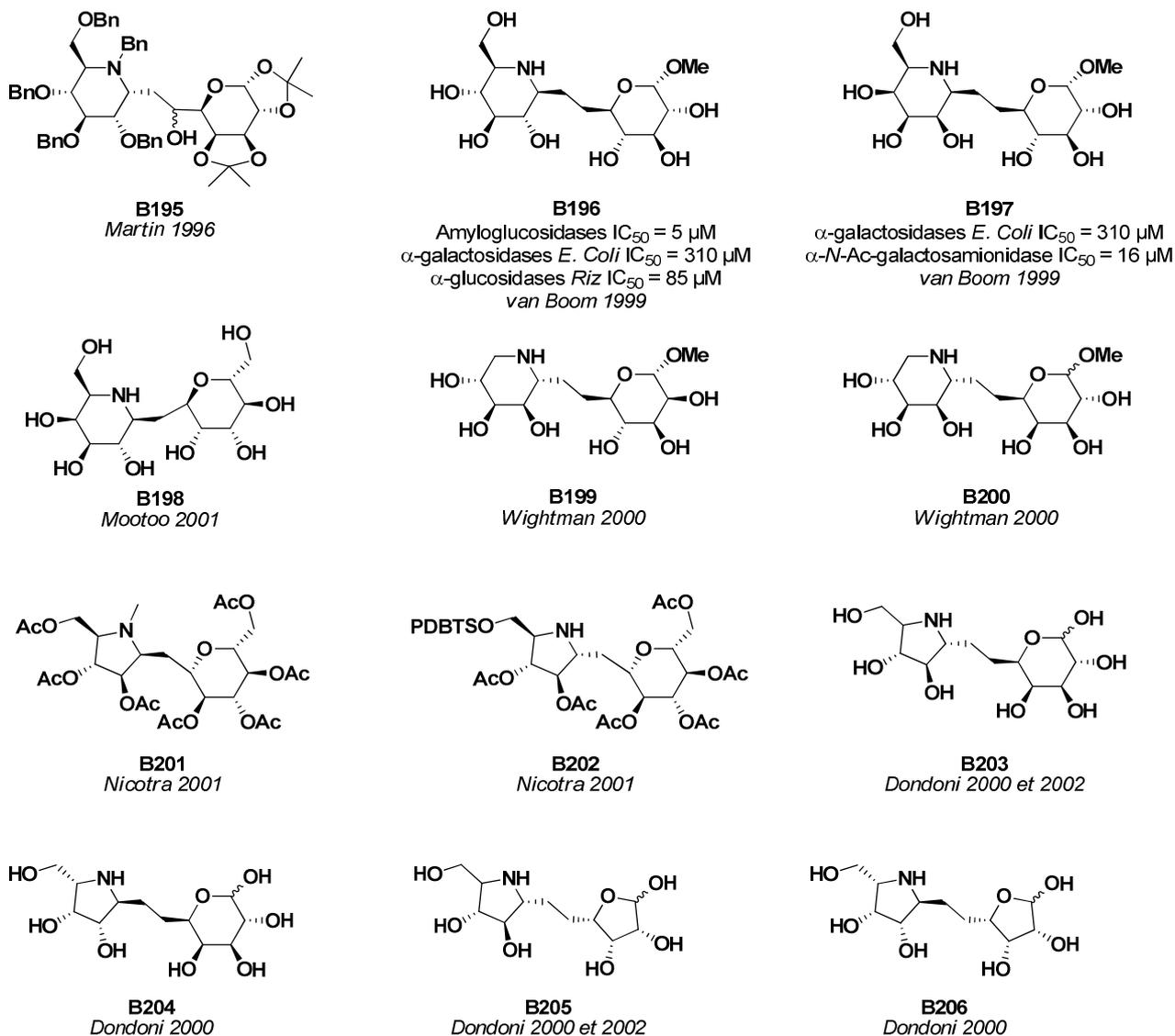
<sup>351</sup> Cheng, X.; Kumaran, G.; Mootoo, D. R., *Chem. Commun.* **2001**, 811-812.

<sup>352</sup> Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Marra, A., *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 695-6199.

<sup>353</sup> Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Perrone, D., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7203-7214.

<sup>354</sup> La Ferla, B.; Cipolla, L.; Peri, F.; Nicotra, F., *J. Carbohydr. Chem.* **2001**, *20*, 667-680.

<sup>355</sup> Martin, O. R.; Liu, L.; Yang, F., *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1991-1994.

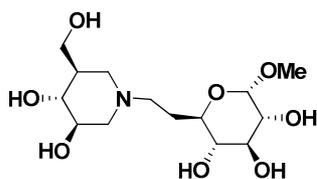


**Figure 65 :** Exemples de structures et d'activités biologiques d'imino-C-disaccharides linéaires

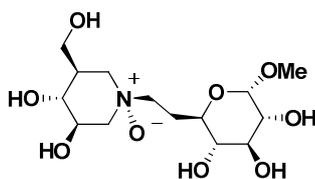
Nous citerons également une classe de composés apparentés, dans laquelle un sucre et un iminosucre sont liés par un lien entièrement carboné, ce dernier étant connecté à l'atome d'azote de l'iminosucre. La plupart des exemples ont été décrits en série « isoiminosucre » et nous parlerons d'isoimino-C-disaccharide. L'équipe de Bols et Sierk a synthétisé divers composés de cette famille comme sondes mécanistiques. En particulier, ils ont rapporté la synthèse d'un analogue de l'Isogalactosamine lié par un lien méthylène à la position 6 du glucopyranoside de méthyle **B207**, son analogue N-oxide **B208** ainsi que les analogues chargés N-méthylés **B209** et **B210** (Figure 66).<sup>356</sup> Wong et ses collaborateurs ont préparé un bon inhibiteur de  $\beta$ -galactosidases comprenant un iminofuranose lié par une chaîne à 3 carbones à une N-acétylglucosamine (Figure 66).<sup>153</sup> Pour finir, on note les travaux de Prandi et Baltas qui ont conduit à la synthèse d'hybrides iminosucre-oligoarabinofuranoside en série

<sup>356</sup> Dong, W.; Jespersen, T.; Bols, M.; Skrydstrup, T.; Sierks, M. R., *Biochemistry* **1996**, *35*, 2788-2795.

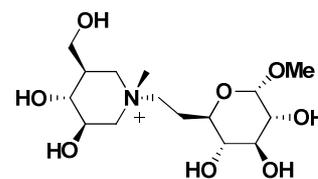
disaccharidique et tetrasaccharidique. Ces composés sont faiblement inhibiteurs d'arabinosyltransférases (Figure 66).<sup>357</sup>



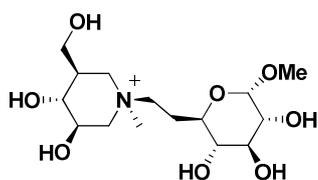
**B207**  
 $\alpha$ -glucosidases  $K_i = 59 \mu\text{M}$   
 $\beta$ -glucosidases  $K_i = 2,3 \mu\text{M}$   
 Glucoamylases  $K_i = 0,063 \mu\text{M}$   
*Bols et Sierks 1996*



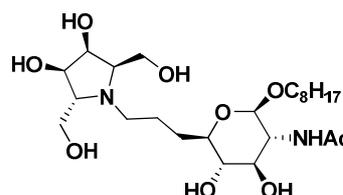
**B208**  
 $\alpha$ -glucosidases  $K_i = 70 \mu\text{M}$   
 $\beta$ -glucosidases  $K_i = 0,38 \mu\text{M}$   
 Glucoamylases  $K_i = 0,24 \mu\text{M}$   
*Bols et Sierks 1996*



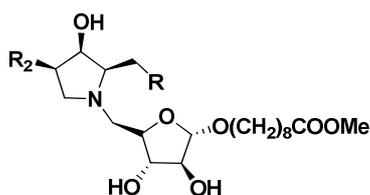
**B209**  
 $\beta$ -glucosidases  $K_i = 510 \mu\text{M}$   
 Glucoamylases  $K_i = 160 \mu\text{M}$   
 $\alpha$ -mannosidases  $K_i = 400 \mu\text{M}$   
*Bols et Sierks 1996*



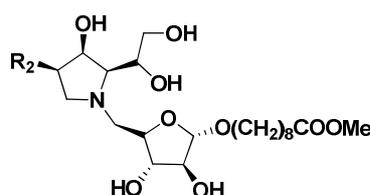
**B210**  
 $\alpha$ -glucosidases  $K_i = 280 \mu\text{M}$   
 $\beta$ -glucosidases  $K_i = 150 \mu\text{M}$   
 Glucoamylases  $K_i = 94 \mu\text{M}$   
*Bols et Sierks 1996*



**B211**  
 $\alpha$ -mannosidases  $K_i = 1,7 \mu\text{M}$   
 $\beta$ -galactosidases  $K_i = 33 \mu\text{M}$   
*Wong 2000*



**B212**  
 % inhibition des Arabinosyltransférases à 4mM  
 R = Me, R2 = OH : 80%  
 R = OH, R2 = OH : 80%  
 R = OH, R2 = F : 58%  
*Prandi 2003*

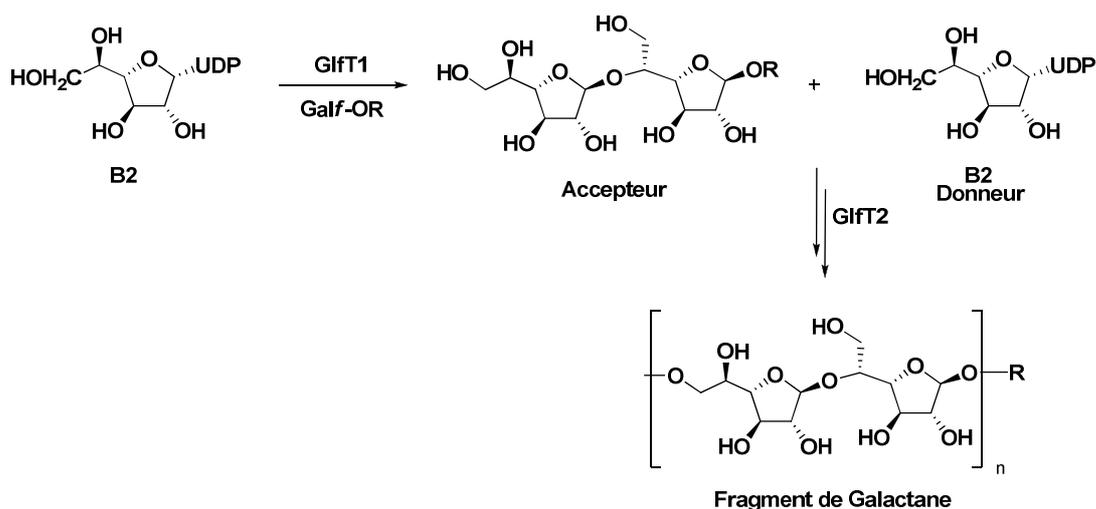


**B213**  
 % inhibition des Arabinosyltransférases à 4mM  
 R2 = OH : 47%  
 R2 = F : 59%  
*Prandi 2003*

**Figure 66 :** Exemples de structures et d'activités biologiques d'isoimino-C-disaccharides

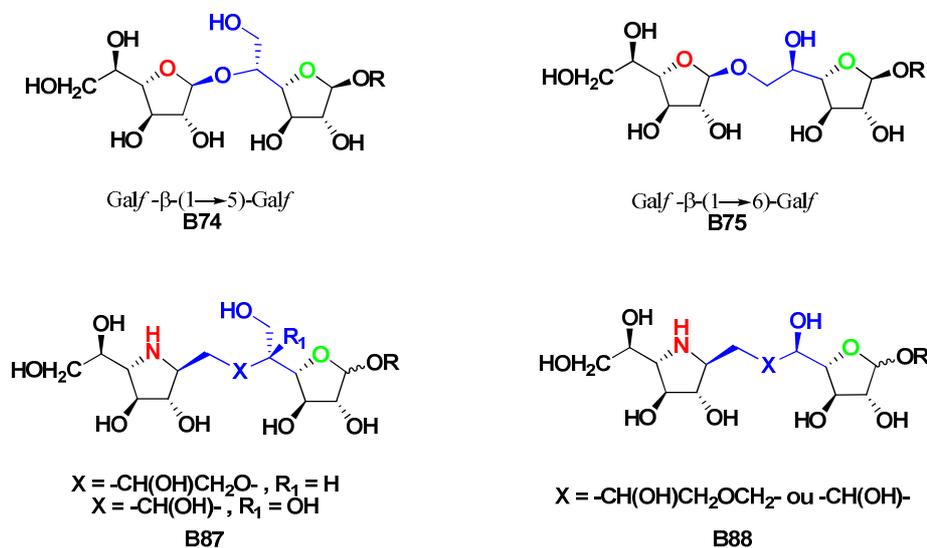
Dans le cadre de la recherche d'inhibiteurs des glycosyltransférases mycobactériennes, nous avons envisagé, comme Prandi quelques années auparavant,<sup>357</sup> de synthétiser des mimes de disaccharides du Galf comme analogues d'accepteur. Les Galf transférases permettent l'assemblage d'unités galactofuranosidiques pour former les galactanes en utilisant comme donneur l'UDP-Galf (Schéma 128).

<sup>357</sup> Marotte, K.; Ayad, T.; Génisson, Y.; Besra, G. S.; Baltas, M.; Prandi, J., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2557-2565.



**Schéma 128:** Biosynthèse des galactanes catalysée par les Galf transférases

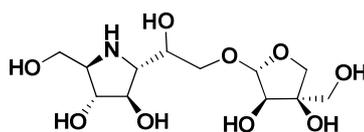
Les composés proposés pourraient être des inhibiteurs potentiels de cette famille d'enzymes. Pour cela nous avons envisagé de mimer le galactose non réducteur par le motif iminogalactitol ; quant au galactose réducteur il peut être conservé ou remplacé par un motif plus simple, un pentofuranose de même configuration en C-2, C-3 et C-4, le L-arabinose. Ces enzymes étant bifonctionnelles, l'idée est de préparer des analogues avec un lien mimant l'enchaînement  $\beta$ -(1→5) ou  $\beta$ -(1→6). De manière à élargir la diversité structurale, deux types de lien sont envisagés, des liens oxaalkyles et un lien totalement carboné (**B87**, **B88** Figure 67).



**Figure 67 :** Structures des imino-disaccharides envisagés comme analogues des composés **B74** et **B75**

Les composés envisagés constituent également des analogues d'un imino-disaccharide furanosidique naturel (**B214**) isolé en 1997; ce composé est un inhibiteur de  $\beta$ -galactosidases ( $\text{IC}_{50} = 1,6 \mu\text{M}$ ) (Figure 68).<sup>358,359,360,361</sup>

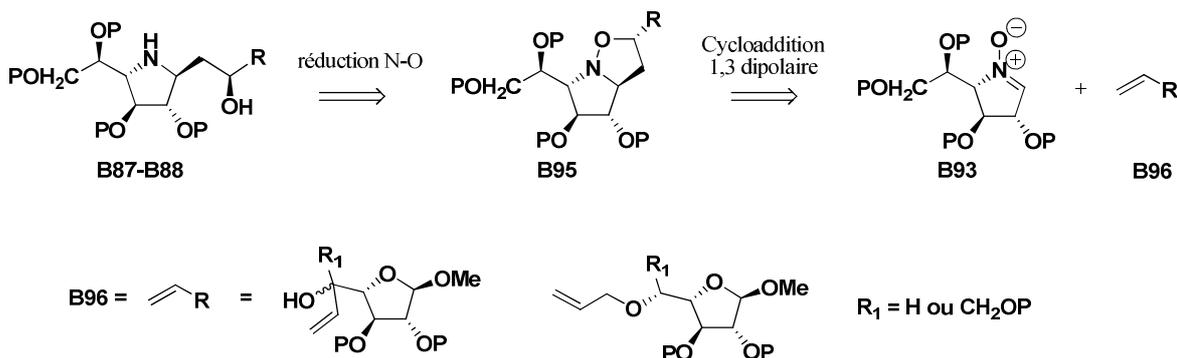
<sup>358</sup> Watson, A. A.; Fleet, G. W. J.; Asano, N.; Molyneux, R. J.; Nash, R. J., *Phytochemistry* **2001**, 56, 265-295.



Homo-DMDP-7-O-apioside  
 $\beta$ -galactosidase  $IC_{50} = 1,6 \mu M$   
**B214**

**Figure 68** : Structures de l'imino-disaccharide naturel **B214**

Afin d'atteindre nos objectifs nous nous sommes appuyés sur la méthodologie précédemment développée et exposée. Les imino-disaccharides **B87** et **B88** seront obtenus par réduction de la liaison N-O de l'isoxazolidine correspondante **B95** (Schéma 129). Cette dernière sera issue d'une cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitrone cyclique de sucre **B93** et une oléfine à charpente saccharidique **B96**. L'usage d'un dipolarophile chiral nous permet d'envisager une double induction asymétrique ce qui peut être favorable ou défavorable à la stéréosélectivité de l'addition. Cette méthodologie a déjà été utilisée par l'équipe de Wightman pour l'élaboration d'imino-C-disaccharides avec un contrôle de la stéréochimie en position pseudo-anomérique de l'iminosucre.<sup>294</sup>



**Schéma 129**: Rétrosynthèse envisagée

La première partie de ce chapitre sera consacrée à la synthèse d'imino-disaccharides possédant un lien  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5) puis  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) de type oxaalkyle. Dans une deuxième partie nous nous concentrerons sur l'élaboration d'analogues disaccharidiques possédant un lien carboné.

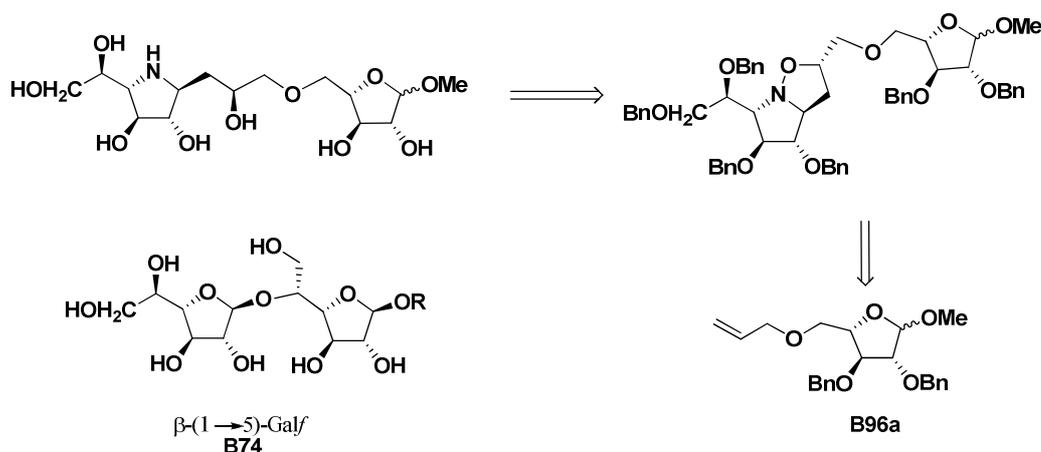
<sup>359</sup> Watson, A. A.; Nash, R. J.; Wormald, M. R.; Harvey, D. J.; Dealler, S.; Lees, E.; Asano, N.; Kizu, H.; Kato, A.; Griffiths, R. C.; Cairns, A. J.; Fleet, G. W. J., *Phytochemistry* **1997**, *46*, 255-259.

<sup>360</sup> Kato, A.; Adachi, I.; Miyauchi, M.; Ikeda, K.; Komae, T.; Kizu, H.; Kameda, Y.; Watson, A. A.; Nash, R. J.; Wormald, M. R.; Fleet, G. W. J.; Asano, N., *Carbohydr. Res.* **1999**, *316*, 95-103.

<sup>361</sup> Asano, N.; Kuroi, H.; Ikeda, K.; Kizu, H.; Kameda, Y.; Kato, A.; Adachi, I.; Watson, A. A.; Nash, R. J.; Fleet, G. W. J., *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1-8.

## II. SYNTHÈSE D'IMINO-DISACCHARIDES POSSEDANT UN LIEN GLYCOSIDIQUE OXAALKYLE

Les deux dipolarophiles nécessaires à la réaction portent un groupe allyle sélectivement introduit en position O-5 ou en O-6 du motif galactofuranosidique. Toutefois, afin de juger de la faisabilité de l'étape clé, nous avons, en premier lieu, réalisé une étude modèle de la cycloaddition avec un dipolarophile plus facilement accessible, le 5-*O*-allyl-L-Araf, **B96a**. Ce partenaire de configuration L-Araf est l'analogue pentofuranose du D-galactofuranose et permettra la synthèse d'un analogue simple du disaccharide **B74** (Schéma 130).



**Schéma 130** : Rétrosynthèse envisagée pour l'étude modèle de la cycloaddition 1,3-dipolaire

L'équipe de Lowary a préparé des analogues d'accepteurs possédant un sucre réducteur de configuration L-arabino ce qui semble préjudiciable à l'activité des composés, nous avons donc choisi d'utiliser cet analogue du Galf pour mimer le sucre non réducteur.<sup>118</sup>

### II.1. ÉTUDE MODÈLE

La synthèse de la nitrone **81** a été décrite dans le chapitre précédent. La synthèse du dipolarophile a été effectuée en s'appuyant sur les synthèses de Tadahiro et de Rizzacasa.<sup>362,363</sup> Le L-arabinose commercial est converti en L-arabinofuranoside de méthyle dans des conditions classique de glycosylation de Fischer, puis l'alcool primaire est immédiatement protégé de façon sélective avec un groupement trityle (Schéma 131). Nous obtenons ainsi le composé **100** sous forme d'un mélange  $\alpha/\beta$  1/2,25. Le diastéréoisomère de configuration  $\beta$  étant majoritaire et les composés séparables, la synthèse a été poursuivie avec cet épimère. Les hydroxyles libres sont ensuite benzylés dans des conditions classiques puis le

<sup>362</sup> Hiromichi, S.; Tadahiro, I., *Chem. Pharm. Bull.* **1968**, *16*, 1129-1132.

<sup>363</sup> Cuzzupe, A. N.; Di Florio, R.; Rizzacasa, M. A., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4392-4398.

groupe trityle est clivé en milieu acide. Nous obtenons ainsi le composé **101**, précurseur du dipolarophile attendu, avec un bon rendement de 72%.

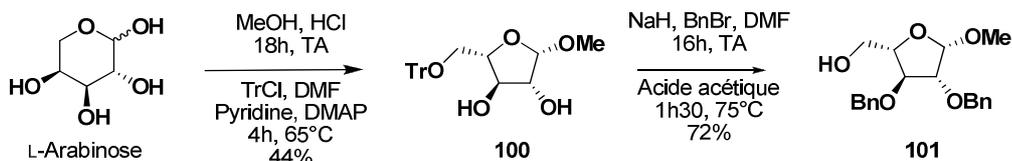


Schéma 131 : Synthèse du L-arabinofuranoside de méthyle **101**

Le dipolarophile **102** est obtenu de façon efficace par allylation de l'hydroxyle primaire du composé **101** en présence de bromure d'allyle et d'hydruire de sodium dans le DMF (Schéma 132).<sup>364</sup>

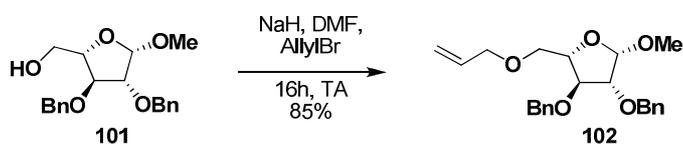


Schéma 132 : Obtention du dipolarophile **102**

La cycloaddition 1,3 dipolaire modèle entre la nitronne de sucre **81** et le 5-O-allyl-L-Araf **102** a été réalisée dans les conditions identiques à celles précédemment décrites (tétrachloroéthylène, 80°C pendant une nuit) et conduit à la formation d'un mélange de stéréoisomères en proportions 10/1. L'isomère majoritaire, le composé **103** a été isolé pur avec un rendement de 44%, et il a donc été totalement caractérisé (Schéma 133). En revanche, malgré nos efforts, le second isomère n'a pu être purifié.

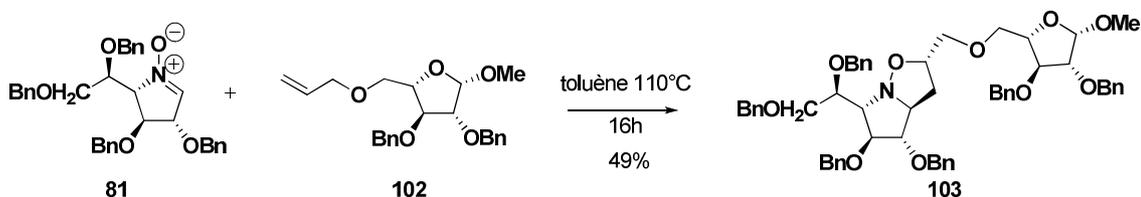
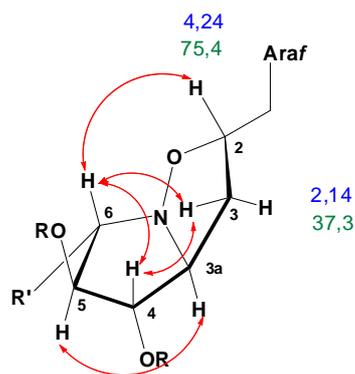


Schéma 133 : Synthèse de la pyrrolidino-isoxazolidine **103**

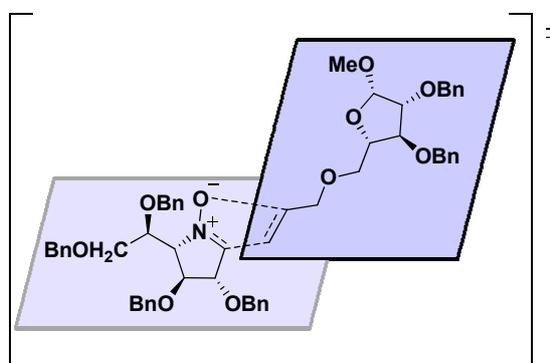
La régiosélectivité de l'addition est très bonne puisque les deux composés identifiés ne sont pas des régioisomères au vu des déplacements chimiques de H-2/H-3 puis C-2/C-3 en RMN du proton et du carbone. La configuration des deux nouveaux centres stéréogènes a pu être déterminée grâce aux connectivités visibles sur le spectre RMN NOESY. Celui-ci révèle des interactions dipolaires caractéristiques comme le montre la figure 69.

<sup>364</sup> Dubber, M.; Sperling, O.; Lindhorst, T. K., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 3901-3912.



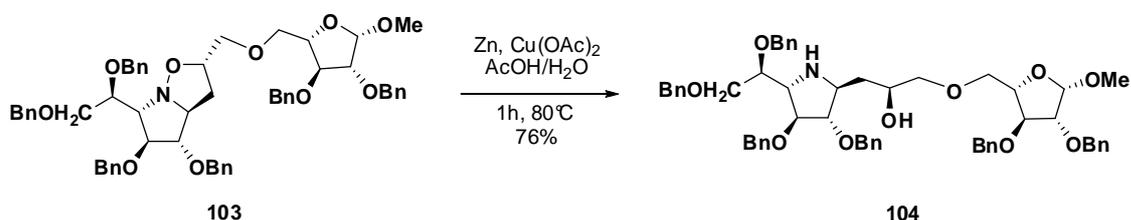
**Figure 69 :** Interactions dipolaires observées et déplacements chimiques (ppm) en RMN  $^{13}\text{C}$  (Vert) et  $^1\text{H}$  (Bleu) pour le bicyclic **103**.  $R=\text{Bn}$  et  $R'=\text{CH}(\text{OBn})\text{CH}_2\text{OBn}$

La cycloaddition 1,3-dipolaire a donc majoritairement lieu selon un mode d'addition *exo-anti* en accord avec les modèles prédictifs (Figure 70).



**Figure 70 :** Etat de transition *exo* de la formation du cycloadduit **103**.

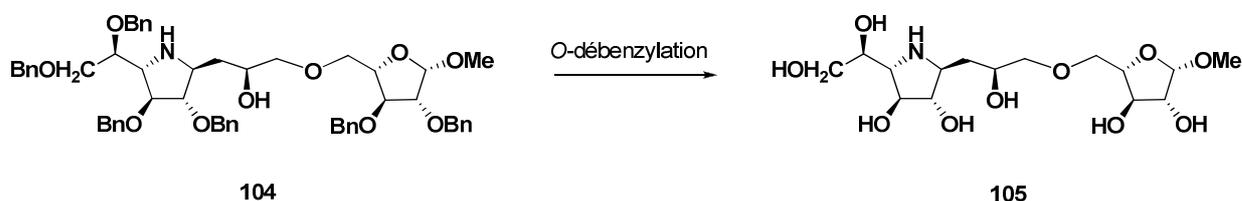
Bien que cette addition ne soit pas totalement diastéréosélective elle conduit tout de même au produit **103** attendu de façon majoritaire. Nous avons donc poursuivi avec la réduction de liaison N-O en présence de zinc et d'acétate de cuivre, ce qui nous a permis d'isoler l'imino-disaccharide protégé **104** avec un bon rendement (Schéma 134).



**Schéma 134**

La dernière étape permettant l'accès à notre premier imino-disaccharide est la déprotection des éthers de benzyle. A notre surprise cette étape s'est avérée être la plus problématique. Dans un premier temps nous avons réalisé un essai de déprotection en présence de trichlorure de bore. Cependant, la réaction en milieu fortement acide a conduit à l'hydrolyse partielle du glycoside de méthyle et donc à un mélange complexe de produits fortement polaires et inséparables (Tableau 28, essai 1). Malgré les difficultés engendrées par la présence d'une

amine secondaire, nous nous sommes donc réorientés vers l'hydrogénolyse des éthers benzyliques en présence de palladium. Que l'on utilise du palladium sur charbon, du palladium amorphe ou encore de l'hydroxyde de palladium, nous n'observons qu'une débenzylation partielle (Tableau 28, essai 2 à 8). L'acidification du milieu pour essayer de protoner l'amine secondaire, conduit principalement à de la dégradation. La réduction mono-électronique des éthers benzyliques dans les conditions de Birch ne permet qu'une débenzylation partielle en 4h.<sup>365</sup> Finalement, l'hydrogénolyse en présence de Nickel de Raney, a permis d'isoler l'imino-disaccharide **105** avec un faible rendement non optimisé de 39% (tableau 28, essai 10). Cependant, le produit final **105** est présent sous forme d'un mélange en proportion 5,5/1 avec une impureté non identifiable et non séparable malgré divers essais de purification sur gel de silice phase inverse C-18 (H<sub>2</sub>O) et sur gel de silice avec un éluant ternaire CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 7/4/0,6.



Essai	Conditions	Résultat	Rendement
1	BCl <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0°C, 16h	Dégradation + produit attendu	-
2	H <sub>2</sub> , EtOH, Pd/C, AcOH (2 gouttes) 72h, TA	Hydrogénolyse partielle	-
3	H <sub>2</sub> , AcOH, Pd/C, 24h, TA	Dégradation	-
4	H <sub>2</sub> , EtOH, Pd/C, Pd amorphe, 24h, TA	Produit de départ	-
5	H <sub>2</sub> , EtOH, Pd/C, Pd amorphe, AcOH (4 gouttes), 24h, TA	Produit de départ + coupure du glycoside	-
6	H <sub>2</sub> , MeOH, HCl, Pd(OH) <sub>2</sub> /C 10atm, 16h	Hydrogénolyse partielle	-
7	H <sub>2</sub> , MeOH, HCl (2x), Pd(OH) <sub>2</sub> /C 10atm, 16h	Dégradation	-
8	H <sub>2</sub> , MeOH, HCl, Pd(OH) <sub>2</sub> /C 10atm, 10 jours	Hydrogénolyse partielle	-
9	Na, NH <sub>3</sub> , THF, éthylamine, 4h, -78°C	Déprotection partielle	-
<b>10</b>	<b>H<sub>2</sub>, MeOH, Ni Raney, 48h, 40°C</b>	<b>105</b>	<b>39%</b>

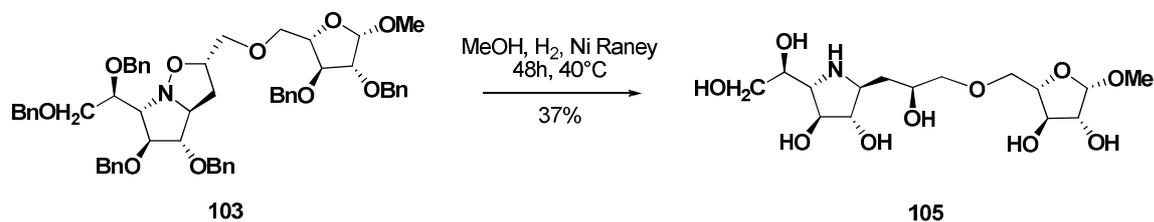
**Tableau 28** : Différents essais de déprotection de l'imino-disaccharide **104**

Le Nickel de Raney étant également connu pour cliver les liaisons hétéroatome-hétéroatome nous avons réalisé les deux dernières étapes en un pot à partir du composé **103**.<sup>366,335</sup> La

<sup>365</sup> Martin, O. R.; Szarek, W. A., *Carbohydr. Res.* **1984**, *130*, 195-219.

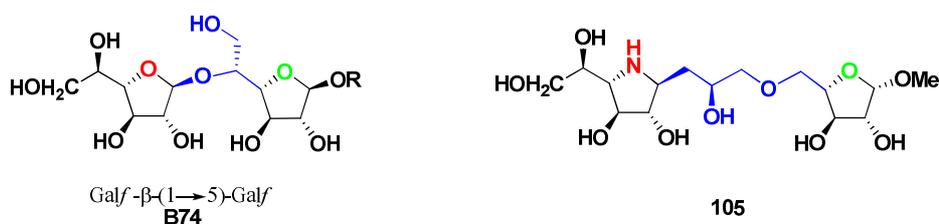
<sup>366</sup> Purrington, S. T.; Sheu, K.-W., *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3289-3292.

coupure de la liaison N-O et la déprotection des hydroxyles a ainsi permis d'isoler le produit **105** avec un rendement de 37% non optimisé (Schéma 135). Cependant l'imino-disaccharide est toujours isolé en mélange avec 7% d'une impureté.



**Schéma 135 : Synthèse de l'imino-disaccharide 105**

L'étape clé de cycloaddition 1,3-dipolaire a permis l'accès à un précurseur d'imino-disaccharide simple analogue du disaccharide Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-Galf (Figure 71). Cette stratégie nous a permis d'obtenir rapidement et majoritairement l'iminosucre de configuration  $\beta$  similaire à celle de l'enchaînement galactofuranosidique au sein des galactanes de la paroi mycobactérienne.

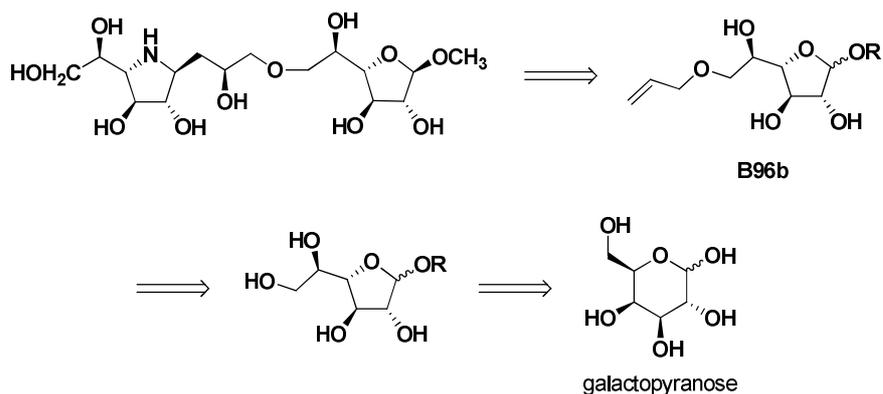


**Figure 71 : Analogie structurale entre l'imino-disaccharide 105 et le composé B74**

Dans le but de préparer des analogues plus proches des oligosaccharides naturels, nous nous sommes intéressés, dans la suite de ces travaux, à la synthèse et l'utilisation de dipolarophiles de configuration issus du galactofuranose.

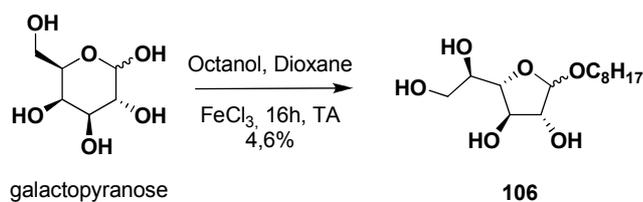
## II.2. SYNTHÈSE D'UN ANALOGUE DU Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galf

Du fait des difficultés inattendues rencontrées dans la partie précédente pour la débenzylation finale, l'étude a été réalisée avec les dipolarophiles de configuration *galacto* non protégés (Schéma 136). Pour cela, nous avons tout d'abord envisagé la synthèse du 6-*O*-allyl-D-Galf **B96b** à partir du D-galactopyranose commercial.



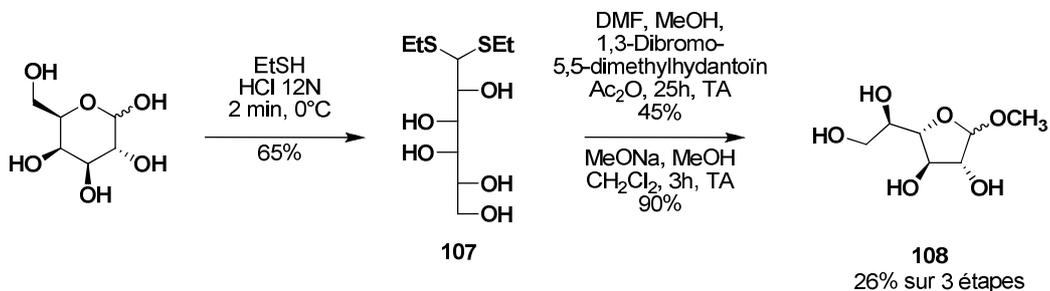
**Schéma 136** : Rétrosynthèse envisagée pour l'accès au composé **113**

Il a été difficile de mettre au point une synthèse efficace du motif galactofuranosidique. Pour commencer, nous avons appliqué les conditions de Plusquellec<sup>156</sup> optimisées pour la synthèse du glucofuranose, comme décrit dans le chapitre 2 de ce manuscrit. Cependant, nous n'avons pu isoler que 4,6% du galactofuranosyle d'octyle sous forme d'un mélange de deux anomères (Schéma 137).



**Schéma 137**

Nous avons alors envisagé le passage par le dithioacétal de diéthyle du galactose. Ce dernier a pu être préparé avec un rendement de 65%.<sup>158</sup> La coupure du dithioacétal en présence d'une source de bromonium, la 1,3-dibromo-5,5-diméthylhydantoïne, dans le méthanol suivie de la peracétylation a conduit au galactofuranoside de méthyle peracétylé avec un rendement moyen.<sup>163</sup> Enfin, le composé **108** a été obtenu, après la transestérification des acétates, sous forme d'un mélange d'anomères en proportion  $\alpha/\beta$  1/3, avec un rendement global de 26% (Schéma 138).<sup>367</sup>



**Schéma 138**

<sup>367</sup> Bai, Y.; Lowary, T. L., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9658-9671.

Dans le but de réduire le nombre d'étapes de protection-déprotection nous avons tenté une dernière voie de synthèse qui consiste en la glycosylation du D-galactose en milieu alcoolique et en présence de chlorure de fer.<sup>164</sup> Cette méthode nous a permis d'isoler le composé **108** sous forme d'un mélange d'anomères dans des proportions  $\alpha/\beta$  1/2,3 avec un rendement de 34% (Schéma 139). Les deux anomères **108 $\alpha$**  et **108 $\beta$** , ont pu être séparés sur gel de silice.

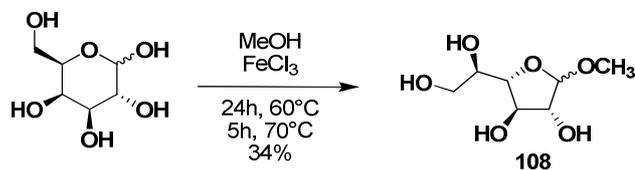


Schéma 139

Une fois le composé **108 $\beta$**  préparé nous avons choisi d'allyler régiosélectivement l'alcool primaire en position 6. La formation du dérivé 5,6-*O*-dibutylstannylidène en présence d'oxyde de dibutyl étain au reflux du toluène avec distillation azéotropique de l'eau, suivi de l'allylation dans le DMF ne nous a pas permis d'isoler le produit attendu.<sup>368</sup> L'optimisation des conditions nécessaires à la formation du stannylidène en présence de MeOH suivie par l'ouverture régiosélective dans le THF, nous a finalement conduit au dipolarophile attendu avec un rendement de 64% (Schéma 140).<sup>369,370</sup>

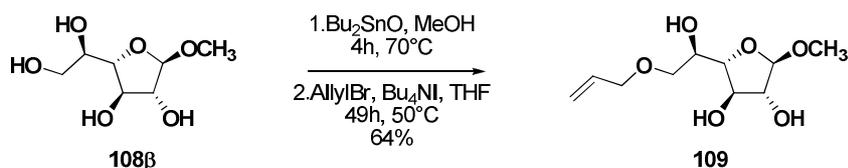


Schéma 140 : Allylation sélective du galactofuranoside **108**

Nous avons poursuivi cette synthèse en réalisant la cycloaddition entre la nitroène **81** et l'oléfine **109** (Schéma 141). Malgré des difficultés de solubilité dans le toluène, nous avons isolé un cycloadduit majoritaire. Cependant, lors de la purification, le produit traîne sur gel de silice, ce qui explique le faible rendement en produit isolé.

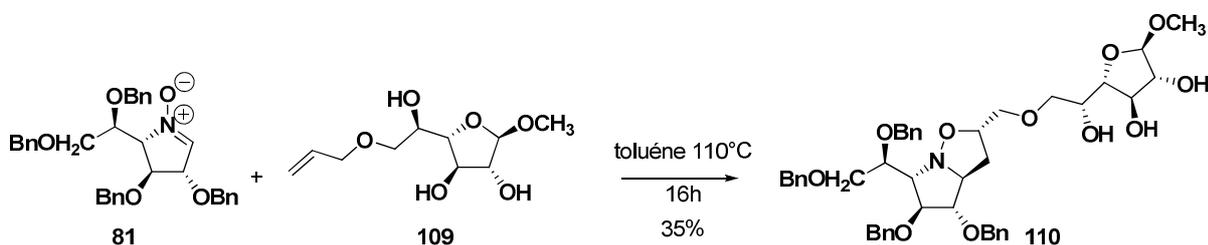


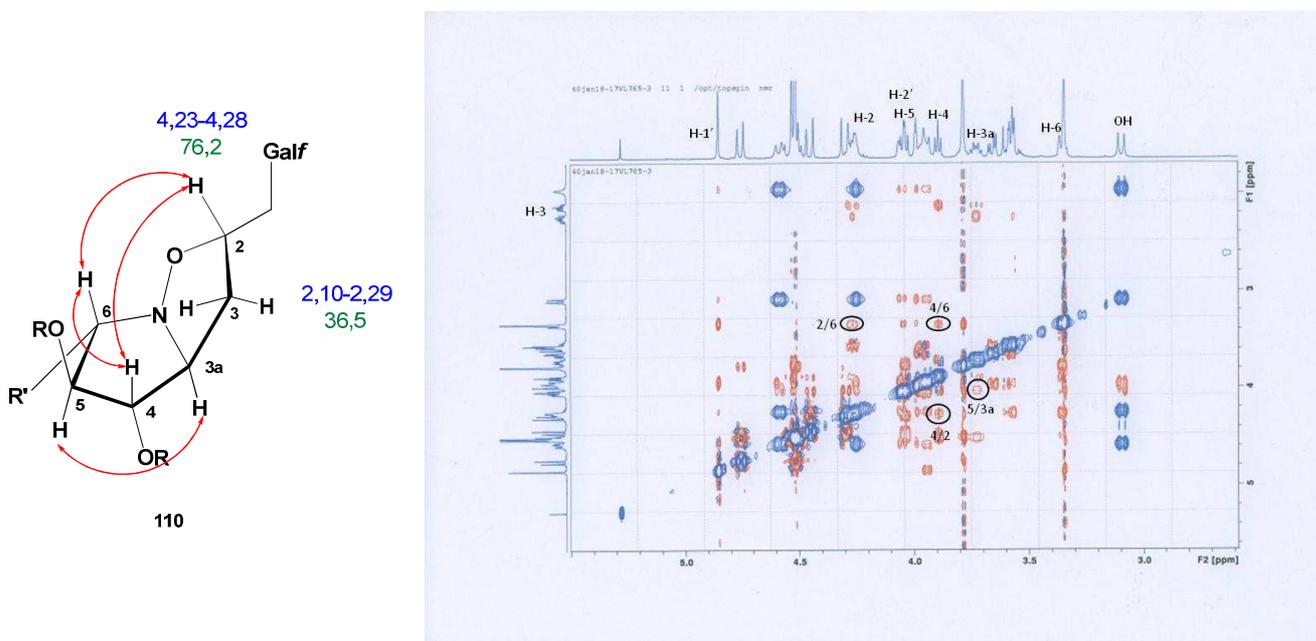
Schéma 141 : Synthèse de l'isoxazolidine **110**

<sup>368</sup> Bai, Y.; Lowary, T. L., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9672-9680.

<sup>369</sup> Wagner, D.; Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G., *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 24-30.

<sup>370</sup> Mahajan, S.; Patnaik, S.; Kumar, P.; Gandhi, R. P.; Gupta, K. C., *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4302-4309.

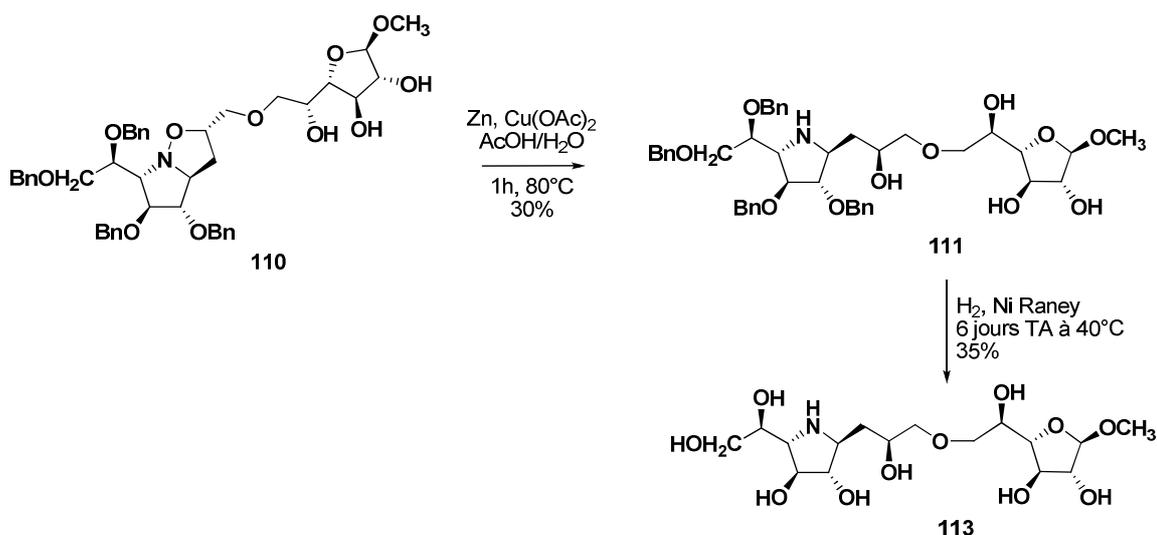
L'étude des spectres RMN à une et deux dimensions a permis d'identifier le composé isolé et ainsi de déduire la régiosélectivité et la stéréosélectivité *exo-anti* de l'addition sur la base des déplacements chimiques et des interactions dipolaires, comme précédemment (Figure 72).



**Figure 72 :** Déplacements chimiques (ppm) en RMN  $^{13}\text{C}$  (Vert) et  $^1\text{H}$  (Bleu) et interactions dipolaires observés sur le spectre NOESY pour le bicyclic **110**.  $R=\text{Bn}$  et  $R'=\text{CH}(\text{OBn})\text{CH}_2\text{OBn}$

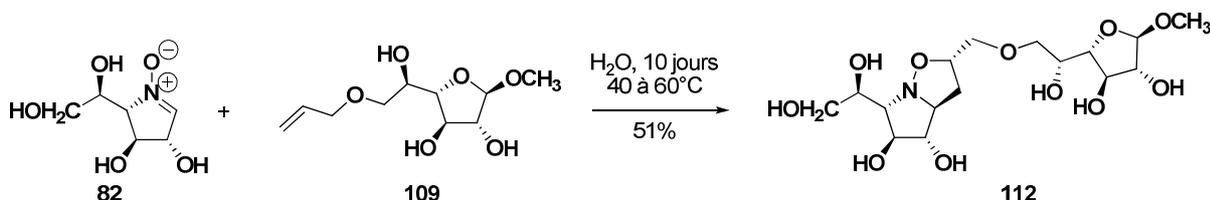
La réduction de la liaison N-O en présence de zinc et d'acétate de cuivre a conduit au produit **111** avec un faible rendement (Schéma 142). Ce résultat provient de la solubilité partielle du produit attendu **111** en phase aqueuse. Les difficultés rencontrées lors de la purification sur gel de silice contribuent également à un rendement moyen.

La déprotection des éthers de benzyle en présence de Nickel de Raney conduit avec succès au composé **113** attendu, malgré un faible rendement non optimisé.



**Schéma 142 :** Synthèse de l'imino-disaccharide **113**

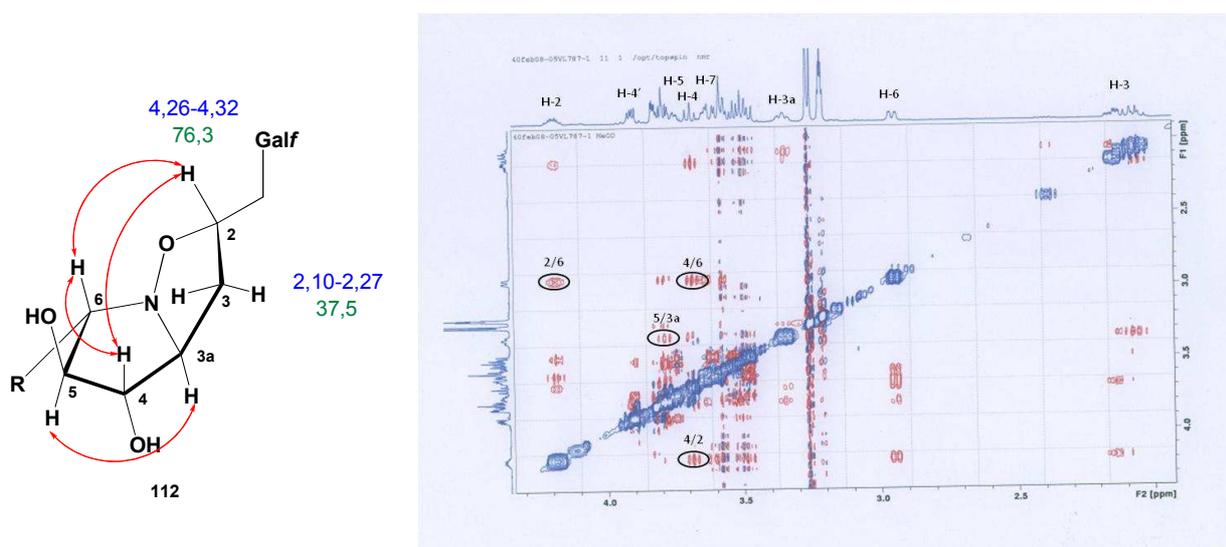
L'utilisation d'un dipolarophile non protégé n'est pas contradictoire avec la cycloaddition 1,3-dipolaire, cependant les problèmes de solubilité conduisent à de faibles rendements. Nous avons alors tenté de réaliser une cycloaddition atypique dans l'eau en présence du dipôle-1,3 déprotégé **82**. A notre connaissance les seuls exemples de cycloaddition 1,3-dipolaire réalisés avec des nitrones dans l'eau nécessitent la présence d'un additif ou d'un surfactant.<sup>371,372</sup> Dans le cas présent ceci s'est avéré inutile puisque les deux produits de départ sont solubles dans l'eau (Schéma 143).



**Schéma 143 :** Obtention de l'isoxazolidine **112** via une cycloaddition 1,3-dipolaire dans l'eau

Le composé bicyclique **112** a été synthétisé avec un rendement satisfaisant de 51%. Nous n'avons pas observé le phénomène d'accélération parfois rencontré lorsque de telles cycloadditions sont réalisées dans l'eau.<sup>373</sup> Au contraire, la conversion est à peine complète après 10 jours de réaction. Nous n'avons cependant pas jugé utile d'ajouter un additif tel que le chlorure de lithium, compte tenu des difficultés d'élimination de sels après réaction.

Le bicyclic **112** est obtenu sous forme d'un seul diastéréoisomère contenant des traces d'une impureté non identifiable. La configuration des deux nouveaux centres stéréogènes comme la régiosélectivité a pu être définie par l'étude des spectres RMN (Figure 73). Ceci confirme que la cycloaddition a également lieu selon un mode *exo-anti*.



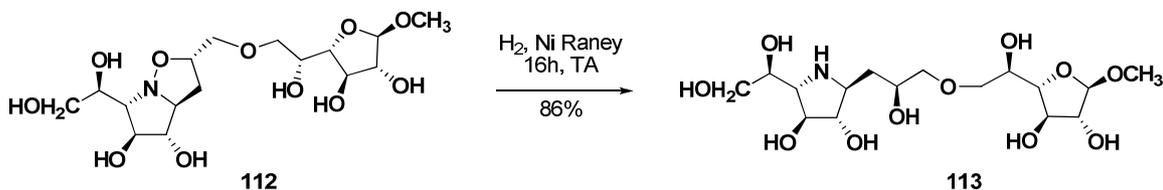
<sup>371</sup> Chatterjee, A.; Bhattacharya, P. K., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 345-348.

<sup>372</sup> Molteni, G., *Heterocycles* **2006**, *68*, 2177-2202.

<sup>373</sup> Gholami, M. R.; Yangjeh, A. H., *J. Chem. Res.* **1999**, 226-227.

**Figure 73** : Déplacements chimiques (ppm) en RMN  $^{13}\text{C}$  (Vert) et  $^1\text{H}$  (Bleu) et interactions dipolaires observés sur le spectre Noesy pour le bicyclic **112**.  $R=\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$

Le clivage de la liaison N-O a été dans un premier temps réalisée, comme précédemment, en présence de zinc et d'acétate de cuivre. Néanmoins, nous n'avons pas pu isoler convenablement le produit attendu. L'hydrogénolyse en présence de Nickel de Raney a conduit au composé **113** avec un très bon rendement de 86% (Schéma 144).



**Schéma 144** : Obtention de l'imino-disaccharide **113** à partir du bicyclic **112**

Le développement d'une stratégie utilisant la cycloaddition 1,3-dipolaire dans l'eau nous a permis d'accéder à un imino-disaccharide en seulement deux étapes à partir des monosaccharides avec un rendement global de 44%. Le composé **113** ainsi obtenu est un analogue de disaccharide GalF- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-GalF.

La synthèse d'un imino-disaccharide, analogue de type GalF- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-GalF a alors été envisagée en utilisant un 5-*O*-allyl-D-galactofuranoside.

### II.3. SYNTHÈSE D'UN ANALOGUE DU GALF- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-GALF

Afin de réaliser la cycloaddition en milieu aqueux, il nous faut tout d'abord préparer un 5-*O*-allyl-D-galactofuranoside. Pour cela, il est essentiel d'utiliser des groupements protecteurs pouvant être facilement éliminés en présence d'une double liaison, c'est pourquoi nous avons opté pour l'utilisation de groupements acétates en O-2 et O-3 et d'un trityle en O-6.

Cette synthèse nécessite dans un premier temps la protection sélective des positions 2,3 et 6 du galactofuranoside **108**. La première étape consiste donc à former un isopropylidène régiosélectivement en position 5 et 6 par transacétalisation du diméthoxypropane (Schéma 145). Celle-ci a été réalisée en présence d'une quantité catalytique d'acide camphre sulfonique (CSA) dans le DMF,<sup>374</sup> à 0°C. Une fois le dérivé **114** préparé nous avons effectué l'acétylation des hydroxyles en position 2 et 3, pour donner **125**. Dans la foulée nous avons déprotégé les hydroxyles en position 5 et 6 et obtenu le composé **116** avec un rendement de 73% sur les deux étapes. L'hydroxyle primaire est ensuite sélectivement protégé par un groupement trityle avec un bon rendement de 89%.<sup>125</sup>

<sup>374</sup> Lee, Y. J.; Lee, B.-Y.; Jeon, H. B.; Kim, K. S., *Org. Lett.* **2006**, 8, 3971-3974.

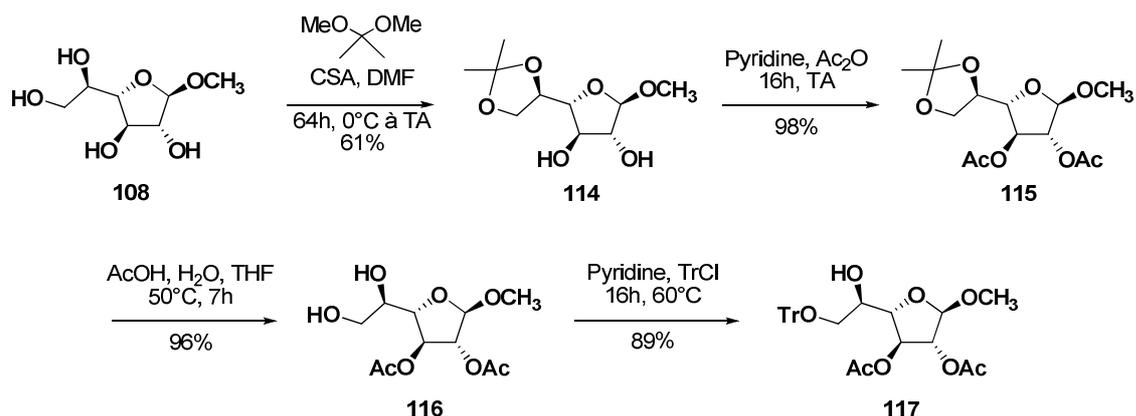
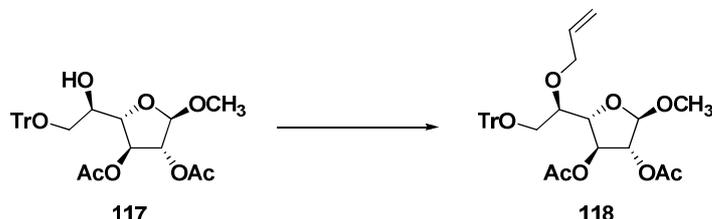


Schéma 145

L'allylation du composé **117**, qui porte des groupements acido-labiles et susceptibles de migrer dans des conditions basiques, s'est révélée délicate. Le premier essai d'allylation a été réalisé dans des conditions douces et neutres en présence de bromure d'allyle et d'oxyde d'argent. Cette réaction a permis d'isoler le dérivé 5-*O*-allylé **118** avec 23% de rendement (Tableau 29, essai 1).<sup>375</sup> L'utilisation de conditions acides avec le trichloroacétimidate d'allyle n'a conduit qu'à des traces de produit attendu (Tableau 29, essai 2).<sup>376</sup> En dernier recours, nous avons envisagé une substitution allylique pallado-catalysée de type Tsuji-Trost.<sup>377,378</sup> Cette réaction met en jeu un carbonate d'allyle qui, en présence de palladium (0) dans des conditions neutres, va générer la formation d'un complexe  $\pi$ -allyl palladium. Ce complexe réagit alors avec l'alcool pour former un éther d'allyle. Ainsi nous avons pu isoler le galactoside 5-*O*-allylé **118** avec un bon rendement de 68% (Tableau 29, essai 3).



Essai	Conditions	Rendement
1	Ag <sub>2</sub> O, KI, Toluène, AllylBr, 28h à 60°C	23%
2	Trichloroacétimidate d'allyle, TMSOTf, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , TA, 6h30	Traces
3	Carbonate d'allyle et de méthyle, Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> , THF, 4h, 65°C	68%

Tableau 29 : Différents essais de *O*-allylation de l'alcool **117**

Le mécanisme actuellement admis pour cette substitution allylique catalysée au palladium passe par l'addition oxydante réversible du carbonate d'allyle qui conduit à un premier

<sup>375</sup> Pekari, K.; Tailler, D.; Weingart, R.; Schmidt, R. R., *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7432-7442.

<sup>376</sup> Wessel, H.-P.; Iversen, T.; Bundle, D. R., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 2247-2250.

<sup>377</sup> Haight, A. R.; Stoner, E. J.; Peterson, J. M.; Grover, V. K., *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8092-8096.

<sup>378</sup> Schmidt, B.; Nave, S., *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *348*, 531-537.

complexe  $\pi$ -allyl **A**. Ce complexe **A** est alors décarboxylé pour conduire à un intermédiaire alcoxy **B** qui est en équilibre avec un complexe  $\pi$ -allyl du substrat alcoxylé **C**. L'élimination réductrice conduit au produit *O*-allylé et régénère le palladium (0), comme nous le montre le cycle catalytique suivant :

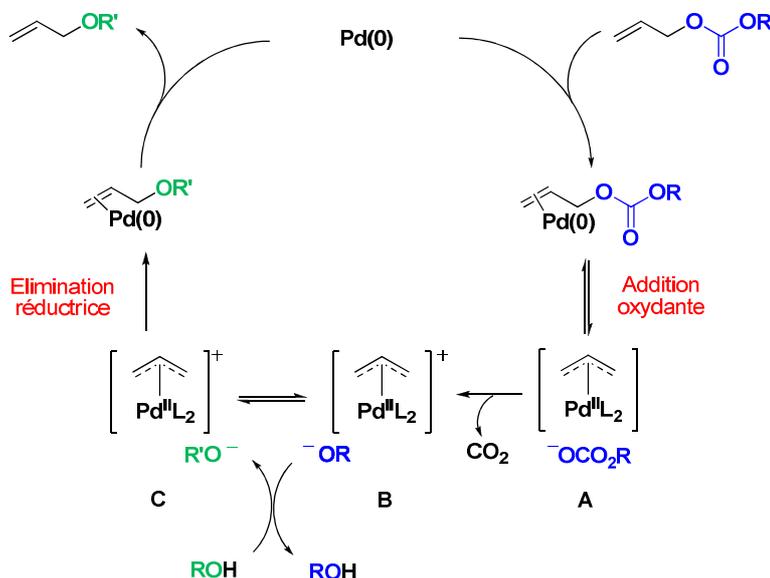


Schéma 146 : Mécanisme de la substitution allylique catalysée par le palladium<sup>379</sup>

Une fois l'éther d'allyle synthétisé, nous avons réalisé la déprotection du groupement trityle suivie de la transestérification des acétates. Nous avons ainsi obtenu le dipolarophile déprotégé **120** avec d'excellents rendements (Schéma 147).

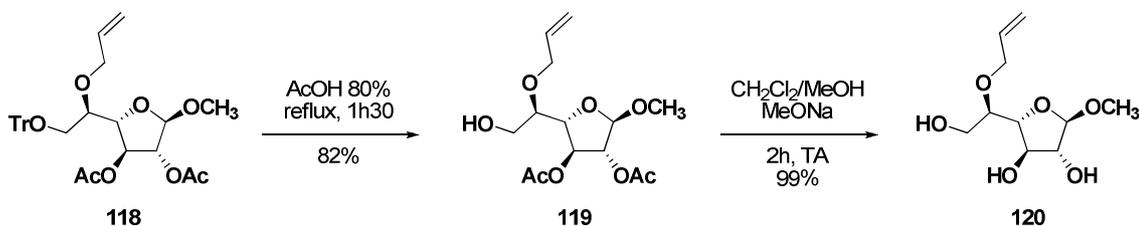


Schéma 147 : Obtention du dipolarophile **120**

Nous avons mis en réaction la nitrone **82** et le dipolarophile **120** dans l'eau pendant 5 jours à 60°C. Le composé bicyclique **121** a ainsi pu être isolé avec un bon rendement de 72%. Cependant, le composé **121** est souillé par une impureté non identifiée présente à hauteur de 3 à 5% (Schéma 148). La cycloaddition a eu lieu comme précédemment selon un mode d'addition *exo-anti* qui a pu être confirmé par les analyses RMN. L'imino-disaccharide **122**, analogue du Galf- $\beta$ (1→5)-Galf, a ensuite été préparé par réduction de la liaison N-O en présence de Nickel de Raney.

<sup>379</sup> Campagne, J.-M.; Prim, D., *Les complexes de palladium en synthèse organique*. CNRS éd.: Paris, 2001.

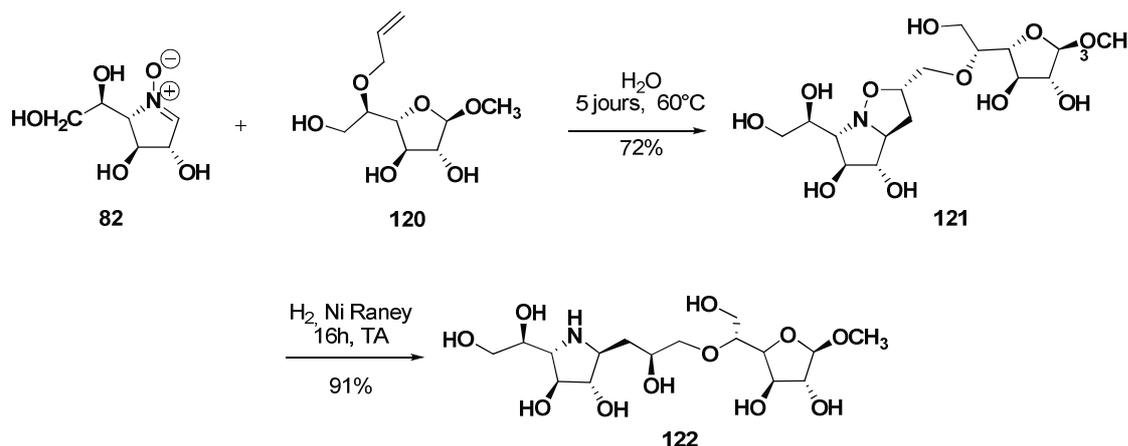


Schéma 148 : Synthèse de l'imino-C-disaccharide 122

La méthodologie de synthèse reposant sur une cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitroène cyclique de sucre et un sucre *O*-allylé dans des conditions classique ou en milieu aqueux, a permis un accès rapide et élégant à des imino-disaccharides analogues des composés **B74** et **B75** (Figure 74). Cette synthèse est réalisée avec de bons rendements et un bon régio et stéréocontrôle. De plus, la réalisation de l'étape clé dans l'eau nous a conduits à des composés bicycliques originaux et analogues des motifs disaccharidiques présents dans les galactanes.

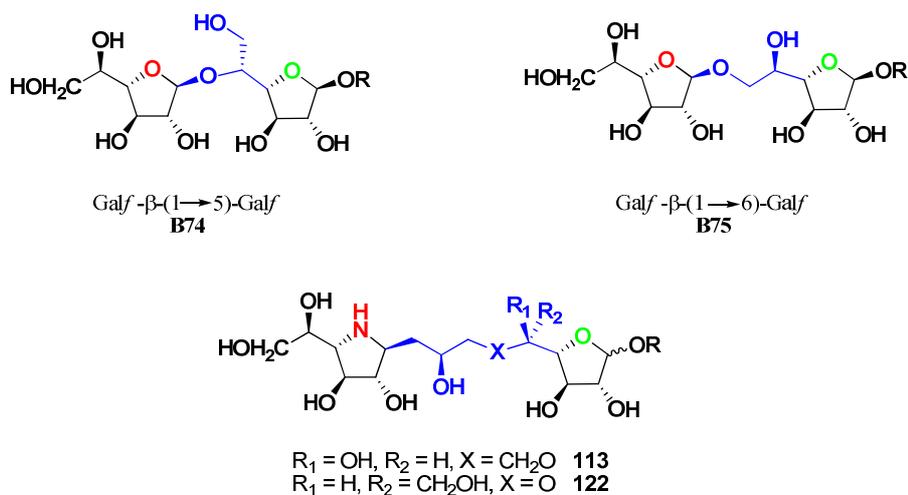
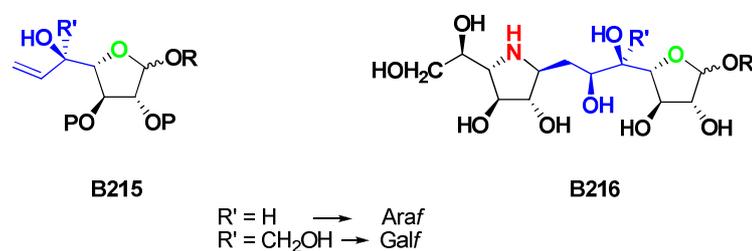


Figure 74 : Structures des composés 113 et 122 analogues des motifs GalF-GalF

Dans le but de préparer des analogues plus proches des disaccharides constituant les galactanes nous avons ensuite envisagé la synthèse d'analogues possédant un lien plus court et totalement carboné.

### III. PREPARATION D'UN IMINO-C-DISACCHARIDE

Cette approche a nécessité l'utilisation d'oléfines *gem*-disubstituées ou trisubstituées comme dipolarophiles (Figure 75).

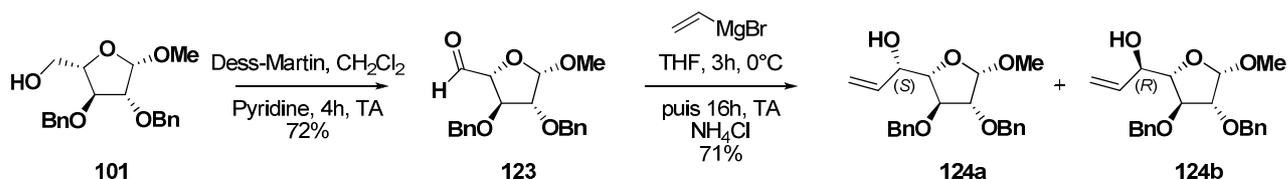


**Figure 75 :** Structures envisagées du dipolarophile **B215** et de l'imino-C-disaccharide **B216**

#### III.1. SYNTHÈSE D'UN ANALOGUE DU GALF- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-GALF

Le précurseur arabinofuranosidique **101** a été précédemment synthétisé à l'échelle de plusieurs grammes. C'est pourquoi nous avons poursuivi la synthèse avec ce substrat bien que la déprotection finale des molécules perbenzylées soit une étape délicate.

Nous avons oxydé l'alcool **101** dans des conditions classiques (Schéma 149).<sup>380</sup> A cause de problèmes de stabilité au cours de la purification, l'aldéhyde **123** obtenu a été utilisé par la suite après une simple filtration sur gel de silice. L'addition du bromure de vinylmagnésium sur l'aldéhyde **123** a conduit au composé **124** sous forme d'un mélange de deux diastéréoisomères en proportion 1/2,6 avec un bon rendement de 71%.<sup>381</sup>

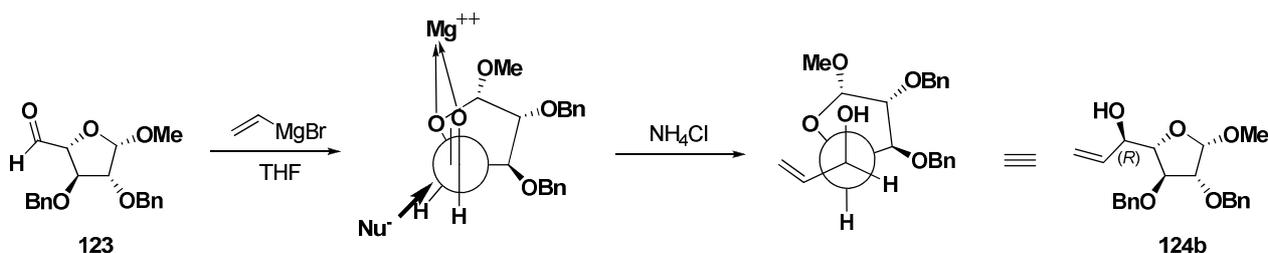


**Schéma 149 :** Synthèse du dipolarophile carboné **124**

Chaque diastéréoisomère a pu être isolé et séparément totalement caractérisé. Cependant aucun des essais de cristallisation de l'isomère majoritaire ne nous a permis d'obtenir des monocristaux pour une détermination de structure par diffraction des rayons X et seuls les modèles prédictifs d'addition sur un groupement carbonyle avec chélation nous permettent de faire l'hypothèse que l'isomère majoritaire est de configuration *R* (Schéma 150).

<sup>380</sup> Halim, R.; Brimble, M. A.; Merten, J., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1387-1399.

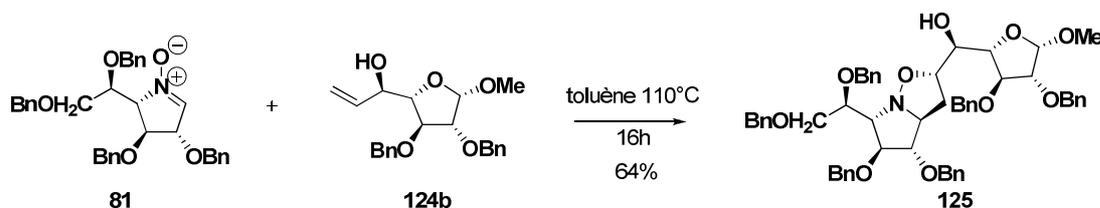
<sup>381</sup> Kaliappan, K. P.; Kumar, N., *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7461-7469.



**Schéma 150 :** Modèle prédictif de Cram chélaté pour l'addition du vinyl organomagnésien sur l'aldéhyde **123**

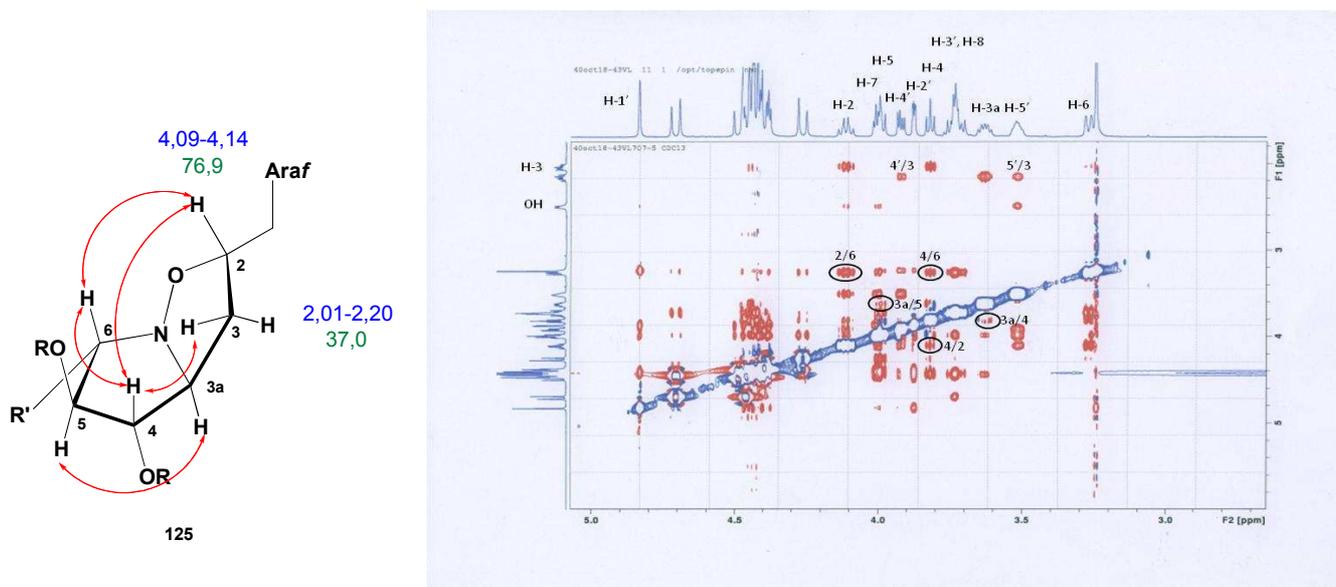
Un essai d'addition réalisé en présence d'un acide de Lewis bidentate, le bromure de magnésium, a conduit à un résultat similaire, ce qui est en accord avec le modèle chélaté.

La cycloaddition 1,3-dipolaire réalisée entre la nitroène **81** et le dipolarophile **124b** a permis l'obtention de l'isoxazolidine **125** avec un bon rendement de seulement 64% alors que la conversion est totale (Schéma 151). Nous avons pu isoler une fraction de mélange contenant des traces d'impureté non séparable et non identifiée.



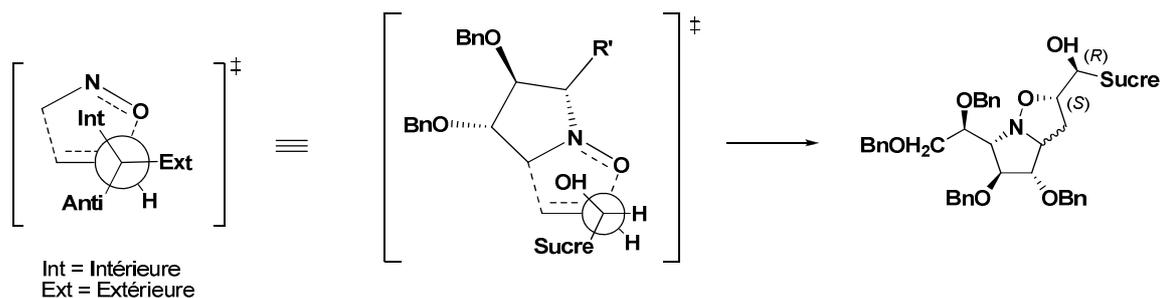
**Schéma 151 :** Synthèse de la pyrrolidino-isoxazolidine **125**

Cette étape régio et stéréosélective permet d'isoler, de nouveau, majoritairement le produit d'addition *exo-anti*, comme l'étude RMN nous l'a confirmé (Figure 76).



**Figure 76 :** Déplacements chimiques (ppm) en RMN  $^{13}\text{C}$  (Vert) et  $^1\text{H}$  (Bleu) et interactions dipolaires observés sur le spectre NOESY pour le bicyclic **125**.  $R=\text{Bn}$  et  $R'=\text{CH}(\text{OBn})\text{CH}_2\text{OBn}$

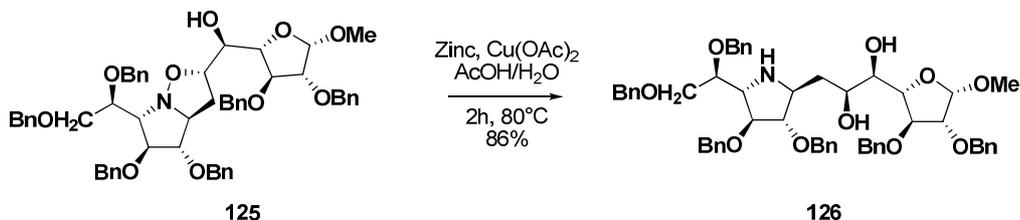
L'« inside alcoxy effect » est un concept proposé par Stork pour expliquer la stéréochimie de la dihydroxylation des  $\gamma$ -hydroxyénones.<sup>382</sup> L'équipe de Houk a ensuite développé ce concept et l'a en particulier appliqué au cas des cycloadditions 1,3 dipolaire puis il a été repris par l'équipe de Raimondi.<sup>383,384,385,386,387</sup> Dans le cas de l'utilisation d'un alcool allylique chiral comme le dipolarophile **124b**, c'est un bon outil de prédiction de la stéréosélectivité du cycloadduit. L'hypothèse développée est que dans l'état de transition, l'alcool allylique en C-5' adopte une position *intérieure* (« inside ») et le substituant alkyle en C-5' (furanoside) opte pour une position *anti* moins encombrée stériquement tel que nous le montre le schéma suivant.



**Schéma 152 :** Etat de transition prédit par l'« inside alcoxy effect » ( $R' = \text{CH}(\text{OBn})\text{CH}_2\text{OBn}$ )

La configuration absolue *R* en C-5' permet d'attribuer la configuration *S* au carbone 2. Les résultats obtenus avec ce concept sont en accord avec une approche *exo* du dipolarophile.

La réduction de liaison N-O en présence de zinc et acétate de cuivre conduit à l'obtention de l'imino-C-disaccharide protégé **126** avec un bon rendement (Schéma 153).



**Schéma 153 :** Synthèse de l'imino-C-disaccharide benzylé **126**

Enfin, l'hydrogénolyse au Nickel de Raney du composé perbenzylé **126** a permis d'isoler le produit attendu **127** avec un bon rendement de 68% (Schéma 154). Cependant, nous avons également observé des traces d'une impureté que nous n'avons pas pu séparer du composé **127**.

<sup>382</sup> Stork, G.; Kahn, M., *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 3951-3954.

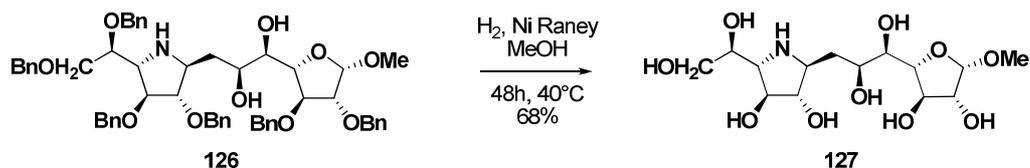
<sup>383</sup> Houk, K. N.; Moses, S. R.; Wu, Y.-D.; Rondan, N. G.; Jager, V.; Schohe, R.; Fronczek, F. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3880-3882.

<sup>384</sup> Houk, K. N.; Duh, H.-Y.; Wu, Y.-D.; Moses, S. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 2754-2755.

<sup>385</sup> Annunziata, R.; Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Raimondi, L., *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 4697-4706.

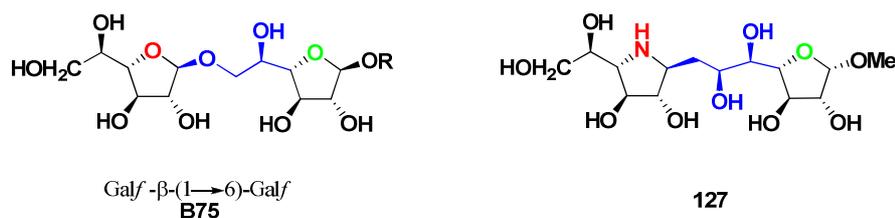
<sup>386</sup> Annunziata, R.; Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Raimondi, L., *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1823-1832.

<sup>387</sup> Houk, K. N.; Paddon-Row, M. N.; Rondan, N. G.; Wu, Y.-D.; Brown, F. K.; Spellmeyer, D. C.; Metz, J. T.; Li, Y.; Loncharich, J., *Science* **1986**, 231, 1108-1117.



**Schéma 154 :** O-débenzylation du précurseur **126**

Nous avons ainsi synthétisé un analogue proche du disaccharide Galf- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galf possédant un iminosucre comme mime du Galf non réducteur et un lien carboné mimant la liaison glycosidique  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) en terme de longueur (Figure 77).

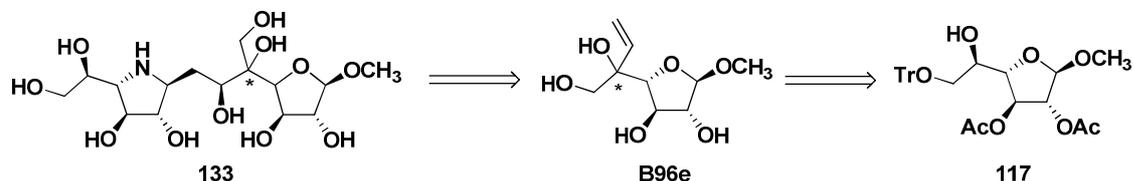


**Figure 77 :** Analogies structurales entre le composé **127** et le composé **B75**

L'oléfine **124b** ayant conduit à de bon résultats tant en terme de rendement que de stéréosélectivité, nous avons poursuivi notre approche diastéréosélective par la préparation d'un dipolarophile trisubstitué en position allylique, le dérivé 5-C-vinyl-Galf.

### III.2. SYNTHÈSE D'UN ANALOGUE DU GALF- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-GALF

Pour terminer, nous avons souhaité synthétiser un analogue d'un disaccharide Galf- $\beta$ -(1,5)-Galf possédant un lien carboné entre l'imino-galactitol et la position 5 du galactofuranose. La cycloaddition 1,3-dipolaire a été envisagée entre une oléfine telle que **B96e** et la nitronne **82** (Schéma 155). Pour cela la synthèse de l'oléfine **B96e** doit se faire en deux étapes, oxydation puis addition-1,2 d'un vinylorganométallique, à partir de l'alcool **117**.

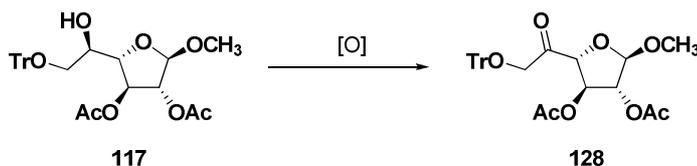


**Schéma 155 :** Rétrosynthèse envisagée pour la préparation de l'imino-C-disaccharide **133**

Dans un premier temps, nous avons réalisé deux tentatives d'oxydation dans les conditions de Swern qui n'ont pas conduit au produit attendu (Tableau 30 essai 1).<sup>388</sup> Les différents essais réalisés avec des oxydants au Cr (IV) ont quant à eux permis d'isoler le produit attendu avec

<sup>388</sup> Cho, J. H.; Bernard, D. L.; Sidwell, R. W.; Kern, E. R.; Chu, C. K., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1140-1148.

des rendements faibles à corrects (Tableau 30 essai 2 à 4).<sup>255, 256, 389</sup> Néanmoins, une impureté résiduelle non identifiée n'a pas pu être séparée du composé **128** obtenu dans ces conditions. Le produit étant susceptible de subir une  $\beta$ -élimination ainsi qu'une épimérisation du carbone asymétrique en  $\alpha$  du carbonyle, nous nous sommes alors orientés vers des conditions d'oxydation plus douces. L'utilisation du réactif de Dess-Martin nous a permis d'isoler le dérivé carbonylé **128** seul mais avec un rendement inférieur.<sup>380</sup> L'utilisation du perruthénate de tetrapropylammonium (TPAP) en quantité catalytique et de l'oxyde de *N*-méthylmorpholine (NMO) comme co-oxydant nous a conduit aux meilleurs résultats.<sup>390, 391</sup> Nous avons finalement obtenu la cétone **128** pur avec un bon rendement de 76%.



Essai	Conditions	Rendement	Produit de départ 110
1	(COCl) <sub>2</sub> , DMSO, Et <sub>3</sub> N, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , -78°C	Degradation	-
2	PCC, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , AcONa, tamis 4Å	23%	48%
3	PCC, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , AcONa, tamis 4Å, AcOH	39%	Traces
4	PDC, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , Ac <sub>2</sub> O, tamis 4Å	62%	-
5	Dess-Martin, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , Pyridine	46%	Traces
6	TPAP (10%), NMO, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , tamis 4Å	76%	-

Tableau 30 : Différents essais d'oxydation de l'alcool **117**

Nous avons étudié l'addition de vinylorganométalliques sur le carbonyle du dérivé **128** obtenu. Compte tenu des risques de  $\beta$ -élimination, nous n'avons pas réalisé cette étape dans des conditions classiques, avec un organolithien ou magnésien mais nous avons envisagé l'utilisation d'un réactif moins basique de type vinylicérique.<sup>392</sup> Les organocériques, de caractère moins basique que leurs analogues magnésiens ou lithiens, sont fréquemment utilisés pour éviter les  $\beta$ -éliminations, énolisations et autres réactions aldoliques.<sup>393, 394</sup> Le réactif est généré *in situ* par la réaction du chlorure de cérium préalablement déshydraté et du vinyl organomagnésien en proportions équivalentes à -78°C.<sup>392</sup> L'addition de la cétone **128**

<sup>389</sup> Lee, J.-C.; Chang, S.-W.; Liao, C.-C.; Chi, F.-C.; Chen, C.-S.; Wen, Y.-S.; Wang, C.-C.; Kulkarni, S. S.; Puranik, R.; Liu, Y.-H.; Hung, S.-C., *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 399-415.

<sup>390</sup> Fürstner, A.; Domostoj, M. M.; Scheiper, B., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11620-11621.

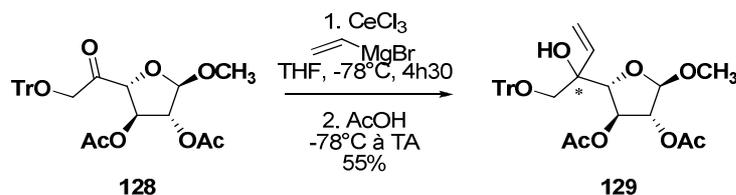
<sup>391</sup> Ley, S. V.; Norman, J.; Griffith, W. P.; Marsden, S. P., *Synthesis* **1994**, 639-666.

<sup>392</sup> Lenz, R.; Giese, B., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2784-2794.

<sup>393</sup> Imamoto, T.; Sugiura, Y.; Takiyama, N., *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4233-4236.

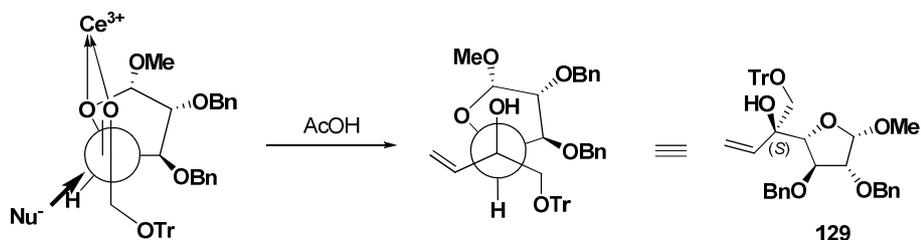
<sup>394</sup> Imamoto, T.; Takiyama, N.; Nakamura, K.; Hatajima, T.; Kamiya, Y., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4392-4398.

suivie d'un traitement acide conduit alors stéréosélectivement au composé **129** avec 55% de rendement (Schéma 156).



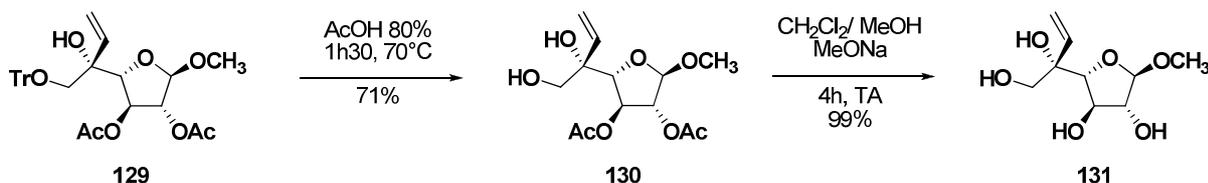
**Schéma 156 :** Addition stéréosélective du réactif vinylicérium sur la cétone **128**

La configuration du centre stéréogène formé ne peut pas être déterminée à ce stade de la synthèse cependant les modèles de prédiction nous permettent de rationaliser la stéréochimie de l'addition et d'envisager une configuration *S* de l'alcool **129**. En effet, le cérium est un cation très oxophile, il peut donc activer la fonction carbonylée par coordination, et former un chélate avec l'oxygène en  $\beta$ . Le contrôle de la diastéréosélectivité par chélation peut donc être envisagé (Schéma 157).<sup>15,395</sup>



**Schéma 157 :** Modèle prédictif de Cram chélaté pour l'addition du vinyl organomagnésien sur la cétone **128**

Afin de réaliser la cycloaddition sur la nitroène **82**, l'alcool **129** a été déprotégé successivement en milieu acide puis basique conduisant au composé **131** avec de très bons rendements (Schéma 158).



**Schéma 158 :** Obtention du dipolarophile **131**

Malheureusement, faute de temps nous n'avons pas pu réaliser la cycloaddition 1,3-dipolaire et obtenir l'imino-C-disaccharide **133** (Schéma 159).

<sup>395</sup> Shigeno, K.; Sasai, H.; Shibasaki, M., *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 4937-4940.

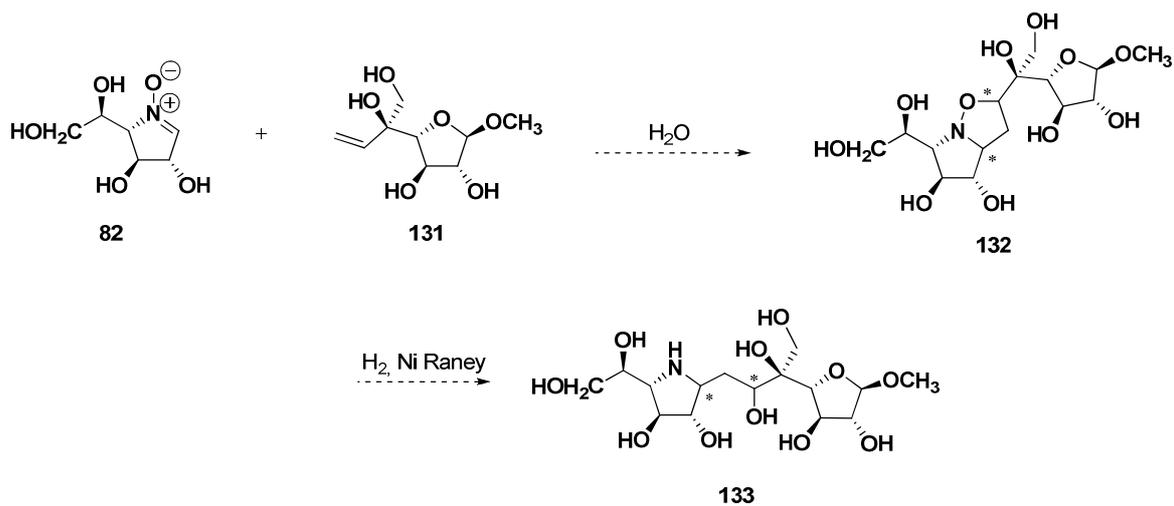


Schéma 159 : Synthèse envisagée de l'imino-C-disaccharide 133

## IV. BILAN

Ce chapitre avait pour objectif de présenter les travaux de synthèse relatifs aux analogues de disaccharides du *Galf*. La stratégie employée reposant sur une cycloaddition 1,3-dipolaire nous a permis de synthétiser de manière efficace divers analogues disaccharidiques de configuration  $\beta$  identique à celle présente dans le produit des *Galf* transférases.

La cycloaddition 1,3-dipolaire avec une oléfine portée par une charpente arabinofuranosidique a permis la mise au point des conditions de réaction et l'obtention de deux analogues de disaccharides de façon stéréo et régiosélective. Le premier possède un lien oxaalkyle **105** et le second un lien totalement carboné **127** qui en fait un analogue proche d'un disaccharide *Galf*- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-*Galf* présent dans les galactanes de paroi mycobactérienne (Schéma 160). Cependant les difficultés rencontrées lors de la déprotection finale nous ont conduits à revoir la stratégie choisie.

Ainsi, les dipolarophiles issus du galactofuranose ont été utilisés déprotégés. La cycloaddition 1,3-dipolaire réalisée dans l'eau en présence d'une nitronne également déprotégée s'est avérée hautement régio- et diastéréosélective. Cette approche concise et efficace en phase aqueuse a conduit à des composés bicycliques originaux **112** et **121** puis aux imino-disaccharides possédant un lien oxaalkyle **113** et **122** analogues des disaccharides *Galf*-*Galf* mycobactériens (Schéma 160). Il s'agit à notre connaissance du premier exemple de couplage, par formation d'une liaison carbone-carbone, de deux sucres déprotégés par une cycloaddition 1,3-dipolaire dans l'eau.

Les six composés obtenus sont, à notre connaissance, les seuls analogues d'accepteurs de glycosides en série iminogalactofuranose-galactofuranose décrits à ce jour. Ils ont donc été évalués comme inhibiteurs des *Galf* transférases responsables de l'incorporation des unités galactofuranosidiques au sein des galactanes. Les résultats seront rapportés dans le chapitre suivant.

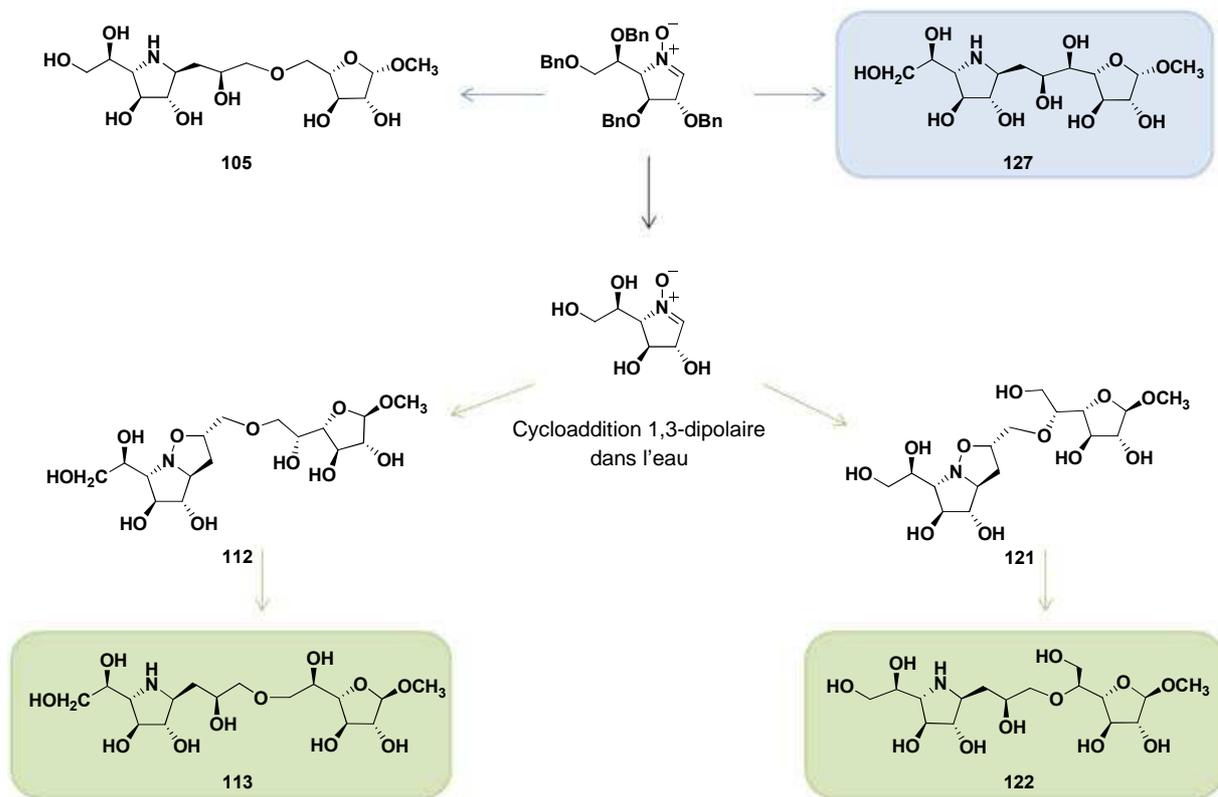


Schéma 160 : Structures des imino-disaccharide obtenus par cycloadditions 1,3-dipolaire



## CHAPITRE 5 : EVALUATION BIOLOGIQUE



Dans ce chapitre nous aborderons les évaluations biochimiques d'une partie des composés synthétisés. Ces composés ont été préparés dans le but de développer des inhibiteurs des enzymes responsables de la biosynthèse des galactanes. Les évaluations biologiques rapportées seront successivement celles effectuées sur l'UDP-Galp mutase puis sur la Galp transférase 2.

## I. EVALUATION DE L'INHIBITION DE L'UDP-GALP MUTASE (UGM) PAR LES COMPOSES SYNTHETISES

Les tests d'inhibition sur l'UGM ont été effectués par l'équipe du professeur H-w. Liu au collège de Pharmacie de l'Université du Texas à Austin. Ils ont été réalisés, d'après une procédure décrite dans la partie expérimentale<sup>81</sup>, sur la mutase d'*Escherichia Coli* purifiée.

L'inhibition de la forme réduite active de l'UGM par les composés à charpente iminogalactitol a été examinée individuellement en utilisant comme contrôle positif un inhibiteur connu : l'UDP.<sup>109, 110</sup> Deux types de conditions d'incubation ont été utilisés. Ces conditions diffèrent par l'ordre d'addition du composé testé et du réducteur utilisé pour activer l'UGM, le dithionite de sodium. Tout d'abord pour les conditions A, l'inhibiteur est ajouté à une solution contenant l'UGM et le dithionite de sodium. Après 10 minutes d'incubation à température ambiante le substrat de l'enzyme, l'UDP-Galp, est additionné. La réaction a alors lieu pendant 2 minutes à 37°C. Tandis que pour les conditions B, l'inhibiteur est incubé en présence de l'UGM et en absence de réducteur pendant 10 minutes. Après cette pré-incubation, le dithionite de sodium et l'UDP-Galp sont ajoutés à la réaction et le mélange est incubé 2 minutes à 37°C.

Pour tester l'inhibition c'est la conversion inverse UDP-Galp→UDP Galp qui est évaluée et la quantité d'UDP-Galp formé est mesurée par HPLC. La valeur de l'activité résiduelle est calculée en divisant le pourcentage de conversion en présence de l'inhibiteur par celui mesuré en absence d'inhibiteur. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Inhibiteur	Activité résiduelle (%)		
	Conditions A <sup>b</sup> , [I]=25 mM	Conditions A <sup>b</sup> , [I]=2,5 mM	Conditions B <sup>c</sup> , [I]=2,5 mM
α	43	61	– <sup>a</sup>
	44	– <sup>a</sup>	– <sup>a</sup>
	48	– <sup>a</sup>	– <sup>a</sup>
	51	80	83
	52	– <sup>a</sup>	– <sup>a</sup>
	56	52	– <sup>a</sup>
	57	– <sup>a</sup>	86
β	82	65	83
	87	118	88
	88	65	– <sup>a</sup>
	89	99	66
	96	126	71
	98	– <sup>a</sup>	72
	99	– <sup>a</sup>	93
UDP	16	40	20

<sup>a</sup> non déterminée

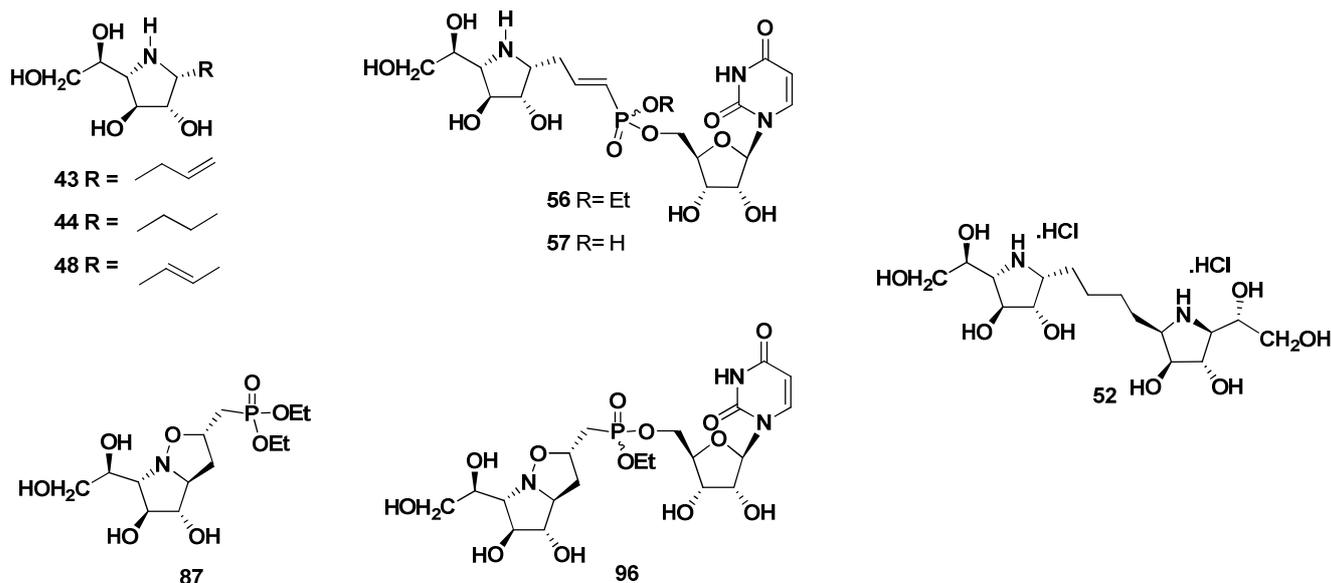
<sup>b</sup> L'inhibiteur est pré-incubé avec l'UGM pendant 10 min à TA et en présence de dithionite de sodium. La réaction a lieu dans une solution tampon de phosphate de potassium (80 µL, 100 mM, pH 7,5) pendant 2 min à 37°C. La concentration de l'enzyme, du substrat, de l'inhibiteur, et du dithionite de sodium sont respectivement 8,2 nM, 50 µM, 25 mM, et 12,5 mM.

<sup>c</sup> L'inhibiteur est pré-incubé avec l'UGM en absence de dithionite de sodium.

**Tableau 31 :** *Activité résiduelle de l'UGM en présence de différents inhibiteurs potentiels*

De manière générale, les produits synthétisés sont de faibles inhibiteurs de l'UGM à la concentration relativement élevée de 25 mM quelles que soient les conditions d'incubation. En effet, les valeurs d'activités résiduelles obtenues sont toutes supérieures à celle de l'UDP. Toutefois, il est clair que les composés de configuration α présentent de meilleures inhibitions que leurs analogues de configurations β, ce qui était assez prévisible puisque la configuration α est celle du substrat naturel de l'enzyme, l'UDP-Galf.

Il est difficile d'interpréter ces résultats compte tenu du peu de variations observées au niveau de l'inhibition par rapport aux modifications structurales réalisées. Cependant, on observe que la présence du motif UMP tend à augmenter légèrement l'activité inhibitrice qui reste tout de même faible. En effet, si l'on compare en série α, les composés **44** et **48** possédant une chaîne à 3 carbones en position pseudo-anomérique avec leur analogue UMP **57** on peut noter une diminution de l'activité résiduelle de l'ordre de 9 à 16% à 2,5 mM. La même observation peut-être faite avec les composés de configuration β **87** et **96** où la variation est de 15%. Néanmoins, cette variation d'activité reste légère, pourtant les travaux de Kiessling et son équipe ont montré l'importance du motif uridine ou d'un analogue aromatique sur la structure de l'inhibiteur en termes de « binding » et d'inhibition.<sup>111</sup>

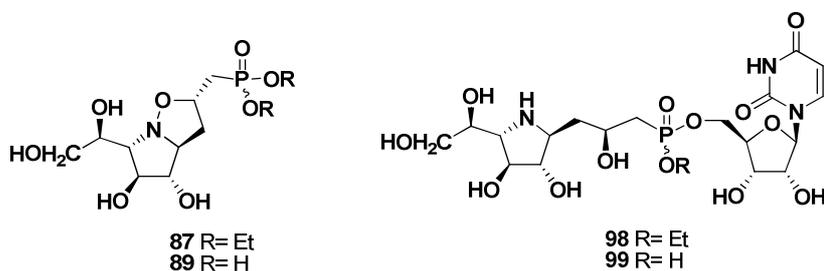


**Figure 78 :** Structure de composés évalués comme inhibiteurs de l'UGM

L'activité des composés testés semble donc provenir majoritairement du motif iminogalactitol.

Ceci est confirmé par le résultat obtenu avec le dimère **52** du motif 1-C-allyl-1,4-iminogalactitol. En effet, cet analogue de substrat dimérique est le meilleur inhibiteur de l'UGM que nous avons synthétisé. Il présente une activité résiduelle de 37% contre 20% pour le meilleur inhibiteur connu de l'UGM, l'UDP.

On peut également souligner qu'il y a une différence d'activité entre le phosphonate d'éthyle et l'acide phosphonique correspondant, comme nous le montre les couples **87/89** et **98/99** pour lesquels la différence est de 23 et 28% respectivement (Figure 79). Pour augmenter l'inhibition de la mutase il semble donc préférable de préparer un acide phosphonique plutôt que l'ester correspondant.



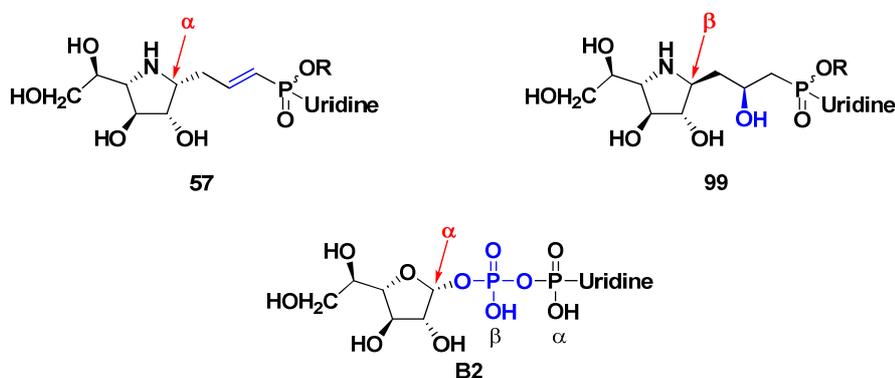
**Figure 79 :** Structure des composés **87/89** et **98/99**

De façon surprenante, le composé de configuration  $\beta$  qui présente la meilleure inhibition est le composé bicyclique **89** avec 68% d'activité résiduelle à 2,5 mM. Toutefois, au vu des résultats obtenus pour les composés **96** et **98** il semblerait que la réduction de la liaison N-O

et donc l'introduction d'une fonction hydroxyle n'ait aucune influence sur l'inhibition. Ceci pourrait éventuellement être confirmé avec l'évaluation des composés **90** et **97**. A ce jour, ceux-ci n'ont cependant pas pu être séparés d'une impureté résiduelle empêchant leur évaluation biologique.

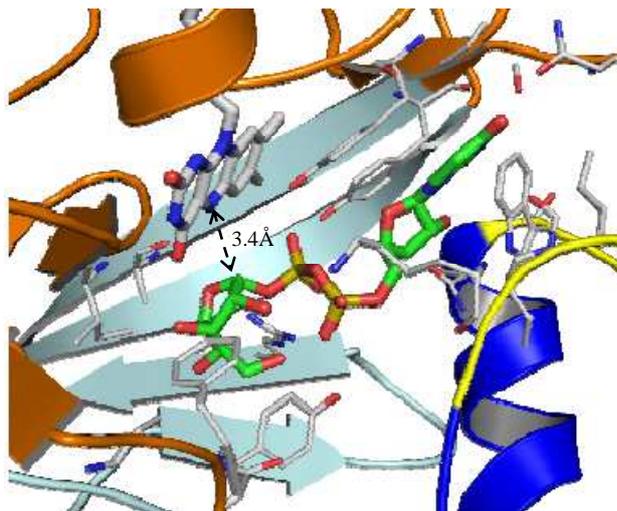
La nitrone **82** conçue comme sonde mécanistique n'inhibe que très peu l'UGM, ce qui pourrait s'expliquer par une trop forte polarité de la liaison  $N^+-O^-$ . Il serait donc préférable de préparer des analogues où la fonction nitrone serait remplacée par un iminium ou un hydroxylammonium portant un substituant de taille similaire.

Il est intéressant de noter que le composé le plus proche du substrat naturel **B2**, le composé **99** de configuration  $\beta$ , ne présente aucune activité sur l'UGM, et ceci, malgré la présence d'un lien  $\beta$ -hydroxyphosphonate susceptible de mimer les interactions du pyrophosphate avec le site actif de l'enzyme. En revanche, son analogue  $\alpha$  **57** ne possédant pas ce lien polaire mais de même configuration que le substrat naturel présente 43% d'activité résiduelle à 2,5 mM (Figure 80).



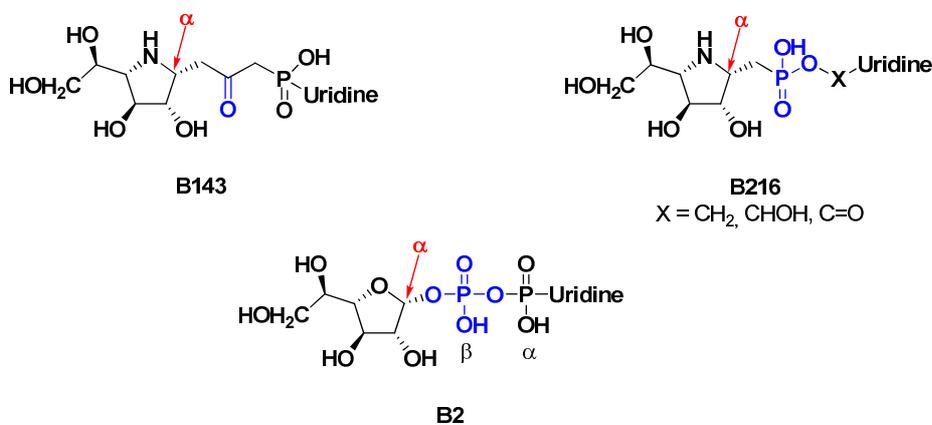
**Figure 80** : Structures des analogues proches **57** et **99** de l'UDP-Galf **B2**

Les travaux récents de Pinto et son équipe sur la mutase ont apporté plusieurs éléments nouveaux concernant la structure du substrat au sein du site actif de l'UGM.<sup>69</sup> Ceci nous permet de mieux appréhender les interactions favorables et donc une relation structure-activité. En effet, la présence d'une interaction forte entre le phosphate  $\beta$  (Figure 80) et l'arginine 174 du site actif de l'enzyme montre un rôle importante de ce groupe et non du phosphate  $\alpha$  comme pouvait le suggérer l'activité de l'UMP ( $K_d = 27 \pm 7 \mu\text{M}$ , 50.6% d'inhibition relative à 2.5 mM similaire à celle de l'UDP  $K_d = 14 \pm 3 \mu\text{M}$ , 49.4% d'inhibition relative à 2.5 mM).<sup>107</sup> Or, les composés que nous avons synthétisés possèdent uniquement le phosphonate  $\alpha$ . De plus, cette étude montre une conformation « tordue » du pyrophosphate dans le site actif qui ne peut pas être correctement mimé par le lien insaturé assez rigide présent dans nos composés.



**Figure 81 :** Positionnement présumé de l'UDP-Galf dans le site actif de l'UGM. Les domaines 1, 2 et 3 sont respectivement représentés en orange, bleu et cyan. Les deux boucles flexibles sont en jaune.

Dans le but d'améliorer les propriétés du composé **57** il paraît nécessaire de s'attarder sur la synthèse de composé de type **B143** pour juger de l'influence d'un lien  $\beta$ -cétophosfonate comme mème du lien pyrophosphate (Figure 82). De même, il serait intéressant de synthétiser des analogues de type **B216** pour confirmer l'importance du phosphonate  $\beta$  dans le « binding » et l'inhibition de l'UGM (Figure 82).



**Figure 82 :** Structure du  $\beta$ -cétophosfonate **B143** et du phosfonate **B216** analogue de l'UDP-Galf **B2**

En résumé, les composés testés ont de faibles activités sur l'UGM et le meilleur inhibiteur que nous avons synthétisé est le composé dimérique **52**. Celui-ci présente 63% d'inhibition de l'enzyme à 2.5 mM. Bien que moyens, ces résultats sont encourageants, car ils concernent, à notre connaissance, les seuls composés de type nucléotides-iminosucres mimant l'UDP-Galf ayant été synthétisés et évalués à ce jour. Ces résultats biologiques, corrélés aux avancées récentes concernant le site actif de l'enzyme, devraient permettre, dans le futur, la conception et la synthèse d'inhibiteurs plus efficaces.

## II. EVALUATION DE L'INHIBITION DE LA GALF TRANSFERASE 2 (GLFT2) PAR LES COMPOSES SYNTHETISES

Les composés précédents ainsi que les différents imino-disaccharides préparés ont été également évalués en tant qu'inhibiteurs de la seule Galf transférase disponible pour des évaluations biologiques, GlfT2. J'ai pu réaliser moi-même deux séries d'évaluations au cours d'un séjour au département de Chimie de l'université d'Alberta, dans l'équipe du Professeur T. Lowary, en mai 2008. L'évaluation des analogues d'accepteurs de glycosyle puis celle des analogues de donneurs de glycosyle ont été effectuées avec l'aide et sous la supervision d'une technicienne spécialiste de ce type de tests (Schéma 161).

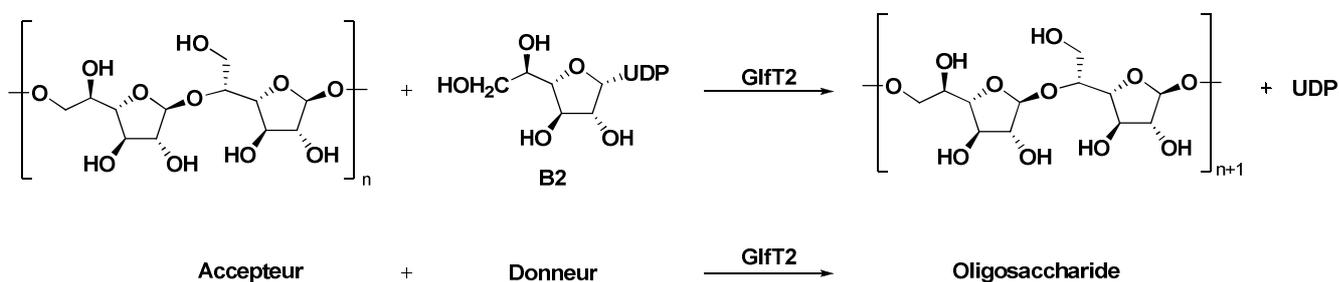
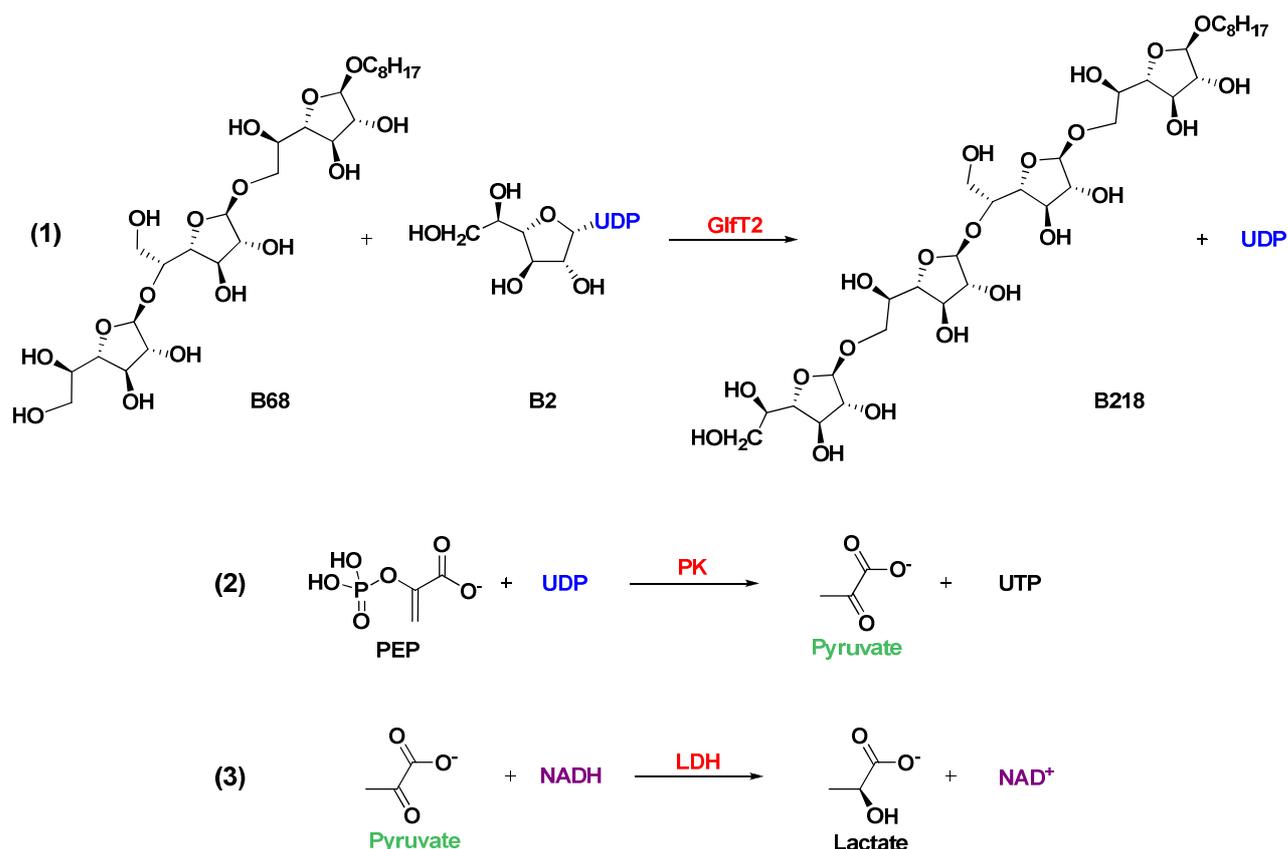


Schéma 161 : Polymérisation catalysée par la Galf transférase 2

### II.1. PRINCIPE DU TEST SPECTROPHOTOMETRIQUE

Les tests enzymatiques réalisés sur la GlfT2 d'*E. Coli* reposent sur la quantité du sous-produit UDP formé au cours de l'incorporation d'une unité galactofuranosidique sur l'accepteur de glycoside synthétique **B68** catalysée par l'enzyme étudiée (Schéma 162 (1)).<sup>79</sup>

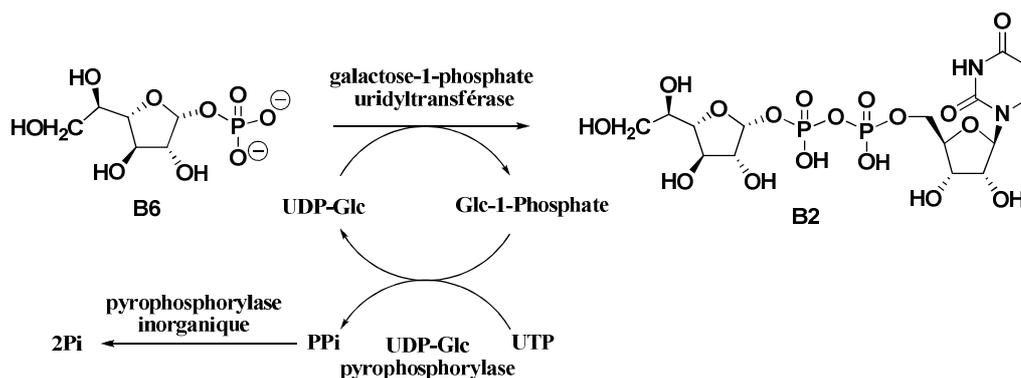


**Schéma 162 :** Cascade enzymatique utilisée pour le test spectrophotométrique d'inhibition de *GltT2*

L'UDP ainsi formé va réagir avec le PEP (acide phospho-(énol)-pyruvique) en présence de PK (pyruvate kinase) pour générer de l'UTP (uridine triphosphate) ainsi qu'un pyruvate (Schéma 162 (2)). La LDH (lactate déshydrogénase) catalyse ensuite la réduction du pyruvate en lactate en oxydant le NADH (nicotinamide adénine dinucléotide) en NAD<sup>+</sup> (Schéma 162 (3)). La quantité de NADH consommé est donc proportionnelle à la quantité d'UDP formé et donc à l'activité de l'enzyme.

Le dosage spectrophotométrique consiste alors à mesurer l'évolution de l'absorbance à 340 nm. En effet, le NADH possède deux maxima d'absorption en UV à 260 et 340 nm alors que le NAD<sup>+</sup> ne présente qu'un maximum à 260 nm. Le suivi de l'absorbance à 340 nm permet donc de suivre l'évolution de la cascade enzymatique. La diminution d'absorbance qui indique une consommation de NADH est alors proportionnelle à l'activité de la *GltT2*.

Exceptés l'UDP-Galf *GltT2* et **B68**, les réactifs et les enzymes utilisés sont commerciaux. L'UDP-Galf est synthétisé par la voie chimioenzymatique évoquée dans la première partie de ce manuscrit (Schéma 163). *GltT2* est quant à elle clonée et surexprimée avec *E. Coli*. Enfin, l'accepteur **B68** est synthétisé dans l'équipe de Lowary.

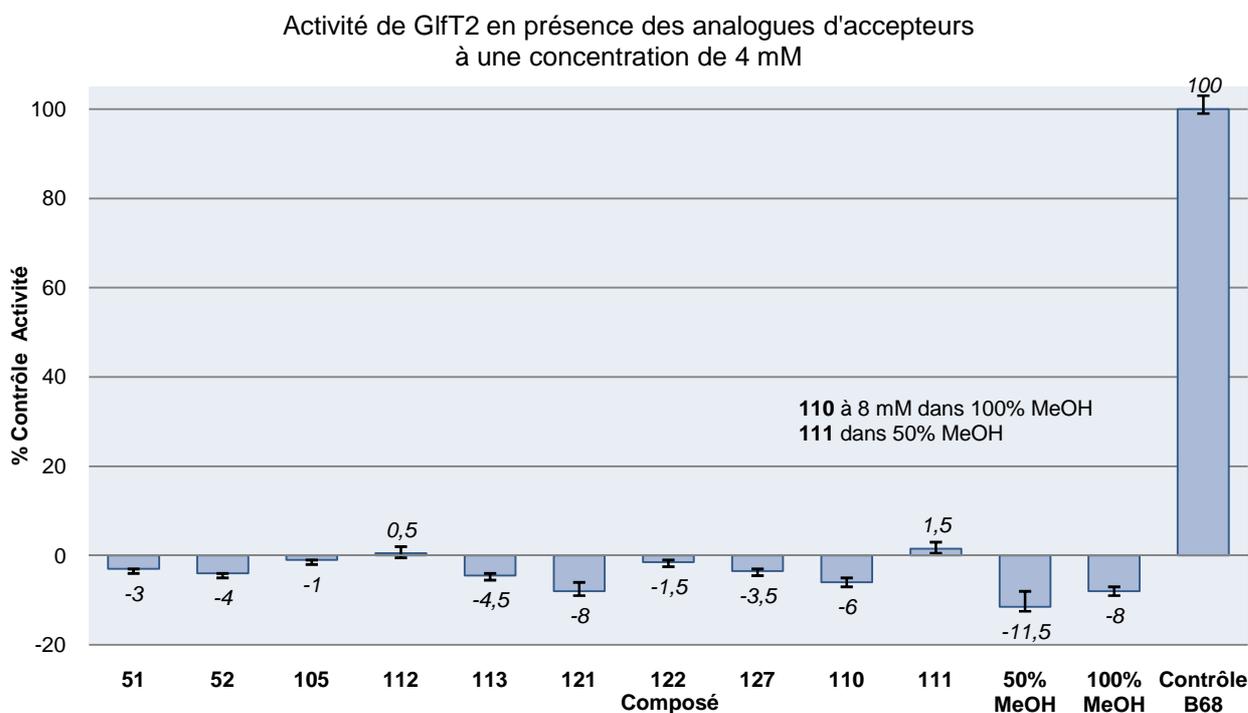


**Schéma 163 :** Synthèse chimioenzymatique de l'UDP-Galf

Avant de procéder aux tests d'inhibition des iminogalactitols synthétiques, il a été nécessaire de s'assurer que ces composés n'étaient pas substrats de l'enzyme. En effet, si les composés présentaient une activité d'accepteur ou de donneur de glycosyle, les résultats obtenus seraient faussés. Dans le cadre de l'évaluation des analogues d'accepteurs, les tests d'activité ont donc été réalisés en l'absence de l'accepteur **B68**. Pour l'évaluation des analogues de donneurs ces tests ont lieu sans UDP-Galf. Après confirmation que les dérivés préparés n'étaient pas substrats de l'enzyme, différents tests d'inhibition ont été réalisés à une concentration de 4 mM en inhibiteur puis en fonction de l'activité à 2 ou 1 mM. Ces tests sont réalisés avec les enzymes PK et LDH en excès de manière à s'assurer que la réaction catalysée par GlfT2 soit limitante. Néanmoins, pour s'assurer que l'activité n'est pas issue d'une inhibition de PK ou LDH, des essais ont été réalisés en multipliant par un facteur deux les quantités de ces enzymes. Enfin, pour confirmer la reproductibilité des mesures, chaque essai a été doublé. Les résultats obtenus pour nos deux séries de composés sont présentés ci-après.

## II.2. EVALUATIONS DES ANALOGUES D'ACCEPTEURS DE GLYCOSYLE

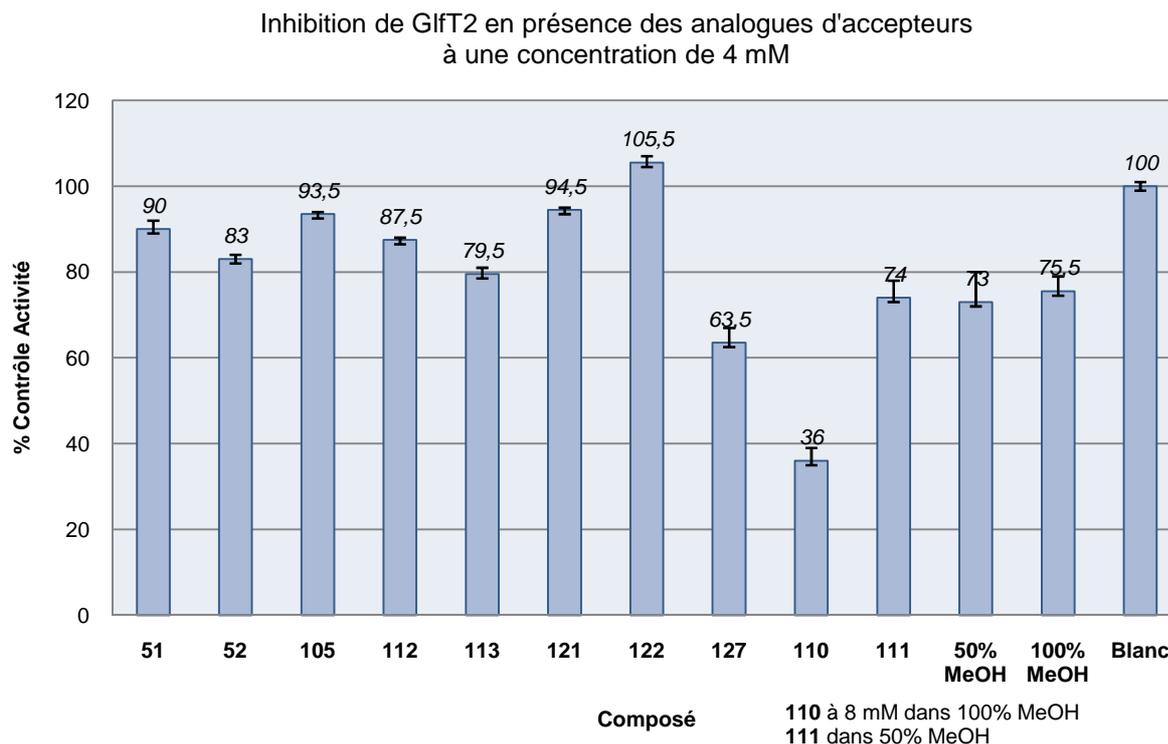
Le test d'activité réalisé à une concentration de 4 mM en inhibiteur, et 3 mM d'UDP-Galf **B2** montre qu'aucun des imino-disaccharides, ou bis-iminogalactitols n'est accepteur de glycosyle, contrairement au composé **B68** (contrôle) (Figure 83).



**Figure 83 :** Représentation graphique de l'activité de GIFT2 (0,5 µg) en présence des analogues d'accepteurs à une concentration de 4 mM et de 3 mM d'UDP-Galf **B2**. Les contrôles sont réalisés avec 0,5 mM d'accepteur **B68**

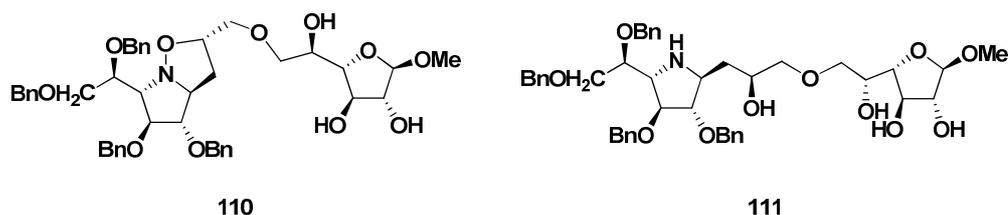
On notera que les composés **110** et **111** ne sont pas solubles dans l'eau, ils ont donc été partiellement ou totalement solubilisés dans le MeOH.

Nous avons poursuivi l'évaluation biologique par les tests d'inhibition qui ont montré que les analogues d'accepteurs étaient de faibles inhibiteurs de GIFT2 (Figure 84).



**Figure 84 :** Représentation graphique de l'inhibition de GlfT2 (0,5 µg) en présence des analogues d'accepteurs à une concentration de 4 mM, de 0,5 mM d'accepteur **B68** et de 3 mM d'UDP-Galf **B2**

Le composé **110** partiellement benzylé inhibant 64% de l'activité de GlfT2 à 8 mM semble être le plus actif. Néanmoins ce composé a dû être solubilisé dans 100% de MeOH et l'essai avec une solution de 100% de MeOH seule montre également une inhibition de l'enzyme à 23%. Ceci implique que plus d'un tiers de l'activité du composé **110** peut-être attribuée au solvant. De manière similaire la faible inhibition du composé **111** résulte probablement de l'inhibition par le MeOH.

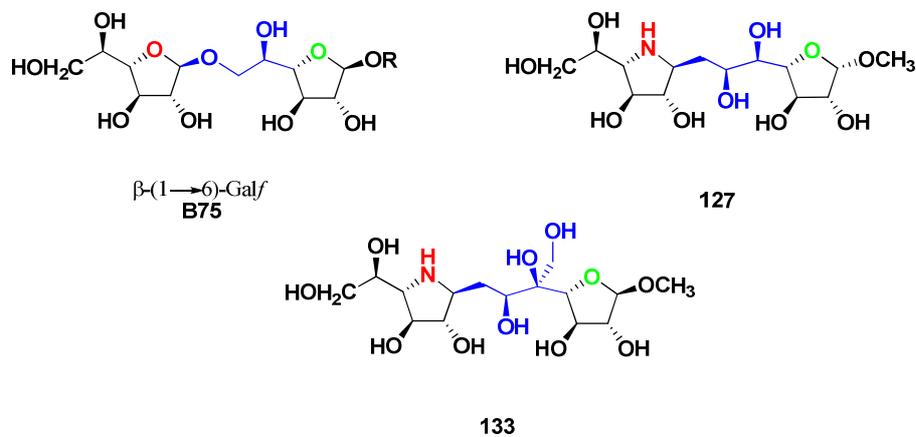


**Figure 85 :** Structures des imino-disaccharides **110** et **111**

L'imino-C-disaccharide **127** induit, quant à lui, une inhibition intéressante de GlfT2 de l'ordre de 36.5% à 4 mM.

Compte tenu des faibles différences d'activité il est difficile de déduire des relations structure-activité. Cependant, le composé **127** présentant la plus forte inhibition est l'analogue le plus proche du disaccharide β-(1→6) **B75** (Figure 86). Il possède un lien totalement carboné et de taille similaire au lien glycosidique présent dans **B75**. La taille et la nature du lien semble

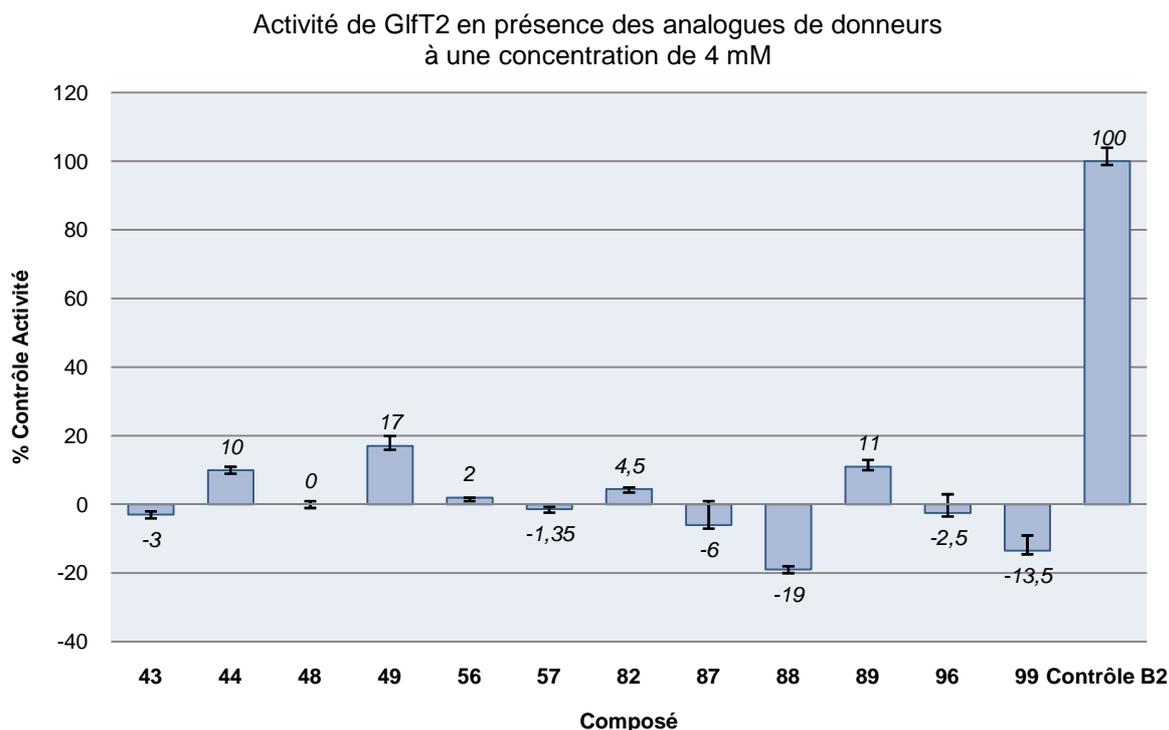
donc jouer un rôle important dans l'inhibition. Ceci pourrait être confirmé par l'étude d'autres composés possédant un lien carboné, comme le composé **133**.



**Figure 86** : Analogies structurales entre les composés **127** et **133**, et le composé **B75**

### II.3. EVALUATIONS DES ANALOGUES DE DONNEURS DE GLYCOSYLE

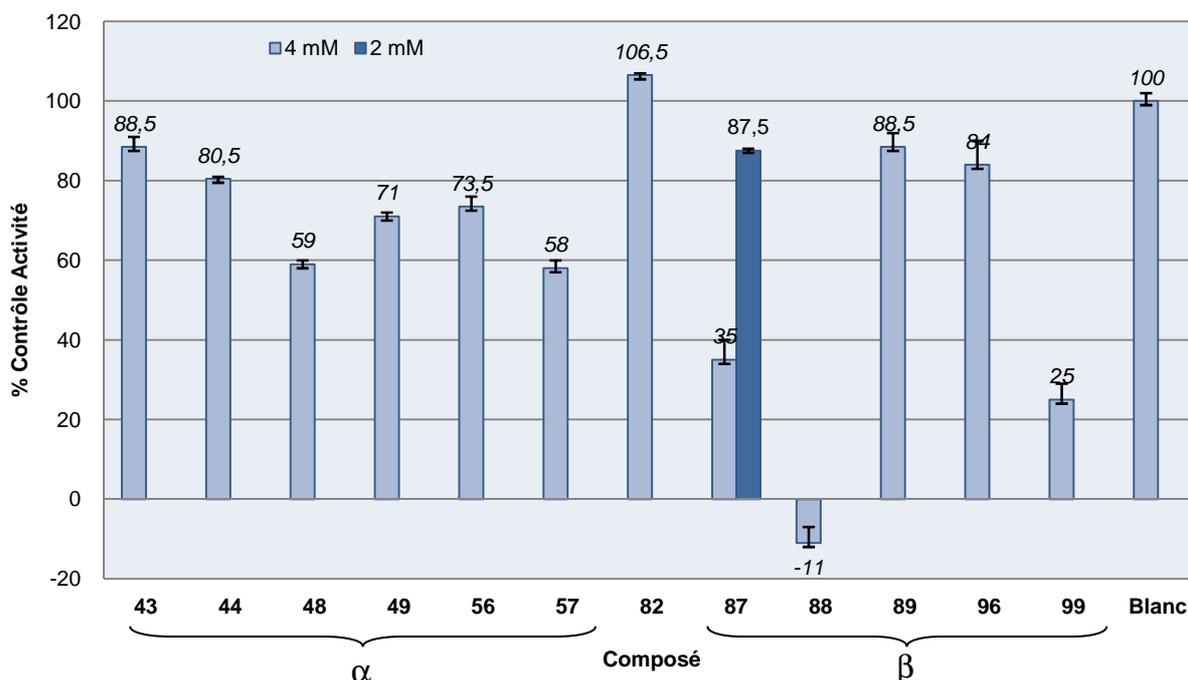
Bien que nos analogues de l'UDP-Galf ne puissent pas être substrats, nous avons voulu vérifier le comportement du test en absence de donneur B2. Les tests ont été réalisés à une concentration de 4 mM et en présence d'accepteur **B68** à une concentration de 2 mM. Dans l'ensemble, le test est fiable sauf pour les composés **49** et **88** où on observe des activités probablement liées à des interactions avec les autres enzymes du test (Figure 87).



**Figure 87 :** Représentation graphique de l'activité de GltT2 (0,5 µg) (ou des autres enzymes du test) en présence des analogues de donneurs à une concentration de 4 mM et de 2 mM d'accepteur **B68**.  
Les contrôles sont réalisés avec 0,75 mM d'UDP-Galf **B2**

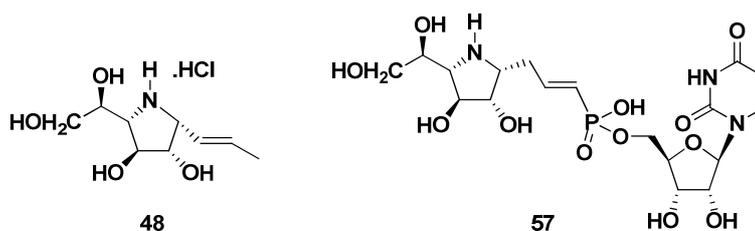
Nous avons alors réalisé des tests d'inhibition à une concentration de 4 mM en inhibiteur. Comme le montre la figure ci-dessous les résultats obtenus sont encourageants (Figure 88).

Inhibition de GlfT2 en présence des analogues de donneurs à une concentration de 4 mM



**Figure 88 :** Représentation graphique de l'inhibition de GlfT2 (0,5  $\mu$ g) en présence des analogues de donneurs à une concentration de 4 mM, de 2 mM d'accepteur **B68** et de 0,75 mM d'UDP-Galf **B2**. Le composé **87** a été testé à 4 mM et à 2 mM (bleu foncé)

Les composés **48** et **57** (Figure 89) ont montré une légère inhibition avoisinant 40%. On note donc que les composés de configuration  $\alpha$ , qu'ils possèdent ou non un motif phosphonate ou UMP, ne présentent que de faibles inhibitions.

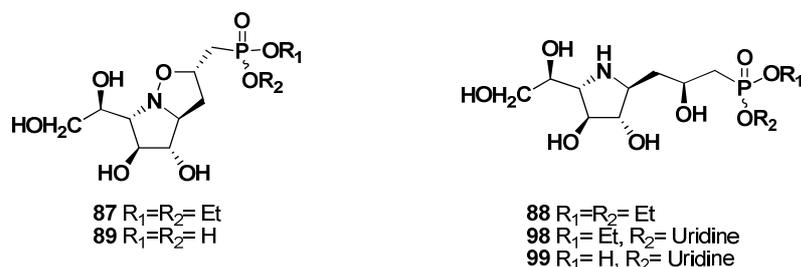


**Figure 89 :** Structures des composés **48** et **57**

La nitrone **82** n'a, quant à elle, révélé aucune inhibition de GlfT2.

Néanmoins, trois composés de configuration  $\beta$  présentent une inhibition supérieure à 60% à 4 mM. Le composé bicyclique **87** inhibe à 65% l'enzyme, cependant à 2 mM cette valeur chute à 12,5%. L'analogue ouvert **88** du phosphonate **87** (Figure 90) inhibe totalement GlfT2 à 4 mM. Alors que son analogue **99** possédant le motif UMP inhibe à 78%. A nouveau, la présence du noyau uridine ne semble pas augmenter l'activité sur la transférase et semble même ici préjudiciable à l'activité inhibitrice. De même, la déprotection du phosphonate

semble diminuer l'inhibition comme le montre les valeurs d'inhibition des composé **87** (65%) et **89** (12%).



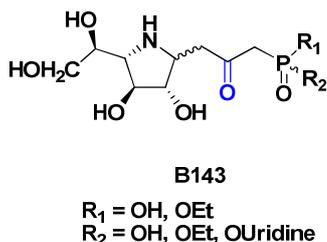
**Figure 90 :** Structures des composés **87-90**, **98** et **99**

L'inhibition encourageante induite par les deux composés **88** et **99** résulte probablement de la présence du motif  $\beta$ -hydroxyphosphonate susceptible de mimer l'effet de chélation bidentate du pyrophosphate avec le cation métallique divalent probablement présent dans le site actif de l'enzyme (Figure 91).



**Figure 91 :** Chélation avec le cation métallique divalent probablement présent dans le site actif de *Glt2*

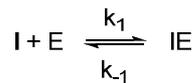
Si cette hypothèse est juste, un composé  $\beta$ -cétophosphonate de type **B143**, devrait s'avérer être un inhibiteur encore plus actif (Figure 92).



**Figure 92 :** Structure envisagée pour des inhibiteurs potentiels de *Glt2*

Les composés **88** et **99** présentant des inhibitions supérieures à 70% ont fait l'objet d'une étude supplémentaire à des concentrations en inhibiteur de 2 mM à 125  $\mu$ M. Ceci nous a permis de déterminer plus précisément les caractéristiques de l'inhibition et donc l'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme. En effet, le  $K_d$  apparent correspond à la concentration en inhibiteur pour laquelle il occupe 50% des sites de l'enzyme (Figure 93).

L'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme suit la loi d'action de masse:



A l'équilibre nous avons  $[IE] = \text{constante}$  donc  $v_1 = v_{-1}$

soit  $k_1 [I] \cdot [E] = k_{-1} [IE]$

$$\text{d'où : } K_{d \text{ ap}} = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[I] \cdot [E]}{[IE]}$$

L'inhibiteur occupe tous les site de l'enzyme lorsque  $[IE]$  est maximal soit à % Inh max

Dans le cas d'une cinétique de saturation:

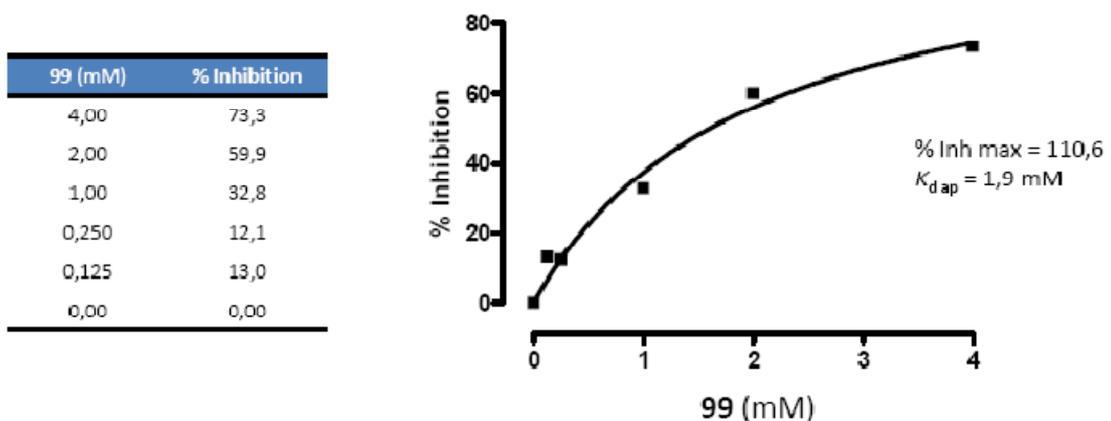
à %Inh max/2, l'inhibiteur occupe 1/2 des site de l'enzyme

$$[E] = [IE] \quad \text{Soit } K_{d \text{ ap}} = [I]$$

**Figure 93 :** Détermination de la constante de dissociation apparente du complexe enzyme-inhibiteur ( $K_{d \text{ app}}$ ),  $E$  : enzyme,  $I$  : inhibiteur,  $IE$  : complexe enzyme inhibiteur, %Inh max : % maximal d'inhibition,  $k$  : constante de vitesse

Une représentation graphique hyperbolique du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en inhibiteur à été réalisée et permet la détermination d'un  $K_{d \text{ ap}}$  de 1,9 mM pour le composé **99** (Figure 94).

Inhibition de GlfT2 par le composé **99** à 2 mM d'accepteur **B68**, 0,75 mM d'UDP-Galf et 0,5 µg de GlfT2



**Figure 94 :** Détermination graphique de la constante de dissociation du complexe enzyme-99

La même détermination graphique du  $K_d$  a été effectuée avec l'inhibiteur le plus fort, **88** et conduit à une constante de 0,46 mM (Figure 95). De manière a s'assurer que l'activité de ce

composé ne résulte pas d'interaction avec les autres enzymes (PK et LDH) présent pour le test, l'inhibition est mesuré avec une quantité doublée de ces deux enzymes.

Inhibition de GltT2 par le composé **88** à 2 mM d'accepteur **B68**, 0,75 mM d'UDP-Galf et 0,5 µg de GltT2

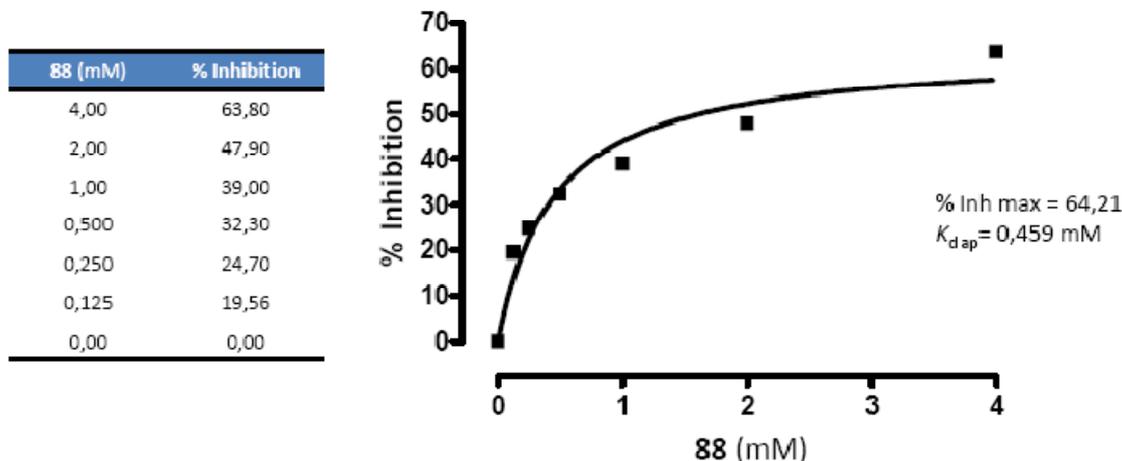


Figure 95 : Détermination graphique de la constante de dissociation du complexe enzyme-88

Le composé **88** présenté a une affinité pour GltT2 similaire à celle du substrat de l'enzyme UDP-Galf et à celle du meilleur accepteur connu à ce jour : le trisaccharide **B68** (Tableau 32). En revanche, le composé **99** qui est un inhibiteur plus faible est également moins affiné.

UDP-Galf	$K_m = 380 \pm 60 \mu\text{M}^{79}$
<b>B68</b>	$K_m = 600 \pm 200 \mu\text{M}^{79}$
<b>88</b>	$K_d = 459 \pm 135 \mu\text{M}$
<b>99</b>	$K_d = 1949 \pm 628 \mu\text{M}$

Tableau 32 : Valeurs des  $K_m$  et  $K_d$  des substrats et des inhibiteurs de GltT2

A notre connaissance, les composés **88** et **99** constituent à ce jour les deux meilleurs inhibiteurs de GltT2 rapportés.

### III. CONCLUSION

L'évaluation biologique des analogues de l'UDP-Galf contenant un iminogalactitols de configuration  $\alpha$  ou  $\beta$  a montré que ces composés sont de faibles inhibiteurs de l'UGM.

Les tests enzymatiques de ces mêmes analogues de l'UDP-Galf sur GlfT2 donnent des résultats plus encourageants. En effet, nous avons identifié les deux meilleurs inhibiteurs de GlfT2. De plus, le composé **88** révèle une affinité pour l'enzyme du même ordre de grandeur que celle du substrat naturel. Enfin, les imino-disaccharides préparés ont montré de faibles inhibitions de GlfT2.

L'ensemble des résultats obtenus est encourageant puisqu'il s'agit, à notre connaissance, des premières évaluations de composés de type nucléotides-iminosucre sur l'UGM mais également d'analogues de donneur et d'accepteur de type iminogalactitols substitués en position pseudo-anomérique sur GlfT2. Les informations obtenues en termes de relation structure-activité et les récentes avancées réalisées sur le site actif de l'UGM, devraient nous permettre de concevoir et synthétiser des inhibiteurs de ces deux familles d'enzymes plus efficaces.



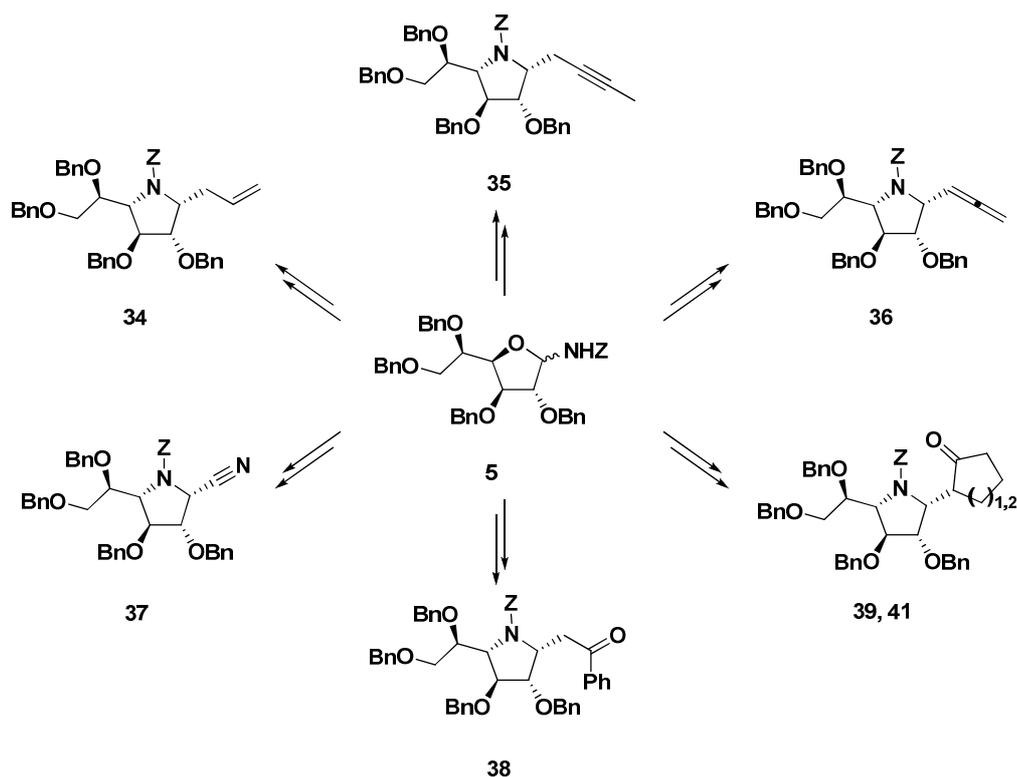
## CONCLUSION GENERALE



Au cours de ce travail de thèse nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'un des constituants de la paroi mycobactérienne, le galactofuranose. En effet, cet hexofuranose rare, présent chez différents microorganismes pathogènes mais pas chez l'homme, est indispensable au développement et à la survie des mycobactéries, ce qui fait de sa biosynthèse une cible chimiothérapeutique intéressante. Sa formation et son incorporation au sein des galactanes de la paroi mycobactérienne résultent de l'action de deux familles d'enzymes : l'UDP-Galp mutase et les Galf transférases. Nous nous sommes alors concentrés sur la synthèse et l'évaluation biologique d'imino-*C*-galactosides comme inhibiteurs potentiels et/ou sondes mécanistiques de ces deux familles d'enzymes.

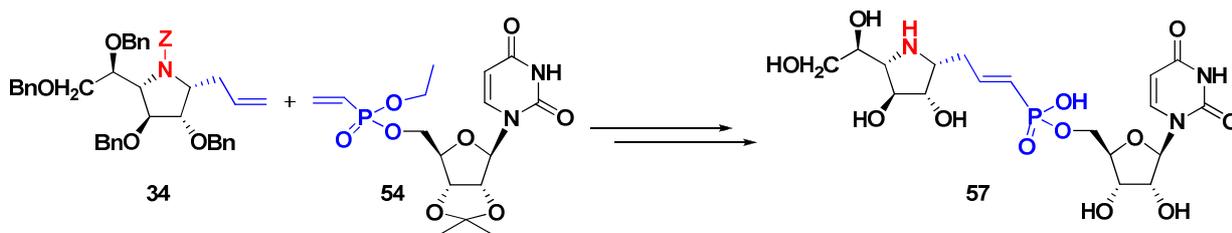
Nous rapportons, dans la première partie de ce travail, une voie d'accès efficace et généralisable à des imino-*C*-galactofuranosides simples préparés diastéréosélectivement à partir du D-glucose. Une méthode rapide d'obtention de *N*-glycosylamines protégées a aussi été développée.

L'addition de nucléophiles silylés assistée par acide de Lewis sur la *N*-glucofuranosylamine **5** conduit après cyclisation à une petite librairie d' $\alpha$ -iminogalactitols diversement substitués en position pseudo-anomérique, ceci de façon totalement stéréosélective.



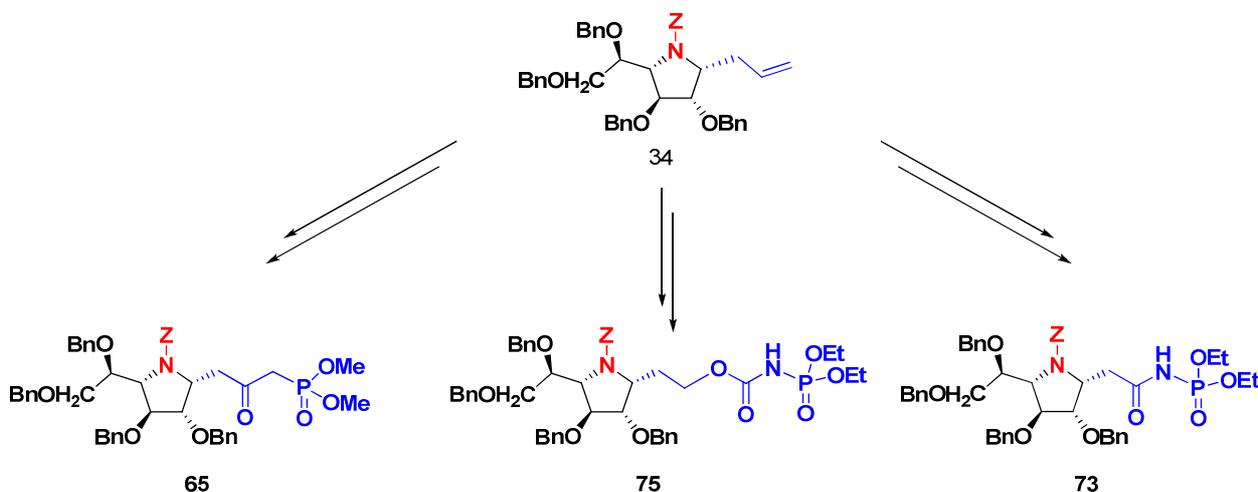
**Schéma 164** : Structures des iminogalactitols 1-*C*-substitués synthétisés

Une étape de métathèse croisée avec une oléfine incorporant une uridine a ensuite permis la fonctionnalisation convergente de l'imino-galactitol **34**. Nous avons ainsi synthétisé le nucléotide-iminosucre **57**, qui constitue, à notre connaissance, l'analogue le plus proche de l'UDP-Galp.



**Schéma 165 :** Accès à un analogue de l'UDP-Galf par métathèse croisée

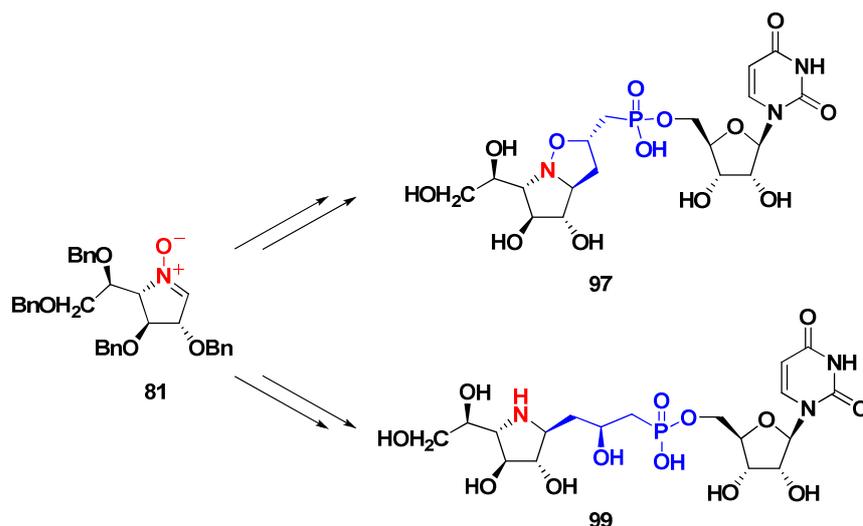
Nous nous sommes également intéressés à l'obtention d'analogues de l'UDP-Galf possédant un lien plus polaire et nous sommes ainsi parvenus à la synthèse d'un  $\beta$ -cétophosphonate et d'un *N*-acylphosphoramidate.



**Schéma 166 :** Différents analogue du Galf-pyrophosphates obtenus

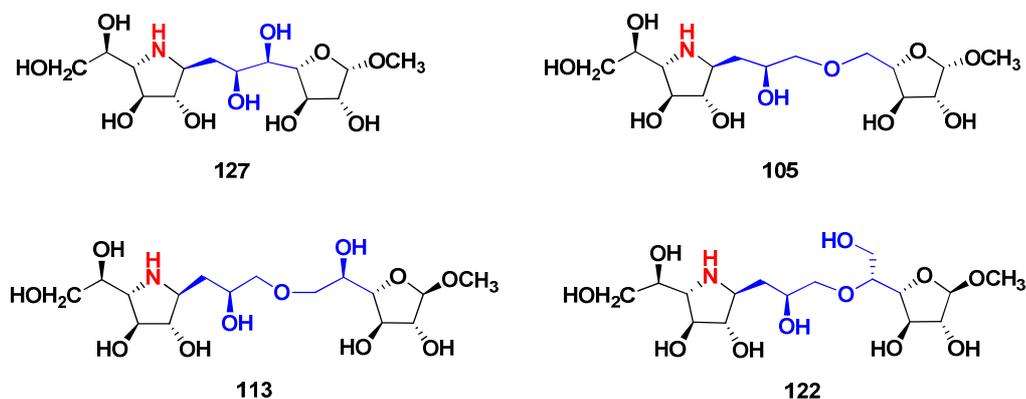
Malheureusement, les différentes stratégies choisies n'ont pas pu aboutir à la synthèse des nucléotides-iminosucres correspondants.

Nous avons ensuite développé une approche complémentaire, stéréodivergente de la précédente et permettant l'accès à des imino-*C*-galactosides de configuration  $\beta$ . Dans un premier temps, la synthèse de la première nitrone cyclique galactofuranosidique **81** à été mise au point. Elle a ensuite conduit, *via* une étape clé de cycloaddition 1,3-dipolaire, à deux analogues de l'UDP-Galf de configuration  $\beta$  avec un stéréocontrôle total.



**Schéma 167 :** Accès à deux analogues de l'UDP-Galf par cycloaddition 1,3-dipolaire

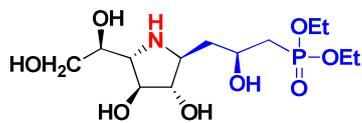
Nous avons également mis à profit cette méthodologie rapide et efficace pour la synthèse d'analogues des disaccharides  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5) et  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) présents dans les galactanes de la paroi mycobactérienne. Ces analogues des accepteurs et inhibiteurs potentiels de la Galf Transférase 2 ont été préparés avec un excellent régio- et stéréocontrôle. Nous avons ainsi synthétisé un imino-*C*-disaccharide présentant un lien totalement carboné entre l'iminosucre et le glycoside. De plus, la réalisation de la cycloaddition 1,3-dipolaire en milieu aqueux nous a permis de synthétiser en seulement deux étapes, des imino-disaccharides possédant un lien oxaalkyle.



**Schéma 168 :** Structures des imino-disaccharides stéréosélectivement synthétisés

Les différents composés synthétisés au cours de ce travail ont pu être évalués sur les deux familles d'enzymes impliquées dans la biosynthèse des galactanes. Les analogues de l'UDP-Galf évalués sur l'UDP-Galp mutase n'ont montré que de faibles inhibitions. Cependant, les évaluations sur la Galf transférase 2 ont donné des résultats encourageants. En particulier, le

$\beta$ -hydroxyphosphonate **88** s'est révélé le meilleur inhibiteur de GlfT2 décrit à ce jour et possède une affinité pour l'enzyme comparable à celle du donneur naturel.



**88**

$K_d = 0,459 \text{ mM}$   
47,9% d'inhibition à 2 mM

**Schéma 169 :** *Inhibition du composé 88 sur la Galf transférase 2*

## PARTIE EXPERIMENTALE



## I. GENERAL TECHNIQUES

Unless otherwise stated, all reactions requiring anhydrous conditions were carried out using oven-dried glassware under an atmosphere of dry argon. THF and dioxane were freshly distilled from sodium/benzophenone under argon prior to use. Dichloromethane, toluene and acetonitrile were distilled from calcium hydride. Triethylamine was distilled from potassium hydroxyde. All reagent-grade chemicals were obtained from commercial suppliers (Sigma-Aldrich, Acros) and were used as received, unless otherwise stated.

Infrared spectra were recorded on a Perkin-Elmer Paragon 1000 PC FT-IR spectrometer as neat films on NaCl windows.

Low-resolution mass spectra (MS) were recorded with a Perkin-Elmer Sciex API 3000 in the electrospray ionisation (ESI) mode.

High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded with a Micromass ZABSpec TOF spectrometer in the electrospray ionisation (ESI) mode or with a Finnigan MAT 95 XL in the chemical ionization (CI) mode at the Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest (Université de Rennes).

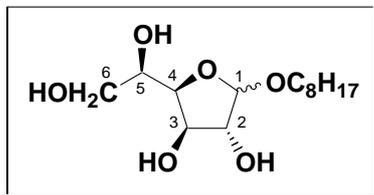
$^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were recorded at 25°C on a Bruker DPX 250 Avance (250 MHz) or on a Bruker Avance (II) 400 MHz or on a Bruker Avance 500 MHz spectrometer. Chemical shifts are given in ppm ( $\delta$ ) and are referenced to the internal solvent signal or to TMS as internal standard.  $J$  values are quoted in Hertz. Proton multiplicities were represented as: singlet (s), broad singlet (br s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), quintuplet (quint). Carbon multiplicities were assigned by distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT) experiments. NMR peak assignments were established by H, H-COSY, HSQC and when necessary, NOESY experiments.  $^{31}\text{P}$  NMR spectra were recorded as  $^{31}\text{P}$  totally decoupled of  $^1\text{H}$ .

Specific rotations were measured at room temperature (20°C) in a 1 dm cell with a Perkin-Elmer 241 or 343 polarimeter.

Analytical thin layer chromatography was performed using silica gel 60F<sub>254</sub> precoated plates (Merck) with visualisation by ultraviolet light, phosphomolybdate solution (2% in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/EtOH 1:7) and/or exposure to I<sub>2</sub> vapour. Flash chromatography was performed on silica gel 60 (230-400 mesh) with ethyl acetate (EtOAc) and petroleum ether (PE) as eluants unless indicated otherwise. Column chromatography was performed on 100 C<sub>18</sub>-reversed phase silica gel (230-400 mesh) with water and methanol (MeOH) as eluants unless indicated otherwise.

Elementary analyses were determined on a Flash EA1112 CHNS/O apparatus with a precision of  $\pm 0.4\%$  on carbon.

## II. EXPERIMENTALES PROCEDURES

**Octyl  $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosides **1****<sup>156</sup>Formula: C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 292.37

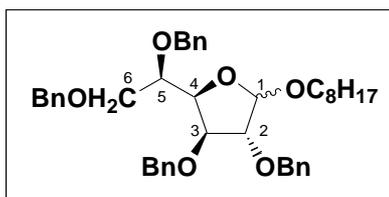
To a suspension of D-glucose (20 g, 0.11 mol) in dry dioxane (15 mL/g) (freshly distilled over sodium and benzophenone), were added 1-octanol (26.3 mL, 0.17 mol, 1.5 equiv.) and iron (III) chloride (54 g, 0.33 mol, 3 equiv.) in portions at 0°C. The brown reaction mixture was stirred under ambient atmosphere during 16 h, and then concentrated under reduced pressure. The brown residue was taken in EtOAc (400 mL) and the mixture washed with 5% aqueous HCl to obtain a colorless organic layer. The organic phase was washed with water, dried over sodium sulfate, and concentrated under vacuum. The resulting yellow oily product was purified by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95/5 to 85/15) to provide compound **1** (20.9g, 65%) as a white amorphous material ( $\alpha/\beta$  ratio 1:1.7).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)**  $\delta$  ppm 0.88 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.29 (m, 10H, CH<sub>2</sub>), 1.57 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.42-3.57 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.64-3.98 (m, 3H, H6a, H6b, H5), 4.06-4.40 (m, 3H, H2, H3, H4), 5.13 (s, 0.64H, H1 $\alpha$ ), 5.30 (d, 0.36H,  $J_{1-2}$  ~ 4.3 Hz, H1 $\beta$ ).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)**  $\delta$  ppm 14.0 (CH<sub>3</sub>), 22.7 (CH<sub>3</sub>), 26.0-31.9 (CH<sub>2</sub>), 63.9 (CH<sub>2</sub>), 64.2 (CH<sub>2</sub>), 68.5 (CH<sub>2</sub>), 69.2 (CH<sub>2</sub>), 70.3 (CH), 70.6 (CH), 75.9 (CH), 76.5 (CH), 77.7 (CH), 77.9 (CH), 79.8 (CH), 80.8 (CH), 101.4 (C1), 107.8 (C1).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z$  = 293.3 [M+H]<sup>+</sup>.

**TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95/5)** : R<sub>f</sub> = 0.1

**Octyl  $\alpha,\beta$ -2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranosides **2**<sup>156</sup>**Formula: C<sub>42</sub>H<sub>52</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 652.86

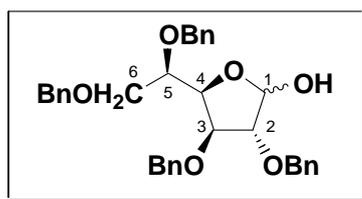
To a solution of octyl  $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosides **1** (18.6 g, 0.064 mol) in dry DMF (279 mL) was added cautiously, in portions, NaH (60% in oil dispersion, 18.3 g, 0.76 mol) at 0°C. The mixture was stirred during 30 min at 0°C and then benzyl bromide (45.8 mL, 0.39 mol) was added in portions. After stirring 15 h at room temperature, the remaining NaH was neutralized by addition of MeOH (50 mL) and water (150 mL) at 0°C. The mixture was then diluted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) and washed with 5% aqueous HCl (3x500 mL) and aqueous saturated NaCl solution (500 mL). The organic layer was dried over sodium sulfate, and concentrated under reduced pressure. Purification of the residual product by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 95/5) lead to octyl 2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosides **2** (35.68 g, 86%) as a light oily product.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)  $\delta$  ppm 0.98 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.34 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>), 1.59-1.62 (m, 2H), 3.41-3.50 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.70-3.79 (m, 2H, H-6a and OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.83-4.182 (m, 4H, H6b, H2, H5 and H3), 4.32-4.41 (m, 1H, H4), 4.42-4.89 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>), 5.02-5.04 (m, 1H, H1), 7.18-7.48 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)  $\delta$  ppm 14.1 (CH<sub>3</sub>), 22.6(CH<sub>3</sub>), 26.1-31.8 (CH<sub>2</sub>), 68.2 (CH<sub>2</sub>), 68.4 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 70.0 (C6 $\beta$ ), 70.1 (C6 $\alpha$ ), 71.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.6 (C5 $\beta$ ), 75.9 (C5 $\alpha$ ), 76.7 (C4 $\alpha$ ), 79.29 (C4 $\beta$ ), 82.5 (C3 $\beta$ ), 82.6 (C3 $\alpha$ ), 84.3 (C2 $\alpha$ ), 86.4 (C2 $\beta$ ), 100.3 (C1 $\alpha$ ), 106.9 (C1 $\beta$ ), 127.8-128.7 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.3-138.8 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) MS (ESI):  $m/z$  = 675 [M+Na]<sup>+</sup>.

TLC (PE/EtOAc 80/20) : R<sub>f</sub> = 0.36

**2,3,5,6-Tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranose 3**Formula: C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 540.65

Octyl 2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucofuranoside **2** (18.5 g, 0.028 mol) was dissolved in a mixture of CH<sub>3</sub>COOH/ 4M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (85/15, 222 mL) and the mixture was stirred during 40 min at 85°C. The reaction mixture was cooled down and then diluted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 300 mL). The organic layer was washed successively with water (3 x 300 mL), 5% aqueous sodium bicarbonate and water. The colorless residue was purified by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 80/20 to 70/30) to afford the expected product **3** (12.7 g, 85%) as a colorless oil ( $\alpha/\beta$  1:1.4).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)**  $\delta$  ppm 3.48 (d, 1H,  $J_{1-OH} \sim 11.9$  Hz, OH), 3.65-3.77 (m, 1.6H, H6 $\beta$  and H6 $\alpha$ ), 3.14-4.16 (m, 3.6H, H6 $\beta\alpha$ , H4 $\beta$ , H3 $\beta$ , H2 and H5), 4.44-4.64 (m, 7.8H, H3 $\alpha$ , H4 $\alpha$ , OCH<sub>2</sub>Ph), 4.82 (dd, 1H,  $J \sim 11.4$  Hz and  $J \sim 5.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.24 (d, 0.59 H,  $J_{1-OH} \sim 11.9$  Hz, H1 $\beta$ ), 5.48 (dd, 0.41 H,  $J_{1-2} \sim 4$  Hz,  $J_{1-OH} \sim 11.1$  Hz, H1 $\alpha$ ), 7.09-7.49 (m, 20H, CHAr's).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)**

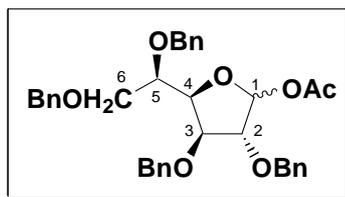
**2 $\alpha$**  :  $\delta$  ppm 71.4 (C6), 71.9-73.6 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 76.0 (C5), 80.2 (C4), 80.4 (C3), 81.1 (C2), 97.2 (C1), 127.6-128.7 (CHAr's), 136.8-137.0 (CqAr).

**2 $\beta$**  :  $\delta$  ppm 71.0 (C6), 71.9-73.6 ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 76.9 (C5), 78.0 (C4), 80.7 (C3), 84.0 (C2), 101.6 (C1), 127.6-128.7 (CHAr's), 136.8-137.0 (CqAr).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 558.5$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 563.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

TLC (PE/EtOAc 80/20) : R<sub>f</sub> = 0.5

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3427, 3088, 3063, 3030, 2927, 1721, 1701, 1497, 1454, 1310, 1207, 1099, 1028.

**1-O-Acetyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-glucofuranose 4**Formula: C<sub>36</sub>H<sub>38</sub>O<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 582.68

To a solution of 2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranose (4.1 g, 0.0076 mol) in pyridine (13 mL) were successively added acetic anhydride (1.42 mL, 0.0152 mol, 2 equiv.) and DMAP (10 mol%). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2h. Pyridine was then removed by several co-evaporation with toluene. Purification of the residual product by flash chromatography on silica gel (toluene/acetone 99/1) gave compound **3** as a colorless oil (3.89 g, 88%;  $\alpha/\beta$  ratio 1:2.3).

NOTE: By performing the benzylation and the hydrolysis steps without purifying the intermediate tetra-*O*-benzylated octyl glucofuranoside, the yield over the two steps is 71%.

The total yield of **3** from D-glucose reaches thus 42% over 4 steps.

**1-O-Acetyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-glucofuranose 3 $\alpha$** 

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2.18 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (dd, 1H,  $J_{6a-5} \sim 5.6$  Hz,  $J_{6a-6b} \sim 10.6$  Hz, H6a), 3.40 (dd, 1H,  $J_{6b-5} \sim 2$  Hz and  $J \sim 10.7$  Hz, H6b), 4.02-4.09 (ddd, 1H,  $J_{6b-5} \sim 2.5$  Hz,  $J_{6a-5} \sim 5.8$  Hz et  $J_{6b-5} \sim 10.5$  Hz, H5), 4.09-4.22 (m, 1H, H2), 4.40-4.44 (dd, 1H,  $J \sim 3.5$  Hz,  $J \sim 5.5$  Hz, H3), 4.44-4.67 (m, 8H, H4, OCH<sub>2</sub>), 4.70 (d, 1H,  $J \sim 11.3$  Hz, OCH<sub>2</sub>), 6.29 (d, 1H,  $J_{1-2} \sim 4.2$  Hz, H1), 7.10-7.47 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 20.9 (CH<sub>3</sub>), 70.7 (C6), 72.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.2 (C5), 78.8 (C4), 81.2 (C3) 82.7 (C2), 95.7 (C1), 125.2-129.0 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 169.9 (C=O).

(+) **MS (MALDI-TOF)** :  $m/z = 605$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**1-O-Acetyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-glucofuranose 3 $\beta$** 

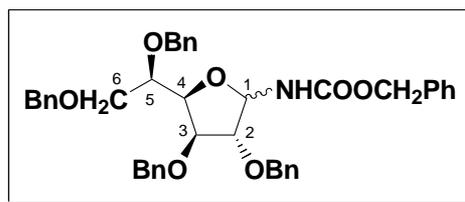
**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2.04 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (dd, 1H,  $J_{6a-5} \sim 5.6$ ,  $J_{6a-6b} \sim 10.6$  Hz, H6a), 3.67 (dd, 1H,  $J \sim 10.7$  Hz, H6b), 4.09 (s, 1H, H2), 4.09-4.22 (m, 2H, H3 and H5), 4.44-4.67 (m, 8H, H4 and OCH<sub>2</sub>), 4.70 (d, 1H,  $J \sim 11.3$  Hz, OCH<sub>2</sub>), 6.16 (s, 1H, H1), 7.10-7.47 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**$^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  ppm** 21.0 (CH<sub>3</sub>), 70.9 (C6), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.1 (C5), 80.2 (C4), 82.2 (C3), 83.9 (C2), 100.5 (C1), 125.2-128.9 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 169.8 (C=O).

**(+) MS (MALDI-TOF) :** m/z = 605 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3086, 3061, 3028, 2928, 2863, 1745, 1495, 1453, 1371, 1234, 1213, 1097, 1027, 1013.

**TLC (PE/EtOAc 80/20) :** R<sub>f</sub> = 0.6

**N-Benzyloxycarbonyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosylamine 5**Formula: C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 673.79

In a dry flask (10 mL), under Ar, trimethylsilyl triflate (962  $\mu$ L, 5.32 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of 1-O-acetyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-glucofuranose **4** (3.1 g, 5.32 mmol, 1 equiv.), benzyl carbamate (1.6 g, 10.64 mmol, 2 equiv.) and 4Å molecular sieves (2.3 g) in anhydrous dichloromethane (5.3 mL). The orange mixture was stirred at room temperature for 1 h. After quenching by adding triethylamine (2 mL), the solids were removed by filtration over celite and washed with ethyl acetate, and the filtrate was concentrated to provide a yellow oil. Purification of this product by flash chromatography (toluene/acetone 99/1 containing traces of Et<sub>3</sub>N) gave a colorless oily product (3.58 g, 85%) as an equimolar mixture of  $\alpha$  and  $\beta$  anomers which could be separated by flash chromatography (same eluant) and fully characterized.

**N-Benzyloxycarbonyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -D-glucofuranosylamine 5 $\alpha$** [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = + 8 (c = 0.79, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  ppm 3.68 (dd, 1H,  $J_{6a-5}$ ~ 5.2 Hz,  $J_{6a-6b}$ ~10.5 Hz, H6a), 3.82 (d, 1H,  $J_{1-2}$ ~3.7 Hz, H2), 3.88 (dd, 1H,  $J_{6a-6b}$ ~10.7 Hz,  $J_{6b-5}$ ~1.2 Hz, H6b), 3.94-3.99 (m, 1H, H5), 4.07 (d, 1H,  $J_{3-4}$ ~3 Hz, H3), 4.25 (dd, 1H,  $J_{4-5}$ ~9.2 Hz,  $J_{3-4}$ ~3 Hz, H4), 4.36-4.55 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.78 (d, 1H,  $J$ ~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.12 (broad s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.78-5.93 (m, 2H, NH and H1), 7.23-7.33 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  ppm 67.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.0 (C6), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.1 (C5), 78.3 (C4), 80.1 (C2), 80.7 (C3), 82.6 (C1), 127.5-128.7 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.3 (C<sub>qAr</sub>), 136.9 (C<sub>qAr</sub>), 137.7 (C<sub>qAr</sub>), 138.7 (C<sub>qAr</sub>), 138.9 (C<sub>qAr</sub>), 155.7 (C=O).

(+) MS (ESI) :  $m/z$  = 691.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.**N-Benzyloxycarbonyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl- $\beta$ -D-glucofuranosylamine 5 $\beta$** [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = - 32 (c = 0.96, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 3.68 (dd, 1H,  $J_{6a-5}$ ~5.5 Hz,  $J_{6a-6b}$ ~10.5 Hz, H6a), 3.86 (broad s, 1H, H2), 3.90 (d, 1H,  $J$ ~10.5 Hz, H6b), 4.00 (ddd, 1H,  $J_{4-5}$ ~9 Hz,  $J_{6a-5}$ ~5.5 Hz,  $J_{6b-5}$ ~1.5 Hz, H5), 4.07 (d, 1H,  $J_{3-4}$ ~3.5 Hz, H3), 4.25 (dd, 1H,  $J_{4-5}$ ~9.5 Hz,  $J_{3-4}$ ~3 Hz, H4), 4.66-4.72 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.82 (d, 1H,  $J$ ~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.06 (d, 1H,  $J$ ~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.13 (d, 1H,  $J$ ~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.66-5.72 (m, 2H, H1 and NH), 7.16-7.34 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 66.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.5 (C6), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.7 (C5), 80.6 (C4), 80.8 (C3), 84.4 (C2), 86.1 (C1), 127.5-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 155.0 (C=O).

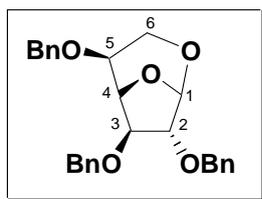
**(+) MS (MALDI-TOF)** :  $m/z$  = 696.3 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NNaO<sub>7</sub>: calcd :  $m/z$  = 696.2937 [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z$  = 696.2940 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd. for C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub>**: C, 74.87; H, 6.43; N, 2.08. Found: C, 75.10; H, 6.46; N, 2.02;

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3415, 3062, 3030, 2925, 2863, 2358, 1730, 1503, 1495, 1359, 1317, 1207, 1059.

**TLC (PE/EtOAc 80/20)** : R<sub>f</sub> = 0.32 ( $\alpha$ ), 0.39 ( $\beta$ ).

**1,6-Anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactofuranose 6**Formula: C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>

Mol. Wt.: 432.51

In a dry flask (10 mL), 1-*O*-acetyl-2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranose **4** (220 mg, 0.38 mmol) was dissolved in anhydrous dichloromethane (0.39 mL) under Argon and in the presence of 4Å molecular sieves (126 mg). Benzyl carbamate (63 mg, 0.416 mmol, 1.1 equiv.) was added and then tin (IV) chloride (380  $\mu$ l, 0.38 mmol, 1 equiv.) by portions. The yellow mixture was stirred at room temperature for 10 min. The reaction was quenched by adding saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (1 mL), the solids were then removed by filtration through celite and washed with ethyl acetate. The filtrate was washed with brine and dried over sodium sulfate. Solvents were evaporated to provide a yellow oily product. After purification by flash chromatography (toluene/acetone 99/1 containing traces of Et<sub>3</sub>N), compound **6** (115 mg, 70%) was obtained as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} = +17.1$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>).

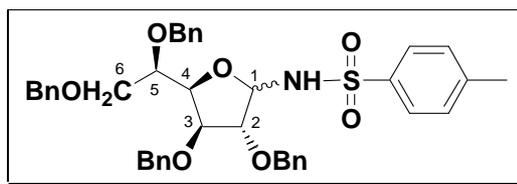
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)  $\delta$  ppm 3.44 (broad s, 1H, H5), 3.96 (m, 1H, H6a), 4.12 (dd, 1H,  $J \sim 3$  Hz,  $J \sim 13$  Hz, H6b), 4.21 (m, 2H, H3 and H4), 4.52 (m, 7H, H2, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.24 (broad s, 1H, H1), 7.18-7.36 (m, 15H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)  $\delta$  ppm 63.9 (C6), 70.6 (C5), 71.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.9 (C2), 84.4 (C3), 85.6 (C4), 101.4 (C1), 127.7-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.3 (Cq), 137.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 450.5$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3063, 3031, 2869, 1723, 1496, 1454, 1365, 1339, 1305, 1267, 1208, 1133, 1087, 1027.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.76.

**N-p-Toluenesulfonyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosylamine 8**Formula: C<sub>41</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub>S

Mol. Wt.: 693.85

In a dry flask (10 mL), under Ar, BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (30.2 μL, 0.245 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of substrate tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranose **3** (132 mg, 0.245 mmol), *p*-toluenesulfonamide (83.9 mg, 0.49 mmol, 2 equiv.) and 4Å molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 12 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. The crude product was then purified by flash chromatography on silica gel (9/1 PE/EtOAc). Compound **8** (119 mg, 70%) was obtained as a colorless oil and as an equimolar mixture of  $\alpha/\beta$  anomers.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  ppm 2.33 (s, 1.5H, CH<sub>3</sub>), 2.36 (s, 1.5H, CH<sub>3</sub>), 3.04 (dd, 0.5H, *J*~15Hz, *J*~5.2Hz, H6a), 3.27-3.34 (m, 1H, H6b, H6'a), 3.53-3.58 (m, 1H, H6'b, H5), 3.82-3.85 (m, 0.5H, H5'), 3.89 (d, 0.5H, *J*<sub>1-2</sub>~5Hz, H2'), 3.95 (s, 0.5H, H2), 3.98 (d, 0.5H, *J*~5Hz, H3), 4.00-4.05 (m, 1H, H3', H4), 4.18 (dd, 0.5H, *J*<sub>4-5</sub>~9.5Hz, *J*<sub>4-3</sub>~5Hz, H4'), 4.34-4.58 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.70 (dd, 1H, *J*~15Hz, *J*~10Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.39 (d, 0.5H, *J*<sub>1-NH</sub>~11Hz, H1), 5.56-5.67 (m, 1.5H, H1' and NH), 7.14-7.38 (m, 22H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.69 (d, 1H, *J*~10Hz, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.76 (d, 1H, *J*~10Hz, CH<sub>Ar</sub>'s).

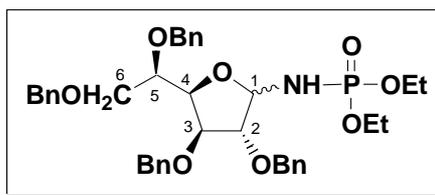
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  ppm 21.6 (CH<sub>3</sub>), 21.6 (CH<sub>3</sub>), 70.1 (C6), 71.2 (C6), 71.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.7 (C5), 76. (C5), 78.5 (C4), 80.30 (C3), 80.34 (C3), 80.8 (C2 and C4), 84.41 (C1 or C2), 84.44 (C1 or C2), 88.0 (C1), 127.4-129.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 136.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.66 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.70 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.97 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.01 (Cq<sub>Ar</sub>), 143.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 143.2 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) MS (ESI) : m/z = 702 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>41</sub>H<sub>43</sub>NNaO<sub>7</sub>S: calcd: m/z = 716.26579 [M+Na]<sup>+</sup>, found : m/z = 716.2660 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3253, 3063, 3031, 2249, 1725, 1599, 1496, 1454, 1343, 1209, 1165.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.61.

**N-Diethylphosphoryl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosylamine 9**Formula: C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>NO<sub>8</sub>P

Mol. Wt.: 675.75

In a dry flask (10 mL), under Ar, TMSOTf (45.8  $\mu$ L, 0.253 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of substrate tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranose **3** (137 mg, 0.253 mmol), diethylphosphoramidate (77.5 mg, 0.506 mmol, 2 equiv.) and 4 $\text{\AA}$  molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 5 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. The crude product was then purified by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 9/1 to 1/1). The colorless compound **9** (54 mg, 32%) was obtained as an oily 3:2 mixture of  $\alpha/\beta$  anomers.

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.26 (t, 6H,  $J \sim 7.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 3.62-3.68 (m, 1H, H6a), 3.75-4.11 (m, 9H, H6b, H2, H3, H5, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, NH), 4.22 (dd, 1H,  $J_{4-3} \sim 3.6$  and  $J_{4-5} \sim 9.6$  Hz, H4), 4.39-4.62 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.79 and 4.83 (2d, 1H,  $J \sim 11.6$ , 2 OCH<sub>2</sub>Ph), 5.06 (dd, 0.4H,  $J_{1-P} \sim 7.2$  and  $J_{1-NH} \sim 12$  Hz, H1 $\beta$ ), 5.27-5.32 (m, 0.6H, H1 $\alpha$ ), 7.11-7.43 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 16.2-16.4 (m, CH<sub>3</sub>), 62.5-62.6 (m, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 71.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.6 (C6), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.90 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.93 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.57 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.60 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.1 (C5), 77.4 (C5), 78.1 (C4), 80.3 (d,  $J_{C-P} \sim 8$  Hz, C4), 80.4 (C2), 80.7 (C3), 80.8 (C3), 84.2 (d,  $J_{C-P} \sim 2$  Hz, C1 $\alpha$ ), 85.3 (d,  $J_{C-P} \sim 10$  Hz, C2), 87.8 (C1 $\beta$ ), 127.6-128.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.95 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.98 (Cq<sub>Ar</sub>).

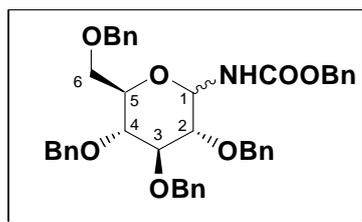
**<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**  $\delta$  ppm 5.51, 6.65.

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 676.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 698.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>NNaO<sub>8</sub>P: calcd :  $m/z = 698.2858$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 698.2843$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3385, 2981, 2927, 1724, 1454, 1269, 1097, 1027, 977.

**TLC (PE/EtOAc 1/1)** : R<sub>f</sub> = 0.2

**N-Benzoyloxycarbonyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosylamine 10<sup>155</sup>**Formula: C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub> Mol. Wt.: 673.79

In a dry flask (10 mL), under Ar, TMSOTf (33.5  $\mu$ L, 0.185mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of commercial 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glucopyranose (100 mg, 0.185 mmol), benzylcarbamate (55.9 mg, 0.37mmol, 2 equiv.) and 4Å molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 22 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. After purification by flash chromatography (17/3 PE/EtOAc) compound **10** (100 mg, 80%) was obtained as a colorless oil (1:1 mixture of anomers).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250MHz)**  $\delta$  3.28-3.35 (m, 0.5H), 3.41-3.82 (m, 5.5H), 4.40-4.94 (m, 9.5H), 5.00-5.20 (m, 2H), 5.54-5.61 (m, 0.5H), 7.06-7.36 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

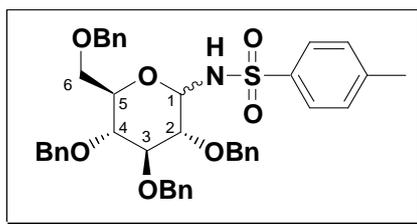
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5MHz)**  $\delta$  67.2 (CH<sub>2</sub>), 67.2 (CH<sub>2</sub>), 68.3 (CH<sub>2</sub>), 68.4 (CH<sub>2</sub>), 72.7 (CH<sub>2</sub>), 73.7 (CH<sub>2</sub>), 74.9 (CH<sub>2</sub>), 75.0 (CH<sub>2</sub>), 75.1 (CH<sub>2</sub>), 75.7 (CH<sub>2</sub>), 75.8 (CH<sub>2</sub>), 76.4 (CH), 77.3 (CH), 77.9 (CH), 80.4 (CH), 81.9 (CH), 82.1 (CH), 86.0 (CH), 127.5-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.1 (C<sub>qAr</sub>), 136.2 (C<sub>qAr</sub>), 137.4 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 137.9 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.3 (C<sub>qAr</sub>), 138.48 (C<sub>qAr</sub>), 138.51 (C<sub>qAr</sub>), 155.6 (C=O), 156.0 (C=O).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z$  = 691.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 696.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub>Na: calcd :  $m/z$  = 696.29372 [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z$  = 696.2941 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3329, 3063, 3031, 2868, 1731, 1537, 1454, 1233, 1069, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 8/2)** : R<sub>f</sub> = 0.4

**N-p-Toluenesulfonyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosylamine 11**Formula: C<sub>41</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub>S

Mol. Wt.: 693.85

In a dry flask (10 mL), under Ar, BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (22.8 μL, 0.185 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of commercially available 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glucopyranose (100 mg, 0.185 mmol), *p*-toluenesulfonamide (63.4 mg, 0.37 mmol, 2 equiv.) and 4Å molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 8 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. After purification by flash chromatography (4/1 PE/EtOAc) compound **11** (63 mg, 49%) was obtained as a colorless oil (1:1 mixture of anomers).

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ ppm 2.31 (s, 1.5H, CH<sub>3</sub>), 2.32 (s, 1.5H, CH<sub>3</sub>), 2.90-3.02 (m, 0.5H, H6a), 3.26-3.75 (m, 5.5H, H6b, H6a', H6b', H5, H5', H2, H2', H3, H3', H4 and H4'), 4.27-4.53 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.62-4.90 (m, 4.5H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 5.20 (d, 0.5H, *J*~10 Hz, NH), 5.32-5.36 (m, 0.5H, H1), 5.51 (d, 0.5H, *J*~3Hz, NH), 7.07-7.36 (m, 22H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.72-7.81 (m, 2H, CH<sub>Ar</sub>'s).

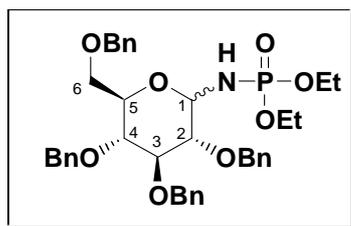
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)** δ ppm 21.6 (CH<sub>3</sub>), 67.4 (C6), 68.3 (C6'), 70.5 (CH), 72.7 (CH<sub>2</sub>), 73.5 (CH<sub>2</sub>), 73.7 (CH<sub>2</sub>), 75.0 (CH<sub>2</sub>), 75.2 (CH<sub>2</sub>), 75.8 (CH<sub>2</sub>), 75.9 (CH<sub>2</sub>), 76.5 (C2), 77.0 (CH), 77.3 (C2), 79.7 (C1), 80.6 (CH), 82.0 (CH), 84.3 (C1), 85.7 (CH), 127.4-129.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 143.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 143.7 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+)MS (ESI): *m/z* = 711.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, *m/z* = 716.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>41</sub>H<sub>43</sub>NNaO<sub>7</sub>S: calcd: *m/z* = 716.26579 [M+Na]<sup>+</sup>, found: *m/z* = 716.2670 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3055, 2987, 2306, 1422, 1265, 1069.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.68 and 0.52

**N-Diethylphosphoryl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosylamine 12**Formula: C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>NO<sub>8</sub>P

Mol. Wt.: 675.75

In a dry flask (10 mL), under Ar, TMSOTf (33.5  $\mu$ L, 0.185 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of commercially available 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucofuranose (100 mg, 0.185 mmol), diethylphosphoramidate (56.7 mg, 0.37 mmol, 2 equiv.) and 4 $\text{\AA}$  molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 8 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. After purification by flash chromatography (1:1 PE/EtOAc) compound **12** (32 mg, 26%) as a colorless oily product. The  $\beta$ -anomer was the major compound ( $\alpha/\beta$  ratio 1:2).

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 1.19-1.29 (m, 6H, CH<sub>3</sub>), 3.28 (t, 1H,  $J$ ~10Hz, H<sub>2</sub>), 3.41-3.48 (m, 2H, NH, H<sub>3</sub> or H<sub>4</sub>), 3.61-3.70 (m, 4H, H<sub>3</sub> or H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>), 4.03-4.10 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.33 (dt, 1H,  $J$ ~8.5 and  $J_{1-NH}$ ~11.5 Hz, H<sub>1</sub>), 4.44-4.63 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.70-4.92 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.15-7.35 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

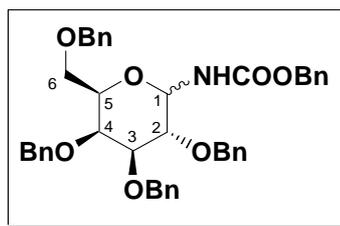
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5MHz)**  $\delta$  ppm 16.1 (CH<sub>3</sub>), 16.3 (CH<sub>3</sub>), 62.7-62.9 (several d, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 68.7 (C<sub>6</sub>), 72.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.2 (CH), 77.9 (CH), 82.5 (d,  $J$ ~9 Hz, C<sub>2</sub>), 83.8 (C<sub>1</sub>), 86.1 (d,  $J$ ~2 Hz, CH), 127.8-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.99 (C<sub>qAr</sub>), 138.04 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.5 (C<sub>qAr</sub>).

**<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202 MHz)**  $\delta$  ppm 6.12.

(+) **MS (ESI)** :  $m/z$  = 676.5 [M+H]<sup>+</sup>, 698.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3422, 3185, 2924, 2857, 1725, 1453, 1234, 1161, 1093, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 1/1)** : R<sub>f</sub> = 0.2

**N-Benzyloxycarbonyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranosylamine 13**Formula: C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub> Mol. Wt.: 673.79

In a dry flask (10 mL), under Ar, TMSOTf (33.5  $\mu$ L, 0.185 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of commercial 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-galactopyranose (100 mg, 0.185 mmol), benzylcarbamate (55.9 mg, 0.37 mmol, 2 equiv.) and 4Å molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 22 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. After purification by flash chromatography (4/1 PE/EtOAc) compound **13** (60.4 mg, 48%) was obtained as a colorless oily product (1:1 mixture of anomers).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)  $\delta$  ppm 3.47-3.72 (m, 4H), 3.82-4.16 (m, 2H), 4.33-4.49 (m, 2H), 4.49-4.74 (m, 4H), 4.76-4.95 (m, 2H), 4.99-5.19 (m, 2.5H), 5.53-5.61 (m, 0.5H), 7.11-7.46 (m, 25H).

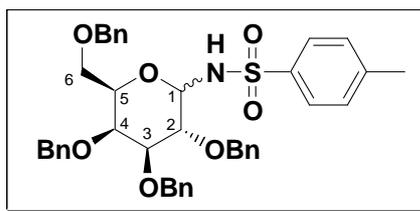
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)  $\delta$  ppm 67.1 (CH<sub>2</sub>), 67.2 (CH<sub>2</sub>), 68.1 (CH<sub>2</sub>), 68.2 (CH<sub>2</sub>), 72.8 (CH<sub>2</sub>), 73.0 (CH<sub>2</sub>), 73.1 (CH<sub>2</sub>), 73.5 (CH), 73.6 (CH<sub>2</sub>), 74.1 (CH<sub>2</sub>), 74.5 (CH<sub>2</sub>), 74.7 (CH), 74.9 (CH), 75.1 (CH), 75.2 (CH), 77.4 (CH), 78.2 (CH), 82.1 (CH), 83.6 (CH), 127.6-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.2 (C<sub>qAr</sub>), 136.3 (C<sub>qAr</sub>), 137.7 (C<sub>qAr</sub>), 137.9 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.3 (C<sub>qAr</sub>), 138.4 (C<sub>qAr</sub>), 138.6 (C<sub>qAr</sub>), 138.6 (C<sub>qAr</sub>), 155.8 (C=O), 156.2 (C=O).

(+)MS (ESI) :  $m/z$  = 691.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 696.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub>Na: calcd :  $m/z$  = 696.29372 [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z$  = 696.2944 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3415, 3063, 3030, 2869, 1731, 1522, 1454, 1265, 1100, 1043.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.4

**N-p-Toluenesulfonyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranosylamine 14**

Formula: C<sub>41</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>7</sub>S      Mol. Wt.: 693.85

In a dry flask (10 mL), under Ar, BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (22.8 μL, 0.185 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of commercial 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-galactopyranose (100 mg, 0.185 mmol), p-toluenesulfonamide (63.4 mg, 0.37 mmol, 2 equiv.) and 4Å molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 8 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. After purification by flash chromatography (4:1 PE/EtOAc) compound **14** (88 mg, 69%) was obtained as a colorless oily product (1:1 mixture of anomers).

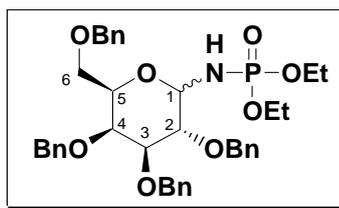
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ ppm 2.28-2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.05 (dd, 0.5H, *J*<sub>5-6a</sub>~5.3 Hz, *J*<sub>6a-6b</sub>~9 Hz, H6a d1), 3.19 (dd, 0.5H, *J*<sub>5-6a</sub>~5.5 Hz, *J*<sub>6a-6b</sub>~9 Hz, H6a d2), 3.13-3.38 (m, 0.5H, H6b d2), 3.44-3.52 (m, 1H, H6b d1 and H5 d2), 3.54-3.77 (m, 2.5H, H4 d2, H5 d1, H2 d2, H3 d1), 3.88-3.92 (m, 1H, H3 d2 and H4 d1), 4.06 (dd, 0.5H, *J*~5.3 Hz and *J*~9.5 Hz, H2 d1), 4.29-4.31 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.46-4.90 (m, 6.5H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1, d2), 5.16 (d, 0.5H, *J*~10 Hz, NH, d2), 5.25 (dd, 0.5H, *J*~2.7 Hz and *J*~5 Hz, H1, d1), 5.49 (d, 0.5H, *J*~2.7 Hz, NH, d1), 7.05-7.37 (m, 22H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.70-7.78 (m, 2H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)** δ ppm 21.6 (CH<sub>3</sub>), 68.1 (CH<sub>2</sub>), 73.1 (CH<sub>2</sub>), 73.46 (CH<sub>2</sub>), 73.52 (CH<sub>2</sub>), 74.76 (CH<sub>2</sub>), 74.84 (CH), 74.9 (CH), 75.3 (CH), 77.7 (CH), 83.3 (CH), 84.6 (CH), 127.4-129.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.9-138.7 (C<sub>qAr</sub>), 143.3 (C<sub>qAr</sub>).

(+)MS (ESI): *m/z* = 711.5 [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* = 716.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3423, 3063, 3030, 2915, 2970, 1496, 1454, 1330, 1164, 1096, 1076.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.68 and 0.60

**N-Diethylphosphoryl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranosylamine 15**

Formula:  $C_{38}H_{46}NO_8P$  Mol. Wt.: 675.75

In a dry flask (10 mL), under Ar, TMSOTf (33.5  $\mu$ L, 0.185 mmol, 1 equiv.) was added by portions to a mixture of commercial 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-galactopyranose (100 mg, 0.185 mmol), phosphoramidate (56.7 mg, 0.37 mmol, 2 equiv.) and 4 $\text{\AA}$  molecular sieves, in anhydrous dichloromethane (substrate concentration 1M). The orange mixture was stirred at room temperature during the 8 hours. After quenching by the addition of triethylamine, filtration over Celite and rinsing with dichloromethane, the solvent was evaporated to provide a yellow oily product. After purification by flash chromatography (1/1 PE/EtOAc) compound **15** (52 mg, 42%) was obtained as a colorless oily product with the  $\beta$ -anomer as major compound ( $\alpha/\beta$  ratio 1:4.6).

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  ppm** 1.19 (t, 6H,  $J\sim 7.5\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 3.40 (t, 1H,  $J\sim 11\text{Hz}$ , H2), 3.50-3.65 (m, 5H, H4, H3, H6 and NH), 3.92-4.09 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$  and H5), 4.30 (dt, 1H,  $J\sim 8.5$   $J_{1-\text{NH}}\sim 11.5$  Hz, H1), 4.41 (AB, 2H,  $J\sim 11.7\text{Hz}$ ,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.60 (d, 1H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.71 (AB, 2H,  $J\sim 11.5$ ,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.80 (d, 1H,  $J\sim 11\text{Hz}$ ,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.89 (d, 1H,  $J\sim 11\text{Hz}$ ,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.94 (d, 1H,  $J\sim 11\text{Hz}$ ,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 7.25-7.34 (m, 20H).

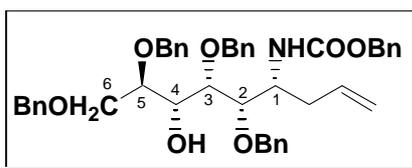
**$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62.5 MHz)  $\delta$  ppm** 16.1 ( $\text{CH}_3$ ), 16.2 ( $\text{CH}_3$ ), 62.5-62.7 (m,  $\text{POCH}_2\text{CH}_3$ ), 68.8 (C6), 72.9 ( $\text{CH}_2$ ), 73.6 (2C, CH), 74.6 (CH), 74.8 ( $\text{CH}_2$ ), 75.4 ( $\text{CH}_2$ ), 79.5 (d, CH), 83.8 (d, CH), 84.1 (CH), 127.7-128.5 ( $\text{CH}_{\text{Ar's}}$ ), 137.9 ( $\text{C}_{\text{qAr}}$ ), 137.26 ( $\text{C}_{\text{qAr}}$ ), 137.32 ( $\text{C}_{\text{qAr}}$ ), 137.6 ( $\text{C}_{\text{qAr}}$ ).

**$^{31}\text{P NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 202 MHz)  $\delta$  ppm** 6.26, 7.54.

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 676.5[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $698.5[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**IR ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ )** 3385, 2869, 2924, 1724, 1454, 1237, 1272, 1097, 1027.

**TLC (PE/EtOAc 7/3)** :  $R_f = 0.08$

**(1R)-1-C-Allyl-1-benzyloxycarbonylamino-1-deoxy-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-glucitol 16**Formula: C<sub>45</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 715.87

**General procedure A for Additions of Silylated Nucleophiles.**

In a dry 10 mL flask, under Ar, the silylated nucleophile (1.25 mmol, 6 equiv.) was added to a solution of *N*-benzyloxycarbonyl-2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucofuranosylamine **5** (140 mg, 0.21 mmol) in anhydrous acetonitrile (2.1 mL). The mixture was stirred at -40°C during 15 minutes and trimethylsilyl triflate (19  $\mu$ L, 0.10 mmol, 0.5 equiv.) was then added by portions to the colorless solution. The mixture was stirred at -40°C during 56 h, and then one more equivalent of silylated nucleophile (0.21 mmol) was added. After total conversion (16 h) the reaction was quenched with saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (1 mL). Ethyl acetate (20 mL) was added and the organic layer was separated, washed with brine (20 mL) and dried with sodium sulfate. The solvents were removed by evaporation under vacuum to afford a brown oil which was purified by flash chromatography (toluene/acetone containing traces of Et<sub>3</sub>N 99/1 to 98/2). Compound **16** was obtained as colorless oil (129mg, 86%) from **5**

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -6$  (c = 1.22, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  ppm 2.18-2.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 2.56 (d, 1H, *J*~9 Hz, OH), 3.55-3.59 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.62-3.68 (m, 2H, H<sub>5</sub> and H<sub>6a</sub>), 3.72 (d, 1H, *J*~8 Hz, H<sub>2</sub>), 3.81-3.91 (m, 3H, H<sub>1</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>6b</sub>), 4.22 (d, 1H, *J*~11 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.29 (d, 1H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.43-4.49 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph, NH), 4.63 (d, 2H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.73 (d, 1H, *J*~11 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.86-4.96 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph, CH<sub>2</sub>=CH), 5.04 (d, 1H, *J*~12.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.13 (d, 1H, *J*~9.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.65-5.67 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 7.08-7.26 (m, 25H, CH<sub>Ar's</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  ppm 38.3 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 51.5 (C<sub>1</sub>), 66.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.87 (C<sub>5</sub>), 71.2 (C<sub>6</sub>), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.2 (C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub>), 79.7 (C<sub>2</sub>), 117.9 (CH<sub>2</sub>=CH), 127.5-128.6 (CH<sub>Ar's</sub>), 134.7 (CH=CH<sub>2</sub>), 136.7 (C<sub>qAr</sub>), 138.3 (C<sub>qAr</sub>), 138.4 (C<sub>qAr</sub>), 138.6 (C<sub>qAr</sub>), 156.1 (C=O).

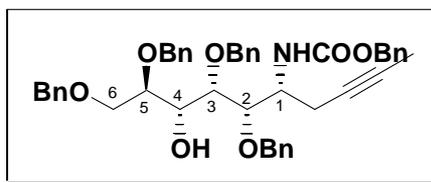
(+) MS (ESI) : *m/z* = 733.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 738.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>45</sub>H<sub>49</sub>NNaO<sub>7</sub>: calcd : *m/z* = 738.3407 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 738.3401 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd. for C<sub>45</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>7</sub>:** C, 75.50; H, 6.90; N, 1.96. Found: C, 75.72; H, 6.96; N, 1.84.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3436, 3029, 3013, 2927, 2866, 1716, 1498, 1454, 1333, 1216, 1097, 1060, 1027.

**TLC (PE/EtOAc 80/20) :** R<sub>f</sub> = 0.22.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1-benzoyloxycarbonylamino-1-C-(but-2-ynyl)-1-deoxy-D-glucitol 17**Formula: C<sub>46</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 727.88

Using general procedure A from compound **5** (196 mg, 0.291 mmol), compound **17** (100 mg, 47%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (Toluene/EtOAc 80/5).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -6$  ( $c = 0.71$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.30-2.57 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.66 (brs, 1H, OH), 3.56-3.71 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.73-3.82 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.85-3.94 (m, 3H, H<sub>6</sub> and H<sub>3</sub>), 3.98-4.07 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 4.09-4.18 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 4.23-4.42 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.49-5.00 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.07-5.17 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph) 5.24 (d, 1H,  $J_{1\text{-NH}} \sim 9.6$  Hz, NH), 7.18-7.43 (m, 25H, CH<sub>Ar's</sub>).

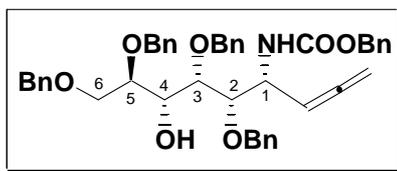
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 3.6 (CH<sub>3</sub>), 23.6 (CH<sub>2</sub>), 51.2 (C<sub>1</sub>), 66.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.5 (C<sub>4</sub>), 71.2 (C<sub>6</sub>), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.36 (C<sub>alkyne</sub>-CH<sub>3</sub>), 75.41 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.8 (C<sub>alkyne</sub>-CH<sub>2</sub>), 77.9 (C<sub>3</sub>), 78.2 (C<sub>5</sub>), 78.9 (C<sub>2</sub>), 127.5-128.6 (CH<sub>Ar's</sub>), 136.6 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.3 (C<sub>qAr</sub>), 138.7 (C<sub>qAr</sub>), 155.9 (C=O).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 728$  [M+H]<sup>+</sup>, 745.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 750.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>46</sub>H<sub>49</sub>NNaO<sub>7</sub>: calcd :  $m/z = 750.34067$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 750.3416$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3429, 3063, 3032, 2919, 2866, 1718, 1498, 1454, 1334, 1266, 1216, 1095, 1062, 1027.

**TLC (PE/EtOAc 80/20)** : R<sub>f</sub> = 0.38.

**(1R)-1-C-Allenyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-1-benzyloxycarbonylamino-1-deoxy-D-glucitol**  
**18**Formula: C<sub>45</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>7</sub> Mol. Wt.: 713.86

Using general procedure A from compound **5** (259 mg, 0.233 mmol), compound **18** (149 mg, 54%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 70/10 to 60/10).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1.6$  ( $c = 3.14$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 2.67 (d, 1H,  $J \sim 8.8$  Hz, OH), 3.57-3.97 (m, 6H, H2, H3, H4, H5 and H6), 4.31 (d, 1H,  $J \sim 11.3$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.35 (d, 1H,  $J \sim 11.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.47-4.65 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 4.67-4.84 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>Ph and CH<sub>2</sub>=), 4.98 (d, 1H,  $J \sim 12$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.14 (d, 1H,  $J \sim 12$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.24 (q, 1H,  $J \sim 5.9$  Hz, CH=), 5.38 (d, 1H,  $J \sim 9.2$  Hz, NH), 7.17-7.38 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

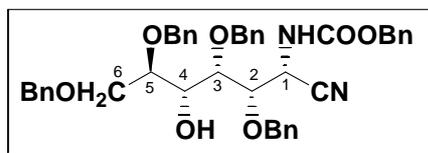
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 50.4 (C1), 66.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.9 (C6), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.0 (C5 and C4), 78.6 (CH<sub>2</sub>=), 81.5 (C2 and C3), 91.8 (CH=), 127.5-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.19 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.21 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.1 (C=O), 207.6 (=C=).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 714.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 731.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 736.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>45</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>7</sub>Na: calcd :  $m/z = 736.32502$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 736.3260$  [M+Na]<sup>+</sup>

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3432, 3063, 3031, 2926, 2867, 1958, 1719, 1498, 1455, 1399, 1337, 1276, 1215, 1096, 1062, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 80/20)** : R<sub>f</sub> = 0.31.

**2-Benzyloxycarbonylamino-2-désoxy-3,4,6,7-tetra-O-benzyl-D-glycero-D-idoheptono nitrile 20**Formula: C<sub>43</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 700.82

Compound **20** was obtained as a colorless oil (35.1 mg, 63%) from **5** (53.4 mg, 0.079 mmol), using 0.5 equiv. of trimethylsilyl triflate and after a stirring time of 56 h, using general procedure A.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -4$  (c = 0.45, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2.70 (broad s, 1H, OH), 3.57-3.61 (m, 1H, H4), 3.65-3.73 (m, 1H, H6a), 3.78-3.82 (m, 2H, H6b and H5), 3.85 (d, 1H, *J*~7 Hz, H3), 4.03-4.05 (m, 1H, H2), 4.28 (t, 2H, *J*~10.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.50-4.65 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (AB, 2H, *J*~11 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph) 4.91-4.93 (m, 1H, H1), 5.02-5.12 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.67-5.69 (m, 1H, NH), 7.14-7.32 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

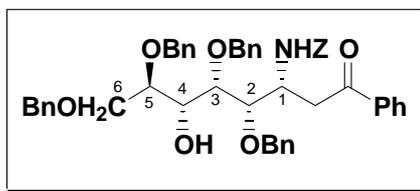
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 43.8 (C1), 67.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.2 (C6+C5), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.6 (C3), 77.6 (C4), 78.0 (C2), 118.2 (CN), 127.8-130.0 (CH<sub>Ar</sub>'s), 135.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 136.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 155.4 (C=O).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 719$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>43</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>7</sub>: calcd:  $m/z = 723.3046$  [M+Na]<sup>+</sup>, found:  $m/z = 723.3041$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3427, 3033, 2253, 1726, 1149, 1455, 1271, 1215, 1096, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 70/30)** : R<sub>f</sub> = 0.5.

**4,5,7,8-Tetra-O-benzyl-3-benzoyloxycarbonylamino-2,3-dideoxy-1-C-phenyl-D-glycero-D-ido-1-octulose 21**Formula: C<sub>50</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 793.94

This product **21** was obtained as a colorless oil (200 mg, 81%) from **5** (208 mg, 0.31mmol), using 0.5 equiv. of trimethylsilyl triflate and after a stirring time of 72 h using general procedure A.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -3$  (c = 0.69, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)** δ ppm 2.93 (d, 1H, *J*~7.5 Hz, OH), 3.01-3.05 (m, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 3.19-3.26 (m, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 3.73-3.79 (m, 2H, H2 and H6a), 3.92-3.95 (m, 4H, H6b, H5, H3 and H4), 4.33-4.49 (m, 5H, H1 and OCH<sub>2</sub>Ph), 4.55 (broad s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.70-4.77 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.02 (d, 1H, *J*~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.07 (d, 1H, *J*~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.43-5.47 (m, 1H, NH), 7.08-7.81 (m, 30H, CH<sub>Ar</sub>'s).

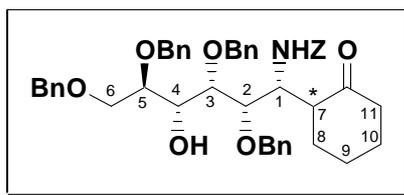
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)** δ ppm 41.5 (CH<sub>2</sub>COPh), 48.3 (C1), 66.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.3 (C5), 71.2 (C6), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.9 (C3 or C4), 78.3 (C2), 78.7 (C4 or C3), 127.5-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 133.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 136.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 155.9 (C=O), 198.4 (C=O ketone).

(+)MS (ESI) : *m/z* = 811.50 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 817.00 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>50</sub>H<sub>51</sub>NNaO<sub>8</sub> : calcd : *m/z* = 816.3512 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 816.3506 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3850, 3686, 3645, 3020, 2400, 1423, 1215.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.4

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1-benzoyloxycarbonylamino-1-C-(2-oxocyclohexyl)-1-deoxy-D-glucitol 22**Formula: C<sub>48</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>8</sub> Mol. Wt.: 771.94

Using general procedure A of silylated nucleophile addition from compound **5** (138.1 mg, 0.205 mmol), compound **22** (107 mg, 68%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 80/20).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -19$  (c = 0.99, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)**  $\delta$  ppm 1.48-2.10 (m, 7H, H8, H9, H10 and H11a), 2.17-2.33 (m, 1H, H11b), 2.78-3.00 (m, 2H, OH and H7), 3.57-3.75 (m, 2H, H5 and H6a), 3.77-3.90 (m, 2H, H3 and H6b), 3.92-4.06 (m, 2H, H2 and H4), 4.08-4.18 (m, 1H, H1), 4.24 (d, 1H, *J*~11 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.31 (d, 1H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.43-4.59 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.60-4.72 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.52 (d, 1H, *J*~10 Hz, NH), 7.06-7.40 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

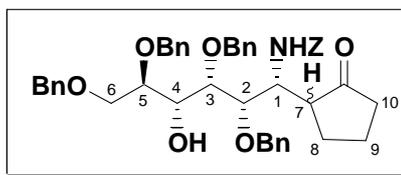
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 24.4 (C9), 27.8 (C10), 31.3 (C8), 42.4 (C11), 52.2 (C7), 53.5 (C1), 66.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.0 (C4), 71.0 (C6), 72.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.0 (C3), 77.3 (C2), 78.6 (C5), 127.5-128.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.8 (C=O), 211.7 (C=O ketone).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 789.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 795.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>48</sub>H<sub>53</sub>NNaO<sub>8</sub>: calcd : *m/z* = 794.36689 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 794.3672 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3435, 3063, 3031, 2935, 2863, 1717, 1702, 1498, 1453, 1210, 1072, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 80/20)** : R<sub>f</sub> = 0.1.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1-benzyloxycarbonylamino-1-C-(2-oxocyclopentyl)-1-deoxy-D-glucitol 23**Formula: C<sub>47</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>8</sub> Mol. Wt.: 757.91

Using general procedure of silylated nucleophile addition from compound **5** (463 mg, 0.688 mmol), compound **23** (367.5 mg, 70%) was obtained as a colorless oily mixture of diastereoisomers at C7 position (ratio 2/1 d1 and d2 for diastereoisomers, 1 and 2 respectively) after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 50/20 to 40/20).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 1.22-2.42 (m, 7H, H7, H8, H9 and H10), 2.71 (brs, 1H, OH), 3.59-4.05 (m, 6H, H1, H3, H4, H5 and H6), 4.20-4.95 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph and H2), 5.00-5.42 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph and NH), 7.11-7.42 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

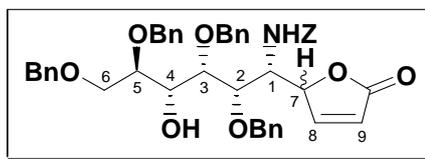
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 20.3 (d1, C9), 20.5 (d2, C9), 27.3 (d1, C8), 27.7 (d2, C8), 38.7 (d1, C10), 38.9 (d2, C10), 50.2 (d2, C7), 50.9 (d1, C7), 51.2 (d1, C1), 52.3 (d2, C1), 66.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.3 (d1, C4), 70.7 (d2, C4), 71.0 (d2, C6), 71.5 (d1, C6), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.58 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.63 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.38 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.44 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.4 (C3), 77.5 (C3), 77.9 (d1, C5), 78.1 (d2, C5), 78.3 (d1, C2), 78.5 (d2, C2), 127.4-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 136.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.38 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.40 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.3 (C=O), 156.7 (C=O), 218.9 (C11), 219.2 (C11).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 775.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 780.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>47</sub>H<sub>51</sub>NNaO<sub>8</sub>: calcd : *m/z* = 780.35124 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 780.3513 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3435, 3063, 3017, 1720, 1454, 1404, 1217, 1093, 1028.

TLC (PE/EtOAc 5/2) : R<sub>f</sub> = 0.4.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1-benzyloxycarbonylamino-1-C-(2-oxo-5H-furan-5-yl)-1-deoxy-D-glucitol 24**Formula: C<sub>46</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>9</sub>

Mol. Wt.: 757.87

Using general procedure A of silylated nucleophile addition from compound **5** (138 mg, 0.205 mmol), compounds **24a/24b** (ratio : 27/73) (81.4 mg, 52%) were obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 60/40). The isomers were separated and both fully characterised.

**(1R)-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-1-benzyloxycarbonylamino-1-C-(2-oxo-5H-furan-5-yl)-1-deoxy-D-glucitol 24a**

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +2.5$  (c = 0.52, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 2.51 (brs, 1H, OH), 3.54-3.58 (m, 1H, H5), 3.60-3.71 (m, 2H, H6a and H4), 3.80-3.94 (m, 3H, H6b, H1 and H3 or H2), 4.16 (d, 1H, *J*~7.6Hz, H2 or H3), 4.30 (dd, 2H, *J*~11.5 and 3.5Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.51-4.58 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.64 (d, 1H, *J*~11.2 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.70 (d, 1H, *J*~11.6 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.78 (d, 1H, *J*~10.8 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.90 (d, 1H, *J*<sub>1-7</sub>~8.8 Hz, H7), 4.97 (d, 1H, *J*~12.0 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.10 (d, 1H, *J*~12.0 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.47 (d, 1H, *J*<sub>1-NH</sub>~8.8 Hz, NH), 6.13 (dd, 1H, *J*<sub>7-9</sub>~2 Hz and *J*<sub>8-9</sub>~6 Hz, H9), 7.17-7.34 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.43 (dd, 1H, *J*<sub>7-8</sub>~1.2 Hz and *J*<sub>8-9</sub>~5.6 Hz, H8).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 53.7 (C1), 67.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.5 (C4), 70.9 (C6), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.1 (C2 or C3), 77.4 (C2 or C3), 78.2 (C5), 82.3 (C7), 121.9 (C9), 127.7-128.7 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 155.6 (C8), 156.2 (Cq C=O), 172.5 (C10).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 775.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 780 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3430, 3017, 2253, 1757, 1718, 1498, 1454, 1215, 1027.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.11

HRMS (ESI) C<sub>46</sub>H<sub>47</sub>NNaO<sub>9</sub>: calcd : *m/z* = 780.31485 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 780.3147 [M+Na]<sup>+</sup>.

(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1-benzyloxycarbonylamino-1-C-(2-oxo-5H-furan-5-yl)-1-deoxy-D-glucitol 24b

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -61$  (c = 1.02, CHCl<sub>3</sub>).

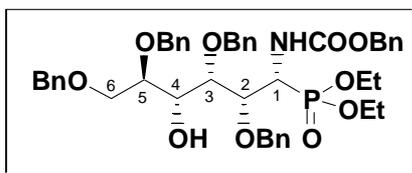
**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2,66 (d, 1H, *J*~9 Hz, OH), 3.56-3.60 (m, 1H, H5), 3.66-3.73 (m, 2H, H6a and H2 or H3), 3.80-3.85 (m, 2H, H6b and H4), 3.88 (d, *J*~6.1Hz, H2 or H3), 4.27-4.32 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.35-4.44 (m, 2H, H1, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.50-4.61 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.68 (d, 1H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.99-5.05 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.14 (d, 1H, *J*<sub>NH</sub>~8.9 Hz, NH), 5.22 (brs, 1H, H7), 5.97 (dd, 1H, *J*<sub>7-9</sub>~1.5 and *J*<sub>8-9</sub>~5.5Hz, H9), 7.15-7.34 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.38 (d, 1H, *J*<sub>8-9</sub>~6 Hz, H8).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 52.0 (C1), 67.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.7 (C4), 70.6 (C6), 71.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.5 (C2 or C3), 76.0 (C2 or C3), 78.1 (C5), 84.0 (C7), 121.6 (C9), 127.7-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 154.7 (C8), 156.4 (Cq C=O), 173.2 (C10).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 775.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 780 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3435, 2868, 1759, 1724, 1498, 1217, 1091.

**TLC (PE/EtOAc 70/30)** : R<sub>f</sub> = 0.03.

**(1R)-1-C-Diethylphosphono-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-1-benzoyloxycarbonylamino-1-deoxy-D-glucitol 25**Formula: C<sub>46</sub>H<sub>54</sub>NO<sub>10</sub>P Mol. Wt.: 811.90

Using general procedure of silylated nucleophile addition from compound **5** (99.8 mg, 0.148 mmol), compound **25** (14 mg, 12%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (Petroleum Ether/EtOAc 70/30). The expected compound was obtained as a mixture of diastereoisomers d1 and d2 (d.r : 3/1).

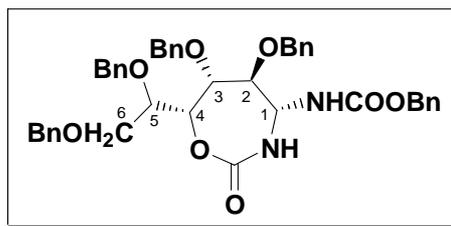
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ ppm 1.15 (t, 3H, *J*~7 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.16 (t, 3H, *J*~7 Hz, CH<sub>3</sub>), 3.47 (d, 0.5H, *J*~7 Hz, OH), 3.61-3.72 (m, 2H, H6a, H6b d1 and OH), 3.84-4.11 (m, 7.5H, H2, H4, H5, H6b d2 and CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.24 (d, 1H, *J*~5.0 Hz, H3), 4.29 (d, 1H, *J*~11.6 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.34-4.85 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 4.98-5.14 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.50 (dd, 0.3H, *J*~3.0 and 10 Hz, NH d2), 6.34 (d, 1H, *J*~10 Hz, NH d1), 7.14-7.38 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm (d1, d2) 21.74, 17.68.

(+) MS (ESI) : *m/z* = 812.5 [M+H]<sup>+</sup>, 834.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>46</sub>H<sub>54</sub>NNaO<sub>10</sub>P: calcd : *m/z* = 834.33831 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 834.3383 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3064, 3032, 2927, 1705, 1454, 1351, 1314, 1265, 1213, 1159, 1097, 1028.

**2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-D-glucose aminal  $N_S$  benzyl carbamate  $N_R$ , O cyclic carbamate 26**Formula:  $C_{43}H_{44}N_2O_8$ 

Mol. Wt.: 716.82

Using general procedure A from compound **5** (157 mg, 0.233 mmol), compound **26** (96.5 mg, 58%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 75/25).

$[\alpha]_D^{25} = -26$  ( $c = 1.05$ ,  $CHCl_3$ ).

**$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  ppm 3.64 (t, 1H,  $J \sim 3.6$  Hz, H2), 3.80 (dd, 1H,  $J_{6a-5} \sim 4.4$  and  $J_{6a-6b} \sim 10.4$  Hz, H6a), 3.88 (ddd, 1H,  $J_{6b-5} \sim 1.6$ ,  $J_{6a-5} \sim 4.4$  and  $J_{4-5} \sim 9.6$  Hz, H5), 3.99 (dd, 1H,  $J_{6b-5} \sim 1.6$  and  $J_{6a-6b} \sim 10.4$  Hz, H6b), 4.09 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 3.6$  Hz, H3), 4.25-4.39 (m, 3H,  $OCH_2Ph$ ), 4.45-4.65 (m, 5H,  $OCH_2Ph$  and H4), 4.79 (d, 1H,  $J \sim 11.6$  Hz,  $OCH_2Ph$ ), 4.95-5.01 (m, 2H,  $OCH_2Ph$  and H1), 5.12 (d, 1H,  $J \sim 12.4$  Hz,  $OCH_2Ph$ ), 5.86 (d, 1H,  $J_{1-NH} \sim 6$  Hz, NH), 6.99 (d, 1H,  $J_{1-NH} \sim 9.2$  Hz, NH), 7.04-7.36 (m, 25H,  $CH_{Ar's}$ ).

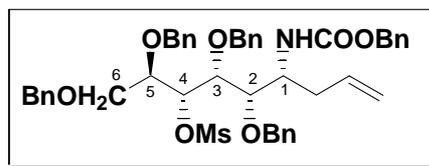
**$^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  ppm 61.0 (C1), 67.2 ( $OCH_2Ph$ ), 69.1 (C6), 71.0 (C2), 71.8 ( $OCH_2Ph$ ), 72.0 ( $OCH_2Ph$ ), 73.3 ( $OCH_2Ph$ ), 73.6 ( $OCH_2Ph$ ), 74.9 (C4), 75.6 (C5), 76.0 (C3), 127.6-128.7 ( $CH_{Ar's}$ ), 136.1 ( $C_{qAr}$ ), 136.7 ( $C_{qAr}$ ), 137.0 ( $C_{qAr}$ ), 138.3 ( $C_{qAr}$ ), 138.4 ( $C_{qAr}$ ), 155.5 (C=O), 157.3 (C=O).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 717.5 [M+H]^+$ , 734.5  $[M+NH_4]^+$ , 739.5  $[M+Na]^+$ .

**HRMS (ESI)**  $C_{43}H_{44}N_2NaO_8$ : calcd :  $m/z = 739.29954 [M+Na]^+$ , found :  $m/z = 739.2980 [M+Na]^+$ .

**IR (NaCl,  $cm^{-1}$ )** 3392, 3321, 3063, 3032, 1923, 2869, 1732, 1513, 1499, 1455, 1266, 1309, 1227, 1102, 1028, 1046.

**TLC (PE/EtOAc 80/20)** :  $R_f = 0.1$ .

**(1R)-1-C-Allyl-1-benzoyloxycarbonylamino-1-deoxy-4-O-methanesulfonyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-glucitol 27**Formula: C<sub>46</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>9</sub>S

Mol. Wt.: 793.96

**General procedure B for mesylation**

In a dry flask (10 mL), under Ar, methanesulfonyl chloride (8.2  $\mu$ L, 0.11 mmol, 2.1 equiv.) was added by portions to a solution of **16** (38 mg, 0.053 mmol) and triethylamine (16  $\mu$ L, 0.12 mmol, 2.2 equiv.) in anhydrous dichloromethane. The yellow mixture was stirred at room temperature for 5 to 12 h. After total conversion (TLC monitoring), the reaction was quenched with saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl (1 mL). Ethyl acetate (20 mL) was added, the organic layer was separated, washed with brine (20 mL) and dried over sodium sulfate. Then the solvents were evaporated, thus providing a yellow oil which was used either without further purification or purified on silica gel column (EP/EtOAc 85/15 +  $\epsilon$ Et<sub>3</sub>N) affording the mesylate intermediate **27** as a oily compound (62%).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +30$  (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2.18 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 2.93 (s, 3H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.57 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 7$  Hz,  $J_{6a-6b} \sim 10.5$  Hz, H6a), 3.69 (broad s, 2H, H2 and H3), 3.80 (m, 1H, H5), 3.85 (dd, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 10.5$  Hz,  $J_{5-6b} \sim 3$  Hz, H6b), 4.02 (m, 1H, H1), 4.40 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>Ph, NH), 4.55 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.63 (d, 1H,  $J \sim 11.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, 1H,  $J \sim 11$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.93 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph, CH<sub>2</sub>=CH), 5.02 (d, 1H,  $J \sim 12.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.14 (m, 1H, H4), 5.66 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 7.10-7.27 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

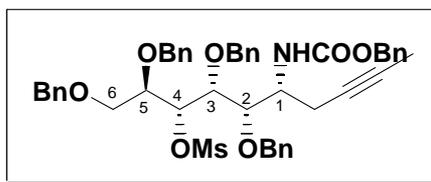
**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 37.9 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 38.7 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 51.0 (C1), 66.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.0 (C6), 72.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.6 (C3 or C2), 79.0 (C5), 80.0 (C3 or C2), 80.7 (C4), 117.7 (CH=CH<sub>2</sub>), 127.6-128.7 (CH<sub>Ar</sub>'s), 134.5 (CH=CH<sub>2</sub>), 136.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9, (Cq<sub>Ar</sub>), 156.2 (C=O).

(+) **MS (ESI)** : m/z = 811.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 816.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>46</sub>H<sub>51</sub>NNaO<sub>9</sub>S : calcd : m/z = 816.3182 [M+Na]<sup>+</sup>, found : m/z = 816.3181 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3431, 3064, 3031, 2927, 2871, 1717, 1498, 1455, 1358, 1343, 1264, 1212, 1174, 1091, 1053, 1028.

**TLC (EP/EtOAc 80/20)** : R<sub>f</sub> = 0.64.

**(1R)-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-1-benzoyloxycarbonylamino-1-C-(but-2-ynyl)-1-deoxy-4-O-methanesulfonyl-D-glucitol 28**Formula: C<sub>47</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>9</sub>S

Mol. Wt.: 805.98

Using general procedure B from compound **17** (37.5 mg, 0.05 mmol), the mesylate product **28** (23 mg, 57%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (Toluene/ EtOAc 16/0.5).

$[\alpha]_D^{25} = +23$  ( $c = 1.32$ , CHCl<sub>3</sub>).

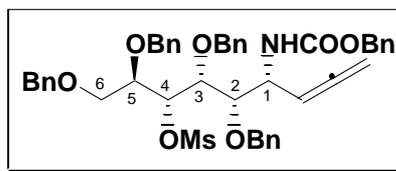
**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.30-2.43 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.99 (s, 3H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.65 (dd, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 11.2$  and  $J_{6a-5} \sim 7.6$  Hz, H<sub>6a</sub>), 3.79 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 3.6$  and  $J_{2-3} \sim 7.6$  Hz, H<sub>3</sub>), 3.88-3.92 (m, 2H, H<sub>6b</sub> and H<sub>5</sub>), 4.01 (dd, 1H,  $J_{2-1} \sim 1.6$  and  $J_{2-3} \sim 7.6$  Hz, H<sub>2</sub>), 4.14-4.20 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 4.42-4.49 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.54 (dd, 2H,  $J \sim 11.2$  and  $J \sim 4$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.63 (AB, 2H,  $J \sim 11.6$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, 1H,  $J \sim 11.2$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.77 (d, 1H,  $J \sim 11.2$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.00 (d, 1H,  $J \sim 12.4$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.09-5.15 (m, 2H, NH and OCH<sub>2</sub>Ph), 5.21 (t, 1H,  $J_{3-4} \sim 3.2$  Hz, H<sub>4</sub>) 7.16-7.37 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 3.7 (CH<sub>3</sub>), 23.4 (CH<sub>2</sub>), 38.9 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 50.6 (C<sub>1</sub>), 67.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.0 (C<sub>6</sub>), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.02 (C<sub>alkyne</sub>-CH<sub>3</sub>), 75.04 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.4 (C<sub>3</sub>), 78.6 (C<sub>alkyne</sub>-CH<sub>2</sub>), 78.8 (C<sub>5</sub>), 79.2 (C<sub>2</sub>), 80.4 (C<sub>4</sub>), 127.7-129.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.6 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 138.0 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 156.1 (C=O).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 823.5$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 828.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3428, 3063, 3031, 2919, 2866, 1714, 1498, 1454, 1341, 1172, 1070.

**TLC (PE/EtOAc 80/20)** : R<sub>f</sub> = 0.5.

**(1R)-1-C-Allenyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-1-benzylloxycarbonylamino-1-deoxy-4-O-methanesulfonyl-D-glucitol 29**Formula: C<sub>46</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>9</sub>S

Mol. Wt.: 791.95

Using general procedure B from compound **18** (50.6 mg, 0.07 mmol), the mesylate product **29** (48 mg, 85%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 7/1 to 6/1).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +50$  ( $c = 0.54$ , CHCl<sub>3</sub>).

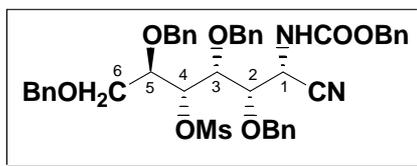
**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 2.93 (s, 3H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.63 (dd, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 9.8$  and  $J_{6a-5} \sim 6.5$  Hz, H<sub>6a</sub>), 3.80-3.92 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub> and H<sub>6b</sub>), 4.44-4.56 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.54-4.61 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.65-4.69 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph and H<sub>1</sub>), 4.74-4.81 (m, 2H, CH<sub>2</sub>=), 4.98-5.20 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph and CH=), 5.23-5.26 (m, 2H, H<sub>4</sub> and NH), 7.16-7.32 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 38.8 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 49.8 (C<sub>1</sub>), 67.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.9 (C<sub>6</sub>), 72.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.64 (C<sub>2</sub> or C<sub>3</sub>), 78.66 (C<sub>5</sub>), 78.8 (CH<sub>2</sub>=), 80.7 (C<sub>4</sub>), 80.8 (C<sub>2</sub> or C<sub>3</sub>), 91.6 (CH=), 127.8-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.6 (C<sub>qAr</sub>), 137.89 (C<sub>qAr</sub>), 137.96 (C<sub>qAr</sub>), 138.01 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 156.1 (C=O), 207.7 (=C=).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 809.5$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 814.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3426, 3063, 3031, 2933, 2871, 1958, 1716, 1497, 1356, 1344, 1216, 1174, 1093, 1052, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 70/10)** : R<sub>f</sub> = 0.3.

**2-Benzoyloxycarbonylamino-2-deoxy-5-O-methanesulfonyl-3,4,6,7-tetra-O-benzyl-D-glycero-D-idoheptonitrile 30**Formula: C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>S Mol. Wt.: 778.91

Using general procedure B from compound **20** (75.9 mg, 0.108 mmol) the mesylate product **30** was isolated (74.5 mg, 88%) as colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 30/10).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +10$  (c = 1.16, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2.81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 3.64 (dd, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 5.5$  Hz,  $J_{5-6a} \sim 10$  Hz, H<sub>6a</sub>), 3.75 (dd, 1H,  $J_{5-6b} \sim 7$  Hz,  $J_{6a-6b} \sim 5$  Hz, H<sub>6b</sub>), 3.90 (dd, 1H,  $J \sim 4.7$  Hz,  $J \sim 7$  Hz, H<sub>3</sub>), 3.93-3.96 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 4.18-4.19 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 4.48-4.50 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.53-4.55 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.60-4.67 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.73-4.76 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.02-5.10 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph, H<sub>1</sub>, H<sub>4</sub>), 5.38-5.40 (m, 1H, NH), 7.24-7.36 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

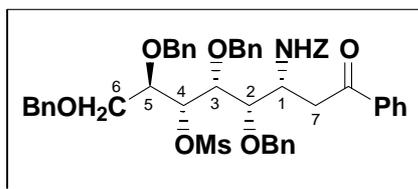
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 38.5 (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 43.9 (C<sub>1</sub>), 67.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.2 (C<sub>6</sub>), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.8 (C<sub>4</sub>), 78.2 (C<sub>5</sub>), 78.3 (C<sub>3</sub>), 78.9 (C<sub>2</sub>), 118.0 (CN), 127.9-128.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 135.8 (C<sub>qAr</sub>), 136.9 (C<sub>qAr</sub>), 137.2 (C<sub>qAr</sub>), 137.3 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 155.4 (C=O).

(+) **MS (ESI)** : m/z = 796.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub>S: calcd : m/z = 801.28217 [M+Na]<sup>+</sup>, found : m/z = 801.2821 [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3055, 1729, 1497, 1455, 1421, 1356, 1265, 1217, 1177, 1096, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 70/30)** : R<sub>f</sub> = 0.53.

**4,5,7,8-Tetra-*O*-benzyl-3-benzoyloxycarbonylamino-2,3-dideoxy-5-*O*-methanesulfonyl-1-*C*-phenyl-*D*-glycero-*D*-ido-1-octulose 31**Formula: C<sub>51</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>10</sub>S

Mol. Wt.: 872.03

Using general procedure B from compound **21** (200 mg, 0.252 mmol) the mesylate product **31** was isolated (153.8 mg, 70%) as colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 80/20).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +16$  ( $c = 1.05$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2.92-3.01 (m, 4H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> and CH<sub>2</sub>COPh), 3.23 (dd, 1H,  $J \sim 6.3$  and 16.8 Hz, CH<sub>2</sub>COPh), 3.60-3.66 (m, 1H, H6a), 3.79-3.91 (m, 3H, H6b, H3 and H2), 3.97-4.06 (m, 1H, H5), 4.43-4.70 (m, 9H, H1 and OCH<sub>2</sub>Ph), 5.03 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.25 (broad s, 1H, H4), 5.37 (d, 1H,  $J \sim 9.25$  Hz, NH), 7.14-7.41 (m, 27H, CH<sub>Ar's</sub>), 7.51 (dd, 1H,  $J \sim 7$  and 7.3 Hz, CH<sub>Ar's</sub>), 7.80 (d, 2H,  $J \sim 7.5$  Hz CH<sub>Ar's</sub>).

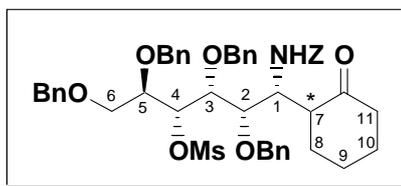
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 38.9 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 40.9 (CH<sub>2</sub>COPh), 48.7 (C1), 66.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.6 (C6), 72.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.7 (C3 or C2), 78.2 (C5), 79.2 (C3 or C2), 81.6 (C4), 127.7-128.6 (CH<sub>Ar's</sub>), 133.3 (CH<sub>Ar's</sub>), 136.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.1 (C=O), 198.1 (C=O ketone).

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3434, 1715, 1497, 1453, 1340, 1173, 1069.

**(+)MS (ESI)** :  $m/z = 894.50$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>51</sub>H<sub>54</sub>NO<sub>10</sub>S: calcd :  $m/z = 872.3468$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 872.3465$  [M+H]<sup>+</sup>.

**TLC (PE/EtOAc 70/30)** : R<sub>f</sub> = 0.5

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1-benzoyloxycarbonylamino-5-O-methanesulfonyl-1-C-(2-oxocyclohexyl)-1-deoxy-D-glucitol 32**Formula: C<sub>49</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>10</sub>S      Mol. Wt.: 850.03

Using general procedure B from compound **22** (649 mg, 0.841 mmol), the mesylate product **32** was isolated (223.1 mg, 32%) as colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 80/20).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)**  $\delta$  ppm 1.42-1.88 (m, 7H, H8, H9, H10, H11a), 2.00-2.12 (m, 1H, H11b), 2.83-2.95 (m, 1H, H7), 3.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 3.56-3.78 (m, 3H, H6, H3), 3.91-4.01 (m, 2H, H1 and H2), 4.15-4.23 (m, 1H, H5), 4.19-4.74 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.99-5.08 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.19 (d, 1H, *J*~6.3 Hz, H4), 5.56 (d, 1H, *J*<sub>1-NH</sub>~9.7 Hz, NH), 7.18-7.35 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

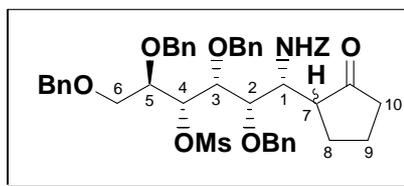
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)**  $\delta$  ppm 24.7 (C9), 28.1 (C10), 32.3 (C8), 39.2 (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 42.5 (C11), 51.0 (C7), 53.7 (C1), 66.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.4 (C6), 72.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.2 (C5), 77.4 (C2 or C3), 78.2 (C3 or C2), 83.2 (C4), 127.8-128.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.9 (C=O), 213.9 (C=O ketone).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 850.5 [M+H]<sup>+</sup>, 867.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>49</sub>H<sub>55</sub>NNaO<sub>10</sub>: calcd : *m/z* = 872.34444 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 872.3435 [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>49</sub>H<sub>55</sub>KNO<sub>10</sub>: calcd : *m/z* = 888.31838 [M+K]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 888.3226 [M+K]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3433, 3019, 2937, 2866, 1717, 1505, 1454, 1355, 1217, 1173, 1070.

**TLC (PE/EtOAc 8/2)** : R<sub>f</sub> = 0.56

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1-benzoyloxycarbonylamino-5-O-methanesulfonyl-1-C-(2-oxocyclopentyl)-1-deoxy-D-glucitol 33**

Formula: C<sub>48</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>10</sub>S      Mol. Wt.: 836.00

Using general procedure B from compound **23** (127 mg, 0.186 mmol) mesylate intermediate **33** was isolated (103 mg, 73%) as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 70/30). Compound **33** was obtained as a 55/45 mixture of diastereoisomers at C7 position, d1 and d2 for diastereoisomers 1 and 2 respectively.

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)**  $\delta$  ppm 1.55-2.34 (m, 7H, H8, H9, H10 and H7), 3.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub> d1), 3.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub> d2), 3.61-3.68 (m, 1H, H6a), 3.82 (d, 0.45H, *J*~3.5 Hz, H2 d1), 3.83 (d, 0.55H, *J*~3.5 Hz, H2 d2), 3.88-3.91 (m, 2H, H6b, H3), 3.95-3.97 (m, 0.55H, H5 d2), 4.05-4.10 (m, 0.45H, H5 d1), 4.26-4.31 (m, 1H, H1), 4.39-4.49 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.55 (d, 0.55H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph d1), 4.58 (d, 0.45H, *J*~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph d2), 4.63-4.67 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.70-4.75 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.87 (d, 0.55H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph d1), 4.95 (d, 0.45H, *J*~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph d2), 5.05 (AB, 1H, *J*~12.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.10 (d, 0.5H, *J*~12.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.16 (d, 0.5H, *J*~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.19-5.23 (m, 1H, H4), 5.53 (d, 1H, *J*<sub>1-NH</sub>~10 Hz, NH), 7.16-7.37 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

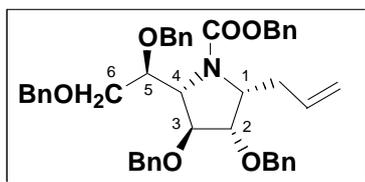
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)**  $\delta$  ppm 20.4 (C9 d2), 20.5 (C9 d1), 27.1 (C8 d2), 27.5 (C8 d1), 38.7 (C10 d1), 38.8 (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub> d1), 38.9 (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub> d2), 39.1 (C10 d2), 49.3 (C1), 50.2 (C1), 51.4 (C7), 51.9 (C7), 67.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 67.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.8 (C6 d2), 70.1 (C6 d1), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.4 (C3), 77.7 (C3), 78.3 (C5), 78.4 (C5), 78.7 (C2), 78.9 (C2), 80.7 (C4), 81.9 (C4), 127.6-128.9 (CH<sub>Ar</sub>'s), 131.0 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 136.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.4 (C=O d1), 156.8 (C=O d2), 218.7 (C=O d1), 219.2 (C=O d2).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 853.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 859.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>48</sub>H<sub>53</sub>NNaO<sub>10</sub>S: calcd : *m/z* = 858.32879 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 858.3270 [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>49</sub>H<sub>55</sub>KNO<sub>10</sub>S: calcd : *m/z* = 874.30273 [M+K]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 874.3031 [M+K]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 1717, 1657, 1627, 1497, 1453, 1355, 1340, 1216, 1173, 1070.

**TLC (PE/EtOAc 70/30)** : R<sub>f</sub> = 0.45.

**(1R)-1-C-Allyl-N-benzyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-galactitol 34**Formula: C<sub>45</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 697.86

**General procedure C for the cyclisation step.**

Purified methanesulfonyl derivative **27** (142 mg, 0.18 mmol) was dissolved in anhydrous THF (1.8 mL) and <sup>t</sup>BuOK (50.3 mg, 0.45 mmol, 2.5 equiv.) was added. The mixture was stirred overnight. After total conversion (TLC monitoring) the reaction was quenched with saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl (1 mL). Ethyl acetate (20 mL) was added, the organic layer was separated, washed with brine (20 mL) and dried over sodium sulfate. Then the solvents were evaporated, providing a yellow oil which was purified by flash chromatography (PE/EtOAc containing traces of Et<sub>3</sub>N 70/10) Compound **34** was obtained as a colorless oil (55%).

Note: Using crude mesylate derivative and then cyclisation procedure (2.5 equiv. of <sup>t</sup>BuOK) compound **34** was obtained in 70% yield over two steps.

$[\alpha]_D^{25} = +7$  (c = 0.73, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ ppm 2.38-2.45 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 2.65 (broad s, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.62-3.64 (m, 1H, H6a), 3.74-3.77 (m, 1H, H6b), 3.97-4.01 (m, 1H, H5), 4.12 (dd, 1H, J<sub>2-3</sub>~3 Hz, J<sub>2-1</sub>~6.5 Hz, H2), 4.21-4.24 (m, 1H, H1), 4.26 (t, 1H, J~3 Hz, H3), 4.30-4.32 (m, 1H, H4), 4.46 (d, 1H, J~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.51 (d, 1H, J~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.53-4.74 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.94-4.96 (m, 1H, CH=CH), 5.01-5.05 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.10 (d, 1H, J~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.17 (d, 1H, J~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.75-5.86 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 7.27-7.42 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ ppm 35.2 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 62.2-62.9 (C1), 66.2 (C4), 68.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.7 (C6), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 79.6 (C5), 82.6 (C3), 83.9 (C2), 117.4 (CH=CH<sub>2</sub>), 128.8-131.0 (CH<sub>Ar</sub>'s), 134.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 135.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (CH=CH<sub>2</sub>), 139.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 158.0 (C=O).

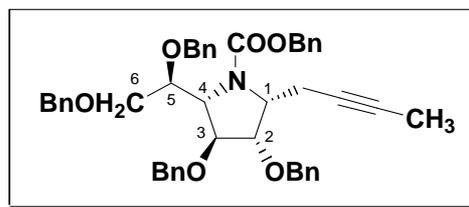
(+) MS (ESI) : m/z = 715.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>45</sub>H<sub>47</sub>NNaO<sub>6</sub>: calcd : m/z = 720.3301 [M+Na]<sup>+</sup>, found : m/z = 720.3296 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd. for  $C_{45}H_{47}NO_6$ :** C, 77.45; H, 6.79; N, 2.01. Found: C, 77.80; H, 6.68; N, 2.09.

**IR (NaCl,  $cm^{-1}$ )** 3359, 3064, 3032, 2929, 2867, 2450, 1953, 1699, 1497, 1454, 1402, 1352, 1097, 1070, 1028.

**TLC (PE/EtOAc 70/30) :** Rf = 0.59.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-1-C-(but-2-ynyl)-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactitol 35.**Formula: C<sub>46</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 709.87

Following general procedure C, compound **28** (30.1 mg, 0.037 mmol) was submitted to the cyclisation step to provide compound **35** (16.2 mg, 63%) as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 90/10).

$[\alpha]_D^{25} = +1.5$  ( $c = 1.42$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-C<sub>alkyne</sub>), 2.28-2.35 (m, 1H, CH<sub>2a</sub>-C<sub>alkyne</sub>), 2.53-2.91 (m, 1H, CH<sub>2b</sub>-C<sub>alkyne</sub>), 3.37-3.66 (m, 2H, H6), 3.85-3.97 (m, 1H, H5), 4.00-4.10 (m, 2H, H2 and H3), 4.18-4.31 (m, 2H, H1 and H4), 4.37-4.70 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.04-5.20 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.10-7.34 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

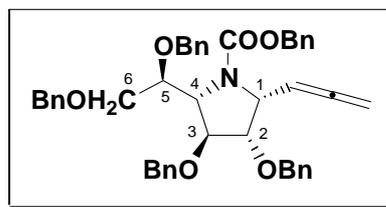
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 3.7 (CH<sub>3</sub>), 19.0-20.3 (CH<sub>2</sub>), 60.5-61.9 (C1), 65.1 (C4), 67.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.5-71.8 (C6), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.4 (C<sub>alkyne</sub>-CH<sub>3</sub>), 77.4 (C<sub>alkyne</sub>-CH<sub>2</sub>), 77.6 (C5), 80.8-81.0 (C2 or C3), 81.6-82.8 (C2 or C3), 127.6-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.9 (C<sub>qAr</sub>), 137.9 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.4 (C<sub>qAr</sub>), 138.8 (C<sub>qAr</sub>), 156.8 (C=O).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 733.0$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>46</sub>H<sub>47</sub>NNaO<sub>6</sub>: calcd :  $m/z = 732.33011$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 732.3313$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3424, 2921, 2861, 1695, 1454, 1403, 1353, 1095, 1070, 1027.

**TLC (PE/EtOAc 9/1)** : R<sub>f</sub> = 0.73.

**(1R)-1-C-Allenyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactitol 36**Formula: C<sub>45</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 695.84

Compound **29** (50 mg, 0.063 mmol) was submitted to general procedure C to afford compound **36** (33.8 mg, 77%) as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/ EtOAc 90/10).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +28$  ( $c = 0.61$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 3.54-3.75 (m, 2H, H6), 3.95-4.05 (m, 2H, H2 and H5), 4.07-4.20 (m, 2H, H3 and H4), 4.37-4.85 (m, 11H, OCH<sub>2</sub>Ph, CH<sub>2</sub>= and H1), 4.98-5.28 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph and CH=), 7.18-7.35 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

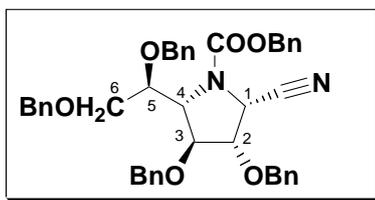
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 60.0 (C1), 63.5 (C4), 67.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.8-76.1 (CH<sub>2</sub>=), 77.7 (C5), 81.9-82.1 (C3), 82.9-83.1 (C2), 88.2 (CH=), 127.6-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.6 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.5 (C<sub>qAr</sub>), 138.7 (C<sub>qAr</sub>), 156.1 (C=O), 209.3 (=C=).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 696.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 714 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>45</sub>H<sub>45</sub>NNaO<sub>6</sub>: calcd :  $m/z = 718.31446$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 718.3143$  [M+Na]<sup>+</sup> (0 ppm).

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3415, 2929, 2867, 1957, 1702, 1497, 1454, 1405, 1353, 1267, 1097.

TLC (PE/EtOAc 80/10) : R<sub>f</sub> = 0.34.

**N-Benzoyloxycarbonylamino-2,5-dideoxy-2,5-imino-3,4,6,7-tetra-O-benzyl-D-glycero-D-glucoheptonitrile 37**Formula: C<sub>43</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 682.80

Compound **37** was obtained from purified mesylated intermediate **30** (173 mg, 0.222 mmol) using cyclisation general procedure C, 1 equivalent of <sup>t</sup>BuOK and 24 hours of stirring. After purification by flash chromatography (PE/EtOAc 85/15) compound **37** was isolated as colorless oil (100.7 mg, 67%).

Note: Using general procedure of cyclisation step from crude compound **30**, the product **37** was obtained in 69% yield (3steps).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +17$  (c = 0.66, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) δ ppm 3.65-3.67 (m, 1H, H6a), 3.71-3.73 (m, 1H, H6b), 4.05 (broad s, 1H, H5), 4.30-4.31 (m, 2H, H3 and H4), 4.43-4.50 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph and H2), 4.52 (broad s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.63-4.78 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.77 (d, 1H, *J*~11.8 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.11 (very broad s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.30 (broad s, 1H, H1), 7.21-7.42 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

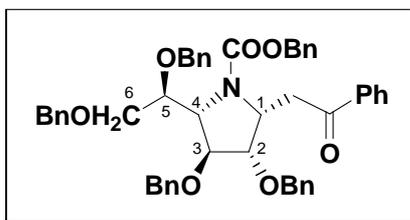
<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz) δ ppm 53.9-54.2 (C1), 66.0 (C4), 69.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.3-72.6 (C6), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.5 (C5), 82.7-82.9 (C2), 83.7-83.8 (C3), 117.8 (CN), 128.9-130.3 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.5 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 700.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>43</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub>: calcd : *m/z* = 705.2941 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 705.2944 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3055, 2987, 2306, 1715, 1454, 1421, 1265, 1099, 1028.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.71.

**4,5,7,8-Tetra-O-benzyl-N-benzyloxycarbonylamino-2,3,6-trideoxy-3,6-imino-1-C-phenyl-D-glycero-D-gluco-1-octulose 38**Formula: C<sub>50</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>7</sub> Mol. Wt.: 775.93

Compound **38** was obtained as a colorless oil (285 mg, 21%) from mesylate intermediate **31** (314 mg, 0.368 mmol) according to the general procedure C and after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 90/10 to 85/15). One equivalent of <sup>t</sup>BuOK was used and it was stirred for 18h at room temperature.

Note: When the crude mesylate intermediate was submitted to the cyclisation step without further purification, compound **38** was obtained in 40% yield over 2 steps.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -2 (c = 0.73, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz)  $\delta$  ppm 3.15-3.21 (m, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 3.34-3.72 (m, 2H, H<sub>6a</sub> + CH<sub>2</sub>COPh), 3.71 (broad s, 1H, H<sub>6b</sub>), 3.98-4.10 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 4.21-4.28 (m, 3H, H<sub>3</sub>, H<sub>2</sub> + OCH<sub>2</sub>Ph), 4.39-4.45 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph + H<sub>4</sub>), 4.54-4.65 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.70-4.89 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph + H<sub>1</sub>), 5.13 (broad s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 6.87-7.58 (m, 30H, CH<sub>Ar</sub>'s).

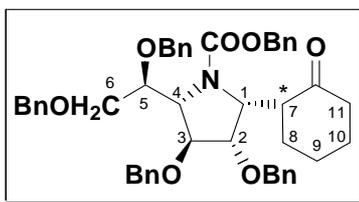
<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz)  $\delta$  ppm 39.9 (broad s, CH<sub>2</sub>COPh), 59.9-60.4 (C<sub>1</sub>), 66.5 (C<sub>4</sub>), 68.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.4-72.6 (C<sub>6</sub>), 73.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.37 (OCH<sub>2</sub>Ph), 74.40 (OCH<sub>2</sub>Ph), 79.3 (C<sub>5</sub>), 82.3 (C<sub>3</sub>), 83.4-83.5 (C<sub>2</sub>), 127.5-131.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 134.4-134.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.7 (C<sub>qAr</sub>), 138.9 (C<sub>qAr</sub>), 139.3 (C<sub>qAr</sub>), 140.0 (C<sub>qAr</sub>), 140.2 (C<sub>qAr</sub>), 140.7 (C<sub>qAr</sub>), 157.6 (C=O), 199.9 (C=O).

(+) MS (ESI) :  $m/z$  = 794.0 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>50</sub>H<sub>49</sub>NNaO<sub>7</sub>: calcd :  $m/z$  = 798.3407 [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z$  = 798.3410 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3400, 3063, 3032, 2927, 2867, 1699, 1685, 1453, 1408, 1351, 1317, 1266, 1094, 1071, 1027.

TLC (PE/EtOAc 80/20) : R<sub>f</sub> = 0.58.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzylloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-1-C-(2-oxo-cyclohexyl)-D-galactitol 39**Formula: C<sub>48</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>7</sub> Mol. Wt.: 753.92

Using general procedure C of cyclisation step compound **39** was obtained from its mesylate intermediate **32** (184 mg, 0.228 mmol) as a colorless oil (61.5 mg, 36%) after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 80/20).

Note: Using general procedure of cyclisation step from crude **32**, compound **39** (36%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography (PE/ EtOAc 80/20).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +31$  (c = 0.94, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>SO, 353 K, 250 MHz) δ ppm 1.11-1.65 (m, 4H, H9, H8 or H10), 1.67-2.31 (m, 4H, H11, H8 or H10), 2.69-2.81 (m, 1H, H7), 3.39-3.79 (m, 3H, H6 and H5), 4.02-4.17 (m, 2H, H3 and H2), 4.28-4.39 (m, 2H, H4 and OCH<sub>2</sub>Ph), 4.39-4.56 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.60-4.74 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 4.96-5.11 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.16-7.35 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

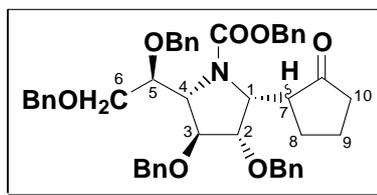
<sup>13</sup>C NMR (C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>SO, 353 K, 62.5 MHz) δ ppm 24.1 (C9), 27.8 (C8 or C10), 31.3 (C8 or C10), 41.5 (C11), 50.3 (C7), 58.6 (C1), 63.9 (C4), 66.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.2 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 70.6 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 70.7 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 71.9 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 77.8 (C5), 82.1 (C3 or C2), 82.6 (C3 or C2), 126.7-127.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.4 (C<sub>qAr</sub>), 137.5 (C<sub>qAr</sub>), 137.7 (C<sub>qAr</sub>), 137.9 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 156.3 (C=O), 210.5 (C12).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 754.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 771.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>48</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>7</sub>: calcd :  $m/z = 754.3744$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 754.3757$  [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3063, 3031, 2935, 2862, 1703, 1453, 1402, 1351, 1307, 1213, 1093, 1027.

TLC (PE/EtOAc 8/2) : R<sub>f</sub> = 0.6

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-1-C-(2-oxo-cyclopentyl)-D-galactitol 40**Formula: C<sub>47</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 739.89

General procedure C was applied to intermediate **33** (83 mg, 0.099 mmol) to afford compound **40** as a colorless oil (18.3 mg, 25%). Expected compound was obtained after purification by flash chromatography (PE/EtOAc 80/20) as a 67/33 mixture of diastereoisomers at C7 position (d1 and d2 respectively) diastereoisomers.

<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) δ ppm 1.52-2.15 (m, 6H, H8, H9 and H10), 2.32-2.40 (m, 1H, H7), 3.52 (dd, 0.76H, *J*<sub>6a-6b</sub>~11 and *J*<sub>6a-5</sub>~5.5 Hz, H6a, d1), 3.61 (dd, 0.34H, *J*<sub>6a-6b</sub>~11 and *J*<sub>6a-5</sub>~5 Hz, H6a, d2), 3.72 (dd, 0.76H, *J*<sub>6a-6b</sub>~11 and *J*<sub>6b-5</sub>~3 Hz, H6b, d1), 3.77 (dd, 0.34H, *J*<sub>6a-6b</sub>~11 and *J*<sub>6b-5</sub>~3 Hz, H6b, d2), 4.02-4.06 (m, 1H, H5), 4.07 (d, 0.75H, *J*~6 Hz, H2, d1), 4.16-4.27 (m, 1.35H, H3 and H2 d2), 4.36-4.52 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>Ph, H1 and H4), 4.54-4.66 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.69-4.80 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.97 (d, 0.7H, *J*~13 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.00-5.11 (m, 1.3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.24-7.44 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

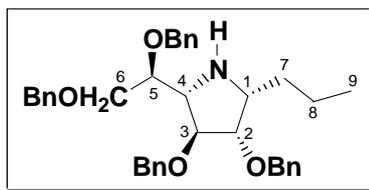
<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz) δ ppm 21.4 (C9, d1), 21.5 (C9, d2), 26.7 (C8, d1), 28.4 (C8, d2), 37.5 (C10, d1), 38.9 (C10, d2), 49.0-49.2 (C7), 62.0-62.3 (C1), 66.5 (C4), 67.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 67.4 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 71.5 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 71.6 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 71.68 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.74 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 79.1 (C5, d2), 79.2 (C5, d1), 80.3-80.5 (C3, d1), 80.58-80.63 (C3, d2), 84.2-84.6 (C2), 128.0-129.3 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.89 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.90 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 157.5 (C=O). C=O of cyclopentane was hidden by solvent C=O signal.

(+) MS (ESI) : *m/z* = 762.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>47</sub>H<sub>49</sub>NNaO<sub>7</sub>: calcd : *m/z* = 762.34067 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 762.3416 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3019, 2401, 1727, 1720, 1701, 1454, 1406, 1353, 1216, 1093, 1071, 1028.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.52.

**(1R)-1,4-Dideoxy-1,4-imino-1-C-propyl-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-galactitol 41**Formula: C<sub>37</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>4</sub> Mol. Wt.: 565.74

Compound **34** (39 mg, 0.056 mmol) and triethylamine (2  $\mu$ L) were dissolved in ethanol (0.5mL). The flask was submitted to 3 freeze-pump-thaw cycles and palladium on charcoal (10% Pd on C, 0.1 equiv.) was added under argon. The mixture was then placed under hydrogen atmosphere. After a stirring time of 1.5 h at room temperature, the palladium were removed by filtration on celite and washed with dichloromethane. Evaporation of the solvents provided a colorless oily product. NMR spectra of the crude residue matched the expected structure and showed it did not need any further purification. Compound **41** was obtained as a colorless oil (31.2 mg, 99%).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -33$  (c = 0.91, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz)  $\delta$  ppm 0.91 (t, 3H, *J*~7.4 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.29-1.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.50-1.57 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.59-1.67 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.97 (dt, 1H, *J*<sub>CH<sub>2</sub>~7</sub> Hz, *J*<sub>1-2~4</sub> Hz, H1), 3.14 (t, 1H, *J*~4 Hz, H4), 3.72-3.74 (m, 2H, H6), 3.81 (d, 1H, *J*<sub>1-2~4</sub> Hz, H2), 3.81-3.81 (m, 1H, H5), 3.92 (d, 1H, *J*<sub>3-4~4.5</sub> Hz, H3), 4.18-4.25 (m, 0.5H, NH), 4.45-4.55 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.60-4.66 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.76 (d, 1H, *J*~11.7 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.21-7.37 (m, 20H, H<sub>Ar</sub>).

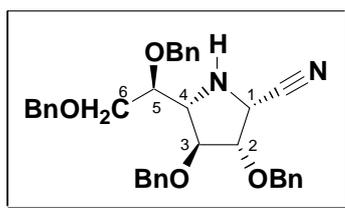
<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz)  $\delta$  ppm 15.7 (CH<sub>3</sub>), 22.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 32.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 63.9 (C1), 68.8 (C4), 72.3 (CH<sub>2</sub>OPh), 73.3 (CH<sub>2</sub>OPh), 74.1 (CH<sub>2</sub>OPh), 74.5 (C6), 74.7 (CH<sub>2</sub>OPh), 79.7 (C5), 86.4 (C2), 86.9 (C3), 129.1-130.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 130.6 (CH<sub>Ar</sub>), 133.0 (CH<sub>Ar</sub>), 140.76 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.80 (Cq<sub>Ar</sub>), 140.84 (Cq<sub>Ar</sub>), 141.0 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 566.5 [M+H]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>37</sub>H<sub>44</sub>NO<sub>4</sub>: calcd : *m/z* = 566.3270 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 566.3266 [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3055, 2864, 1612, 1454, 1420, 1265, 1108.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.35.

**2,5-Dideoxy-2,5-imino-3,4,6,7-tetra-*O*-benzyl-D-glycero-D-glucoheptonitrile 42**Formula: C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Mol. Wt.: 548.67

Compound **37** (12 mg, 0.018 mmol) and triethylamine (2  $\mu$ L) were dissolved in ethanol (0.2mL). The flask was submitted to 3 freeze-pump-thaw cycles and palladium on charcoal (10% Pd on C, 0.1 equiv.) was added under argon. The mixture was then placed under hydrogen atmosphere. After a stirring time of 3 h at room temperature, the solids were removed by filtration on celite and washed with dichloromethane. Evaporation of the solvents provided a colorless oily product. NMR spectra of the crude residue matched the expected structure and showed it did not need any further purification. The product **42** (9.5 mg, 99%) was obtained as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -7$  ( $c = 0.81$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 3.09 (t, 1H,  $J \sim 5.3$  Hz, H4), 3.54-3.61 (m, 2H, H6), 3.68 (dd, 1H,  $J_{5-6} \sim 10$  Hz,  $J_{4-5} \sim 5$  Hz, H5), 3.81 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 5$  Hz,  $J_{2-3} \sim 3.2$  Hz, H3), 3.90 (d, 1H,  $J_{1-2} \sim 5.2$  Hz, H1), 4.00 (dd, 1H,  $J_{2-3} \sim 3.1$  Hz,  $J_{1-2} \sim 5.2$  Hz, H2), 4.21 (d, 1H,  $J \sim 11.7$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.33 (d, 1H,  $J \sim 11.7$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.40 (s, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.43 (d, 1H,  $J \sim 11.7$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H,  $J \sim 11.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.57 (d, 1H,  $J \sim 11.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.66 (d, 1H,  $J \sim 11.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.10-7.31 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

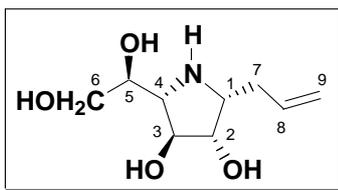
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 51.4 (C1), 65.0 (C4), 71.1 (C6), 72.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.3 (C5), 83.4 (C2), 83.9 (C3), 118.0 (CN), 127.8-128.7 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 550.0$  [M+H]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>4</sub>: calcd :  $m/z = 571.2573$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 571.2572$  [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3019, 2927, 2401, 1729, 1602, 1455, 1215, 1096.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.7

**(1R)-1-C-Allyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactitol 43**Formula: C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>

Mol. Wt.: 203.12

**General debenzoylation procedure D**

To a solution of benzylated compound **43** (134 mg, 0.19 mmol, 1 equiv.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.01 M) was added at 0 °C a 1 M BCl<sub>3</sub> solution in hexane (11.5 equiv.). The medium was stirred overnight at 0 °C, and then the solid formed was dissolved by addition of MeOH and water (5 mL, 20/1). The solution was quickly filtered through ion-exchange resin (Dowex 1X8, OH-form) which was then washed with MeOH (20 mL x 2) and water (10 mL). After solvent evaporation, purification of the crude product by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 7/3 to 3/2) provided compound **43** (12.7 mg, 33%) as a brown oily product.

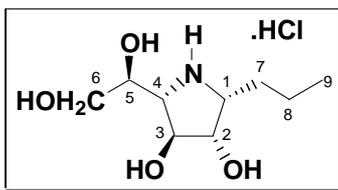
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -30$  (c = 1.21, MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz) δ ppm 2.48-2.54 (m, 1H, allyl-CH<sub>2</sub>), 2.60-2.66 (m, 1H, allyl-CH<sub>2</sub>), 3.37 (dd, 1H, *J*<sub>4-5</sub>~8 and *J*<sub>3-4</sub>~2.5 Hz, H<sub>4</sub>), 3.57 (td, 1H, *J*<sub>1-2</sub>~3 and 7.5 Hz, H<sub>1</sub>), 3.65 (dd, 1H, *J*<sub>5-6a</sub>~5 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H<sub>6a</sub>), 3.72 (dd, 1H, *J*<sub>5-6b</sub>~4.5 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H<sub>6b</sub>), 3.85-3.90 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.98 (dd, 1H, *J*<sub>2-3</sub>~1 and *J*<sub>1-2</sub>~3 Hz, H<sub>2</sub>), 4.08 (dd, 1H, *J*<sub>2-3</sub>~1 and *J*<sub>3-4</sub>~2.5 Hz, H<sub>3</sub>), 5.18 (dd, 1H, *J*~1.5 and 10 Hz, =CHaHb), 5.27 (dd, 1H, *J*~1.5 and 17 Hz, =CHaHb), 5.84-5.92 (m, 1H, =CH).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz) δ ppm 31.5 (CH<sub>2</sub>CH=), 63.1 (C<sub>1</sub>), 64.8 (C<sub>6</sub>), 70.3 (C<sub>4</sub>), 71.7 (C<sub>5</sub>), 77.0 (C<sub>2</sub>), 78.8 (C<sub>3</sub>), 119.0 (=CH<sub>2</sub>), 134.5 (=CH).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 204.0 [M+H]<sup>+</sup>

HRMS (ESI) C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub> calcd: *m/z* = 204.1236 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 204.1239 [M+H]<sup>+</sup>.

**(1R)-1,4-Dideoxy-1,4-imino-1-C-propyl-D-galactitol 44**Formula: C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>4</sub>

Mol. Wt.: 241.71

According to the general procedure D. Compound **41** (122 mg, 0.216 mmol, 1 equiv.) was submitted to reaction with a BCl<sub>3</sub> solution (1 M) in hexane (216 μL, 10 equiv.) to provide compound **44**. The medium was stirred overnight at 0 °C, and then the solid formed was dissolved by addition of MeOH and water (5 mL, 20/1) were added to the mixture and the solution concentrated under reduced pressure. Purification by C<sub>18</sub>-reverse phase silica gel chromatography (H<sub>2</sub>O/MeOH 1:0 to 9:1) afforded pure compound **44** (25 mg, 64%) as a brown hydrochloride salt.

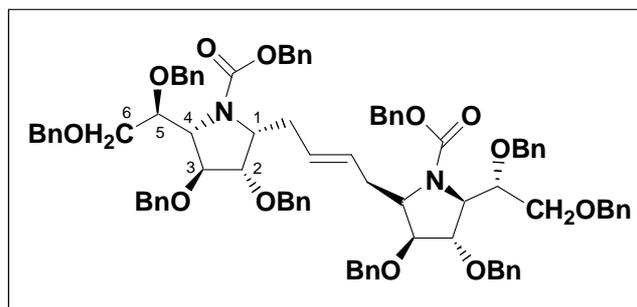
[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -25 (c = 1.09, MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz) δ ppm 0.998 (t, 3H, *J*~7.5 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.40-1.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.59-1.66 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.70-1.77 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.17 (dd, 1H, *J*<sub>4-5</sub>~6 and *J*<sub>3-4</sub>~3 Hz, H4), 3.31-3.34 (m, 1H, H1), 3.60 (dd, 1H, *J*<sub>5-6a</sub>~6 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H6a), 3.66 (dd, 1H, *J*<sub>5-6b</sub>~4.5 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H6b), 3.83 (ddd, 1H, *J*<sub>5-6b</sub>~4.5, *J*<sub>4-5</sub>~5 and *J*<sub>5-6a</sub>~6Hz, H5), 3.88 (dd, 1H, *J*<sub>1-2</sub>~3.5 and *J*<sub>2-3</sub>~0.7 Hz, H2), 3.99 (m, 1H, H3).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5 MHz) δ 14.5 (CH<sub>3</sub>), 21.0 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 63.0 (C1), 65.0 (C6), 69.4 (C4), 72.4 (C5), 77.8 (C2), 80.5 (C3).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 206.5 [M+H]<sup>+</sup>, 228.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub>: calcd: *m/z* = 206.1392 [M+H]<sup>+</sup>; found : *m/z* = 206.1394 [M+H]<sup>+</sup>.

**1,4-Bis[(1R)-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactit-1-yl]-2-butene 45**Formula: C<sub>88</sub>H<sub>90</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>

Mol. Wt.: 1367.66

A solution of **34** (209 mg, 0.299 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3.5 mL) was submitted to 3 freeze-pump-thaw cycles and placed under Ar atmosphere. Then Hoveyda-Grubbs catalyst (9.4 mg, 5 mol%) was added and the 3 freeze-pump-thaw-argon cycles were repeated. The green reaction medium was stirred overnight at 40°C and then the brown residue was concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography (PE/EtOAc 85/15) provided compound **45** (108.1 mg, 53%) as a green oily product.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 2.17-2.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=), 2.37-2.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=), 3.39-3.68 (m, 4H, H6), 3.84-3.96 (m, 4H, H5, H2), 3.99-4.14 (m, 4H, H1, H3), 4.20 (dd, 2H, *J*-2.4 and 6.8 Hz, H4), 4.28-4.56 (m, 14H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.58-4.70 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.97-5.13 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.39-5.50 (m, 2H, CH=), 7.16-7.29 (m, 50H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz) δ ppm 27.7 (CH<sub>2</sub>CH=), 32.4, (CH<sub>2</sub>CH=), 60.6-61.6 (C1), 64.1 (C4), 64.4 (C4), 67.06 (C6), 67.10 (C6), 71.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.0-72.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.15 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.21 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.4 (C5), 77.9 (C5), 80.8 (C3), 81.1-81.2 (C3), 82.3-82.8 (C2), 127.5-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 129.1 (CH<sub>2</sub>CH=), 129.2 (CH<sub>2</sub>CH=), 136.82 (C<sub>qAr</sub>), 136.84 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.4 (C<sub>qAr</sub>), 138.7 (C<sub>qAr</sub>), 138.8 (C<sub>qAr</sub>), 156.8 (C=O).

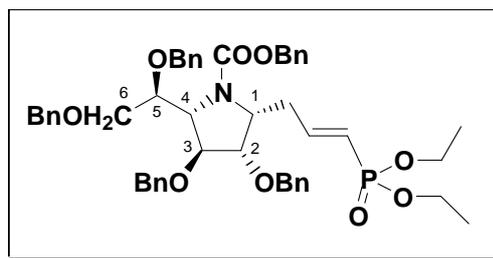
(+) MS (ESI) : *m/z* = 1385.0 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>88</sub>H<sub>90</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>12</sub>: calcd : *m/z* = 1389.63915 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 1389.63915 [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>88</sub>H<sub>90</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>: C, 77.28; H, 6.63; N, 2.05. Found: C, 77.06; H, 6.65; N, 1.98.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3442, 3052, 3031, 1695, 1454, 1403, 1265, 1096, 1069.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.63.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(3-diethylphosphono-2-propen-1-yl)-1,4-imino-D-galactitol 46**Formula: C<sub>49</sub>H<sub>56</sub>NO<sub>9</sub>P

Mol. Wt.: 833.94

To a solution of **34** (172.4 mg, 0.248 mmol, 1 equiv.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4.1 mL) was added dropwise commercially available diethyl vinylphosphonate (76.8 μL, 0.495 mmol, 2 equiv.). The flask was submitted to 3 freeze-pump-thaw cycles and placed under Ar atmosphere. Then Hoveyda-Grubbs catalyst (7.8 mg, 5 mol%) was added and the 3 freeze-pump-thaw-argon cycles were repeated. The reaction mixture was stirred for 12 h at 40°C, then another addition of Hoveyda-Grubbs catalyst (7.8 mg, 5 mol%) was performed. After an additional stirring time of 12h at 40°C, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. Excess of diethyl vinylphosphonate was removed by coevaporation with toluene. Purification of the brown residue by chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99/1) afforded compound **46** (154.9 mg, 75%) as a brown oily product. Note:  $J_{\text{H,H}}$  coupling constants were measured on a <sup>31</sup>P-decoupled spectrum.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +6$  (c = 0.68, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>SO, 353 K, 400 MHz) δ ppm 1.22 (t, 6H,  $J \sim 7$  Hz, CH<sub>3</sub>), 2.48-2.53 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH), 2.58-2.66 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH), 3.57 (dd, 1H,  $J_{5-6b} \sim 5.9$  Hz,  $J_{6a-6b} \sim 10.9$  Hz, H6a), 3.70 (dd, 1H,  $J_{5-6b} \sim 2.8$  Hz,  $J_{6a-6b} \sim 10.9$  Hz, H6b), 3.87 (m, 1H, H5), 3.92 (quint, 4H,  $J \sim 7.1$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.09-4.13 (m, 1H, H2), 4.16-4.19 (m, 2H, H3, H4), 4.29 (q, 1H,  $J \sim 7.2$  Hz, H1), 4.43-4.68 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.09 (broad s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.61-5.70 (dd, 1H,  $J_{\text{CH-CH}} \sim 17$  Hz,  $J_{\text{H-P}} \sim 21.3$  Hz, PCH=CH), 6.58-6.71 (ddt, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}} \sim 6.6$  Hz,  $J_{\text{CH-CH}} \sim 17$  Hz,  $J_{\text{H-P}} \sim 21.8$  Hz, PCH=CH), 7.28-7.37 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>s).

<sup>13</sup>C NMR (C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>SO, 353 K, 125 MHz) δ ppm 16.5 (d,  $J_{\text{C-P}} \sim 6.3$  Hz, CH<sub>3</sub>), 34.2 (d,  $J \sim 21.6$  Hz, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 59.8 (C1), 61.4 (d,  $J_{\text{C-P}} \sim 5$  Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 64.4 (C2), 66.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (C6), 72.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.2 (C5), 81.9 (C3 or C4), 82.5 (C3 or C4), 118.8 (PCH=CH<sub>2</sub>,  $J_{\text{C-P}} \sim 186$  Hz measured in CDCl<sub>3</sub>), 127.7-128.7 (CH<sub>Ar</sub>s), 138.3 (C<sub>qAr</sub>), 138.8 (C<sub>qAr</sub>), 138.9 (C<sub>qAr</sub>), 139.0 (C<sub>qAr</sub>), 139.7 (C<sub>qAr</sub>), 150.0 (CH<sub>2</sub>CH=CH), 156.4 (C=O).

<sup>31</sup>P NMR (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 18.25.

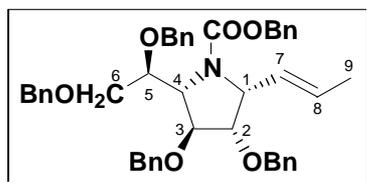
(+) **MS (ESI)**:  $m/z = 835 [M+H]^+$ ,  $856 [M+Na]^+$ .

**HRMS (ESI)**  $C_{49}H_{56}NNaO_9P$ : calcd :  $m/z = 856.3590 [M+Na]^+$ , found :  $m/z = 856.3583 [M+Na]^+$ .

**Anal. Calcd. for  $C_{49}H_{56}NO_9P$** : C, 70.57; H, 6.77; N, 1.68. Found: C, 70.15; H, 6.70; N, 1.71.

**IR (NaCl,  $cm^{-1}$ )** 3063, 3031, 2981, 2867, 1701, 1454, 1402, 1353, 1267, 1247, 1216, 1099, 1059, 1027.

**TLC ( $CH_2Cl_2/MeOH$  9/1)** :  $R_f = 0.9$ .

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-1-C-(1-propen-1-yl)-D-galactitol 47**Formula: C<sub>45</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 697.86

Hoveyda's catalyst (8 mg, 10%) was added to a solution of compound **34** (88.7 mg, 0.127 mmol) in methanol. The mixture was stirred for 18 h at 60°C and the solvent was then removed under reduced pressure. Purification on silica gel (PE/EtOAc 7:1) afforded compound **47** as a green oily product (61 mg, 69%).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -30$  ( $c = 1.35$ , CHCl<sub>3</sub>).

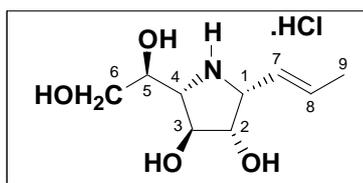
<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 250 MHz)  $\delta$  ppm 1.58 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3-8} \sim 5$  Hz, CH<sub>3</sub>), 3.64 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 6.5$  and  $J_{6a-6b} \sim 11$  Hz, H<sub>6a</sub>), 3.77 (dd, 1H,  $J_{5-6b} \sim 3$  and  $J_{6a-6b} \sim 11$  Hz, H<sub>6b</sub>), 4.03-4.11 (m, 2H, H<sub>5</sub> and H<sub>2</sub>), 4.17-4.21 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.24-4.27 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 4.43-4.79 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>Ph and H<sub>1</sub>), 5.02-5.16 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.51-5.73 (m, 2H, H<sub>7</sub>+H<sub>8</sub>), 7.29-7.36 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 62.5 MHz)  $\delta$  ppm 18.0 (CH<sub>3</sub>), 63.1 (C<sub>1</sub>), 64.4 (C<sub>4</sub>), 67.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.7 (C<sub>6</sub>), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.9 (C<sub>5</sub>), 82.9 (C<sub>3</sub>), 84.2 (C<sub>2</sub>), 128.1-129.2 (CH<sub>Ar</sub>'s and CH<sub>3</sub>CH=CH), 138.1 (CH<sub>3</sub>CH=CH), 139.2 (C<sub>qAr</sub>), 139.5 (C<sub>qAr</sub>), 139.7 (C<sub>qAr</sub>), 134.0 (C<sub>qAr</sub>), 156.6 (C=O).

HRMS (ESI) C<sub>45</sub>H<sub>47</sub>NNaO<sub>6</sub>: calcd :  $m/z = 720.33011$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 720.3305$  [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3435, 3089, 3063, 3032, 2933, 2866, 1699, 1497, 1454, 1405, 1352, 1266, 1095, 1073, 1028, 967.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.6.

**(1R)-1,4-Dideoxy-1,4-imino-1-C-(1-propen-1-yl)-D-galactitol 48**Formula: C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>4</sub>

Mol. Wt.: 239.70

Compound **48** was obtained from compound **47** (55 mg, 0.079 mmol) using the general debenzoylation procedure D. Purification by C18-reverse phase silica gel chromatography (H<sub>2</sub>O/MeOH 1:0 to 9:1) afforded the hydrochloride salt **48** (15 mg, 79%) as a brown foam.

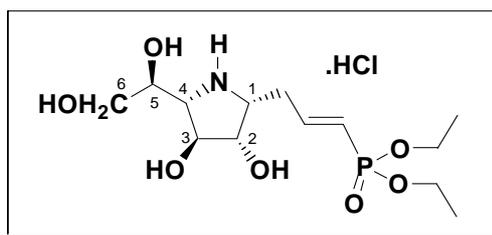
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -32$  ( $c = 0.69$ , MeOH).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 1.81 (dd, 3H,  $J_{\text{CH}_3-7} \sim 1.5$  and 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>), 3.41 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 2.5$  and  $J_{4-5} \sim 8$  Hz, H4), 3.65 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 4.5$  Hz and  $J_{6a-6b} \sim 11.5$  Hz, H6a), 3.73 (dd, 1H,  $J_{5-6b} \sim 4$  Hz and  $J_{6a-6b} \sim 11.5$  Hz, H6b), 3.87-3.90 (m, 1H, H5), 3.94 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 2.5$  and  $J_{2-3} \sim 0.8$  Hz, H3), 4.09-4.11 (m, 2H, H2 and H1), 5.78 (ddd, 1H,  $J_{1-7} \sim 9$ ,  $J_{\text{CH}_3-7} \sim 1.5$  and  $J_{7-8} \sim 15.5$  Hz, H7), 6.04-6.10 (m, 1H, H8).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5 MHz)**  $\delta$  ppm 18.4 (CH<sub>3</sub>), 64.7 (C6), 65.7 (C1), 70.1 (C4), 71.6 (C5), 78.5 (C2), 78.9 (C3), 122.2 (CH<sub>3</sub>CH=CH), 136.7 (CH<sub>3</sub>CH=CH).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 204.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 226.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub> : calcd:  $m/z = 204.12358$  [M+H]<sup>+</sup>; found :  $m/z = 204.1233$  [M+H]<sup>+</sup>.

**(1R)-1,4-Dideoxy-1-C-(3-diethylphosphono-2-propen-1-yl)-1,4-imino-D-galactitol 49**Formula: C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>ClNO<sub>7</sub>P Mol. Wt.: 375.78

Compound **49** was obtained from benzylated compound **46** (220 mg, 0.263 mmol, 1 equiv.) according to procedure D. Purification by C18-reverse phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 9/1) afforded hydrochloride salt **49** (98.8 mg, 74%) as a colorless foam product.

$[\alpha]_D^{25} = -20$  ( $c = 1.46$ , MeOH).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 1.33 (t, 6H,  $J \sim 7$  Hz, CH<sub>3</sub>), 2.74-2.80 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH), 2.85-2.91 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH), 3.44-3.48 (m, 1H, H4), 3.66 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 4.5$  Hz,  $J_{6a-6b} \sim 11.5$  Hz, H6a), 3.71-3.77 (m, 2H, H1 and H6b), 3.86-3.90 (m, 1H, H5), 4.01 (d, 1H,  $J \sim 2.5$  Hz, H2), 4.06-4.13 (m, 5H, H3 and CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 6.02 (dd, 1H,  $J_{\text{CH-CH}} \sim 17$  Hz,  $J_{\text{H-P}} \sim 20.8$  Hz, PCH=CH), 6.75 (ddt, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}} \sim 7$  Hz,  $J_{\text{CH-CH}} \sim 17$  Hz,  $J_{\text{H-P}} \sim 21.5$  Hz, PCH=CH).

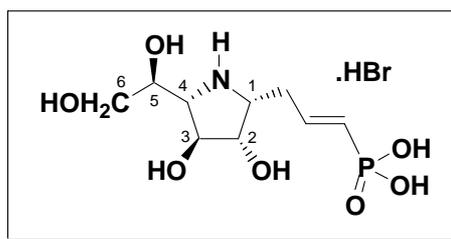
**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 16.6 (d,  $J \sim 6.1$  Hz, CH<sub>3</sub>), 31.4 (d,  $J \sim 23.7$  Hz, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 62.1 (C1), 63.6 (d,  $J \sim 5.8$  Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 64.7 (C6), 71.0 (C4), 71.5 (C5), 76.9 (C2), 78.1 (C3), 121.8 (d,  $J \sim 186.5$  Hz, PCH=CH<sub>2</sub>), 148.9 (d,  $J \sim 5.3$  Hz, CH<sub>2</sub>CH=CH).

**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz)**  $\delta$  ppm 17.84 (s).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 340.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 362.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>13</sub>H<sub>26</sub>NNaO<sub>7</sub>P: calcd :  $m/z = 362.13446$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 362.1340$  [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>ClNO<sub>7</sub>P+2H<sub>2</sub>O: C, 39.65; H, 7.42; N, 3.56; Cl, 9.00. Found: C, 39.75; H, 6.94; N, 3.4; Cl, 9.66.

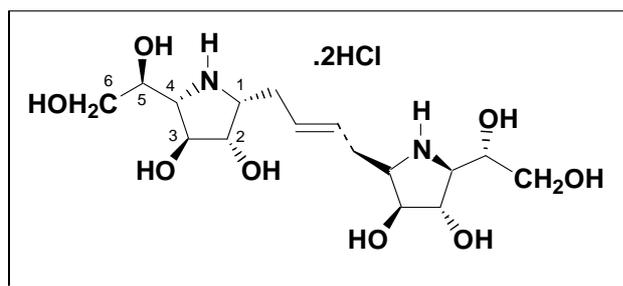
**(1R)-1,4-Dideoxy-1-C-(3-phosphono-2-propen-1-yl)-1,4-imino-D-galactitol 50**Formula: C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>BrNO<sub>7</sub>P Mol. Wt.: 364.13**Preparation of free phosphonic acids procedure E.**

To a solution of ethyl phosphonate **49** (0.05 mmol, 20 mg, 1 equiv.) in dry MeCN (0.1 M) was added BrSiMe<sub>3</sub> (81.5 μL, 10 equiv.) at room temperature. The mixture was stirred for 64h. The mixture was then diluted with MeOH (15 mL) and concentrated under reduced pressure. The dilution and evaporation processes were repeated twice. The residue was then taken up with water and the mixture extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to remove traces of less polar organic compounds. The aqueous phase was concentrated under reduced pressure. Chromatography of the crude product on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 8/2) provided phosphonic acid **50** as a brown foam (10.7 mg, 59%).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)** δ ppm 2.70-2.77 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH), 2.81-2.89 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH), 3.47 (dd, 1H, *J*<sub>3-4</sub>~2.4 and *J*<sub>4-5</sub>~8.8 Hz, H4), 3.67 (dd, 1H, *J*<sub>5-6a</sub>~8 Hz, *J*<sub>6a-6b</sub>~11.6 Hz, H6a), 3.70-3.77 (m, 2H, H1 and H6b), 3.88-3.92 (m, 1H, H5), 4.04 (d, 1H, *J*<sub>1-2</sub>~2.1Hz H2), 4.13 (d, 1H, *J*<sub>3-4</sub>~2.4 Hz, H3), 6.01-6.11 (m, 1H, PCH=CH), 6.54-6.70 (m, 1H, PCH=CH).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)** δ ppm 31.1 (d, *J*~23 Hz, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 62.3 (C1), 64.6 (C6), 70.7 (C4), 71.5 (C5), 76.7 (C2), 78.1 (C3), 117.5 (PCH=CH<sub>2</sub>), 144.7 (CH<sub>2</sub>CH=CH).

**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 162 MHz)** δ ppm 14.54 (s).

**1,4-Bis-[(1R)-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactit-1-yl]-2-butene 51**Formula: C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 451.34

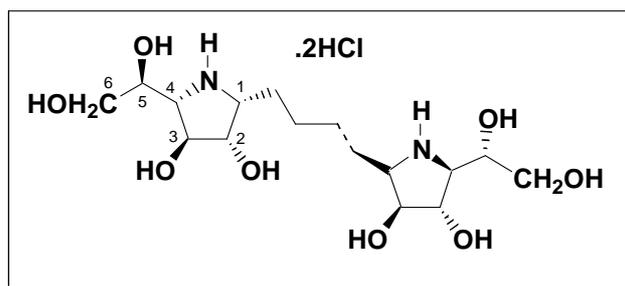
Compound **51** was obtained from compound **45** (196 mg, 0.143 mmol) following the general procedure D. Compound **51** hydrochloride salt (62 mg, 96 %) was obtained as white foam and as a mixture of Z/E isomers (1/1.86) after purification on reverse silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 9/1).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 250 MHz)**  $\delta$  ppm 2.48-2.83 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH=), 3.40-3.53 (m, 2H, H4), 3.57-3.81 (m, 6H, H1, H6), 3.86-3.94 (m, 2H, H5), 3.98-4.07 (m, 2H, H2), 4.07-4.18 (m, 2H, H3), 5.63-5.69 (m, 0.7H, CH=, Z isomer), 5.71-5.80 (m, 1.3H, CH=, E isomer).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5 MHz)**  $\delta$  ppm 24.9 (CH<sub>2</sub>CH=, Z), 29.9 (CH<sub>2</sub>CH=, E), 63.3 (C1, Z), 63.3 (C1, E), 64.6 (C6); 70.6 (C4, E), 70.6 (C4, Z), 71.45 (C5, Z), 71.49 (C5, E), 76.6 (C2, Z), 76.7 (C2, E), 78.2 (C3, E), 78.3 (C3, Z), 128.5 (CH=, Z), 130.0 (CH=, E).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 379.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>: calcd :  $m/z = 401.18999$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 401.1898$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**1,4-Bis-[(1R)-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactit-1-yl]-butane 52**Formula: C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 453.36

To a solution of the hydrochloride salt of deprotected homodimer **51** (47.5 mg, 0.106 mmol) in EtOH (1.3 mL) was added palladium on charcoal (10%, 20 mg, 0.106 mmol). The mixture was stirred overnight under hydrogen atmosphere. After filtration on Millipore system, the solvents were removed under reduced pressure. Purification of the crude product by flash chromatography on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1:0 to 7:3) provided colorless oily **52** as its hydrochloride salt (32.4 mg, 67%).

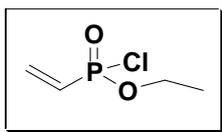
$[\alpha]_D^{25} = -34$  ( $c = 1.03$ , MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$  ppm 1.50-1.60 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.80-1.99 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 3.45 (dd, 2H,  $J_{3-4} \sim 2.3$  and  $J_{4-5} \sim 8.4$  Hz, H4), 3.61 (dt, 2H,  $J_{1-2} \sim 2.9$  and  $J_{1-CH_2} \sim 7.8$  Hz, H1), 3.66 (dd, 2H,  $J_{5-6a} \sim 5.8$  and  $J_{6a-6b} \sim 11.7$  Hz, H6a), 3.74 (dd, 2H,  $J_{5-6b} \sim 4$  and  $J_{6a-6b} \sim 11.7$  Hz, H6b), 3.86-3.90 (m, 2H, H5), 4.03 (d, 2H,  $J \sim 2.5$  Hz, H2), 4.11 (d, 2H,  $J \sim 1.5$  Hz, H3).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5 MHz)  $\delta$  ppm 26.3 (CH<sub>2</sub>), 27.2 (CH<sub>2</sub>), 63.6 (C1), 64.6 (C6), 70.4 (C4), 71.6 (C5), 76.7 (C2), 78.4 (C3).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 381.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> : calcd :  $m/z = 381.22369$  [M+H]<sup>+</sup>; found :  $m/z = 381.2239$  [M+H]<sup>+</sup>.

**Ethyl vinylphosphonyl chloride 53**

Formula: C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>ClO<sub>2</sub>P Mol. Wt.: 154.53

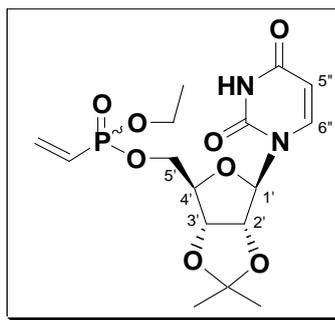
To a solution of diethyl vinylphosphonate (377  $\mu$ L, 2.44 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) was added oxalyl chloride (230  $\mu$ L, 2.68 mmol, 1.1 equiv.) under Ar atmosphere. After stirring overnight at room temperature, the mixture was stirred at 35°C for 24 h and then concentrated under reduced pressure. Ethyl vinylphosphonyl chloride **53** was obtained with a conversion of 94% (<sup>1</sup>H NMR integration) as a colorless oily product.

This compound was used without further purification because it was particularly air and moisture sensitive.

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)**  $\delta$  ppm 1.42 (t, 3H,  $J \sim 7.25$  Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 4.23-4.45 (m, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6.08-6.42 (m, 3H, CH=CH<sub>2</sub>, CH=CH<sub>2</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 16.0 (d,  $J_{C-P} \sim 7.23$  Hz, CH<sub>3</sub>), 63.7 (d,  $J_{C-P} \sim 7.23$  Hz, OCH<sub>2</sub>), 128.7 (d,  $J_{C-P} \sim 171.48$  Hz, CH=CH<sub>2</sub>), 136.3 (d,  $J_{C-P} \sim 1.8$  Hz, CH=CH<sub>2</sub>).

**TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 90/10)** : R<sub>f</sub> = 0.16.

**5'-[(Ethoxy)(vinyl)phosphoryl]-2',3'-O-isopropylideneuridine **54****Formula: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>P

Mol. Wt.: 402.34

To a solution of ethyl vinylphosphonyl chloride **53** (340 mg, 2.2 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (11 mL) under Ar atmosphere were added 2',3'-O-isopropylideneuridine (940 mg, 3.30 mmol, 1.5 equiv.) and Et<sub>3</sub>N (618 μL, 4.39 mmol, 2 equiv.). The purple mixture was stirred for 36 hours at 35°C, then the reaction was quenched by adding water (2 mL). Compound **54** was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 40 mL), the organic layers were combined and dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and the solvent was evaporated under reduced pressure. The pink foam thus obtained was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99/1 to 96/4). Compound **54** was obtained as a white foam (540 mg, 61% from commercially available diethyl vinylphosphonate) and as a 1/1 mixture of *P*-stereoisomers (d1 and d2).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ ppm 1.22-1.27 (m, 6H, CH<sub>3</sub> isopropylidene + CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub> isopropylidene), 4.08 (quint, 1H, *J*~7.5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O d1 and d2), 4.09 (quint, 1H, *J*~7.5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O d1 and d2), 4.24-4.29 (m, 2H, H5'), 4.32-4.40 (m, 1H, H4'), 4.77-4.80 (m, 1H, H3'), 4.86 (dd, 1H, *J*<sub>2',3'</sub>~6.25 Hz and *J*<sub>1',2'</sub>~2 Hz, H2' d1 and d2), 5.64 (d, 1H, *J*<sub>5'',6''</sub>~8 Hz, H5''), 5.73 (dd, 1H, *J*~4.75 Hz and *J*<sub>1',2'</sub>~2 Hz, H1' d1 and d2), 5.87-6.39 (m, 3H, CH<sub>2</sub>=CHP + CH<sub>2</sub>=CHP d1 and d2), 7.39 (t, 1H, *J*<sub>5'',6''</sub>~8.25 Hz, H6'' d1 and d2), 10.44 (broad s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)** δ ppm 16.0, 16.1 (CH<sub>3</sub>, d1 and d2); 26.0 (CH<sub>3</sub> isopropylidene), 26.9 (CH<sub>3</sub>, isopropylidene); 62.2, 62.3 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O d1 and d2); 64.89-65.03 (m, C5' d1 and d2); 80.5, 80.6 (C3' d1 and d2); 84.2, 84.3 (C2' d1 and d2); 85.3 (d, *J*<sub>C-P</sub>~11.3 Hz, C4' d1), 85.5 (d, *J*<sub>C-P</sub>~11.3 Hz, C4' d2); 93.4, 93.7 (C1' d1 and d2); 102.2, 102.3 (C5'', d1 and d2), 114.15, 114.18 (Cq isopropylidene, d1 and d2); 124.8 (d, *J*<sub>C-P</sub>~183 Hz, PCH=CH<sub>2</sub> d1), 124.9 (d, *J*<sub>C-P</sub>~183 Hz, PCH=CH<sub>2</sub> d2), 136.4 (PCH=CH<sub>2</sub>), 141.8, 141.9 (C6'', d1 and d2), 150.13, 150.15 (C2'', d1 and d2), 163.7 (C4'').

**<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202 MHz)** δ ppm 17.83 (s), 18.0 (s).

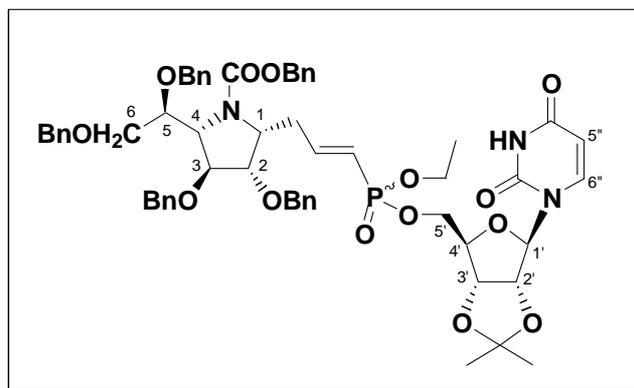
(+) MS (ESI) : *m/z* = 420.0 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** :  $C_{16}H_{23}N_2NaO_8P$  calcd :  $m/z = 425.1090$   $[M+Na]^+$ , found :  $m/z = 425.1092$   $[M+Na]^+$ .

**IR (NaCl,  $cm^{-1}$ )** 3466, 3169, 3057, 2989, 2940, 1694, 1633, 1457, 1383, 1271, 1235, 1159, 1067, 1019.

**TLC ( $CH_2Cl_2/MeOH$  7/1)** :  $R_f = 0.71$ .

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzylloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-[1-[(ethyl)(2',3'-O-isopropylideneuridin-5-yl)phosphono]-1-propen-3-yl]-1,4-imino-D-galactitol 55**

Formula: C<sub>59</sub>H<sub>66</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>P

Mol. Wt.: 1072.14

To a solution of **34** (115 mg, 0.165 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.75 mL) was added compound **54** (133 mg, 0.33 mmol, 2 equiv.). The flask was then submitted to 3 freeze-pump-thaw cycles and placed under Ar atmosphere. Then Hoveyda-Grubbs catalyst (5.2 mg, 5 mol %) was added and the 3 freeze-pump-thaw-argon cycles were repeated. The reaction medium was stirred for 24 hours at 40°C, then a second addition of Hoveyda-Grubbs catalyst (5.2 mg, 5 mol %) was performed. After 20h stirring time at 40°C, the reaction medium was concentrated under reduced pressure. The brown residue was dried by co-evaporation with toluene. Purification by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99/1 to 98/2) provided compound **55** (107.5 mg, 61%) as a brown oily product (1:1 mixture of *P*-stereoisomers).

<sup>1</sup>H NMR (C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>SO, 353 K, 500 MHz) δ ppm 1.22 (t, 3H, *J*~6.3 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d1), 1.24 (t, 3H, *J*~6.3 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d2), 1.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub> isopropylidene), 1.54 (s, 3H, CH<sub>3</sub> isopropylidene), 2.48-2.53 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 2.61-2.68 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 3.58 (dd, *J*<sub>5-6a</sub>~5.77 Hz, *J*<sub>6a-6b</sub>~10.9 Hz, 1H, H6a), 3.69 (dd, *J*<sub>5-6b</sub>~3.24 Hz, *J*<sub>6a-6b</sub>~10.9 Hz, 1H, H6b), 3.88-3.94 (m, 1H, H5), 3.93-4.00 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.08-4.13 (m, 2H, H3 + H5'), 4.16-4.20 (m, 2H, H2 + H4), 4.22 (q, 1H, *J*<sub>3'-4'</sub>~4.5 Hz, H4'), 4.27-4.33 (m, 1H, H1), 4.46 (d, 1H, *J*~5.1 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.50-4.59 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.66 (d, 1H, *J*~11.6 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.82 (dd, 1H, *J*<sub>3'-4'</sub>~4 Hz, *J*<sub>2'-3'</sub>~6.4 Hz, H3'), 5.01-5.04 (m, 1H, H2'), 5.10 (broad s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.61 (d, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz, H5''), 5.66-5.74 (m, 1H, CH=CHP), 5.86-5.87 (m, 1H, H1'), 6.62-6.76 (m, 1H, CH=CHP), 7.27-7.39 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.64 (dd, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz, H6'' d1 and d2).

<sup>13</sup>C NMR (C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>SO, 353 K, 125 MHz) δ ppm 16.28 (CH<sub>3</sub>), 16.32 (CH<sub>3</sub>); 25.6 (CH<sub>3</sub> isopropylidene), 27.3 (CH<sub>3</sub> isopropylidene); 34.1 (d, *J*<sub>C-P</sub>~22.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH=CHP); 59.66, 59.71 (C-1, d1 and d2); 61.66, 61.71 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d1 and d2); 64.26, 64.31 (C2, d1 and d2); 64.96, 65.00 (C5', d1 and d2); 66.8 (OCH<sub>2</sub>Ph); 71.2, 71.5, 72.3, 72.7, 72.9 (C6 and 4 OCH<sub>2</sub>Ph); 78.0 (C5); 81.1 (C3'); 81.8 (C4); 82.3 (C3); 83.9 (C2'); 85.2 (m, C4'); 92.65,

92.68 (C-1', d1 and d2); 102.3 (C5''); 113.8 (Cq isopropylidene); 118.5 (d,  $J_{C-P} \sim 185.6$  Hz, CH=CHP), 118.6 (d,  $J_{C-P} \sim 185.6$  Hz, CH=CHP); 127.5-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s); 137.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.9 (Cq<sub>Ar</sub>); 142.4 (C6''); 150.6 (d,  $J_{C-P} \sim 21.6$  Hz, CH=CHP); 156.2 (C=O); 163.2 (C=O).

<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202 MHz) δ ppm 17.94 (s), 18.01 (s).

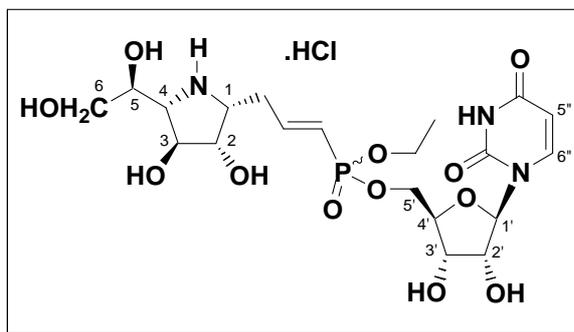
(+) MS (ESI) :  $m/z = 1095.5$  [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>59</sub>H<sub>66</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>14</sub>P: calcd :  $m/z = 1094.4180$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 1094.4175$  [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>59</sub>H<sub>66</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>P: C, 66.09; H, 6.20; N, 3.92. Found: C, 66.07; H, 6.20; N, 3.79.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3032, 2988, 2935, 2249, 1695, 1455, 1266, 1215, 1158, 1095, 1068, 1028.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1) : R<sub>f</sub> = 0.31.

**(1R)-1,4-Dideoxy-1-C-[1-[(ethyl)(uridin-5-yl)phosphono]-1-propen-3-yl]-1,4-imino-D-galactitol 56**Formula: C<sub>20</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>12</sub>P

Mol. Wt.: 573.92

To a solution of **55** (149 mg, 0.139 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.5 mL) was added BCl<sub>3</sub> (862 μl, 735 mmol, 100 equiv.) at 0°C under argon atmosphere. The reaction medium was stirred overnight at 0°C, then it was diluted by addition of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.5 mL) and the solid formed during the reaction was dissolved (twice) by addition of MeOH and a few drops of water. The reaction mixture was then concentrated under reduced pressure. Purification of the crude product by flash chromatography on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 8/2) provided compound **56** as its hydrochloride salt (62.6 mg, 78%) as a white foam (1:1 mixture of *P*-stereoisomers).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)** δ ppm 1.34 (t, 3H, *J*~7.1 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d1), 1.35 (t, 3H, *J*~7.1 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d2), 2.73-2.96 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 3.48 (dd, 1H, *J*<sub>3-4</sub>~2.5 and *J*<sub>4-5</sub>~8.5 Hz, H4), 3.67 (dd, 1H, *J*<sub>5-6a</sub>~4.5 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H6a), 3.72-3.80 (m, 2H, H1, H6b), 3.86-3.92 (m, 1H, H5), 4.00-4.04 (m, 1H, H2), 4.10-4.36 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H3, H2', H4' and H5'), 5.72 (dd, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8.0 and 1 Hz, H5''), 5.83 (dd, 1H, *J*<sub>1'-2'</sub>~4.0 Hz, *J*<sub>1'-6''</sub>~6.0 Hz, H1' d1 and d2), 6.02-6.13 (m, 1H, CH=CHP), 6.76-6.87 (m, 1H, CH=CHP), 7.72 (dd, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8.0 and *J*<sub>1'-6''</sub>~6.5 Hz, H6'' d1 and d2).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz)** δ ppm 16.6, 16.7 (CH<sub>3</sub>, d1 and d2); 31.4 (d, *J*<sub>C-P</sub>~23.3 Hz, CH<sub>2</sub>CH=CHP); 61.9 (C1); 64.0, 64.1 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d1 and d2); 64.7 (C6); 66.2-66.3 (m, C5'); 70.9 (C4 and C3'); 71.5 (C5); 74.96, 74.99 (C2', d1 and d2); 76.8 (C3); 78.1 (C2); 83.5, 83.6 (C4', d1 and d2); 91.7, 91.9 (C1', d1 and d2); 102.9 (C5''); 121.0 (d, *J*<sub>C-P</sub>~185.6 Hz, CH=CHP), 121.1 (d, *J*<sub>C-P</sub>~185.6 Hz, CH=CHP); 142.5, 142.6 (C-6'', d1 and d2); 149.9-150.0 (m, CH=CHP); 152.2 (C=O), 166.0 (C=O).

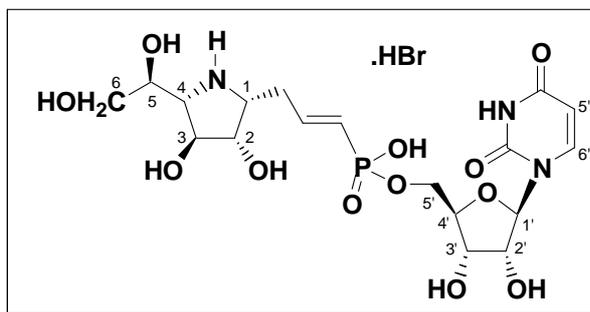
**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz)** δ 18.42 (s), 18.59 (s).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 538.0 [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)**  $C_{20}H_{33}N_3O_{12}P$ : calcd :  $m/z = 538.1802$   $[M+H]^+$ , found :  $m/z = 538.1800$   $[M+H]^+$ .  $C_{20}H_{32}N_3NaO_{12}P$ : calcd :  $m/z = 560.1621$   $[M+Na]^+$ , found :  $m/z = 560.1622$   $[M+Na]^+$ .

**Anal. Calcd. for  $C_{20}H_{33}ClN_3O_{12}P+2H_2O$ :** C, 39.38; H, 6.11; N, 6.89; Cl, 5.81. Found: C, 39.27; H, 6.29; N, 6.53; Cl, 5.80.

**(1R)-1,4-Dideoxy-1-C-{1-[uridin-5-yl]phosphono}-1-propen-3-yl}-1,4-imino-D-galactitol**  
**57**

Formula: C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>12</sub>P

Mol. Wt.: 590.31

Using general procedure for obtention of free phosphonic acid, the reaction mixture was stirred over week-end to afford bromhydrate **57** (8 mg, 36%) as a white foam, from **56** (21.9 mg, 0.038 mmol).

$[\alpha]_D^{25} = -2$  ( $c = 0.49$ , MeOH).

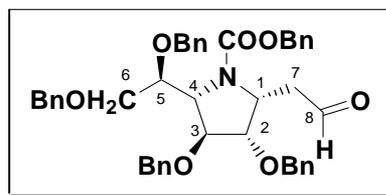
**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 2.58-2.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 3.42 (dd, 1H,  $J_{4-5} \sim 2.4$  Hz,  $J_{4-5} \sim 8.4$  Hz, H4), 3.62-3.77 (m, 3H, H1 and H6), 3.85-3.90 (m, 1H, H5), 3.98-4.12 (m, 5H, H2, H5', H4' and H3), 4.19-4.23 (m, 2H, H2' and H3'), 5.79 (d, 1H,  $J_{5''-6''} \sim 8$  Hz, H5''), 5.89-6.01 (m, 2H, H1 and CH=CHP), 6.36-6.50 (m, 1H, CH=CHP), 8.01 (d, 1H,  $J_{5''-6''} \sim 8$  Hz, H6'').

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 31.4 (d,  $J_{C-P} \sim 21.6$  Hz, CH<sub>2</sub>CH=CHP), 62.8 (C1), 64.5 (d,  $J_{C-P} \sim 4.6$  Hz, C5'), 64.7 (m, C6), 70.7 (C4), 71.5 (C3' or C2'), 71.7 (C5), 75.6 (C2' or C3'), 77.0 (C2), 78.3 (C3), 85.1 (d,  $J_{C-P} \sim 8.2$  Hz, C4'), 90.0 (C1'), 103.0 (C5''), 128.4 (d,  $J_{C-P} \sim 175$  Hz, CH=CHP), 142.1 (CH=CHP), 142.6 (C6''), 152.6 (C=O), 166.2 (C=O).

**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 162 MHz)**  $\delta$  ppm 12.05 (s).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 510.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 532.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>12</sub>P: calcd :  $m/z = 532.13083$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 538.1306$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**(1R)-1-C-(2-oxoethyl)-N-benzyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-galactitol 60**Formula: C<sub>44</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 699.83

To a solution of allylic compound **34** (3.06 mg, 4.395 mmol) in a solution of dioxane and water (30/15 mL) were added 2,6-Lutidine (942  $\mu$ l, 8.79 mmol), OsO<sub>4</sub> in <sup>t</sup>BuOH (1.5 mL), and then NaIO<sub>4</sub> (2.8 g, 13.19 mmol). The brown mixture was stirred 3h at room temperature and then water was added to the white mixture. The desired product was extracted with ethyl acetate. Solid Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> was added to the combined organic layers to provide a yellow solution, which was dried over sodium sulfate. After solvent evaporation, purification on silica gel (PE/EtOAc 6/1 to 4/1) afforded the desired aldehyde **60** (2.8 g, 91%) as colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} = -2$  ( $c = 0.63$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.68 (dd, 1H,  $J_{\sim 8.6}$  and 17.3 Hz, H7a), 2.85 (brs, 1H, H7b), 3.58 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 5.1$  and  $J_{6a-6b} \sim 10.1$  Hz, H6a), 3.67-3.72 (m, 1H, H6b), 3.87-3.97 (m, 1H, H5), 4.19-4.23 (m, 2H, H2 and H3), 4.33 (d, 1H,  $J_{4-5} \sim 7.4$  Hz, H4), 4.39-4.49 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.53-4.71 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 5.07-5.17 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.25-7.39 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s), 9.68 (s, 1H, H8).

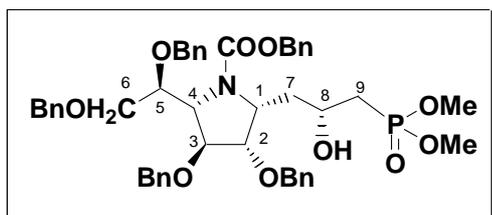
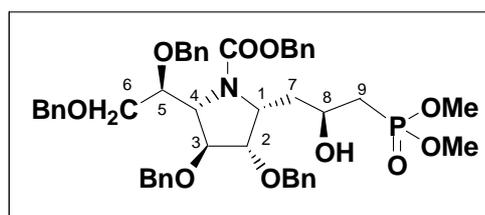
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 44.8 (C7), 51.5-58.2 (C1), 65.4 (C4), 67.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 71.9-72.1 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.3 (C5), 81.7 (C2 or C3), 82.9-83.1 (C2 or C3), 128.2-129.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.7-157.0 (C=O), 201.4 (CHO).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 700.0$  [M+H]<sup>+</sup>, 722.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>NO<sub>7</sub>: calcd :  $m/z = 700.3274$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 700.3275$  [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3063, 3030, 2921, 2865, 1719, 1702, 1496, 1454, 1404, 1352, 1308, 1266, 1243, 1210, 1132, 1095, 1073, 1049, 1028.

TLC (PE/EtOAc 8/2) : R<sub>f</sub> = 0.32.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(3-dimethylphosphono-2-hydroxy-propyl)-1,4-imino-D-galactitol 62a and 62b**Formula: C<sub>47</sub>H<sub>54</sub>NO<sub>10</sub>P

Mol. Wt.: 823.91

To a solution of aldehyde **57** (225 mg, 0.322 mmol) in THF (5 mL) was added BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (187 μL, 1.61 mmol). After 15 min at room temperature, a pre-stirred solution of methyl dimethylphosphonate (175 μL, 1.61 mmol) and BuLi (2.3M in THF, 701 μL, 1.61 mmol) in THF at -78°C was added. After 3 hours at -78°C, the reaction mixture was quenched by adding NH<sub>4</sub>Cl saturated aqueous solution and warmed up to room temperature. The desired compound was extracted by EtOAc, washed with brine and dried over sodium sulfate. After solvent evaporation, purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 1/1 to 1/2) afforded the desired compound **66** (132 mg, 50%) as a colorless oil mixture of diastereoisomers .

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(3-dimethylphosphono-2-hydroxy-propyl)-1,4-imino-D-galactitol 62a**[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = + 3 (c = 1.2, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 1.45-2.04 (m, 5H, H7, H9 and OH), 3.36-3.82 (m, 9H, H6, H5 and OCH<sub>3</sub>), 3.83-4.07 (m, 4H, H8, H4, H2 and H3), 4.16-4.53 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 4.56-4.76 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.88-5.10 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.05-7.30 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 33.2 (d, J<sub>C-P</sub>~132.5 Hz, C9), 37.1 (d, J<sub>C-P</sub>~14.5 Hz, C7), 52.3 (d, J<sub>C-P</sub>~6.4 Hz, OCH<sub>3</sub>), 52.4 (d, J<sub>C-P</sub>~6.4 Hz, OCH<sub>3</sub>), 57.5-57.9 (C1), 63.3 (C8), 65.2-65.4 (C4), 67.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5-73.6 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 77.8 (C5), 81.4-81.9 (C2 or C3), 82.4-82.9 (C2 or C3), 127.5-128.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.3-136.4 (C<sub>qAr</sub>), 137.6 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.4 (C<sub>qAr</sub>), 156.80-156.83 (C=O).

<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz) δ ppm 32.67 (s).

(+) MS (ESI) : m/z = 824.5 [M+H]<sup>+</sup>, 846.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>47</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>10</sub>P: calcd : m/z = 824.3564 [M+H]<sup>+</sup>, found : m/z = 824.3584 [M+H]<sup>+</sup>.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 1/1) : R<sub>f</sub> = 0.2.

(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(3-dimethyl-phosphono-(2S)-2-hydroxy-propyl)-1,4-imino-D-galactitol **62b**

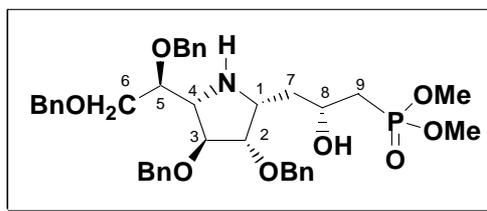
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +15$  ( $c = 1.12$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm 1.26-1.64 (m, 5H, H7, H9 and OH), 3.15-3.72 (m, 9H, H6, H5 and  $\text{OCH}_3$ ), 3.93-4.12 (m, 4H, H8, H4, H2 and H3), 4.22-4.67 (m, 9H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$  and H1), 5.07 (AB, 2H,  $J \sim 11.8$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 7.20-7.40 (m, 25H,  $\text{CH}_{\text{Ar's}}$ ).

$^{31}\text{P NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz)  $\delta$  ppm 32.37 (s).

TLC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  1/1) :  $R_f = 0.3$ .

IR (NaCl,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3399, 2924, 2854, 1722, 1681, 1454, 1411, 1353, 1316, 1215, 1096, 1065, 1029.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1,4-dideoxy-1-C-(3-dimethylphosphono-2-hydroxy-propyl)-1,4-imino-D-galactitol 63**Formula: C<sub>39</sub>H<sub>48</sub>NO<sub>8</sub>P

Mol. Wt.: 689.77

Following general procedure C, compound **62a** (51.4 mg, 0.06 mmol) and triethylamine (2  $\mu$ L) were dissolved in ethanol (0.5mL). The flask was submitted to 3 freeze-pump-thaw cycles and palladium on charcoal (10% Pd on C, 0.1 equiv.) was added under argon. The mixture was then placed under hydrogen atmosphere. After a stirring time of 2 h at room temperature, the palladium was removed by filtration on millipore and washed with dichloromethane. Evaporation of the solvents provided a colorless oily product. NMR spectra of the crude residue matched the expected structure and showed it did not need any further purification. Compound **64** (40.9 mg, 99%) was obtained as a colorless oil.

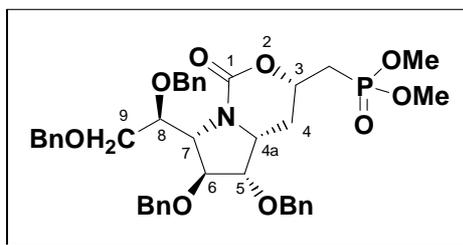
**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.55-1.97 (m, 4H, H7 and H9), 3.12-3.15 (m, 2H, H1 and H4), 3.57-3.76 (m, 11H, OCH<sub>3</sub>, H2, H3, H5 and H6), 4.07-4.12 (m, 1H, H8), 4.26-4.33 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.39-4.46 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.13 (d, 1H, *J*~11.6 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.13-7.26 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 35.6 (d, *J*~137.8 Hz, C9), 36.2 (d, *J*~12.7 Hz, C7), 52.3 (d, *J*~6.5 Hz, OCH<sub>3</sub>), 52.6 (d, *J*~6.3 Hz, OCH<sub>3</sub>), 61.8 (C1), 66.9 (C4), 67.0 (d, *J*~3 Hz, C8), 70.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.9 (C6), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.0 (C5), 83.7 (C2 or C3), 84.6 (C2 or C3), 127.6-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.3 (Cq<sub>Ar</sub>).

**<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**  $\delta$  ppm 31.94 (s).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 690.5 [M+H]<sup>+</sup>, 712.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 6/1) : R<sub>f</sub> = 0.13.

**Dimethyl (2*S*,4*aR*,5*S*,6*S*,7*S*)-5,6-dibenzyloxy-7-[(1*S*)-1,2-dibenzyloxyethyl]-1-oxo-hexahydropyrrolo-[1,2-*c*]-[1,3]oxazin-3-methylphosphonate 64**Formula: C<sub>40</sub>H<sub>46</sub>NO<sub>9</sub>P

Mol. Wt.: 715.77

To a solution of crude **63** (40.9 mg, 0.06 mmol) in dichloromethane (1 mL) were added carbonyldiimidazole (10.1 mg, 0.09 mmol) and DMAP (10 mol%, 0.1 mg). The reaction mixture was stirred overnight. Purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 6:1 to 0/1) afforded compound **64** (19 mg, 45%) as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +3$  ( $c = 1.08$ , CHCl<sub>3</sub>).

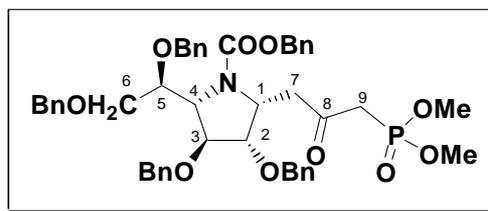
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 1.75-2.30 (m, 4H, H4 and CH<sub>2</sub>P), 3.30 (dd, 1H,  $J_{8-9a} \sim 8.4$  Hz and  $J_{9a-9b} \sim 11.0$  Hz, H9a), 3.47 (dd, 1H,  $J_{8-9b} \sim 2.4$  Hz and  $J_{9a-9b} \sim 11.0$  Hz, H9b), 3.65-3.83 (m, 8H, OCH<sub>3</sub>, H4a, and H5), 4.07 (d, 1H,  $J_{6-7} \sim 5.5$  Hz, H7), 4.09-4.58 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph, H6 and H3), 4.75 (AB, 2H,  $J \sim 11.4$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.87 (ddd, 1H,  $J_{8-69a} \sim 2.4$ ,  $J_{7-8} \sim 5.4$  and  $J_{8-9b} \sim 8.0$  Hz, H9), 7.10-7.33 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)  $\delta$  ppm 28.33 (s).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 716.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 738.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3016, 2927, 2856, 1715, 1454, 1267, 1216, 1096, 1061.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 6/1) : R<sub>f</sub> = 0.28.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(3-dimethylphosphono-2-oxo-propyl)-1,4-imino-D-galactitol 65**Formula: C<sub>47</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>10</sub>P

Mol. Wt.: 821.89

To a solution of diastereomeric mixture of compound **62** (70 mg, 0.085 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL) were added 4 Å molecular sieves (83 mg), PCC (33 mg, 0.153 mmol) and then AcONa (28 mg, 0.34 mmol). The reaction mixture was stirred 4 hours at room temperature and then filtered over celite. Purification by flash chromatography on silica gel (toluene/acetone 3/1 to 2/1) afforded desired compound **65** (33.6 mg, 48%) as a colorless oil.

Note: Compound **65** (378 mg, 50%) may be synthesized from corresponding aldehyde **60** (640 mg, 0.92 mmol) without purification of the alcohol **62**.

$[\alpha]_D^{25} = -24$  ( $c = 0.67$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.81-2.93 (m, 2H, H7), 2.99-3.27 (m, 2H, H9), 3.47-3.75 (m, 8H, H6 and OCH<sub>3</sub>), 3.84-3.94 (brs, 1H, H5), 4.10-4.21 (m, 2H, H2 and H3), 4.27-4.40 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph and H4), 4.41-4.77 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 5.10 (brs, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.18-7.45 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 41.7 (d,  $J \sim 127$  Hz, C9), 44.4-45.1 (C7), 52.96 (d,  $J \sim 6.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 53.02 (d,  $J \sim 6.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 58.3-58.9 (C1), 65.5 (C4), 67.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.9-72.4 (C6), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.2 (C5), 81.7 (C2 or C3), 82.2-83.4 (C2 or C3), 128.2-129.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.7 (C=O), 201.3 (C8).

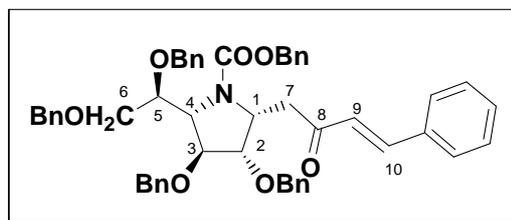
<sup>31</sup>P NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz)  $\delta$  ppm 22.49 (s).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 822.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 844.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd for C<sub>42</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>10</sub>P H<sub>2</sub>O: C, 67.21; H, 6.48; N, 1.67. found: C, 67.16; H, 6.36; N, 1.73.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3418, 3062, 3033, 2955, 2927, 2855, 1716, 1497, 1453, 1407, 1267, 1096, 1029.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 6/1) : R<sub>f</sub> = 0.55.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(2-oxo-4-phenylbut-3-enyl)-1,4-imino-D-galactitol 67**Formula: C<sub>52</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 801.96

To a solution of compound **65** (102 mg, 0.124 mmol) in THF (0.6 mL) were added benzaldehyde (0.05 mL, 0.496 mmol) and then K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (89 mg, 0.64 mmol) in water (0.6 mL). The reaction mixture was stirred 48 hours at room temperature. The desired compound was extracted with EtOAc. Organic layers were washed with saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl solution, brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography on silica gel (hexane/EtOAc 85/15) afforded the desired compound **67** (74.9 mg, 75%) as a yellow oil.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -37 (*c* = 1.29, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.70 (dd, 1H, *J*~10 and 17.2 Hz, H7a), 2.83-2.94 (m, 1H, H7b), 3.21-3.71 (m, 2H, H6), 3.77-3.91 (brs, 1H, H5), 3.95-4.07 (m, 1H, H2 or H3), 4.14-4.55 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>Ph, H2 or H3 and H4), 4.58-4.83 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 5.10-5.25 (brs, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 6.38-6.61 (m, 1H, H9), 7.06-7.52 (m, 31H, H10 and CH<sub>Ar</sub>'s).

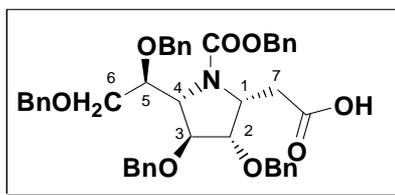
<sup>13</sup>C NMR (DMSO, 353 K, 62.5 MHz)  $\delta$  ppm 40.0-42.0 (C7), 57.3 (C1), 64.0 (C4), 65.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.5 (C6), 71.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (2 OCH<sub>2</sub>Ph), 77.0 (C5), 80.5 (C2 or C3), 81.4 (C2 or C3), 126.2 (C9), 127.8-129.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 134.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 136.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 141.0 (C10), 155.2 (C=O), 197.5 (C8).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 802.5 [M+H]<sup>+</sup>, 824.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>52</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>7</sub>: calcd : *m/z* = 802.3744 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 802.3731 [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3399, 3064, 3033, 1694, 1610, 1452, 1402, 1349, 1313, 1268, 1067, 1026.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 1/1) : R<sub>f</sub> = 0.32.

**N-Benzoyloxycarbonylamino-2,3,6-trideoxy-3,6-imino-4,5,7,8-tetra-O-benzyl-D-glycero-D-glucooctonic acid 68**Formula: C<sub>44</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 715.83

To a solution of TEMPO in dichloromethane (1.13 mL, 1.6 10<sup>-2</sup> M) were added aldehyde **60** (244 mg, 0.35 mmol) and a solution of KBr in CH<sub>3</sub>CN (9 μL, 0.5 M). At 0°C a pre-stirred solution of Ca(OCl)<sub>2</sub> (60 mg, 0.419 mmol) and solid NaHCO<sub>3</sub> (88.2 mg, 1.05 mmol) in water (600 μL) was added dropwise. The yellow mixture was stirred one hour at 0°C. Because Ca(OCl)<sub>2</sub> was not dry, an excess was added. Two hours were necessary to have a complete reaction. After solvent evaporation, an aqueous solution of HCl 1N was added until pH=1. The desired product was extracted with dichloromethane. Combined organic layers were washed with HCl 1N and water. Then they were dried over sodium sulfate. After solvent evaporation, purification on silica gel (toluene/EtOAc 8/1 + 4 drops of AcOH) afforded the desired acid **68** (129 mg, 52%) as light yellow oil.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -9 (c = 1.14, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 2.42-2.74 (m, 1H, H7a), 2.96-3.14 (m, 1H, H7b), 3.36-3.65 (m, 2H, H6), 3.94 (s, 1H, H5), 4.00 (s, 1H, H3 or H2), 4.09 (d, 1H, J~4.4 Hz, H3 or H2), 4.17-4.72 (m, 10H, OCH<sub>2</sub>Ph, H4 and H1), 5.02-5.21 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.11-7.31 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

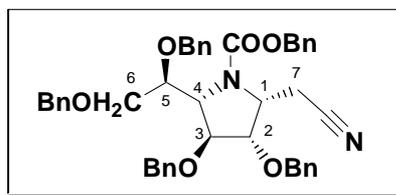
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 34.9-34.5 (C7), 56.7-58.4 (C1), 64.3-64.7 (C4), 67.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.2-71.5 (C6), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.4 (C5), 80.6 (C2 and C3), 81.6-82.7 (C2 and C3), 127.7-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.35-156.41 (C=O), 176.9-178.2 (C=O).

(+) MS (ESI) : m/z = 716.5 [M+H]<sup>+</sup>, 738.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>NO<sub>8</sub>: calcd : m/z = 716.3223 [M+H]<sup>+</sup>, found : m/z = 716.3212 [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3415, 3089, 3064, 3032, 2927, 2861, 1702, 1496, 1453, 1407, 1353, 1313, 1210, 1093.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.2.

**N-Benzoyloxycarbonylamino-2,3,6-trideoxy-3,6-imino-4,5,7,8-tetra-O-benzyl-D-glycero-D-glucooctonitrile 69**

Formula: C<sub>44</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> Mol. Wt.: 696.83

To a solution of aldehyde **60** (80 mg, 0.114 mmol) in THF (1.14 mL) were added I<sub>2</sub> (32 mg, 0.126 mmol) and a 30% aqueous solution of NH<sub>3</sub> (19 μL). The brown mixture was stirred 1h30 at room temperature without decoloration. Then H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% (2 μL) was added and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature. The desired product was extracted with dichloromethane. Combined organic layers were washed with brine and dried over sodium sulfate. After solvent evaporation, purification on silica gel (toluene/EtOAc 8/0.5) afforded nitrile **69** (40 mg, 50%) as colorless oil.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -4 (c = 1.04, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 2.08-2.23 (m, 1H, H7a), 2.50-2.89 (m, 1H, H7b), 3.33-3.69 (m, 2H, H6), 3.77 (brs, 1H, H5), 3.97-4.10 (m, 2H, H3 and H2), 4.21 (d, 1H, J~6.19 Hz, H4), 4.29-4.49 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 4.56-4.73 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.03-5.21 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.15-7.45 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

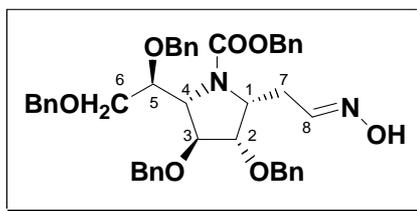
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 17.5-18.1 (C7), 56.7-58.5 (C1), 64.9-65.4 (C4), 67.5-67.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.1-72.2 (C6 and OCH<sub>2</sub>Ph), 72.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 80.6 (C5), 81.4-81.9 (C2 or C3), 82.2-82.8 (C2 or C3), 118.3 (C8), 127.7-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>), 156.0-156.8 (C=O).

(+) MS (ESI) : m/z = 697.5 [M+H]<sup>+</sup>, 719.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>44</sub>H<sub>45</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: calcd : m/z = 697.3278 [M+H]<sup>+</sup>, found : m/z = 697.3279 [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3063, 3031, 2250, 1704, 1497, 1454, 1403, 1352, 1266, 1210, 1128, 1097, 1072, 1028.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.6.

**(1R)-1-C-(2-Oxoethyl)-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-galactitol oxime 70**Formula: C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 714.85

To a solution of aldehyde **60** (169.6 mg, 0.243 mmol) in methanol (1.43 mL) were added pyridine (0.72 mL) and then NH<sub>2</sub>OH.HCl (25 mg, 0.364 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature. After solvent evaporation, the desired compound was extracted with EtOAc. The organic layers were washed with water, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification on silica gel (Toluene/EtOAc 8/1 to 8/1.5) afforded the desired oxime **70** (120.2 mg, 69%) as a colorless oily mixture of *Trans/cis* (34/66) isomers.

**<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)** δ ppm 2.45-2.52 (m, 0.34H, H7a *trans*), 2.67-2.82 (m, 1H, H7b *cis* et H7a *trans*), 3.00 (brs, 1.6H, H7b *cis* and OH), 3.56-3.82 (m, 2H, H6), 3.94-4.04 (m, 1H, H5), 4.13-4.23 (m, 1H, H2 or H3), 4.24-4.38 (m, 2H, H4 and H2 or H3), 4.41-4.76 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 5.09-5.18 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 6.86 (brs, 0.4H, CH=N *cis*), 7.22-7.45 (m, 25.6H, CH<sub>Ar</sub>'s + CH=N *trans*).

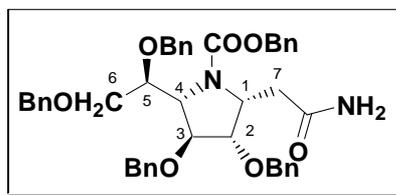
**<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)** δ ppm 26.8 (C7 *trans*), 30.6 (C7 *cis*), 58.7-59.2 (C1), 59.5-60.3 (C1), 64.9 (C4 *trans*), 65.2 (C4 *cis*), 67.4 (OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 67.5 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 71.9 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.3 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.5 (C5 *trans*), 78.6 (C5 *cis*), 81.8 (C2 or C3), 82.1 (C2 or C3), 82.8-83.4 (C2 or C3), 128.0-130.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.29 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.32 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.48 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.50 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.75 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.81 (Cq<sub>Ar</sub>), 149.0 (C=N *trans*), 149.1 (C=N *cis*), 157.1 (C=O *cis*), 157.2 (C=O *trans*).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 715.5 [M+H]<sup>+</sup>, 737.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>44</sub>H<sub>47</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: calcd : *m/z* = 715.3383 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 715.3369 [M+H]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3382, 3063, 3031, 2925, 2866, 1699, 1454, 1403, 1353, 1311, 1266, 1211, 1097, 1028.

**TLC (toluene/EtOAc 8/1)** : R<sub>f</sub> = 0.3 (*cis*) and 0.2 (*trans*).

**(1R)-1-C-Carboxamidomethyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-galactitol 71**Formula: C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 714.85

The oxime **70** (120.2 mg, 0.168 mmol) was introduced in a schlenk under argon atmosphere. Then toluene (340  $\mu$ L) and [Ir(Cp\*)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (3.3 mg, 4.2  $10^{-3}$  mmol) were added. The reaction was stirred overnight at 110°C. After reaction mixture warmed up to room temperature, filtration on Millipore and evaporation of dichloromethane afforded desired crude compound. Purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 7/1 to 3/1) afforded the amide **71** (80.7 mg, 67%) as a yellow oil.

Note: Amide **71** (289.5 mg, 73%) was obtained from corresponding aldehyde **60** (391 mg, 0.559 mmol) without purification of oxime intermediate.

$[\alpha]_D^{25} = +22$  ( $c = 1.12$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.50-2.56 (m, 1H, H7a), 2.88 (d, 1H,  $J \sim 4.4$  Hz, H7b), 3.52-3.73 (m, 2H, H6), 3.93 (brs, 1H, H5), 4.14 (brs, 1H, H3), 4.24 (d, 1H,  $J \sim 4.8$  Hz, H2), 4.32 (d, 1H,  $J \sim 6.9$  Hz, H4), 4.38-4.69 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 5.07-5.15 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 6.17 (brs, 1H, NH), 6.53 (brs, 1H, NH), 7.25-7.37 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

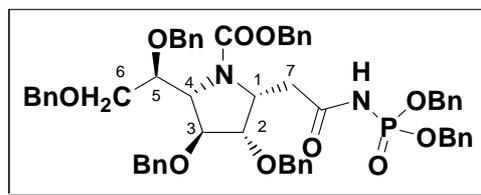
<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 35.2-38.2 (C7), 58.9-59.9 (C1), 65.5 (C4), 67.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.6 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1-72.6 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.6 (C5), 81.7 (C2), 82.9-83.5 (C3), 128.2-129.1 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 139.7 (Cq<sub>Ar</sub>), 157.0 (C=O), 173.5 (CONH<sub>2</sub>).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 715.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 737.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>44</sub>H<sub>47</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: calcd :  $m/z = 715.3383$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 715.3384$  [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3469, 3350, 3058, 3022, 2945, 2863, 1670, 1682, 1604, 1454, 1405, 1352, 1313, 1266, 1210, 1098, 1027.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.04.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(N-dibenzylphosphono-carboxamidomethyl)-1,4-imino-D-galactitol 72**Formula: C<sub>58</sub>H<sub>59</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>P

Mol. Wt.: 975.07

To a solution of acetamide **71** (92.7 mg, 0.130 mmol, 1 equiv.) in CH<sub>3</sub>CN (2 mL) was added tetrazole (27.3 mg, 0.39 mmol, 3 equiv.). After 2 h of stirring at 40°C, *t*BuOOH (59 μL, 0.65 mmol) was added. The mixture was stirred one more hour at room temperature. The organic layers were extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) and washed with brine (20 mL), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 18/1 + εEt<sub>3</sub>N) afforded desired colorless oily compound **72** (46 mg, 36%).

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = + 35 (*c* = 1.8, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 2.00-2.17 (m, 1H, H7a), 2.31-2.60 (m, 1H, H7b), 3.73-3.88 (m, 3H, H6 and H5), 3.75-4.01 (m, 3H, H3, H2 and H4), 4.28 (d, 1H, *J*~10.8 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.37-4.54 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.57-4.66 (m, 1H, H1), 4.71-5.12 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph and NH), 7.25-7.37 (m, 35H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 36.8-38.2 (C7), 56.1-57.4 (C1), 63.3-63.7 (C4), 67.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.0-69.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.0-72.2 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4-73.6 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 74.1-74.4 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 77.4 (C5), 81.7 (C2 or C3), 81.9-83.0 (C2 or C3), 127.7-128.7 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.0 (C<sub>qAr</sub>), 136.1 (C<sub>qAr</sub>), 137.3 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 138.4 (C<sub>qAr</sub>), 138.6 (C<sub>qAr</sub>), 156.3 (C=O), 172.7 (d, *J*~3 Hz, CONH).

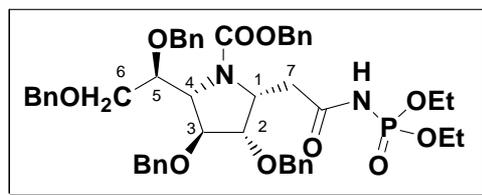
<sup>31</sup>P NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz) δ ppm -2.12 (s).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 975.5 [M+H]<sup>+</sup>, 997.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>58</sub>H<sub>60</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>P: calcd : *m/z* = 975.3986 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 975.3970 [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3019, 1705, 1455, 1216, 1095, 1026.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 18/2) : R<sub>f</sub> = 0.56.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(N-diethylphosphono-carboxamidomethyl)-1,4-imino-D-galactitol 73**Formula: C<sub>48</sub>H<sub>55</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>P

Mol. Wt.: 850.93

To a solution of acetamide **71** (105 mg, 0.146 mmol, 1 equiv.) in THF (1.5 mL) at -78°C was added dropwise a solution of butyllithium 2.2M (66 µL, 0.146 mmol, 1 equiv.). After 45 minutes of stirring at -78°C, diethylchlorophosphite (84.5 µL, 0.58 mmol, 4 equiv.) was added. The mixture was stirred eight more hours at room temperature. The organic layers were extracted with EtOAc (20 mL) and washed with saturated aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl (20 mL) and then brine (20 mL), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 5/1 + εEt<sub>3</sub>N) afforded desired colorless oily compound **73** (44 mg, 35%).

$[\alpha]_D^{25} = +18$  ( $c = 0.6$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 1.10-1.28 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.96 (brs, 1H, H7a), 2.02-2.15 (m, 1H, H7b), 3.32-3.63 (m, 2H, H6), 3.66-3.78 (m, 1H, H5), 3.87-4.07 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H3, H2 and H4), 4.23-4.54 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.64-4.80 (m, 1H, H1), 4.89-5.17 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph and NH), 7.31-7.06 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 16.8-16.3 (m, CH<sub>3</sub>), 36.5-38.1 (C7), 55.9-57.5 (C1), 63.6-63.8 (C4 and OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 67.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.96-71.99 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.46-73.50 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.9-74.3 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 77.4 (C5), 81.5 (C2 or C3), 82.1-82.6 (C2 or C3), 127.7-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.3 (C<sub>qAr</sub>), 137.4 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 138.4-138.6 (C<sub>qAr</sub>), 156.3 (C=O), 172.5 (d,  $J \sim 2.5$  Hz, CONH).

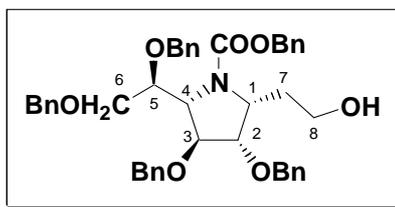
<sup>31</sup>P NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 162 MHz) δ ppm 12.62 (s).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 851.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 873.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>48</sub>H<sub>56</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>P: calcd :  $m/z = 851.3673$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 851.3676$  [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 2918, 2851, 1716, 1453, 1260, 1169, 1025.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 5/1) : R<sub>f</sub> = 0.19.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(2-hydroxyethyl)-1,4-imino-D-galactitol 74**Formula: C<sub>44</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>7</sub>

Mol. Wt.: 701.85

To a solution of aldehyde **60** (302 mg, 0.432 mmol) in a solution of dichloromethane and methanol (6/3 mL), at -78°C was added NaBH<sub>4</sub> (34 mg, 0.864 mmol). The mixture was allowed to warm up to room temperature. After 3 hours the excess of NaBH<sub>4</sub> was quenched by adding saturated aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl. The desired product was extracted with dichloromethane and the combined organic layers were washed with brine and dried over sodium sulfate. After solvent evaporation, purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 16/1) afforded desired alcohol **74** (204 mg, 67%) as colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} = +22$  ( $c = 1.05$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 1.56-1.75 (m, 2H, H7), 3.50-3.59 (m, 4H, H6 and H8), 3.75 (brs, 1H, H5), 3.82-3.99 (m, 3H, H4, H3, H2), 4.12-4.30 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.37-4.69 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 5.07 (AB, 2H,  $J \sim 12.0$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.22-7.33 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s).

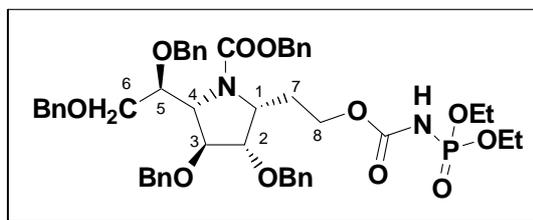
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 31.6 (C7), 56.2 (C1), 58.6 (C8), 62.5 (C4), 68.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.7 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.8 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (OCH<sub>2</sub>Ph), 77.7 (C5), 82.6-82.7 (C2 and C3), 127.6-128.7 (CH<sub>Ar</sub>'s), 135.9 (C<sub>qAr</sub>), 137.6 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.3 (C<sub>qAr</sub>), 157.7 (C=O).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 702.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 724.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>44</sub>H<sub>48</sub>NO<sub>7</sub>: calcd :  $m/z = 702.3431$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 702.3434$  [M+H]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3448, 3064, 3032, 2938, 2870, 1721, 1675, 1497, 1454, 1410, 1355, 1271, 1210, 1107, 1069, 1027.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.24.

**(1R)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-N-benzoyloxycarbonyl-1,4-dideoxy-1-C-(N-diethylphosphoramidocarbonyloxyethyl)-1,4-imino-D-galactitol 75**Formula: C<sub>49</sub>H<sub>57</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>P

Mol. Wt.: 880.96

To a solution of alcohol **74** (82.5 mg, 0.118 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.6 mL) at 0°C was added diethylphosphonate isocyanate (18 μL, 0.118 mmol). After 2 hours, 0.5 more équiv. of diethylphosphonate isocyanate (9 μL, 0.059 mmol) was added. Then the reaction mixture warmed up to room temperature, and the reaction went to completion after 1h stirring. The reaction was quenched by adding water, and then the desired compound was extracted by EtOAc. After solvent evaporation, purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 8/1 to 4/1) afforded desired compound **75** (87 mg, 84%) as a colorless oil.

Note: Compound **75** (965.6 mg, 88%) was obtained from aldehyde **60** (875 mg, 1.25 mmol) without purification of alcohol intermediate.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +16$  ( $c = 2.54$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)** δ ppm 1.25 (t, 6H,  $J \sim 7.06$  Hz, CH<sub>3</sub>), 1.89-1.99 (m, 1H, H7a), 2.09-2.22 (m, 1H, H7b), 3.56-3.79 (m, 2H, H6), 3.90-3.95 (brs, 1H, H5), 4.05-4.30 (m, 9H, H4, H3, H2, H8 and OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.33-4.63 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>Ph and H1), 4.72 (d, 1H,  $J \sim 11.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.12 (brs, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.23-7.43 (m, 25H, CH<sub>Ar</sub>'s), 8.20 (d, 1H,  $J \sim 8.4$  Hz, NH).

**<sup>13</sup>C NMR (Acetone-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)** δ ppm 16.5 (d,  $J \sim 6.81$  Hz, CH<sub>3</sub>), 29.3 (C7), 57.5-58.6 (C1), 63.98 (OCH<sub>2</sub>), 64.03 (OCH<sub>2</sub>), 64.3 (OCH<sub>2</sub>), 64.7 (OCH<sub>2</sub>), 67.5 (C4), 72.1 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.7 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 78.5 (C5), 82.1 (C2 or C3), 82.8-83.4 (C2 or C3), 128.1-129.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.0 (C<sub>qAr</sub>), 138.9 (C<sub>qAr</sub>), 139.4 (C<sub>qAr</sub>), 139.5 (C<sub>qAr</sub>), 139.7 (C<sub>qAr</sub>), 154.3 (d,  $J \sim 5.21$  Hz, C=O), 157.3 (C=O).

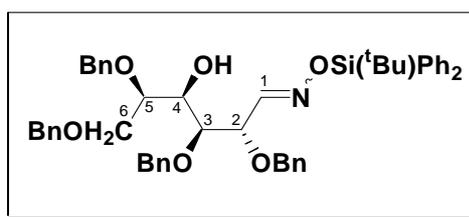
**<sup>31</sup>P NMR (162 MHz, Aceton)** δ ppm -2.51 (s).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 881.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 903.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>49</sub>H<sub>58</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>P: calcd :  $m/z = 881.3778$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 881.3761$  [M+H]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl,  $\text{cm}^{-1}$ )** 3399, 3064, 3033, 2984, 2868, 1738, 1701, 1497, 1455, 1403, 1353, 1307, 1267, 1210, 1097, 1061, 1029.

**TLC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  12/1) :**  $R_f = 0.16$ .

**(E,Z)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-aldehydo-D-glucose O-(t-butyl-diphenylsilyl)oxime 79**Formula: C<sub>50</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>6</sub>Si

Mol. Wt.: 794.06

To a solution of 2,3,5,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucopyranose **3** (14.56 g, 29.1 mmol) in dry toluene (10 mL/g) (freshly distilled over CaH<sub>2</sub>) were added MgSO<sub>4</sub> (3.3 g), *O*-(*t*-butyldiphenylsilyl)-hydroxylamine (14.56 g, 53.8 mmol, 1.85 equiv.) and a catalytic amount of PPTS (pyridinium *p*toluenesulfonate). The reaction mixture was stirred for 1h at 110°C and cooled down to r.t. The solids were removed by filtration and water (100 mL) was added. The filtrate was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 100 mL) and the organic layers were dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> then filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting colorless residue was submitted to flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 95/5 to 80/20) to afford compound **79** (20.2 g, 94%) as a colorless oil. The <sup>1</sup>H NMR spectra indicate the presence of a *E/Z* isomers mixture (*trans/cis* ~4:1 ratio).

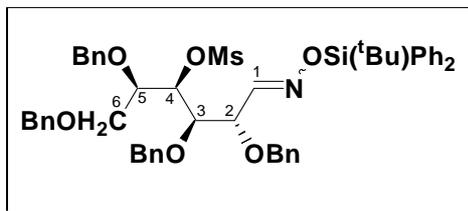
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ ppm 1.11 (s, 2.2H, *t*Bu *cis*), 1.12 (s, 6.8H, *t*Bu *trans*), 2.54 (d, 0.8H, *J*<sub>4-OH</sub>~8.5 Hz, OH *trans*), 2.95 (d, 0.2H, *J*<sub>4-OH</sub>~6.9 Hz, OH *cis*), 3.82-3.65 (m, 0.8H, H5 *trans*), 3.66-3.73 (m, 1H, H6a *trans* + H5 *cis*), 3.75-3.76 (m, 0.2H, H6a *cis*), 3.83 (dd, 1H, *J*<sub>6a-6b</sub>~10.3 and *J*<sub>5-6b</sub>~2.6 Hz, H6b *trans* and *cis*), 3.90-3.97 (m, 1H, H4), 3.99 (dd, 0.8H, *J*<sub>2-3</sub>~6.5 and *J*<sub>3-4</sub>~0.8 Hz, H3 *trans*), 4.09 (br d, 0.2H, *J*<sub>2-3</sub>~6.5 Hz, H3 *cis*), 4.27-4.34 (m, 3.4H, OCH<sub>2</sub>Ph + H2 *trans*), 4.42 (d, 0.2H, *J*~11.2 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 4.50-4.54 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.64-4.69 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.80 (d, 0.2H, *J*~11.2 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 5.38 (t, 0.2H, *J*<sub>2-3</sub>~6.6 Hz, H2 *cis*), 7.12-7.36 (m, 26.2H, CH<sub>Ar's</sub> and H1*cis*), 7.67-7.72 (m, 4H, CH<sub>Ar's</sub>), 7.83 (d, 0.8H, *J*~8.3 Hz, H1 *trans*).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ ppm 26.8 (*t*Bu *trans*), 26.9 (*t*Bu *cis*), 69.6 (C4 *trans*), 69.6 (C6 *cis*), 69.9 (C6 *trans*), 70.1 (C4 *cis*), 70.6 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 71.4 (OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 71.6 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 72.0 (OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 72.5 (C2 *cis*), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 74.2 (OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 76.3 (C2 *trans*), 76.6 (C3 *trans*), 77.0 (C3 *cis*), 77.5 (C5 *cis*), 77.7 (C5 *trans*), 127.2-128.2 (CH<sub>Ar's</sub>), 129.4 (CH<sub>Ar's</sub> *trans*), 129.5 (CH<sub>Ar's</sub> *cis*), 132.7 (2Cq<sub>Ar</sub> *cis*), 133.0 (Cq<sub>Ar</sub> *trans*), 133.1 (Cq<sub>Ar</sub> *trans*), 135.1 (CH<sub>Ar's</sub> *cis*), 135.2 (CH<sub>Ar's</sub> *cis*), 135.2 (2 CH<sub>Ar's</sub> *trans*), 137.1 (Cq<sub>Ar</sub> *cis*), 137.2 (Cq<sub>Ar</sub> *trans*), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub> *trans*), 137.8 (Cq<sub>Ar</sub> *cis*), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub> *trans*), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub> *cis*), 138.1 (2Cq<sub>Ar</sub>), 153.9 (C1 *trans*), 154.9 (C1 *cis*).

**HRMS (ESI)** C<sub>50</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>6</sub>Si: calcd :  $m/z = 816.3696$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 816.3691$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd for C<sub>50</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>6</sub>Si:** C, 75.63; H, 6.98; N, 1.76. Found: C, 75.49; H, 7.19; N, 1.77.

**TLC (PE/EtOAc 80/20) :** R<sub>f</sub> = 0.70.

**(E,Z)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-4-O-methanesulfonyl-aldehydo-D-glucose O-(t-butyl-diphenylsilyl)oxime 80**Formula: C<sub>51</sub>H<sub>57</sub>NO<sub>8</sub>SSi

Mol. Wt.: 872.15

To a solution of oxime **79** (4 g, 5 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60 mL) was added dropwise Et<sub>3</sub>N (906 μL, 0.065 mol, 1.3 equiv.) at r.t. The mixture was stirred for 30 min at r.t. and then methanesulfonyl chloride (503 μL, 0.065 mol, 1.3 equiv.) was added. After having been stirred for 16h at r.t., the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was submitted to flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 85/15) which afforded mesylate **80** (3.83 g, 88%) as a colorless syrup (*E/Z* mixture).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)** δ ppm 1.13 (s, 7.3H, <sup>t</sup>Bu *trans*), 1.15 (s, 1.7H, <sup>t</sup>Bu *cis*), 2.86 (s, 2.4H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> *trans*), 2.88 (s, 0.6H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> *cis*), 3.45-3.47 (m, 1H, H<sub>6a</sub>), 3.59-3.63 (m, 1.8H, H<sub>5</sub> *trans* + H<sub>6b</sub>), 3.73 (dt, 0.2H, *J*<sub>5-6</sub>~6 and *J*<sub>4-5</sub>~1.9 Hz, H<sub>5</sub> *cis*), 3.85 (dd, 0.8H, *J*<sub>3-4</sub>~7.6 and *J*<sub>2-3</sub>~3.6 Hz, H<sub>3</sub> *trans*), 4.11 (m, 1.8H, OCH<sub>2</sub>Ph, H<sub>2</sub> *trans*, H<sub>3</sub> *cis*), 4.23-4.33 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.38-4.49 (m, 2.8H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.58 (2d, 0.4H, *J*~11.7 and *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.80 (2d, 1H, *J*~11.06, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.00 (dd, 0.2H, *J*<sub>2-3</sub>~5.6 and *J*<sub>1-2</sub>~2.7 Hz, H<sub>2</sub> *cis*), 5.26 (dd, 0.8H, *J*<sub>3-4</sub>~7.6 and *J*<sub>4-5</sub>~2.3 Hz, H<sub>4</sub> *trans*), 5.37 (dd, 0.2H, *J*~8.3 and 2 Hz, H<sub>4</sub> *cis*), 7.09-7.38 (m, 26H, H<sub>1</sub>, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.67-7.72(m, 4H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)** δ ppm 26.9 (<sup>t</sup>Bu *trans*), 25.2 (<sup>t</sup>Bu *cis*), 38.7 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> *cis*), 38.8 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> *trans*), 68.1 (C<sub>6</sub> *trans*), 68.8 (OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>6</sub> *cis*), 70.5 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 71.0 (C<sub>2</sub> *cis*), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>6</sub> *cis*), 72.1 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>6</sub> *cis*), 72.9 (OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>6</sub> *cis*), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 75.0 (OCH<sub>2</sub>Ph *trans*), 75.1 (C<sub>2</sub> *trans*), 75.4 (OCH<sub>2</sub>Ph *cis*), 76.4 (C<sub>5</sub> *trans*), 76.9 (C<sub>5</sub> *cis*), 77.3 (C<sub>3</sub> *cis*), 78.3 (C<sub>3</sub> *trans*), 82.5 (C<sub>4</sub> *trans*), 82.6 (C<sub>4</sub> *cis*), 129.9-127.4 (CH<sub>Ar</sub>'s), 132.7 (C<sub>qAr</sub> *cis*), 132.8 (C<sub>qAr</sub> *cis*), 133.0 (C<sub>qAr</sub> *trans*), 133.1 (C<sub>qAr</sub> *trans*), 135.3 (CH<sub>Ar</sub> *cis*), 135.4 (CH<sub>Ar</sub> *cis*), 135.5 (CH<sub>Ar</sub> *trans*), 135.5 (CH<sub>Ar</sub> *trans*), 136.2 (C<sub>qAr</sub> *cis*), 136.6 (C<sub>qAr</sub> *trans*), 137.1 (C<sub>qAr</sub> *cis*), 137.2 (C<sub>qAr</sub> *trans*), 137.5 (C<sub>qAr</sub> *trans*), 137.5 (C<sub>qAr</sub> *trans*), 137.6 (C<sub>qAr</sub> *cis*), 137.7 (C<sub>qAr</sub> *cis*), 154.0 (C<sub>1</sub> *trans*), 155.5 (C<sub>1</sub> *cis*).

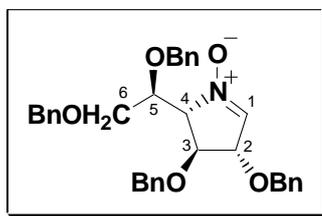
**HRMS (ESI)** C<sub>51</sub>H<sub>57</sub>NNaO<sub>8</sub>SSi: calcd : *m/z* = 894.3472 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 894.3480 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd. for  $C_{51}H_{57}NO_8SSi.H_2O$ :** C, 68.81; H, 6.68; N, 1.57. Found: C, 69.27; H, 6.77; N, 1.57.

**IR (NaCl,  $cm^{-1}$ )** 3065, 3029, 2931, 2858, 1605, 1496, 1471, 1454, 1427, 1358, 1175, 1114, 1069, 912.

**TLC (PE/EtOAc 80/20) :** Rf = 0.57.

**Internal nitron of 2,3,5,6-tetra-O-benzyl-4-deoxy-4-hydroxylamino-aldehydo-D-galactose [(3*S*, 4*S*, 5*S*)-3,4-dibenzyloxy-5-[(1*S*)-1,2-dibenzyloxyethyl]-1-pyrroline *N*-oxide] 81**

Formula: C<sub>34</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>5</sub>

Mol. Wt.: 537.65

Oxime **80** (1.49 g, 1.71 mmol) as a mixture of *E,Z*-isomers was dissolved in dry tetrahydrofuran (9.7 mL). 4 Å Molecular sieves (571 mg) and tetrabutylammonium triphenyldifluorosilicate (1.10 g, 2.05 mmol, 1.2 equiv.) were added and the mixture was stirred for 45 min at reflux temperature. The solids were then removed by filtration and the filtrate was concentrated. Pure nitron **81** (584 mg, 63%) was obtained as a white solid after purification by flash chromatography on silica gel (EtOAc/PE 40/60 to 50/50).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +43$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 3.78-3.79 (m, 2H, H6), 4.20-4.21 (m, 1H, H4), 4.25-4.26 (m, 1H, H3), 4.28-4.31 (m, 1H, H5), 4.41-4.52 (m, 6H, 3 OCH<sub>2</sub>Ph), 4.56 (t, 1H,  $J \sim 1.6$  Hz, H2), 4.67 (d, 1H,  $J \sim 11.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Bn), 4.82 (d, 1H,  $J \sim 12$  Hz, OCH<sub>2</sub>Bn), 6.85 (br s, 1H, H1), 7.22-7.31 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 70.2 (C6), 71.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.0 (C5), 78.8 (C4), 79.9 (C3), 82.9 (C2), 127.5-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 133.0 (C1), 137.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>).

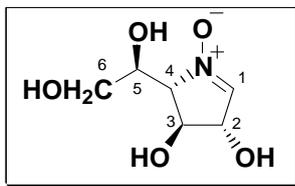
(+) **MS (MALDI-TOF)** :  $m/z = 539$  [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>34</sub>H<sub>35</sub>NNaO<sub>5</sub>: calcd :  $m/z = 560.2413$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 560.2411$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3425, 3031, 2867, 1577, 1273, 1096, 1028.

**Anal. Calcd. for C<sub>34</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>5</sub>**: C, 75.95; H, 6.56; N, 2.61. Found: C, 75.62; H, 6.60; N, 2.51.

**TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1)** : R<sub>f</sub> = 0.22.

**Internal nitrone of 4-deoxy-4-hydroxylamino-aldehydo-D-galactose [(3S, 4S, 5S)-3,4-dihydroxy-5-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]-1-pyrroline N-oxide] 82**Formula: C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>

Mol. Wt.: 177.16

To a solution of benzylated nitrone **81** (185 mg, 0.344 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) was added at 0 °C a 1 M BCl<sub>3</sub> solution in hexane (4.47 mL, 4.47 mmol, 13 equiv.). The medium was stirred overnight at 0 °C. Then the solid formed was dissolved by addition of MeOH and water (10 mL, 20/1) and concentrated under reduced pressure, those steps were repeated twice. The brown reaction mixture was then filtrated through anionic resin. After concentration, purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8/2) afforded compound **82** (40 mg, 66%) as yellow oil.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +33 (c = 0.92, MeOH).

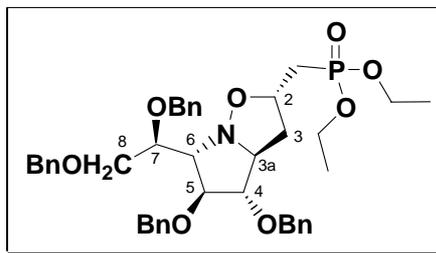
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) δ ppm 3.37-3.85 (m, 2H, H6), 3.95-3.98 (m, 1H, H4), 4.00-4.03 (m, 1H, H5), 4.17-4.19 (m 1H, H3), 4.54-4.55 (m, 1H, H2), 7.15 (s, 1H, H1).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100MHz) δ ppm 54.3 (C6), 62.1 (C5), 68.0 (C3), 68.4 (C2), 71.9 (C4), 130.7 (C1).

(+) MS (ESI): m/z = 178.0 [M+H]<sup>+</sup>, 200 [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>, 0.5H<sub>2</sub>O: C, 38.71; H, 6.50; N, 7.52. Found: C, 38.87; H, 6.72; N, 7.48.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95/05) : R<sub>f</sub> = 0.10.

**Diethyl (2*S*,3*aS*,4*S*,5*S*,6*S*)-4,5-dibenzoyloxy-6-[(1*S*)-1,2-dibenzoyloxyethyl]-hexahydro-pyrrolo-[1,2-*b*]-isoxazole-2-methylphosphonate **83****Formula: C<sub>41</sub>H<sub>50</sub>NO<sub>8</sub>P Mol. Wt.: 715.81

To a solution of nitrone **81** (200 mg, 372  $\mu$ mol) in tetrachloroethylene (1.5 mL) was added diethyl allylphosphonate **91** (133 mg, 745  $\mu$ mol, 2 equiv.). The mixture was stirred overnight at 90 °C. After evaporation of the solvent, the crude mixture was submitted to flash chromatography on silica gel (EtOAc/PE 40/60 to 65/35) which afforded cycloaddition product **84** (234 mg, 327  $\mu$ mol, 88%) as a slightly yellow oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +11.4$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 1.29 (t, 3H,  $J \sim 6.5$ , OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.30 (t, 3H,  $J \sim 6.5$ , OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.93 (ddd, 1H,  $J \sim 9$ , 15.0 and 18.5 Hz, CH<sub>2A</sub>P), 2.14-2.22 (m, 2H, H<sub>3A</sub>, CH<sub>2B</sub>P), 2.33 (ddd, 1H,  $J \sim 3.5$ , 6 and 12.5, H<sub>3B</sub>), 3.31 (dd, 1H,  $J_{5-6} \sim 7.0$  and  $J_{6-7} \sim 1.0$  Hz, H<sub>6</sub>), 3.74 (m, 1H, H<sub>3a</sub>), 3.79-3.83 (m, 3H, H<sub>7</sub> and H<sub>8</sub>), 3.89 (t, 1H,  $J \sim 6.0$  Hz, H<sub>4</sub>), 4.03-4.10 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>), 4.28-4.33 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 4.35 (d, 1H,  $J \sim 12.0$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.51-4.58 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.79 (d, 1H,  $J \sim 12.0$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.21-7.33 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s),

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 16.3 (d,  $J_{\text{C,P}} \sim 5.9$  Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 30.0 (d,  $J_{\text{C,P}} \sim 138.8$  Hz, CH<sub>2</sub>P), 41.1 (d,  $J_{\text{C,P}} \sim 4.6$  Hz, C<sub>3</sub>), 61.6 (d,  $J_{\text{C,P}} \sim 6.3$  Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 61.7 (d,  $J_{\text{C,P}} \sim 6.3$  Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 67.7 (C<sub>3a</sub>), 69.9 (C<sub>6</sub>), 70.5 (C<sub>2</sub>), 71.9 (2C, OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>8</sub>), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>8</sub>), 72.9 (OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>8</sub>), 73.3 (OCH<sub>2</sub>Ph or C<sub>8</sub>), 76.3 (C<sub>7</sub>), 81.9 (C<sub>5</sub>), 87.5 (C<sub>4</sub>), 127.3-128.4 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.7 (C<sub>qAr</sub>), 138.0 (C<sub>qAr</sub>), 138.4 (C<sub>qAr</sub>), 138.6 (C<sub>qAr</sub>).

**<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202 MHz)**  $\delta$  ppm 26.69 (s).

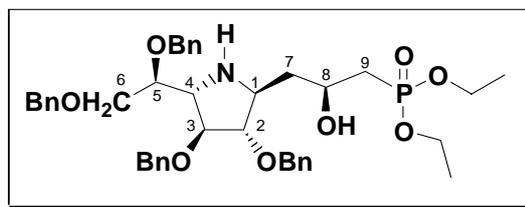
**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3086, 3061, 3029, 2979, 2907, 2866, 1496, 1453, 1391, 1365, 1251, 1209, 1158, 1098, 1055, 1027.

**(+) MS (ESI):**  $m/z = 716.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 738.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>41</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>8</sub>P: calcd :  $m/z = 716.3352$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 716.3349$  [M+H]<sup>+</sup>.  
C<sub>41</sub>H<sub>50</sub>NNaO<sub>8</sub>P : calcd :  $m/z = [M+Na]^+$ : 738.3172, found :  $m/z = 738.3176$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd for  $C_{41}H_{50}NO_8P \cdot H_2O$ :** C, 67.11; H, 7.14; N, 1.91. found: C, 67.21; H, 7.12; N, 1.84.

**TLC (PE/EtOAc 35/65) :** Rf = 0.21.

**(1S)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1,4-dideoxy-1-C-[(2S)-3-diethoxyphosphoryl-2-hydroxy-propyl]-1,4-imino-D-galactitol 85**Formula: C<sub>41</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>8</sub>P Mol. Wt.: 717.83

Zinc dust (379.6 mg, 5.8 mmol, 11.5 equiv.) was added to a solution of copper (II) acetate (1.2 mg) in glacial acetic acid (6 mL) under argon atmosphere and the mixture was stirred at r.t. for 10 min until the colour disappeared. Compound **84** (361 mg, 0.5 mmol) in glacial acetic acid (9 mL) and water (3.6 mL) were added successively and the reaction mixture was heated at 70°C for 1 h. After cooling to r.t., EDTA (sodium salt, 1.2 g) was added and the mixture was stirred for 10 min, then made alkaline to pH 10 by addition of 3N aqueous NaOH. The resulting solution was extracted with chloroform (3 x 50 mL) and the combined organic phases were concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (100% EtOAc to 99/1 EtOAc/MeOH) to afford the desired galactitol **85** (345.5 mg, 96%) as a colorless liquid.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -26$  (c = 0.64, MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ ppm 1.29 (t, 3H, *J*~3.5 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.30 (t, 3H, *J*~3.5 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.68 (m, 1H, H7<sub>A</sub>), 1.88-2.11 (m, 3H, H7<sub>B</sub>, H9), 3.27 (dd, 1H, *J*<sub>3-4</sub>~6 and *J*<sub>4-5</sub>~6.4 Hz, H4), 3.50 (m, 1H, H1), 3.58-3.65 (m, 2H, H6), 3.73-3.75 (m, 1H, H5), 3.81 (t, 1H, *J*<sub>2-3</sub>~3.5 Hz, H2), 3.88 (dd, 1H, *J*<sub>2-3</sub>~3.0 and *J*<sub>3-4</sub>~6 Hz, H3), 4.05-4.15 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.24-4.27 (m, 1H, H8), 4.40 (d, 1H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.38 (d, 1H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.47-4.55 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.27-7.32 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ ppm 16.4 (d, *J*<sub>C,P</sub>~5.9 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 33.5 (d, *J*<sub>C,P</sub>~135.8 Hz, C9), 37.3 (d, *J*<sub>C,P</sub> 10.4 Hz, C7), 59.4 (C1), 61.5 (d, *J*<sub>C,P</sub>~6.48 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 61.7 (d, *J*<sub>C,P</sub>~6.48 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 63.0 (C4), 65.6 (C8), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 71.80 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 72.0 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6), 75.8 (C5), 85.5 (C3), 88.8 (C2), 127.6-127.4 (CH<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>).

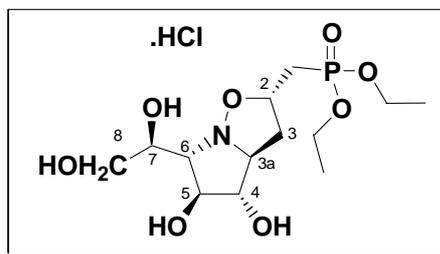
<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202 MHz): δ ppm 29.16 (s).

(+) MS (ESI): *m/z* = 718.5 [M+H]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>41</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>8</sub>P : calcd : *m/z* = 718.3509 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 718.3522 [M+H]<sup>+</sup>.  
C<sub>41</sub>H<sub>52</sub>NNaO<sub>8</sub>P calcd : *m/z* = 740.3328 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 740.3328 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd for  $C_{41}H_{52}NO_8P \cdot H_2O$ :** C, 66.92; H, 7.40; N, 1.90. Found: C, 66.64; H, 7.30; N, 1.95.

**TLC (PE/EtOAc 7/3) :** Rf = 0.15.

**Diethyl (2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-4,5-dihydroxy-6-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]hexahydro-pyrrolo[1,2-b]isoxazole-2-methylphosphonate 87**Formula: C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>ClNO<sub>8</sub>P Mol. Wt.: 391.78

To a solution of compound **84** (100 mg, 0.139 mmol, 1 equiv.) in dichloromethane (5 mL) was added at 0°C a solution of 1M BCl<sub>3</sub> in hexane (3.28 mL, 32.8 mmol, 23.5 equiv.). After stirring overnight at 0°C. The solid crude product was dissolved with MeOH (20 mL) and concentrated, then it was washed with MeOH (20 mL) containing few drops of water and evaporation was performed. Purification of the crude hydrochloride salt by flash chromatography on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 8/2) provided the orange oily compound **87** (50 mg, 91%).

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = + 6.3 (c = 0.76, MeOH).

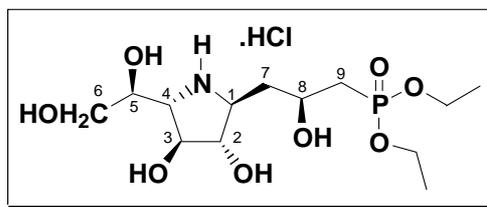
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz) : δ ppm 1.33 (t, 6H, *J*~7.0 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 2.29-2.47 (m, 3H, CH<sub>2</sub>P, H<sub>3A</sub>), 2.79-2.83 (ddd, 1H, *J*~2 Hz *J*~5 Hz and *J*~13 Hz, H<sub>3B</sub>), 3.61-3.64 (dd, 1H, *J*<sub>7-8A</sub>~6 Hz and *J*<sub>8A-8B</sub>~11.5 Hz, H<sub>8A</sub>), 3.67-3.70 (dd, 1H, *J*<sub>7-8A</sub>~5.5 Hz and *J*<sub>8A-8B</sub>~11.5 Hz, H<sub>8B</sub>), 3.82 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.95 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 4.07-4.17 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H<sub>4</sub> et H<sub>5</sub>), 4.23 (m, 1H, H<sub>3a</sub>), 4.92-4.99 (m, 1H, H<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz) : δ ppm 16.7 (d, *J*<sub>C-P</sub>~6.2 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 29.2 (d, *J*<sub>C-P</sub>~140 Hz, CH<sub>2</sub>P), 38.6 (d, *J*<sub>C-P</sub>~7.5 Hz, C<sub>3</sub>), 64.1 (m, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> et C<sub>8</sub>), 68.3 (C<sub>7</sub>), 73.9 (C<sub>3a</sub>), 76.3 (C<sub>4</sub> or C<sub>5</sub>), 77.3 (C<sub>2</sub>), 78.6 (C<sub>4</sub> or C<sub>5</sub>), 79.7 (C<sub>6</sub>).

<sup>31</sup>P RMN (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz) : δ ppm 25.19 (s).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 356.00 [M+H]<sup>+</sup>, 378.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>13</sub>H<sub>26</sub>NNaO<sub>8</sub>P : calcd : *m/z* = 378.1294 [M+Na]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 78.1290 [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>13</sub>H<sub>26</sub>KNO<sub>8</sub>P calcd : *m/z* = 394.1033 [M+K]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 394.1004 [M+K]<sup>+</sup>.

**(1S)-1,4-Dideoxy-1-[(2S)-3-diethoxyphosphoryl-2-hydroxypropyl]-1,4-imino-D-galactitol 88**Formula: C<sub>13</sub>H<sub>29</sub>ClNO<sub>8</sub>P Mol. Wt.: 393.80

To a solution of phosphonate **85** (110 mg, 0.154 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) was added at 0°C a 1M BCl<sub>3</sub> solution in hexane (1.8 mL, 1.8 mmol, 12 equiv.). The medium was stirred overnight at 0°C, and then the solid formed was dissolved by addition of MeOH (20 mL) and a few drops of water. The reaction mixture was then concentrated under reduced pressure. Purification of the crude product by flash chromatography on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 7/3) provided the colorless oily compound **88** as its hydrochloride salt (52.7 mg, 87 %).

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = - 30 (c = 0.82, MeOH).

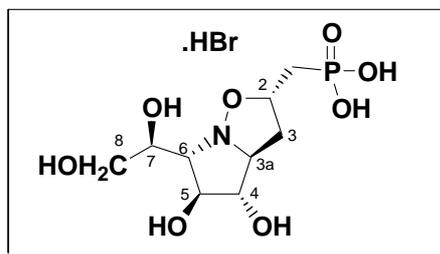
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 250 MHz) δ ppm 1.34 (t, 6H, *J*~7.1Hz, CH<sub>3</sub>), 2.05-2.12, (m, 4H, H9 and H7), 3.46-3.58 (m, 2H, H4 and H1), 3.62-3.76 (m, 2H, H6), 3.86 (dd, 1H, *J*<sub>2-3</sub>~6.7 and *J*<sub>1-2</sub>~8.2 Hz, H2), 3.95 (q, 1H, *J*~4 Hz, H5), 4.19-4.03 (m, 5H, H3, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.31-4.20 (m, 1H, H8).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5 MHz) δ ppm 16.7 (d, *J*<sub>C,P</sub>~6 Hz, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 34.1 (d, *J*<sub>C,P</sub>~137 Hz, C9), 37.9 (d, *J*<sub>C,P</sub>~10.6 Hz, C7), 60.7 (C1), 63.4 (d, *J*<sub>C,P</sub>~6.6 Hz, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 63.5 (d, *J*<sub>C,P</sub>~6.4 Hz, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 64.8 (d, *J*<sub>C,P</sub>~2.3 Hz, C8), 65.0 (C4), 65.2 (C6), 69.0 (C5), 76.8 (C3), 79.1 (C2).

<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz) δ ppm 28.19 (s).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 358.5 [M+H]<sup>+</sup>, 380.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>13</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>8</sub>P : calcd : *m/z* = 358.1631 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 358.1629 [M+H]<sup>+</sup>.

**(2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-4,5-dihydroxy-6-[(1S)-1,2-dihydroxy]hexahydro-pyrrolo[1,2-b]isoxazole-2-methylphosphonic acid 89**Formula: C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>BrNO<sub>8</sub>P

Mol. Wt. : 380.13

To a solution of compound **87** (70 mg, 0.197 mmol, 1 equiv.) in acetonitrile (2 mL) were added 10 equivalents of BrSiMe<sub>3</sub> (260 μL, 1, 97 mmol, 10 equiv.). The reaction mixture was stirred during 4h. The mixture was then diluted with MeOH (15 mL) and concentrated under reduced pressure. The dilution and evaporation processes were repeated twice. The residue was then taken up with water and the mixture extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to remove traces of less polar organic compounds. The aqueous phase was concentrated under reduced pressure. Chromatography of the crude product on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 8/2) provided compound **89** (46 mg, 61%) as a dark brown oily bromhydrate.

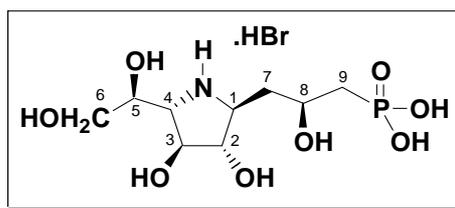
**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)** δ ppm 2.18-2.10 (m, 1H, CH<sub>2A</sub>P), 2.32 (ddd, 1H, *J*~5.5, *J*~15 and *J*~20 Hz, CH<sub>2B</sub>P), 2.42 (td, 1H, *J*~9 and *J*<sub>3A-3B</sub>~13.5 Hz, H<sub>3A</sub>), 2.84 (dd, 1H, *J*~3.5 and *J*<sub>3A-3B</sub>~13 Hz, H<sub>3B</sub>), 3.65 (dd, 1H, *J*<sub>7-8A</sub>~6 and *J*<sub>8A-8B</sub>~11.5 Hz, H<sub>8A</sub>), 3.71 (dd, 1H, *J*<sub>7-8B</sub>~5.5 and *J*<sub>8A-8B</sub>~11.5 Hz, H<sub>8B</sub>), 3.80-3.78 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.97-3.94 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 4.09-4.07 (m, 2H, H<sub>4</sub> et H<sub>5</sub>), 4.18 (m, 1H, H<sub>3a</sub>), 4.96 (m, 1H, H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5 MHz)**: δ ppm 31.2 (d, *J*<sub>C-P</sub>~135 Hz, CH<sub>2</sub>P), 38.6 (d, *J*<sub>C-P</sub>~5.7 Hz, C<sub>3</sub>), 63.9 (C<sub>8</sub>), 68.2 (C<sub>7</sub>), 73.5 (C<sub>3a</sub>), 76.0 (C<sub>4</sub> or C<sub>5</sub>), 76.4 (C<sub>6</sub>), 78.5 (C<sub>4</sub> or C<sub>5</sub>), 80.1 (C<sub>2</sub>).

**<sup>31</sup>P RMN (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz)** δ ppm 20.99 (s).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 300.00 [M+H]<sup>+</sup>, 322.00 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>NNaO<sub>8</sub>P : calcd : *m/z* = 322.0668 [M+Na]<sup>+</sup>. found : *m/z* = 322.0668 [M+Na]<sup>+</sup>.

**(1S)-1,4-Dideoxy-1-[(2S)-3-phosphono-2-hydroxypropyl]-1,4-imino-D-galactitol 90**Formula: C<sub>9</sub>H<sub>21</sub>BrNO<sub>8</sub>P Mol. Wt.: 382.14

To a solution of phosphonate **88** (78 mg, 0.2 mmol) in dry MeCN (3 mL) was added BrSiMe<sub>3</sub> (0.264 mL, 2 mmol, 10 equiv.) at room temperature. The mixture was stirred for 2 days. the mixture was then diluted with MeOH (15 mL) and concentrated under reduced pressure. The dilution and evaporation processes were repeated twice. The residue was then taken up with water and the mixture extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to remove traces of less polar organic compounds. The aqueous phase was concentrated under reduced pressure. Chromatography of the crude product on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 8/2) provided compound **90** (70 mg, 92 %) as a white foam.

$[\alpha]_D^{25} = -9$  ( $c = 1.27$ , MeOH).

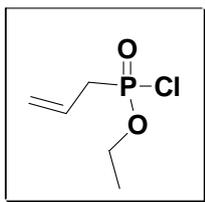
**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)**  $\delta$  2.04-2.10 (m, 3H, H9 and H7<sub>a</sub>), 2.17-2.23, (m, 1H, H7<sub>b</sub>), 3.49-3.52 (dd, 1H,  $J_{1-7} \sim 4$  and  $J_{1-2} \sim 8$  Hz, H1), 3.56-3.58 (m, 1H, H4), 3.67 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 4$  and  $J_{6a-6b} \sim 11.5$  Hz, H6<sub>a</sub>), 3.73 (dd, 1H,  $J_{5-6b} \sim 4$  and  $J_{6a-6b} \sim 11.5$  Hz, H6<sub>b</sub>), 3.88-3.92 (dd, 1H,  $J_{2-3} \sim 6.5$  and  $J_{1-2} \sim 8$  Hz, H2), 3.96 (dd, 1H,  $J_{5-6} \sim 4.5$  and  $J_{4-5} \sim 8.5$  Hz, H5), 4.06-4.09 (dd, 1H,  $J_{2-3} \sim 7$  and  $J_{3-4} \sim 7.5$  Hz, H3), 4.28-4.22 (m, 1H, H8).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz)**  $\delta$  36.2 (d,  $J_{C,P}$  135 Hz, C9), 37.7 (d,  $J_{C,P}$  8.8 Hz, C7), 60.9 (C1), 64.9, 65.2, 65.3 (C6, C4 and C8), 69.0 (C5), 76.8 (C3), 79.0 (C2).

**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz)**  $\delta$  25.29 (s).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 302.50$  [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>9</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>8</sub>P : calcd :  $m/z = 302.1005$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 302.0995$  [M+H]<sup>+</sup>.  
C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>NNaO<sub>8</sub>P : calcd :  $m/z = 324.0824$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 324.0814$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**Ethyl allylphosphonyl chloride 92**Formula: C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>ClO<sub>2</sub>P

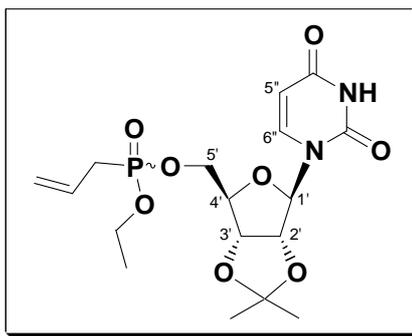
Mol. Wt.: 168.56

Fresh diethyl allylphosphonate **91** (582 mg, 3.27 mmol) was allowed to react with oxalyl chloride (421  $\mu$ L, 4.09 mmol, 1.5 equiv.) in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (13 mL) under argon atmosphere for 20h at room temperature and then 28h at 40°C. The conversion can be monitored by TLC (eluant: EtOAc containing a few drops of AcOH): for this purpose the bottom of the TLC plate spotted with the reaction mixture was dipped into water containing a few drops of triethylamine and dried before development. When TLC showed no more starting material, the solvent was removed under vacuum along with the excess oxalyl chloride. Crude compound **92** was obtained with a total conversion.

<sup>1</sup>H NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 1.27-1.36 (m, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.89 (dd, 2H,  $J_{\text{CH}_2\text{P}-\text{CH}} \sim 6.9$  and  $J_{\text{H-P}} \sim 21.4$  Hz, CH<sub>2</sub>P), 4.12-4.33 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.21-5.31 (m, 2H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.66-5.80 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>).

(+) MS (ESI):  $m/z = 169.0$  [M+H]<sup>+</sup>.

TLC (PE/EtOAc 70/30) : R<sub>f</sub> = 0.16.

**Ethyl (2',3'-*O*-isopropylidene-uridin-5'-yl) allylphosphonate 93**

Formula: C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>P      Mol. Wt.: 416.36

Crude residue **92** was dissolved in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (13 mL) and 2',3'-*O*-isopropylidene-uridine (2 g, 7.04 mmol, 2.15 equiv.) and triethylamine (1.01 μL, 7.19 mmol, 2.2 equiv.) were added. The reaction mixture was stirred at 40°C for 8 h and at r.t. for 2 d. Subsequently, the resulting emulsion was treated with water and the aqueous phase was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic layer was dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and concentrated to afford the crude phosphonate **93**, which was purified by flash chromatography on silica gel (98/2 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc). This provided the expected product (816 mg) as a mixture of *P*\*-diastereoisomers in 54% yield over 2 steps from diethyl allylphosphonate **91**.

Note: All signals belong to both diastereoisomers unless indicated otherwise. d1, d2=diastereomer 1 and 2

**<sup>1</sup>H NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ ppm 1.31 (t, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.32 (t, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.35 and 1.57 (2s, 2x3H, CMe<sub>2</sub>), 2.67 (dd, 2H, *J*<sub>CH<sub>2</sub>P-CH</sub>~7.3 and *J*<sub>H,P</sub>~22.0 Hz, CH<sub>2</sub>P), 4.14-4.25 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.28-4.30 (m, 2H, 2H5'), 4.32-4.37 (m, 1H, H4'), 4.82-4.86 (m, 1H, H3'), 4.90-4.94 (m, 1H, H2'), 5.19-5.28 (m, 2H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.72-5.85 (m, 3H, H1', H5'', CH=CH<sub>2</sub>), 7.38 (d, 1H, *J*<sub>6''a-5''</sub>~8.15 Hz, H6''a), 7.43 (d, 1H, *J*<sub>6''b-5''</sub>~8.18 Hz, H6''b), 10.00 (br s, 1H, H3).

**<sup>13</sup>C NMR (62.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ ppm 16.3 (POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 16.4 (POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 25.2 (CMe<sub>2</sub>), 27.0 (CMe<sub>2</sub>), 31.4 (d, *J*<sub>C,P</sub>~138.2 Hz, CH<sub>2</sub>P) and 31.5 (d, *J*<sub>C,P</sub>~138.4 Hz, CH<sub>2</sub>P), 62.4 (d, *J*<sub>C,P</sub>~6.3 Hz, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 62.5, (d, *J*<sub>C,P</sub>~6.7 Hz, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 65.1 (C5'), 65.2 (C5'), 80.6 (C3'), 84.3 (C2'), 84.4 (C2'), 85.4-85.6 (m, C4'), 93.8 (C1'), 93.9 (C1'), 102.4 (C5''), 102.5 (C5''), 114.4 (CMe<sub>2</sub>), 114.5 (CMe<sub>2</sub>), 120.1, 120.2, 120.4, 120.5 (δ of each line is given; 2d, CH=CH<sub>2</sub>), 126.7, 126.8, 126.9, 127.00 (δ of each line is given; 2d, CH=CH<sub>2</sub>), 141.7 (C6''), 141.8 (C6''), 150.1 (C2''), 163.5 (C4'').

**<sup>31</sup>P NMR (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ ppm 27.88 (s, 0.5P), 27.62 (s, 0.5P).

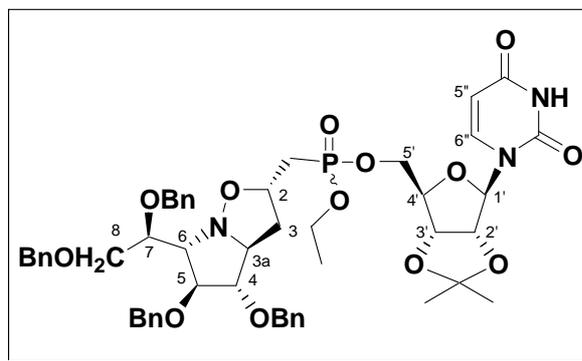
**IR (NaCl,  $\text{cm}^{-1}$ )** 3610, 3170, 2998, 2818, 1690, 1458, 1420, 1376, 1216, 1257, 1166, 1062, 1032.

**(+) MS (ESI):**  $m/z = 417$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**HRMS (ESI)**  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{NaO}_8\text{P}$  : calcd :  $m/z = 439.1246$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , found :  $m/z = 439.1248$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**TLC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  98/2) :**  $R_f = 0.4$ .

**Ethyl (2',3'-*O*-isopropylidene-uridin-5'-yl) (2*S*, 3*aS*, 4*S*, 5*S*, 6*S*)-4,5-dibenzoyloxy-6-[(1*S*)-1,2-dibenzoyloxyethyl]hexahydropyrrolo[1,2-*b*]isoxazole-2-methylphosphonate **94****

Formula: C<sub>51</sub>H<sub>60</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P

Mol. Wt.: 954.01

Ethyl (2',3'-*O*-isopropylidene-uridin-5'-yl) allylphosphonate **93** (470 mg, 1.13 mmol, 2 equiv.) was added to a solution of nitrone **81** (305 mg, 0.56 mmol) in tetrachloroethylene (2.25 mL). The mixture was stirred for 16h at 80°C and for 2h at 90°C. After concentration, the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (EtOAc/MeOH, 100/0 to 95/10) to provide cycloadduct **94** (425.5 mg, 80%) as a colorless oil and as a mixture of *P*\*-diastereoisomers.

Note: All signals belong to both diastereoisomers unless indicated otherwise. d1, d2=diastereomer 1 and 2

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ ppm 1.27 and 1.30 (2t, 3H, *J*~7.5 and *J*~7 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O, d1 and d2), 1.32 and 1.3 (2s, 3H, CMe<sub>2</sub>, d1 and d2), 1.54 and 1.55 (s, 3H, CMe<sub>2</sub>, d1 and d2), 1.94-2.03 (m, 1H, CH<sub>A</sub>P), 2.10-2.23 (m, 2H, CH<sub>B</sub>P, H3<sub>A</sub>), 2.29-2.36 (m, 1H, H3<sub>B</sub>), 3.34 (br d, 1H, *J* 7.7 Hz, H6), 3.72-3.77 (m, 1H, H3<sub>a</sub>), 3.78-3.82 (m, 3H, H7 and H8), 3.94 and 3.96 (2t, 1H, *J*~5.7 Hz, H4), 4.04-4.27 (m, 6H, H4', 2H5', H5, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.36-4.38 (m, 1H, H2, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.39 and 4.44 (2d, 1H, *J*~12 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph, d1 and d2), 4.48-4.57 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.73 and 4.76 (2d, 1H, *J*~11 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph, d1 and d2), 4.82 (dd, 0.5H, *J*<sub>3'-4'</sub>~3.7 and *J*<sub>2'-3'</sub>~6.4 Hz, H3' d1 or d2), 4.85 (dd, 1H, *J*<sub>3'-4'</sub>~3.8 and *J*<sub>2'-3'</sub>~6.3 Hz, H3', d1 or d2), 4.95 (dd, 0.5H, *J*<sub>2'-3'</sub>~6.5, *J*<sub>2'-1'</sub>~2.0 Hz, H2', d1 or d2), 4.97 (dd, 0.5H, *J*<sub>2'-3'</sub>~6.4, *J*<sub>2'-1'</sub>~1.7 Hz, H2', d1 or d2), 5.52 (br s, 0.5H, H1'), 5.61 (br s, 0.5H, H1'), 5.61 and 5.67 (dd, 0.5H, *J*~1.8, *J*<sub>5''-6''</sub>~8.0 Hz, H5'', d1 and d2), 7.14 (d, 0.5H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8.0 Hz, H6'', d1 or d2), 7.2-7.35 (m, 20.5H, CH<sub>Ar</sub>'s and H6''), 8.60 and 8.85 (br s, 1H, NH, d1 and d2).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ ppm 16.35 and 16.40 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O, d1 and d2), 25.25 and 25.31, 27.08 and 27.12 (CMe<sub>2</sub>, d1 and d2), 30.1 (d, *J*<sub>C,P</sub> 139 Hz, CH<sub>2</sub>P, d1 and d2), 41.2 (d, *J*<sub>C,P</sub> 6 Hz) and 41.4 (d, *J*<sub>C,P</sub> 6.6 Hz) (C3''), 62.0 (d, *J*<sub>C,P</sub> 6.2 Hz) and 62.3 (d, *J*<sub>C,P</sub> 6.4 Hz) (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d1 and d2), 64.8 (d, *J*<sub>C,P</sub> 6.2 Hz) and 65.1 (d, *J*<sub>C,P</sub> 5.9 Hz) (C5', d1 and d2), 67.7 and 67.8 (C3<sub>a</sub>, d1 and d2), 69.8 and 70.0, 70.3 and 70.5 (C6,C2, d1 and d2), 71.8

(C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 71.7 (C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 71.9 (C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.95 (C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.01 (C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.27 (C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (C8 or OCH<sub>2</sub>Ph), 76.3 and 76.4 (C7, d1 and d2), 80.6 and 80.8 (C3', d1 and d2), 81.8 and 82.1 (C5, d1 and d2), 84.1 and 84.2 (C2', d1 and d2), 85.5 and 86.1 (2d,  $J_{C,P}$  6.6 Hz, C4', d1 and d2), 87.4 (C4), 94.4 and 95.2 (C1', d1 and d2), 102.6 (C5''), 114.4 and 114.5 (CMe<sub>2</sub>, d1 and d2), 127.4-128.4 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.75 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.81 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.5 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.56 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.62 (Cq<sub>Ar</sub>), 142.2 and 142.4 (C6'', d1 and d2), 149.9 (C2''), 162.9 and 163.9 (C4'', d1 and d2).

**<sup>31</sup>P NMR (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  ppm 27.51 (s), 27.81 (s).

**(+) MS (ESI)** :  $m/z$  = 954.5 [M+H]<sup>+</sup>.

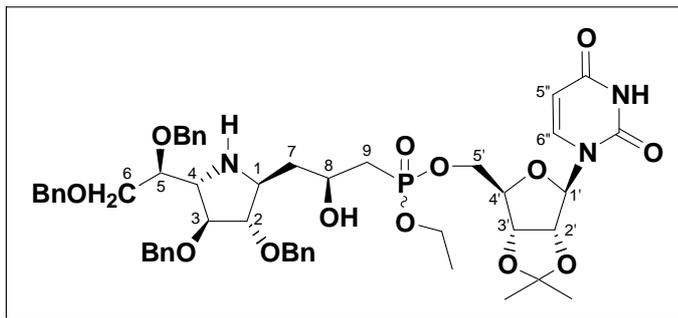
**HRMS (ESI)** C<sub>51</sub>H<sub>60</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>13</sub>P : calcd :  $m/z$  = 976.3762 [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z$  = 976.3753 [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>51</sub>H<sub>60</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P : calcd :  $m/z$  = 992.3501 [M+K]<sup>+</sup>, found :  $m/z$  = 992.3521 [M+K]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd for C<sub>51</sub>H<sub>60</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P**: C ,64.21; H, 6.34; N, 4.40. Found: C, 64.32; H, 6.14; N, 4.60.

**IR (NaCl)** 3463, 3055, 3033, 2986, 2935, 2869, 1695, 1633, 1497, 1455, 1422, 1382, 1266, 1214, 1158, 1093, 1069, 1027.

**TLC (EtOAc)** : R<sub>f</sub> = 0.2.

**(1S)-2,3,5,6-Tetra-O-benzyl-1,4-dideoxy-1-C-[(2S)-3-[(ethyl)(2',3'-O-isopropylidene)uridin-5'-yl]phosphoryl]-2-hydroxypropyl]-1,4-imino-D-galactitol 95**



Formula:  $C_{51}H_{62}N_3O_{13}P$

Mol. Wt.: 956.02

Zinc dust (64.3 mg, 1.05 mmol) was added to a solution of copper (II) acetate (0.3 mg) in glacial acetic acid (3 mL) under argon and the mixture was stirred at r.t. for 10 min until the colour disappeared. Compound **94** (200 mg, 0.209 mmol) in glacial acid acetic (4.2 mL) and water (1.8 mL) were added successively and the reaction mixture was heated at 70°C for 1 h. After cooling to r.t., EDTA (sodium salt, 500 mg) was added and the mixture was stirred for 10 min, then made alkaline to pH 10 by addition of 2N aqueous NaOH. The resulting solution was extracted with chloroform (3x100 mL) and the combined organic phases were concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (100% EtOAc to EtOAc/MeOH 99/1) to afford the desired galactitol **95** (137.1 mg, 68%) as a colorless foam and as a non separable mixture of *P*\*-diastereoisomers.

Note: All signals belong to both diastereoisomers unless indicated otherwise. d1, d2=diastereomer 1 and 2

**$^1H$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 1.3-1.26 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> and CMe<sub>2</sub>), 1.54 (s, 3H, CMe<sub>2</sub>), 1.59-1.66 (m, 1H, H7<sub>A</sub>), 1.83-1.90 (m, 1H, H7<sub>B</sub>), 1.92-2.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>P), 3.26-3.30 (m, 1H, H4), 3.43-3.48 (m, 1H, H1), 3.57-3.65 (m, 2H, H6), 3.71-3.75 (m, 1H, H5), 3.80-3.82 (m, 1H, H2), 3.88 (m, 1H, H3), 4.05-4.14 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.17-4.32 (m, 4H, H8, H4' and H5'), 4.37-4.50 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H, *J*~11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.85-4.97 (m, 1H, H3'), 4.88-4.92 (m, 1H, H2'), 5.63-5.71 (m, 2H, H1' and H5''), 7.24-7.33 (m, 21H, CH<sub>Ar's</sub> and H6'').

**$^{13}C$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 16.5 and 16.6 (OCH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, d1 and d2), 25.5 and 27.3 (CMe<sub>2</sub>, d1 and d2), 33.9 (d, *J*<sub>C-P</sub>~136 Hz, C9), 37.8-37.5 (m, C7), 59.4 and 59.5 (C1, d1 and d2), 62.1 (d, *J*<sub>C-P</sub>~6.25 Hz) and 62.3 (d, *J*<sub>C-P</sub>~6.2 Hz) (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d1 and d2), 63.0 (C4), 64.8 (d, *J*<sub>C-P</sub>~6 Hz) and 64.7 (d, *J*<sub>C-P</sub>~6 Hz) (C5', d1 and d2), 65.5 (C8), 71.7 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 71.9 (C6 or OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.8 and 75.9 (C5, d1 and d2), 80.7 and 80.8 (C3', d1 and d2), 84.4 and 84.5 (C2',

d1 and d2), 85.5-85.7 (m, C4', C3), 88.6 and 88.7 (C2, d1 and d2), 94.0 and 94.4 (C1', d1 and d2), 102.6 and 102.7 (C5'', d1 and d2), 114.5 and 114.6 (CMe<sub>2</sub>, d1 and d2), 127.7-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.3 (C<sub>qAr</sub>), 141.9 and 142.2 (C6'', d1 and d2), 150.0-150.1 (C2''), 163.0 and 163.1 (C4'', d1 and d2).

**<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202MHz)** δppm 30.11 (s), 31.71 (s).

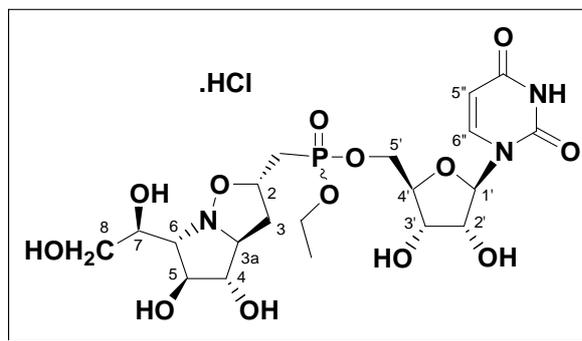
**(+) MS (ESI)** :  $m/z = 978.5$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>51</sub>H<sub>62</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>13</sub>P : calcd :  $m/z = 978.3918$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 978.3959$  [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>51</sub>H<sub>63</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P : calcd :  $m/z = 956.4099$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 956.4108$  [M+H]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd for C<sub>51</sub>H<sub>62</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P**: C, 64.07; H, 6.54. Found: C, 64.13; H, 6.85.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3474, 3054, 3033, 2986, 2908, 2868, 1695, 1651, 1586, 1497, 1455, 1422, 1383, 1265, 1215, 1158, 1070, 1028.

**TLC (EtOAc)** : R<sub>f</sub> = 0.35.

**Ethyl (2',3'-O-isopropylidene-uridin-5'-yl)(2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-6-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]hexahydropyrrolo[1,2-b]isoxazole-2-methylphosphonate 96**Formula: C<sub>20</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P

Mol. Wt.: 589.91

To a solution of compound **94** (349 mg, 0.366 mmol) in dichloromethane (4 mL) was added at 0°C a solution of BCl<sub>3</sub> in hexane (2.35 mL, 20 mmol, 1M). The brown mixture was stirred overnight at 0°C. After 3 cycles of dilution in MeOH (20 mL) with some drop of water and evaporation, chromatography of the crude product on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 8/2) provided **96** as a white foam (150 mg, 74%) and as a mixture of *P*\*-diastereoisomers.

Note: Compound **96** was obtained with 11% yield (6 mg) from compound **94** (101 mg, 0.105 mmol, 1 equiv.) as free base using filtration on basic resin (Dowex 1x8) before purification on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 7/3). NMR data of free base: All signals belong to both diastereoisomers unless indicated otherwise. d1, d2=diastereomer 1 and 2

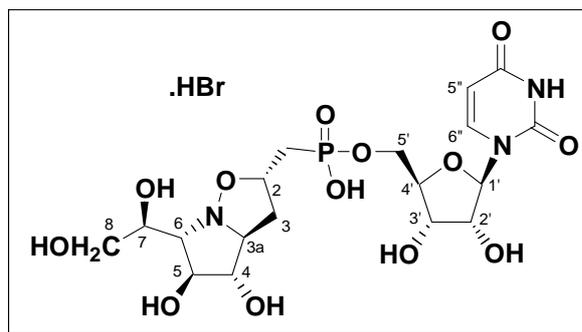
**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)** δ ppm 1.34 (t, 3H, *J*~7Hz, CH<sub>3</sub>), 2.06-2.14 (m, 1H, H3<sub>A</sub>), 2.27 (dd, 2H, *J*~6.5 and 18.5 Hz, CH<sub>2</sub>P), 2.37-2.40 (m, 1H, H3<sub>B</sub>), 3.04 (d, 1H, *J*~8.5 Hz, H6), 3.46 (t, 1H, *J*~7.5 Hz, H3), 3.66-3.65 (m, 2H, H8), 3.71-3.77 (m, 2H, H4 and H7), 3.84-3.88 (m, 1H, H5), 4.12-4.37 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H2', H3', H4', H5' and H2), 5.73 (d, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz) and 5.74 (d, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz) (1H, H5'', d1 and d2), 5.83-5.84 (m, 1H, H1'), 7.71 (d, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz) and 7.73 (d, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz) (1H, H6'', d1 and d2).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz)** δ ppm 16.6 and 16.7 (CH<sub>3</sub>, d1 and d2), 29.4 (d, *J*<sub>C-P</sub>~140 Hz) and 29.5 (d, *J*<sub>C-P</sub>~140 Hz) (CH<sub>2</sub>P, d1 and d2), 42.0-42.1 (m, C3, d1 and d2), 64.0 (d, *J*~6.5 Hz) and 63.8 (d, *J*~6.25 Hz) (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, d1 and d2), 65.4 and 65.5 (C8, d1 and d2), 66.4 (d, 1H, *J*~6.5 Hz, C5'), 69.6 and 69.7 (C3a, d1 and d2), 70.9 (C3'), 71.1, 71.2, 71.3 and 71.4 (C2, C7, d1 and d2), 71.8 and 71.9 (C6, d1 and d2), 74.8 and 74.9 (C2', d1 and d2), 75.9 and 75.9 (C5, d1 and d2), 81.8 and 81.9 (C4, d1 and d2), 83.6-83.7 (m, C4'), 91.9 (C1'), 102.9 (C5''), 142.7 and 142.8 (C6'', d1 and d2), 152.2 (C2''), 166.0 (C4'').

**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz)** δ ppm 29.04 (s), 29.53 (s).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 554.5$   $[M+H]^+$ .

**HRMS (ESI)**  $C_{20}H_{32}N_3O_{13}P$  : calcd :  $m/z = 554.1751$   $[M+H]^+$ , found :  $m/z = 554.1768$   $[M+H]^+$ .

**(2'3'-O-isopropylidene-uridin-5'-yl)(2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-6-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]hexahydropyrrolo-[1,2-b]-isoxazole-2-methylphosphonate 97**Formula: C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P

Mol. Wt.: 606.31

To a solution of phosphonate **95** (108 mg, 0.183 mmol) in dry MeCN (2 mL) was added BrSiMe<sub>3</sub> (0.280 mL, 1.83 mmol, 10 equiv.) at room temperature. The mixture was stirred for 5 days; the mixture was then diluted with MeOH (15 mL) and concentrated under reduced pressure. The dilution and evaporation processes were repeated twice. The residue was then taken up with water and the mixture extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to remove traces of less polar organic compounds. The aqueous phase was concentrated under reduced pressure. Chromatography of the crude product on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 8/2) provided compound **96** (90 mg, 81%) as a white foam.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +5$  ( $c = 1.29$ , MeOH).

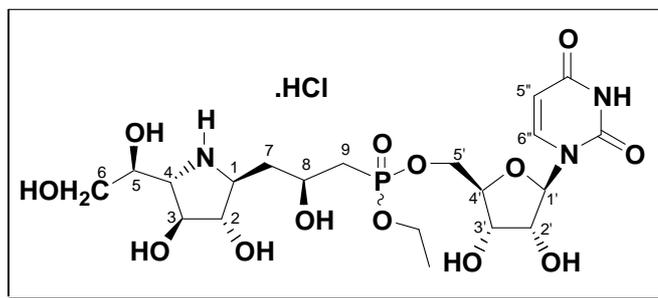
**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)**  $\delta$  ppm 2.36-2.56 (m, 3H, CH<sub>2</sub>P, H3<sub>A</sub>), 2.87-2.91 (m, 1H, H3<sub>B</sub>), 3.68 (dd, 1H,  $J_{7-8A} \sim 6$  and  $J_{8A-8B} \sim 11.5$  Hz, H8<sub>A</sub>), 3.73 (dd, 1H,  $J_{7-8B} \sim 5$  and  $J_{8A-8B} \sim 11.5$  Hz, H8<sub>B</sub>), 3.88 (dd, 1H,  $J_{6-7} \sim 7.5$  and  $J_{5-6} \sim 4.5$  Hz, H6), 4.00 (dd, 1H,  $J_{6-7} \sim 8$  and  $J_{7-8} \sim 4.5$  Hz, H7), 4.12-4.36 (m, 9H, H5, H4, H3a, H2, H2', H3', H4' and H5'), 5.76 (d, 1H,  $J_{5''-6''} \sim 8$  Hz, H5''), 5.86 (d, 2H,  $J_{1'-2'} \sim 4.5$  Hz, H1'), 7.79 (d, 1H,  $J_{5''-6''} \sim 8$  Hz, H6'').

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz)**  $\delta$  ppm 30.0 (d,  $J_{\text{C-P}} \sim 139$  Hz, CH<sub>2</sub>P), 38.6 (d,  $J_{\text{C-P}} \sim 7.5$  Hz, C3), 63.9 (C8), 66.1 (d,  $J_{\text{C-P}} \sim 5.5$  Hz, C5'), 68.3 (C3 or C3a), 70.9 (C3 or C3a), 73.8 (C7), 74.8 (C2'), 76.3 (C5), 77.1 (C2 or C4), 78.4 (C2 or C4), 79.9 (C6), 83.7 (d,  $J_{\text{C-P}} \sim 6.6$  Hz, C4'), 91.4 (C5''), 103.0 (C1'), 142.8 (C6''), 152.2 (C2''), 166.0 (C4'').

**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz)**  $\delta$  ppm 23.74 (s).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 526.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P : calcd :  $m/z = 526.1438$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 526.1431$  [M+H]<sup>+</sup>.

**(1S)-1,4-Dideoxy-1-C-[(2S)-3-[(ethyl)(uridin-5'-yl)phosphoryl]-2-hydroxypropyl]-1,4-imino-D-galactitol 98**Formula: C<sub>20</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P

Mol. Wt.: 591.93

To a solution of compound **95** (283 mg, 0.296 mmol) in dichloromethane (6 mL) was added at 0°C a solution of BCl<sub>3</sub> in hexane (3.5 mL, 35 mmol, 1M). The brown mixture was stirred overnight at 0°C. After 3 cycles of dilution in MeOH (20 mL) with some drop of water and evaporation, chromatography of the crude product on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 9/1) provided **98** as a white foam (146 mg, 78%) and as a mixture of *P*\*-diastereoisomers.

Note: All signals belong to both diastereoisomers unless indicated otherwise. d1, d2=diastereomer 1 and 2

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)** δ 1.34 (t, *J*~7.06 Hz) and 1.35 (t, *J*~7.05 Hz) (3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.05-2.24 (m, 4H, H7 and H9), 3.51 (dd, 1H, *J*<sub>4-5</sub>~4 and *J*<sub>3-4</sub>~7.5 Hz, H4, d1 and d2), 3.55 (ddd, 1H, *J*~8 and 5 Hz, H8), 3.67 (dd, 1H, *J*<sub>5-6a</sub>~4 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H6<sub>a</sub>), 3.72 (dd, 1H, *J*<sub>5-6b</sub>~4 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H6<sub>b</sub>), 3.85-3.89 (m, 1H, H2), 3.95 (q, 1H, *J*~4 Hz, H5), 4.07 (t, 1H, *J*<sub>3-4</sub>~7.5 Hz, H3), 4.12-4.37 (m, 8H, H2', H3', H4', H5', H1, and OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.74 and 5.75 (2d, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8Hz, H5'', d1 and d2), 5.84 and 5.85 (2d, 1H, *J*~4.5 Hz, H1', d1 and d2), 7.73 and 7.75 (2d, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz, H6'', d1 and d2).

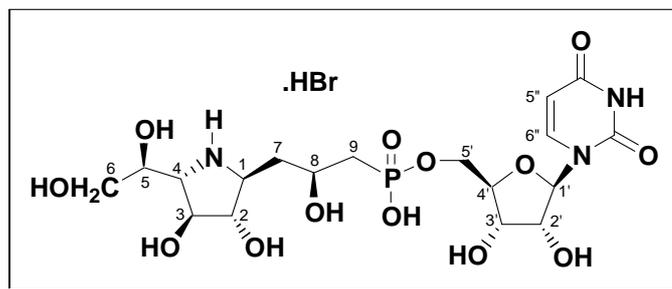
**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5MHz)** δ 16.7 and 16.8 (CH<sub>3</sub>, d1 and d2), 33.0 and 34.9 (d, *J*<sub>C-P</sub> 137Hz, C9), 38.4 (d, *J*<sub>C-P</sub> 12 Hz, C7), 60.6 (C8), 63.7 (d, *J*<sub>C-P</sub> 6.5 Hz) and 63.9 (d, *J*<sub>C-P</sub> 6.8 Hz) (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 64.6 and 64.7 (C1 or C4), 64.9 (C1 or C4), 65.1 (C6), 66.2-66.4 (m, C5'), 69.0 (C5), 70.9 (C2' or C3'), 74.8 and 74.9 (C2' or C3'), 76.7 (C3), 79.2 (C2), 83.6 and 83.7 (C4', d1 and d2), 91.6-91.7 (C1'), 103.0 (C5''), 142.7 (C6''), 150.2 (C2''), 166.0 (C4'').

**<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202MHz)** δ 29.68 (s), 30.07 (s).

(+) **MS (ESI)** : *m/z* = 556.5 [M+H]<sup>+</sup>, 578.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>20</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P : calcd : *m/z* = 556.1907 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 556.1906 [M+H]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd for  $C_{20}H_{43}ClN_3O_{17}P$ :** C, 36.18; H, 6.53; N, 6.33; Cl, 5.34; P, 4.66. Found: C, 35.72; H, 6.13; N, 6.00; Cl, 5.39; P, 4.29.

**(1S)-1,4-Dideoxy-1-C-{(2S)-3-[(uridin-5'-yl)phosphono]-2-hydroxypropyl}-1,4-imino-D-galactitol 99**Formula: C<sub>18</sub>H<sub>31</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P

Mol. Wt.: 608.33

To a solution of phosphonate **98** (65 mg, 0.109 mmol) in dry MeCN (3 mL) was added BrSiMe<sub>3</sub> (0.145 mL, 1.1 mmol) at room temperature. The mixture was stirred for 3 days; the mixture was then diluted with MeOH (15 mL) and concentrated under reduced pressure. The dilution and evaporation processes were repeated twice. The residue was then taken up with water and the mixture extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to remove traces of less polar organic compounds. The aqueous phase was concentrated under reduced pressure. Chromatography of the crude product on C18-reversed phase silica gel (H<sub>2</sub>O/MeOH 1/0 to 9/1) provided compound **99** (66.3 mg, 99%) as a purple foam.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -15 (*c* = 1.62, MeOH).

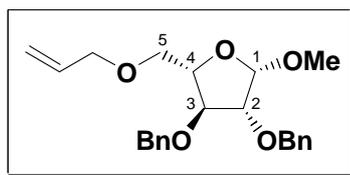
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz) δ 2.04-2.17 (m, 4H, H7, H9), 3.48-3.51 (m, 1H, H4), 3.54-3.58 (m, 1H, H8), 3.66 (dd, 1H, *J*<sub>5-6a</sub>~4 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H6<sub>a</sub>), 3.72 (dd, 1H, *J*<sub>5-6b</sub>~4.5 and *J*<sub>6a-6b</sub>~11.5 Hz, H6<sub>b</sub>), 3.88 (dd, 1H, *J* 6.5 and 8.5 Hz, H2), 3.94-3.96 (m, 1H, H5), 4.05-4.08 (m, 1H, H3), 4.11-4.32 (m, 6H, H1, H2', H3', H4' and H5'), 5.70 (d, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz, H5''), 5.87 (d, 1H, *J*~4.5 Hz, H1'), 7.79 (d, 1H, *J*<sub>5''-6''</sub>~8 Hz, H6'').

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 62.5 MHz) δ 34.9 (d, *J*<sub>C-P</sub>~138 Hz, C9), 38.0 (d, *J*<sub>C-P</sub>~11 Hz, C7), 60.8 (C8), 65.0 (C4 or C1), 65.1 (C4 or C1), 65.2 (C6), 65.7 (d, *J*<sub>C-P</sub> 5.7 Hz, C5'), 68.9 (C5), 71.0 (C3' or C2'), 75.1 (C2' or C3'), 76.8 (C3), 79.1 (C2), 83.9 (d, *J*<sub>C-P</sub> 7 Hz, C4'), 91.3 (C1'), 102.9 (C5''), 142.6 (C6''), 152.3 (C2''), 166.1 (C4'').

<sup>31</sup>P NMR (CD<sub>3</sub>OD, 202 MHz) δ 27.64 (s).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 528.5 [M+H]<sup>+</sup>, 550.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P: calcd : *m/z* = 528.1594 [M+H]<sup>+</sup>, found : *m/z* = 528.1600 [M+H]<sup>+</sup>.

**Methyl 5-*O*-allyl-2,3-di-*O*-benzyl-β-L-arabinofuranoside 102**Formula: C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>

Mol. Wt.: 384.47

To a solution of methyl-2,3-*O*-benzyl-β-L-arabinofuranoside **101**<sup>362</sup> (266 mg, 0.77 mmol) in dimethylformamide (25 mL) were added sodium hydride (44 mg, 1.16 mmol, 1.5 equiv.). After a stirring time of 30 minutes allyl bromide was added (85 μL, 1.0 mmol, 1.3 equiv.). The mixture was stirred overnight and then quenched by adding ice and water. Organic layer was extracted with toluene, washed with brine, water and then dried over sodium sulfate. Solvents were evaporated and after purification on silica gel (PE/EtOAc 9/1) corresponding allyl derivative **102** (253 mg, 85%) was obtained as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -64$  ( $c = 1.20$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ ppm 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.51-3.63 (m, 2H, H5), 3.87 (dd, 1H,  $J_{2-3} \sim 2.8$  and  $J_{3-4} \sim 6.5$  Hz, H3), 3.99 (dd, 1H,  $J_{1-2} \sim 1.0$  and  $J_{2-3} \sim 2.9$  Hz, H2), 4.01 (td, 2H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_2} \sim 1.3$  and  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}} \sim 5.7$  Hz, CH<sub>2</sub>CH=), 4.14-4.22 (m, 1H, H4), 4.44-4.62 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.94 (s, 1H, H1), 5.17 (ddd, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_2} \sim 1.2$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}_{2b}} \sim 2.7$  and  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}} \sim 10.4$  Hz, CH<sub>2a</sub>=CH), 5.40 (ddd, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_2} \sim 1.5$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}_{2b}} \sim 3.2$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}} \sim 17.3$  Hz, CH<sub>2b</sub>=CH), 5.89 (tdd, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}} \sim 5.6$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}} \sim 10.4$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2</sub>=CH), 7.27-7.35 (m, 10H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)** δ ppm 55.0 (CH<sub>3</sub>), 70.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.0 (C5), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (CH<sub>2</sub>CH=), 80.9 (C4), 83.6 (C3), 88.2 (C2), 107.4 (C1), 117.3 (CH<sub>2</sub>=CH), 127.9-128.5 (CH<sub>Ar</sub>'s), 134.7 (CH<sub>2</sub>=CH), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>).

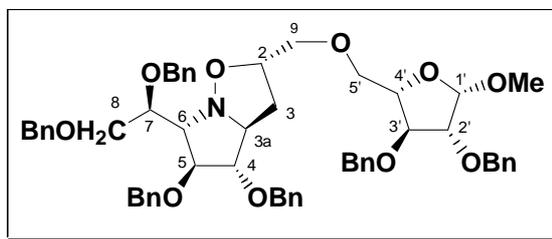
(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 407.5$  [M+Na]<sup>+</sup>;

**Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>**: C, 71.85; H, 7.34. Found: C, 71.55; H, 7.34.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3397, 2913, 2868, 1723, 1455, 1268, 1106, 1069, 1027.

**TLC (PE/EtOAc 7/3)** : R<sub>f</sub> = 0.67.

**Methyl 5-O-2,3-di-O-benzyl-[(2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-4,5-dibenzyl-6-[(1S)-1,2-dibenzyl-2-ylmethoxyethyl]hexahydropyrrolo-[1,2-b]-isoxazol-2-ylmethoxy]-β-L-arabinofuranoside**  
**103**

Formula: C<sub>57</sub>H<sub>63</sub>NO<sub>10</sub>

Mol. Wt.: 922.11

To a solution of *O*-allylated compound (619 mg, 1.60 mmol, 1.6 equiv.) in toluene (16 mL) was added nitron (535 mg, 0.99 mmol). The mixture was stirred overnight at 110°C. The brown mixture was then concentrated and purification on silica gel (PE/EtOAc 4/1 to 3/1) afforded cycloadduct product (451.4 mg, 49%) as a yellow oil.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -8 (*c* = 4.46, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 2.14 (t, 2H, *J*~7.9 Hz, H<sub>3</sub>), 3.33 (dd, 1H, *J*~2.0 and 7.6 Hz, H-6), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.51-3.58 (m, 2H, H<sub>9</sub>), 3.62-3.63 (m, 2H, H<sub>5'</sub>), 3.69 (dd, 1H, *J*~2.0 and 7.6 Hz, H<sub>3a</sub>), 3.80-3.85 (m, 4H, H<sub>7</sub>, H<sub>8</sub>, H<sub>3'</sub>), 3.88 (dd, 1H, *J*~5.1 Hz, H<sub>4</sub>), 3.97 (dd, 1H, *J*~1.0 and 2.8 Hz, H<sub>2'</sub>), 4.05 (dd, 1H, *J*~5.1 and 7.4 Hz, H<sub>5</sub>), 4.12-4.16 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 4.21-4.27 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 4.36 (d, 1H, *J*~11.6 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.44-4.57 (m, 10H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.79 (d, 1H, *J*~11.8 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.90 (s, 1H, H<sub>1'</sub>), 7.19-7.34 (m, 30H, CH<sub>Ar</sub>'s).

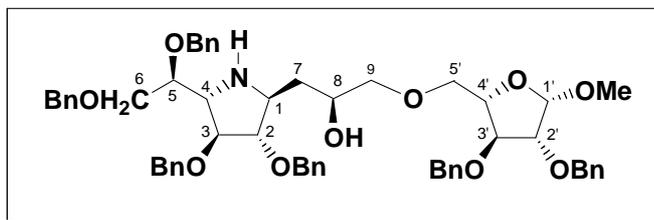
<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 37.3 (C<sub>3</sub>), 55.0 (CH<sub>3</sub>), 70.3 (C<sub>3a</sub>), 71.6 (C<sub>6</sub>), 71.9 (OCH<sub>2</sub>), 72.0 (OCH<sub>2</sub>), 72.1 (OCH<sub>2</sub>), 72.26 (OCH<sub>2</sub>), 72.31 (OCH<sub>2</sub>), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (C<sub>2</sub>), 75.5 (C<sub>3'</sub>), 82.8 (C<sub>4'</sub>), 83.59 (C<sub>5</sub>), 83.59 (C<sub>7</sub>), 87.3 (C<sub>4</sub>), 88.2 (C<sub>2'</sub>), 107.3 (C<sub>1'</sub>), 127.5-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.6 (C<sub>qAr</sub>), 137.9 (C<sub>qAr</sub>), 138.2 (C<sub>qAr</sub>), 138.7 (C<sub>qAr</sub>), 138.9 (C<sub>qAr</sub>).

(+) MS (ESI) : *m/z* = 922.5 [M+H]<sup>+</sup>, 944.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>57</sub>H<sub>63</sub>NO<sub>10</sub>: C, 74.24; H, 6.89; N, 1.52. Found: C, 74.56; H, 6.81; N, 1.54.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3018, 2401, 1496, 1455, 1216, 1100, 1027.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.4.

**Methyl 5-O-[(2S)-2-hydroxy-3-((1R)-1,4-dideoxy-1,4-imino-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-galactit-1-yl)-propyl]-2,3-di-O-benzyl-β-L-arabinofuranoside 104**Formula: C<sub>57</sub>H<sub>65</sub>NO<sub>10</sub>

Mol. Wt.: 924.13

To a solution of Zinc (85 mg, 1.3 mmol, 11.5 equiv.) in acetic acid (1.4 mL) was added copper acetate (0.3 mg, 0.002 mmol, 1.8 equiv.). The mixture was stirred 10 minutes at room temperature, then a solution of bicyclic compound **103** (104.4 mg, 0.113 mmol) in acetic acid/water (2/0.8 mL) was added dropwise. The mixture was stirred during 1h30 at 80°C and then EDTA (271 mg) was added. After 20 min at room temperature aqueous solution of NaOH was added, to the green mixture, until pH 10-12. The organic layers were extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The yellow mixture was then concentrated and purification on silica gel (PE/EtOAc 1/1) afforded product **104** (79.3 mg, 76%) as a yellow oil.

$[\alpha]_D^{25} = -30$  ( $c = 0.59$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)** δ ppm 1.50-1.56 (m, 1H, H7a), 1.65-1.72 (m, 1H, H7b), 3.18 (dd, 1H,  $J \sim 3.5$  and 5.8 Hz, H4), 3.25 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.38-3.44 (m, 3H, H9 and H1), 3.51-3.60 (m, 4H, H5', H6), 3.67-3.70 (m, 2H, H2 and H3), 3.77-3.81 (m, 2H, H5 and H3'), 3.89-3.91 (m, 2H,  $J \sim 0.9$ , 2.8 Hz, H2' and H8), 4.07-4.11 (m, 1H, H4'), 4.28-4.51 (m, 11H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.65 (d, 1H,  $J \sim 11.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.82 (s, 1H, H1'), 7.18-7.26 (m, 30H, CH<sub>Ar</sub>'s).

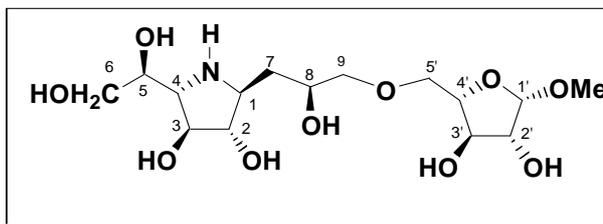
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)** δ ppm 33.7 (C7), 55.0 (CH<sub>3</sub>), 59.4 (C1), 63.06 (C1 and C4), 68.9 (C8), 71.4 (C6 or C3), 71.7 (C6 or C3), 72.08 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.11 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.3 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 75.1 (C9), 76.0 (C5), 81.0 (C4'), 83.7 (C3'), 85.7 (C5'), 88.2 (C2'), 89.2 (C2), 107.3 (C1'), 127.9-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 137.6 (Cq<sub>Ar</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.18 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.23 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 924.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd. for C<sub>57</sub>H<sub>63</sub>NO<sub>10</sub>**: C, 74.08; H, 7.09; N, 1.52. Found: C, 74.10; H, 7.34; N, 1.54.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3329, 3063, 3030, 2865, 2921, 1496, 1454, 1099, 1073.

**TLC (PE/EtOAc 7/3)** : R<sub>f</sub> = 0.03.

**Methyl 5-O-[(2S)-2-hydroxy-3-((1R)-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactit-1-yl)-propyl]-β-L-arabinofuranoside 105**Formula: C<sub>15</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>10</sub> Mol. Wt.: 383.39

To a solution of bicyclic compound **103** (108 mg, 0.117 mmol) in MeOH (1 mL) was added Raney Ni (~300 mg). The mixture was stirred 24 h at 40°C then more Raney Ni (~600 mg) was added. The discolored mixture was stirred during 48 hours at 40°C. The black mixture was then filtered through Millipore and washed with water. The colorless mixture was then concentrated and purification on silica gel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 9/4/0.6) afforded product **105** (16.7 mg, 37 %) as a colorless oil.

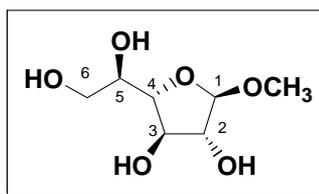
$[\alpha]_D^{25} = -72$  ( $c = 0.54$ , H<sub>2</sub>O).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 1.65 (ddd, 1H,  $J \sim 3.6, 8,$  and  $10.4$  Hz, H7a), 1.731.81 (m, 1H, H7b), 2.97 (dd, 1H,  $J \sim 4.8$  and  $7.6$  Hz, H4), 3.10-3.17 (m, 1H, H1), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.46-3.57 (m, 3H, H9 and H5'a), 3.60-3.66 (m, 3H, H5b', H6a and H2), 3.67-3.72 (m, 2H, H6b and H3), 3.84-3.94 (m, 4H, H8, H5, H2' and H3'), 3.97-4.011 (m, 1H, H4'), 4.76 (d, 1H,  $J_{1'-2'} \sim 1.6$  Hz, H1').

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 37.9 (C7), 55.3 (CH<sub>3</sub>), 59.7 (C1), 63.9 (C4), 65.4 (C5'), 69.1 (C8), 72.4 (C6), 72.5 (C3), 77.1 (C9), 79.2 (C2' or C3'), 79.4 (C5), 82.6 (C2), 83.4 (C2' or C3'), 84.1 (C4'), 110.7 (C1').

(+) MS (ESI) :  $m/z = 384.0$  [M+H]<sup>+</sup>, 406.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>10</sub>: calcd :  $m/z = 384.1870$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 384.1870$  [M+H]<sup>+</sup>.

**Methyl  $\beta$ -D-galactofuranoside 108**<sup>164</sup>Formula: C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 194.18

To a solution of D-galactose (5 g, 0.028 mol) in MeOH (154 mL) was added iron (III) chloride (4.49 g, 0.028 mol, 1equiv.). The reaction mixture was stirred 24 h at 60°C and then 5h at 70°C. After stirred the orange mixture at room temperature for 1 h, NaHCO<sub>3</sub> (20 g) in water (600 mL) was added. The brown precipitate was stirred 45 min at room temperature and then filtrated on celite. The filtrate was then concentrated under reduced pressure to provide a white solide. Purification by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 5/2) afforded desired compound **108** (1.8 g, 33.6%) as a colorless oil.

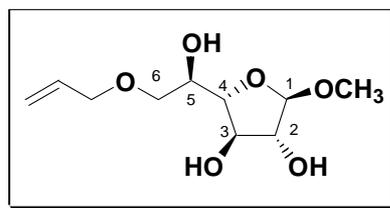
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -90$  ( $c = 0.9$ , MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$  ppm 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.60-3.65 (m, 2H, H6), 3.69-3.73 (m, 1H, H5), 3.90-3.93 (m, 2H, H2 and H4), 4.00 (dd, 1H,  $J \sim 6.3$  and 3.7 Hz, H3), 4.75 (d, 1H,  $J_{1-2} \sim 1.6$  Hz, H1).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$  ppm 55.3 (OCH<sub>3</sub>), 64.5 (C6), 72.5 (C5), 78.8 (C3), 83.2 (C2 ou C4), 84.4 (C2 ou C4), 110.5 (C1).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 217.0$  [M+Na]<sup>+</sup>.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 5/2) : R<sub>f</sub> = 0.5.

**Methyl 6-O-allyl- $\beta$ -D-galactofuranoside 109**<sup>396</sup>Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>

Mol.Wt. : 234.25

Compound **108** (494 mg, 2.55 mmol) was dissolved in MeOH (30 mL). Tin butyl oxide (1.27 g, 5.09 mmol, 2 equiv.) was then added and the reaction mixture was stirred 4h at 70°C. After concentration under reduced pressure, the white foam was dissolved in THF (3.5 mL). After the addition of tetrabutylammonium iodide (940 mg, 2.54 mmol, 1 equiv.) and allylbromide (488  $\mu$ L, 5.61 mmol, 2 equiv.) the mixture was stirred overnight at room temperature. To lead to the reaction completion the mixture was then stirred 48 hours at 50°C. After concentration under reduced pressure, purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 4/1 and then 2/1) afforded desired compound **109** (381.4 mg, 64 %) as a yellow oil.

$[\alpha]_D^{25}$  could not be measured because of some I<sub>2</sub> in the product

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.54 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 8.4$  and  $J_{6a-6b} \sim 10$  Hz, H<sub>6a</sub>), 3.55 (dd, 1H,  $J_{5-6b} \sim 9.6$  and  $J_{6a-6b} \sim 10$  Hz, H<sub>6b</sub>), 3.83-3.87 (m 1H, H<sub>5</sub>), 3.90-3.92 (m, 2H, H<sub>2</sub> and H<sub>4</sub>), 4.00-4.05 (m, 3H, H<sub>3</sub> and CH<sub>2</sub>CH=), 4.76 (d, 1H,  $J_{1-2} \sim 1.6$  Hz, H<sub>1</sub>), 5.17 (ddd, 1H,  $J_{=CH_{2a}-CH_2} \sim 1.6$ ,  $J_{=CH_{2a}-CH_{2b}} \sim 3.2$  and  $J_{=CH_{2a}-CH=} \sim 10.4$  Hz, CH<sub>2a</sub>=), 5.30 (ddd, 1H,  $J_{=CH_{2b}-CH_2} \sim 1.6$ ,  $J_{=CH_{2a}-CH_{2b}} \sim 3.2$  and  $J_{=CH_{2b}-CH=} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2b</sub>=), 5.88-5.98 (m, 1H, CH=).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 55.3 (OCH<sub>3</sub>), 70.4 (C<sub>5</sub>), 72.6 (C<sub>6</sub>), 73.2 (CH<sub>2</sub>CH=), 78.6 (C<sub>3</sub>), 83.2 (C<sub>2</sub> or C<sub>4</sub>), 84.5 (C<sub>2</sub> or C<sub>4</sub>), 110.5 (C<sub>1</sub>), 117.2 (CH<sub>2</sub>=), 136.1 (CH=).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 252.5$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

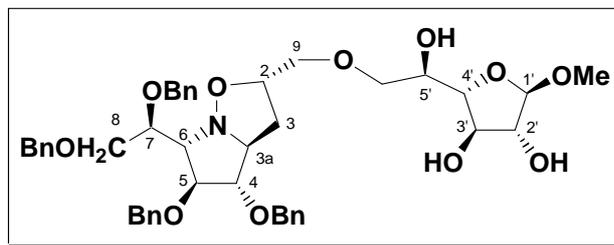
HRMS (ESI) C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>6</sub>: calcd :  $m/z = 257.1001$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 257.1014$  [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3345, 2925, 1683, 1624, 1449, 1106, 1033, 1073, 937.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/Et<sub>3</sub>N 5/1/0.2) : R<sub>f</sub> = 0.7.

<sup>396</sup> Silvia, I.; Dumitru Petru, I., *Proceeding of the Romanian Academy, Series B* **2004**, 6, 3-6.

**Methyl-6-O-[(2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-4,5-dibenzyloxy-6-[(1S)-1,2-dibenzyloxyethyl]hexahydropyrrolo-[1,2-b]-isoxazol-2-ylmethyl]-β-D-galactofuranoside 110**

Formula: C<sub>44</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>11</sub>

Mol. Wt.: 771.89

To a solution of *O*-allylated compound **109** (135.2 mg, 0.577 mmol, 1.2 equiv.) in tetrachloroethylene (2 mL) was added nitron (258.5 mg, 0.481 mmol). The mixture was stirred overnight at 90°C. The brown mixture was then concentrated and purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99.5/0.5 to 98/2) afforded cycloadduct product **110** (136.9 mg, 37%) as a brown oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -10$  ( $c = 1.46$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.10-2.16 (m, 1H, H3<sub>A</sub>), 2.22-2.29 (m, 1H, H3<sub>B</sub>), 3.10 (d, 1H,  $J_{5'-\text{OH}} \sim 10.5$  Hz, OH), 3.35 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.37 (brs, 1H, H6), 3.61-3.64 (m, 3H, H9 and H6'<sub>A</sub>), 3.66 (dd, 1H,  $J_{5-6A} \sim 3.6$  and  $J_{6A-6B} \sim 10.2$  Hz, H6'<sub>B</sub>), 3.71-3.75 (m, 1H, H3a), 3.79 (m, 3H, H7 and H8), 3.89 (dd, 1H,  $J_{4-5} \sim 5.2$  Hz, H4), 3.93-3.99 (m, 1H, H3', H4' and H5'), 4.04 (dd, 1H,  $J_{4-5} \sim 5.2$  and  $J_{5-6} \sim 7.3$  Hz, H5), 4.06 (brs, 1H, H2'), 4.23-4.31 (m, 3H, H2 and OCH<sub>2</sub>Ph), 4.44-4.60 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph and OH), 4.76 (d, 1H,  $J \sim 11.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.86 (s, 1H, H1'), 7.18-7.37 (m, 20H, CH<sub>Ar's</sub>).

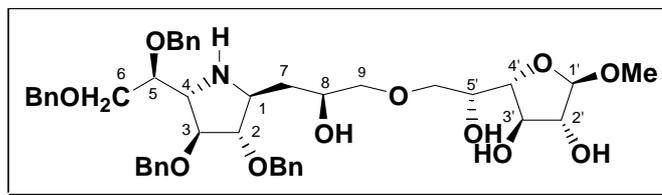
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 36.5 (C3), 55.0 (CH<sub>3</sub>), 68.1 (C3a), 70.3 (C5'), 70.6 (C6), 71.4 (C8), 72.0 (C9), 72.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.46 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6'), 73.51 (OCH<sub>2</sub>Ph or C6'), 76.1 (C2 or C7), 76.3 (C2 or C7), 78.87 (C3' or C4' or C2'), 78.93 (C3' or C4' or C2'), 83.1 (C5), 87.0 (C3' or C4'), 87.3 (C4), 109.9 (C1'), 127.6-128.6 (CH<sub>Ar's</sub>), 137.9 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.6 (Cq<sub>Ar</sub>).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 772.5$  [M+H]<sup>+</sup>, 794.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>44</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>11</sub>: C, 68.46; H, 6.92; N, 1.81. Found: C, 68.38; H, 7.17; N, 1.77.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3418, 2916, 2870, 1454, 1101, 1028.

TLC (EtOAc/PE 4/1) : R<sub>f</sub> = 0.2.

**Methyl 6-O-[(2S)-2-hydroxy-3-((1R)-1,4-dideoxy-1,4-imino-2,3,5,6-tetra-O-benzyl-D-galactit-1-yl)-propyl]-β-D-galactofuranoside **111****Formula: C<sub>44</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>11</sub>

Mol. Wt.: 773.91

To a solution of Zinc (45.5 mg, 0.69 mmol, 11.5 equiv.) in acetic acid (0.75 mL) was added copper acetate (0.16 mg, 0.0012 mmol, 0.02 equiv.). The mixture was stirred 10 minutes at room temperature, then a solution of bicyclic compound **110** (57.6 mg, 0.06 mmol) in acetic acid/water (1.06/0.43 mL) was added dropwise. The mixture was stirred during 1h30 at 80°C and then EDTA (144 mg) was added. After 20 min at room temperature aqueous, solution of NaOH (2N) was added to the brown mixture, until pH 10-12. The organic layers were extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The yellow mixture was then concentrated and purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 25/1) afforded product **111** (17 mg, 29 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} = -49$  ( $c = 0.59$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 1.54-1.70 (m, 2H, H7), 3.18 (dd, 1H,  $J_{4,5} \sim 4.4$  and  $J_{3,4} \sim 5.2$  Hz, H4), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.38-3.42 (m, 1H, H1), 3.43-3.49 (m, 2H, H9), 3.60-3.63 (m, 4H, H6', H6), 3.67-3.71 (dd, 1H,  $J_{4,5} \sim 4.5$  and  $J_{5,6} \sim 4.7$  Hz, H5), 3.80 (m, 1H, H2), 3.89 (dd, 1H,  $J_{2,3} \sim 3.8$  and  $J_{3,4} \sim 5.4$  Hz, H3), 3.88-4.02 (m, 4H, H5', H8, H4' and H3'), 4.06 (s, 1H, H2'), 4.37-4.54 (m, 7H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H,  $J \sim 11.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.87 (s, 1H, H1'), 7.24-7.35 (m, 20H, CH<sub>Ar</sub>'s).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 33.0 (C7), 55.1 (CH<sub>3</sub>), 59.7 (C1), 62.9 (C4), 69.1 (C8), 70.3 (C5'), 71.4 (C6 or C6'), 72.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.9 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (C6 or C6'), 75.4 (C9), 75.7 (C5), 78.9 (C4' or C3'), 79.0 (C2'), 85.3 (C3), 87.3 (C4' or C3'), 87.9 (C2), 109.8 (C1'), 127.8-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 138.0 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.06 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.09 (Cq<sub>Ar</sub>), 138.2 (Cq<sub>Ar</sub>).

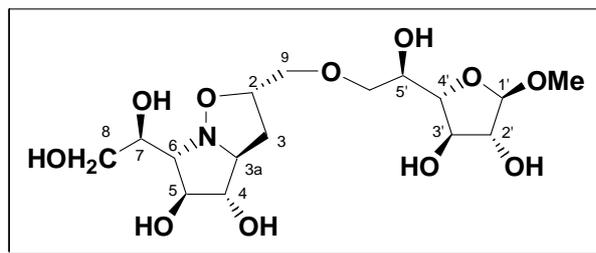
(+) MS (ESI) :  $m/z = 774$  [M+ H]<sup>+</sup>, 797 [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>44</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>11</sub> · 0.5H<sub>2</sub>O: C, 67.50; H, 7.21; N, 1.79. Found: C, 67.60; H, 7.52; N, 1.74.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3423, 1647, 1454, 1216, 1098, 1028.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 5/0.2) : R<sub>f</sub> = 0.23.

**Methyl 6-O-[(2*S*, 3*aS*, 4*S*, 5*S*, 6*S*)-4,5-dihydroxy-6-[(1*S*)-1,2-dihydroxyethyl]hexahydro-pyrrolo-[1,2-*b*]-isoxazol-2-ylmethyl]-β-D-galactofuranoside 112**

Formula: C<sub>16</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>11</sub>

Mol. Wt.: 411.40

To a solution of *O*-allylated compound **109** (190 mg, 0.81 mmol, 1.7 equiv.) in water (5 mL) was added debenzylated nitrone **81** (85.7 mg, 0.48 mmol). The mixture was stirred one week at 60°C. The yellow mixture was then concentrated and purification on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1 to 5/2) afforded cycloadduct product **112** (100 mg, 51 %) as slightly yellow oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -3$  ( $c = 0.5$ , H<sub>2</sub>O).

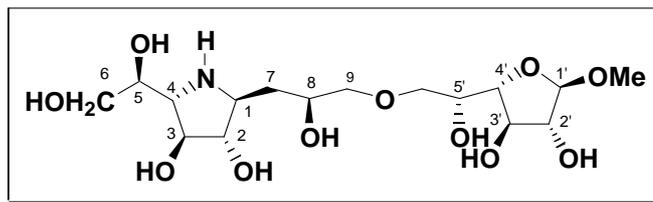
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.13-2.20 (m, 1H, H<sub>3A</sub>), 2.22-2.27 (ddd, 1H,  $J_{\sim 2.6}$ , 5.7 and 12.2 Hz, H<sub>3B</sub>), 3.05 (dd, 1H,  $J_{5,6} \sim 2.0$  and  $J_{6,7} \sim 8.9$  Hz, H<sub>6</sub>), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.42-3.49 (m, 1H, H<sub>3a</sub>), 3.56-3.75 (m, 7H, H<sub>9</sub>, H<sub>8</sub>, H<sub>7</sub> and H<sub>6'</sub>), 3.78 (t, 1H,  $J_{\sim 7.2}$  Hz, H<sub>4</sub>), 3.83-3.93 (m, 4H, H<sub>3'</sub>, H<sub>2'</sub> and H<sub>5'</sub> and H<sub>5</sub>), 4.00 (dd, 1H,  $J_{\sim 3.5}$  and 6.2 Hz, H<sub>4'</sub>), 4.26-4.32 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 4.76 (dd, 1H,  $J_{1,2'} \sim 1.4$  Hz, H<sub>1'</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$  ppm 37.5 (C<sub>3</sub>), 55.3 (CH<sub>3</sub>), 65.5 (C<sub>9</sub>), 69.4 (C<sub>3a</sub>), 70.6 (C<sub>5'</sub>), 71.2 (C<sub>7</sub>), 72.0 (C<sub>6</sub>), 72.3 (C<sub>6'</sub> or C<sub>8</sub>), 74.1 (C<sub>6'</sub> or C<sub>8</sub>), 76.3 (C<sub>2</sub> or C<sub>3'</sub>), 76.4 (C<sub>2</sub> or C<sub>3'</sub>), 78.8 (C<sub>4'</sub>), 81.7 (C<sub>4</sub>), 83.2 (C<sub>5</sub> or C<sub>2'</sub>), 84.7 (C<sub>2'</sub> or C<sub>5</sub>), 110.4 (C<sub>1'</sub>).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 412$  [M+H]<sup>+</sup>, 434 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>11</sub>: calcd :  $m/z = 412.1819$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 412.1833$  [M+H]<sup>+</sup>.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1) : R<sub>f</sub> = 0.06.

**Methyl 6-O-[(2S)-2-hydroxy-3-((1R)-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactit-1-yl)-propyl]-β-D-galactofuranoside 113**Formula: C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>11</sub>

Mol. Wt.: 413.42

To a solution of cycloadduct **112** (22 mg, 0.054 mmol) in water (0.5 mL), was added Raney Ni (~20 mg wet). The mixture was stirred overnight at room temperature. Filtration over celite and concentration under reduced pressure afforded crude compound **113**. Purification on silica gel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 70/50/1) and then on C18-silica (H<sub>2</sub>O) afforded the desired compound **113** (19.1 mg, 86%) as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -50$  ( $c = 0.41$ , H<sub>2</sub>O).

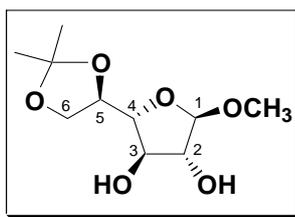
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$  ppm 1.67-1.74 (ddd, 1H,  $J \sim 3.6, 8.4$  and  $14.4$  Hz, H7a), 1.78-1.87 (m, 1H, H7b), 3.04 (dd, 1H,  $J_{3,4} \sim 4.4$  and  $J_{4,5} \sim 7.6$  Hz, H4), 3.17-3.22 (m, 1H, H1), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.48-3.50 (m, 2H, H9), 3.55-3.76 (m, 6H, H2, H6, H6' and H5), 3.85-3.96 (m, 5H, H3, H8, H2', H5' and H3'), 4.00 (dd, 1H,  $J \sim 4$  and  $6$  Hz, H4'), 4.76 (d, 1H,  $J_{1',2'} \sim 1.6$  Hz, H1').

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$  ppm 37.4 (C7), 55.3 (OCH<sub>3</sub>), 50.9 (C1), 64.0 (C4), 65.4 (C6), 69.0 (C8), 70.9 (C5'), 72.1 (C5), 73.9 (C6'), 76.7 (C9), 78.9 (C4'), 79.0 (C3), 82.2 (C2), 83.3 (C2' or C3'), 84.8 (C2' or C3'), 110.5 (C1').

(+) MS (ESI) :  $m/z = 414$  [M+H]<sup>+</sup>, 436 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>11</sub>: calcd :  $m/z = 414.1975$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 414.1980$  [M+H]<sup>+</sup>.

TLC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 7/5/1) : R<sub>f</sub> = 0.05.

**Methyl 5,6-O-isopropylidene-β-D-galactofuranoside 114**<sup>397</sup>Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 234.25

To a solution of compound **108** (116.7 mg, 0.60 mmol) in DMF (4 mL) were added 2,2-dimethoxypropane (0.148 mL, 1.2 mmol, 2 equiv.) and then camphorsulfonic acid (1.3 mg, 5.6 10<sup>-3</sup> mmol). The reaction mixture was stirred 24 hours at 0°C and then 24h at room temperature. After concentration under reduced pressure, purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 1/1 + εEt<sub>3</sub>N) afforded the desired compound **114** (71.3 mg, 51 %) as a colorless oil.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -10 (c = 0.78, MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ ppm 1.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub> isoprop), 1.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub> isoprop), 3.37 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.81-3.84 (m, 2H, H3 and H4), 3.89-3.93 (m, 2H, H2 and H6a), 4.06 (dd, 1H, J<sub>5-6b</sub>~6.4 and J<sub>6a-6b</sub>~8.4 Hz, H6b), 4.21-4.26 (m, 1H, H5), 4.76 (d, 1H, J<sub>1-2</sub>~1.6 Hz, H1).

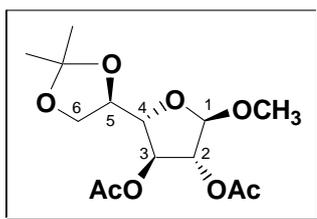
<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ ppm 25.7 (CH<sub>3</sub> isoprop), 26.7 (CH<sub>3</sub> isoprop), 55.3 (OCH<sub>3</sub>), 66.4 (C6), 77.6 (C5), 79.3 (C3), 83.4 (C2), 84.7 (C4), 110.5 (C1), 110.7 (Cq isoprop).

(+) MS (ESI) : m/z = 252.0 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 257.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3426, 2987, 2925, 1685, 1455, 1373, 1260, 1218, 1156, 1056.

TLC (EtOAc/PE 2/1) : R<sub>f</sub> = 0.26.

<sup>397</sup> Rao, A. S.; Roy, N., *Carbohydr. Res.* **1977**, 59, 393-401.

**Methyl 2,3-O-acetyl-5,6-O-isopropylidene-β-D-galactofuranoside 115**Formula: C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 318.32

To a solution of compound **114** (60.3 mg, 0.257 mmol) in pyridine (1.5 mL) was added acetic anhydride (0.97 mL, 1.03 mmol, 4 equiv.). Then, the reaction mixture was stirred overnight at room temperature. After three coevaporations with toluene, purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 8/2 + εEt<sub>3</sub>N) afforded the desired compound **115** (80.95 mg, 98%) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} = -58$  ( $c = 0.56$ , MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 1.38 (s, 3H, CH<sub>3</sub> isoprop), 1.44 (s, 3H, CH<sub>3</sub> isoprop), 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 2.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.41 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.86 (dd, 1H,  $J_{5-6a} \sim 6.4$  and  $J_{6a-6b} \sim 8.4$  Hz, H<sub>6a</sub>), 4.05-4.10 (m, 2H, H<sub>4</sub> and H<sub>6b</sub>), 4.34 (q, 1H,  $J_{5-6} \sim 6$  Hz, H<sub>5</sub>), 4.94 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 5.01 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 1.2$  Hz, H<sub>2</sub>), 5.03-5.04 (m, 1H, H<sub>3</sub>).

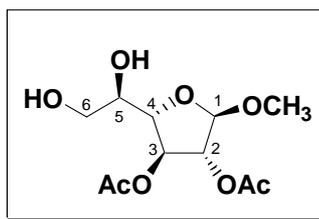
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 20.86 (CH<sub>3</sub> OAc), 20.93 (CH<sub>3</sub> OAc), 25.3 (CH<sub>3</sub> isoprop), 26.4 (CH<sub>3</sub> isoprop), 55.1 (OCH<sub>3</sub>), 66.6 (C<sub>6</sub>), 75.5 (C<sub>5</sub>), 77.1 (C<sub>4</sub>), 81.7 (C<sub>2</sub>), 82.7 (C<sub>3</sub>), 106.8 (C<sub>1</sub>), 110.0 (C<sub>q</sub> isoprop), 169.8 (C=O), 170.2 (C=O).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 319$  [M+H]<sup>+</sup>, 336.5 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 341.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>NaO<sub>8</sub>: calcd :  $m/z = 341.1212$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 341.1219$  [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3375, 1685, 1623, 1437, 1239, 1044, 906.

TLC (EtOAc/PE 3/7) : R<sub>f</sub> = 0.47.

**Methyl 2,3-O-acetyl-β-D-galactofuranoside 116**Formula: C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 278.26

Compound **115** (28.5 mg, 0.09 mmol) was dissolved in 50% Acetic acid solution (2.45 mL, AcOH:H<sub>2</sub>O:THF 3:2:1). The reaction mixture was stirred 7h at 50°C. After concentration under reduced pressure, purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 1/1) afforded the desired compound **116** (23.9 mg, 96 %) as a colorless oil.

Note: This compound may be obtained from compound **114** (699 mg, 2.86 mmol) without purification of isopropylidene diacetate **115**. The two-steps sequence afforded desired compound in 81% yield (590 mg).

$[\alpha]_D^{25} = -99$  ( $c = 1.73$ , MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.07 (s, 6H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.37 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.62 (d, 2H,  $J_{5-6} \sim 6.4$  Hz, H6), 3.81 (dt, 1H,  $J_{5-6} \sim 6.4$  and  $J_{4-5} \sim 2.8$  Hz, H5), 4.13 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 6$  and  $J_{4-5} \sim 2.8$  Hz, H4), 4.93 (s, 1H, H1), 4.97 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 2$  Hz, H2), 5.20 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 6$  and  $J_{2-3} \sim 1.6$  Hz, H3).

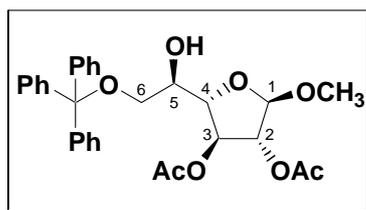
<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$  ppm 20.6 (CH<sub>3</sub> OAc), 54.9 (OCH<sub>3</sub>), 64.1 (C6), 71.8 (C5), 78.5 (C3), 83.0 (C2), 83.2 (C4), 107.9 (C1), 171.7 (C=O), 172.0 (C=O).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 296.0$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 301.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>8</sub>: calcd :  $m/z = 301.0899$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 301.0905$  [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3448, 2937, 2837, 1742, 1438, 1373, 1239, 1108, 1067, 1044, 990.

TLC (EtOAc/PE 3/7) : R<sub>f</sub> = 0.11.

**Methyl 2,3-O-acetyl-6-O-triphenylmethyl-β-D-galactofuranoside 117**Formula: C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 520.57

Compound **116** (101.7 mg, 0.37 mmol) was dissolved in pyridine (1.5 mL) and triphenylmethylchloride (156 mg, 0.56 mmol, 1.5 equiv.) was added. The reaction mixture was stirred 16h at 60°C. After concentration under reduced pressure, purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 4/1) afforded desired compound **117** (132.2 mg, 69 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -35$  ( $c = 0.76$ , MeOH).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 2.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.21-3.30 (m, 2H, H6), 3.33 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.91 (dt, 1H,  $J_{5-6} \sim 6.4$  and  $J_{4-5} \sim 2.8$  Hz, H5), 4.28 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 6$  and  $J_{4-5} \sim 2.8$  Hz, H4), 4.89 (s, 1H, H1), 4.98 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 1.6$  Hz, H2), 5.20 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 6$  and  $J_{2-3} \sim 1.6$  Hz, H3), 7.20-7.30 (m, 9H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.38-7.48 (m, 6H, CH<sub>Ar</sub>'s).

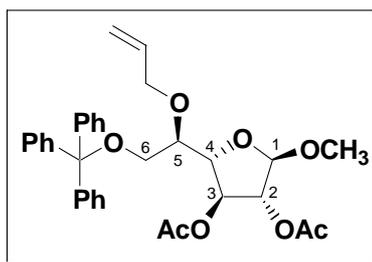
**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 20.6 (CH<sub>3</sub> OAc), 20.7 (CH<sub>3</sub> OAc), 55.0 (OCH<sub>3</sub>), 65.7 (C6), 70.0 (C5), 78.5 (C3), 83.16 (C2), 83.22 (C4), 88.0 (Cq), 107.8 (C1), 128.1 (CH<sub>Ar</sub>'s), 128.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 129.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 145.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 171.6 (C=O), 172.0 (C=O).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 539.0$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 543.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Anal. Calcd. for C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>8</sub>**: C, 69.22; H, 6.20. Found: C, 69.53; H, 6.60.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3508, 2933, 1732, 1493, 1449, 1372, 1107, 1064.

**TLC (EtOAc/PE 3/7)** : R<sub>f</sub> = 0.43.

**Methyl 2,3-O-acetyl-5-O-allyl-6-O-triphenylmethyl-β-D-galactofuranoside 118**Formula: C<sub>33</sub>H<sub>36</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 560.63

Compound **117** (92.3 mg, 0.177 mmol) was dissolved in toluene (1.8 mL) then silver oxide (82.2 mg, 0.354 mmol, 2 equiv.), potassium iodide (59 mg, 0.354 mmol, 2 equiv.) and allyl bromide (46.2 μL, 0.531 mmol) were added. The reaction mixture was stirred 4 days at 80°C. After filtration through a celite pad and concentration under reduced vacuum, purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 9/1) afforded desired compound **118** (23 mg, 23 %).

A solution of compound **117** (100 mg, 0.19 mmol) in THF was submitted to 3 freeze-pump-thaw cycles and placed under Ar atmosphere. Then Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (5.5 mg, 2.5 mol%) and then methyl allyl carbonate (64.4 μL, 0.57 mmol, 3 equiv.) were added. The reaction mixture was stirred 3h at 65°C, and then 2 equivalents of methyl allyl carbonate (43 μL, 0.38 mmol) were added. The crude mixture was then concentrated under reduced pressure and purified by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 9/1). Desired compound **118** was obtained as a colorless oil (73.1 mg, 68 %).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -32$  ( $c = 0.76$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.30 (dd, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 9.2$  and  $J_{5-6a} \sim 6.4$  Hz, H6a), 3.33 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.42 (dd, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 9.2$  and  $J_{5-6b} \sim 6$  Hz, H6b), 3.68 (ddd, 1H,  $J_{4-5} \sim 9.2$ ,  $J_{5-6b} \sim 6$  and  $J_{5-6a} \sim 6.4$  Hz, H5), 4.03-4.08 (ddt, 1H,  $J \sim 1.2$ , 6 and 12.8 Hz, CH<sub>2</sub>CH=), 4.18-4.24 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH= and H4), 4.89 (s, 1H, H1), 5.02 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 1.6$  Hz, H2), 5.12-5.15 (m, 1H, CH<sub>2a</sub>=), 5.20 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 6$  and  $J_{2-3} \sim 1.6$  Hz, H3), 5.25 (ddd, 1H,  $J_{\text{CH}2b\text{-CH}2} \sim 1.6$ ,  $J_{\text{CH}2a\text{-CH}2b} \sim 3.2$  and  $J_{\text{CH}2b\text{-CH}=} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2b</sub>=), 5.89 (ddt, 1H,  $J_{\text{CH}2\text{-CH}=} \sim 6$ ,  $J_{\text{CH}2a\text{-CH}=} \sim 10.4$  and  $J_{\text{CH}2b\text{-CH}=} \sim 17.2$  Hz, CH=), 7.23-7.31 (m, 9H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.43-7.45 (m, 6H, CH<sub>Ar</sub>'s).

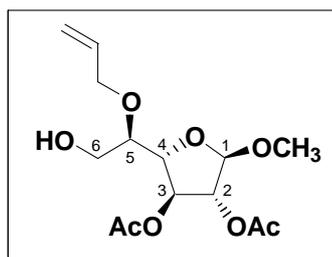
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 21.0 (CH<sub>3</sub> OAc), 21.1 (CH<sub>3</sub> OAc), 54.9 (OCH<sub>3</sub>), 63.1 (C6), 72.8 (OCH<sub>2</sub>CH=), 76.4 (C5), 77.0 (C3), 81.6 (C4), 82.2 (C2), 87.1 (Cq), 106.5 (C1), 117.4 (CH<sub>2</sub>=), 127.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 128.0 (CH<sub>Ar</sub>'s), 128.8 (CH<sub>Ar</sub>'s), 134.9 (CH=), 144.1 (Cq<sub>Ar</sub>), 170.2 (C=O), 170.4 (C=O).

**(+) MS (ESI) :**  $m/z = 578.5 [M+NH_4]^+$ ,  $583.5 [M+Na]^+$ .

**Anal. Calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>36</sub>O<sub>8</sub>:** C, 70.70; H, 6.47. Found: C, 70.50; H, 6.70.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3059, 2930, 1743, 1491, 1449, 1371, 1241, 1107, 1065.

**TLC (PE/EtOAc 8/2) :** R<sub>f</sub> = 0.76.

**Methyl 2,3-O-acetyl-5-O-allyl-β-D-galactofuranoside 119**Formula: C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 318.32

Compound **118** (89.9 mg, 0.160 mmol) was dissolved in 80% acetic acid (824 μL). The reaction mixture was stirred 1h30 at 70°C. After addition of 5 mL of water, organic layer was extracted with EtOAc, and then washed with an aqueous solution of sodium hydrogenocarbonate and water. The organic layers were dried over sodium sulfate and solvent were evaporated. Purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 6/4) afforded desired compound **119** (36.5 mg, 72 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -64$  ( $c = 0.62$ , CHCl<sub>3</sub>).

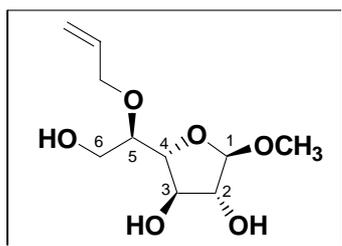
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ ppm 2.10 (s, 6H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.72-3.81 (m, 3H, H6 and H5), 4.18-4.27 (m, 3H, CH<sub>2</sub>CH= and H4), 4.95 (s, 1H, H1), 5.03 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 1.6$  Hz, H2), 5.23-5.30 (m, 2H, CH<sub>2a</sub>= and H3), 5.33 (ddd, 1H,  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}_2} \sim 1.6$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}_{2b}} \sim 2.8$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2b</sub>=), 5.89 (ddt, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}} \sim 6$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}} \sim 10.4$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}} \sim 17.2$  Hz, CH=).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm 20.95 (CH<sub>3</sub> OAc), 20.97 (CH<sub>3</sub> OAc), 55.0 (OCH<sub>3</sub>), 62.1 (C6), 72.5 (OCH<sub>2</sub>CH=), 77.1 (C3), 77.6 (C5), 81.8 (C4), 82.5 (C2), 106.7 (C1), 117.6 (CH<sub>2</sub>=), 134.7 (CH=), 170.1 (C=O), 170.4 (C=O).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 336.0$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 341.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3400, 2925, 1739, 1644, 1371, 1232, 1108.

TLC (PE/EtOAc 8/2) : R<sub>f</sub> = 0.14.

**Methyl 5-O-allyl-β-D-galactofuranoside 120**Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 234.25

To a solution of compound **119** (35 mg, 0.11 mmol) in MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1/1 2 mL) was added few drops of a solution of MeONa until pH 9-10. The reaction mixture was stirred 2h at room temperature. After an addition of few drops of AcOH solvent evaporation afford yellow crude product. Purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 1/4) afforded desired compound **120** (25.5 mg, 99 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -107$  ( $c = 0.46$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.51-3.59 (m, 1H, H5), 3.71 (d, 2H,  $J \sim 5.6$  Hz, H6), 3.91-3.96 (m, 3H, H2, H3 and H4), 4.16-4.28 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=), 4.73 (d, 1H,  $J_{1-2} \sim 2$  Hz, H1), 5.15-5.18 (m, 1H, CH<sub>2a</sub>=), 5.31 (ddd, 1H,  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}_2} \sim 1.6$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}_{2b}} \sim 3.2$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH=}} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2b</sub>=), 5.98 (ddt, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH=}} \sim 6$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH=}} \sim 10.4$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH=}} \sim 17.2$  Hz, CH=).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 55.37 (OCH<sub>3</sub>), 62.5 (C6), 73.5 (OCH<sub>2</sub>CH=), 78.7 (C5), 80.3 (C4), 83.4 (C3), 84.0 (C2), 110.3 (C1), 117.5 (CH<sub>2</sub>=), 136.3 (CH=).

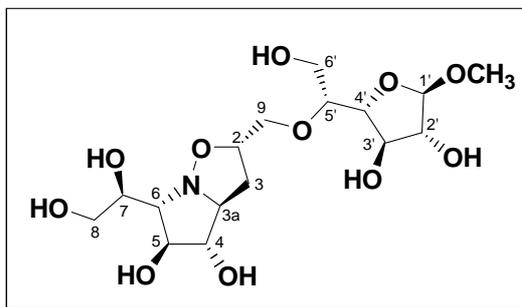
(+) MS (ESI) :  $m/z = 252$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 257 [M+Na]<sup>+</sup>.

Anal. Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>: C, 51.27; H, 7.75. Found: C, 51.39; H, 7.91.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3384, 2922, 2851, 2361, 1652, 1455, 1427, 1102, 1045, 1022.

TLC (PE/EtOAc 2/8) : R<sub>f</sub> = 0.4.

**Methyl 5-O-[(2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-4,5-dihydroxy-6-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]hexahydropyrrolo-[1,2-b]-isoxazole-2-ylmethyl]-β-D-galactofuranoside 121**

Formula: C<sub>16</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>11</sub>

Mol. Wt.: 411.40

To a solution of nitrone **82** (47 mg, 0, 26 mmol, 1.6 equiv.) in water (3 mL), was added 5-*O*-allyl-β-D galactofuranoside (99.6 mg, 0.42 mmol). The mixture was stirred 5 days at 60°C and was then concentrated under reduced pressure. Purification on silica gel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 7/4/0.1) afforded desired compound **121** (77.3 mg, 72%) as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -22$  ( $c = 0.55$ , MeOH).

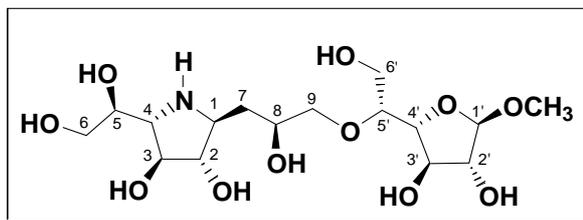
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ ppm 2.12-2.20 (m, 1H, H3A), 2.27 (ddd, 1H,  $J \sim 2.3, 5.6$  and 12.2 Hz, H3B), 3.08 (dd, 1H,  $J \sim 2.3$  and 8.8 Hz, H6), 3.35 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.44-3.49 (m, 1H, H3a), 3.60 (dd, 1H,  $J \sim 5.5$  and 9.8 Hz, H5'), 3.61-3.66 (m, 6H, H7, H9a, H8 and H6'), 3.78 (t, 1H,  $J \sim 7.3$  Hz, H4), 3.87-3.97 (m, 4H, H2', H3', H5 and H9b), 3.99-4.01 (dd, 1H,  $J \sim 3.3$  and 6.3 Hz, H4'), 4.29-4.35 (m, 1H, H2), 4.75 (d, 1H,  $J_{1',2'} \sim 1.2$  Hz, H1').

<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ ppm 37.3 (C3), 55.3 (OCH<sub>3</sub>), 62.6 (C6' or C8), 65.2 (C6' or C8), 69.4 (C3a), 71.2 (C7), 72.1 (C6), 72.8 (C9), 76.4 (C5), 76.7 (C2), 78.8 (C4'), 81.6 (C4), 81.7 (C5), 83.1 (C2'), 84.4 (C3'), 110.3 (C1').

(+) MS (ESI) :  $m/z = 412$  [M+H]<sup>+</sup>, 434 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>11</sub>: calcd :  $m/z = 412.1819$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 412.1832$  [M+H]<sup>+</sup>.

TLC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 7/4/0.6) : R<sub>f</sub> = 0.33.

**Methyl 5-C-[(2S)-2-hydroxy-3-(1-(R)-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-galactit-1-yl)-propyl]-β-D-galactofuranoside 122**Formula: C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>11</sub>

Mol. Wt.: 413.42

To a solution of cycloadduct **121** (18.6 mg, 0, 045 mmol) in water (0.5 mL), was added Raney Ni (~20 mg wet). The mixture was stirred overnight at room temperature. Filtration over celite and concentration under reduced pressure afford crude compound **122**. Purification on silica gel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 7/4/0.6) and then on C18-silica (H<sub>2</sub>O) afforded desired compound **122** (17 mg, 91%) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} = -45$  ( $c = 0.49$ , H<sub>2</sub>O).

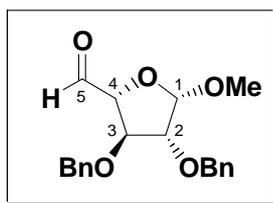
**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.78-1.92 (m, 2H, H7), 3.18 (dd, 1H,  $J \sim 4.4$  and 7.2 Hz, H4), 3.28-3.33 (m, 1H, H1), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.81-3.2 (m, 9H, H2, H9, H6, H6', H5 and H3' or H4'), 3.92-3.98 (m, 5H, H3, H8, H2', H5' and H3' or H4'), 4.75 (d, 1H,  $J_{1-2} \sim 1.2$  Hz, H1').

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 36.5 (C7), 55.2 (OCH<sub>3</sub>), 60.3 (C1), 62.5 (C6' or C6), 64.2 (C4), 65.3 (C6 or C6'), 69.2 (C8), 71.2 (C5), 76.8 (C9), 78.4 (C3), 79.0 (C2' or 3' or 4' or 5'), 81.4 (C2), 82.1 (C3' or 4'), 83.5 (C2' or 3' or 4' or 5'), 84.4 (C2' or 3' or 4' or 5'), 110.4 (C1').

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 414$  [M+H]<sup>+</sup>, 436 [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>NO<sub>11</sub>: calcd :  $m/z = 414.1975$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 414.1995$  [M+H]<sup>+</sup>.

**TLC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 7/4/0.6)** : R<sub>f</sub> = 0.06.

**Methyl 2,3-di-O-benzyl-β-L-arabinopentadialdofuranoside 123**Formula: C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>

Mol. Wt.: 342.39

To a solution of methyl-2,3-*O*-benzylarabinofuranoside **101** (167 mg, 0.485 mmol) in dichloromethane (13.6 mL) were added pyridine (0.624 mL) and then Dess-martin periodinane (416 mg, 0.97 mmol, 2 equiv.). The mixture was stirred during 4 hours at room temperature and the quenched by adding saturated aqueous solution of ammonium chloride. Organic layer was extracted with diethyl ether, washed with brine and dried over sodium sulfate. Solvents were evaporated and after purification on silica gel (PE/EtOAc 6/4) aldehyde **123** (120 mg, 72%) was obtained as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -21$  ( $c = 1.20$ , CHCl<sub>3</sub>).

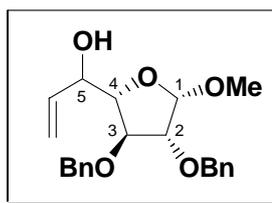
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)  $\delta$  ppm 3.34 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.90 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 1$  Hz, H2), 3.95 (m, 1H,  $J_{2-3} \sim 1.2$  and  $J_{3-4} \sim 4.1$  Hz, H3), 4.32 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.40 (dd, 1H,  $J_{4-5} \sim 1.2$  and  $J_{3-4} \sim 4.1$  Hz, H4), 4.50 (q, 2H,  $J \sim 12.2$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.99 (s, 1H, H1), 7.14-7.26 (m, 10H, CH<sub>Ar's</sub>), 9.55 (d, 1H,  $J_{4-5} \sim 1.2$  Hz, H5).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)  $\delta$  ppm 55.5 (CH<sub>3</sub>), 71.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 83.3 (C3), 85.8 (C2), 87.4 (C4), 108.4 (C1), 127.9-128.6 (CH<sub>Ar's</sub>), 137.0 (C<sub>qAr</sub>), 137.1 (C<sub>qAr</sub>), 200.5 (C5).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 365.5$  [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3449, 2929, 1655, 1455, 1267, 1112, 1051, 948.

TLC (PE/EtOAc 1/1) : R<sub>f</sub> = 0.3.

**Methyl (5*R* or *S*)-2,3-di-*O*-benzyl-5-*C*-vinyl-β-*L*-arabinofuranoside 124**Formula: C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>

Mol. Wt.: 370.44

To a solution of methyl-2,3-*O*-benzylarabinofuranoside **101** (230 mg, 0.67 mmol) in dichloromethane (18 mL) were added pyridine (0.86 mL) and then Dess-martin periodinane (430 mg, 1.00 mmol, 1.5 equiv.). The mixture was stirred during 5 hours at room temperature and then quenched by adding saturated aqueous solution of ammonium chloride. Organic layer was extracted with diethyl ether washed with brine and dried over sodium sulfate. Solvents were evaporated and after filtration on silica gel (PE/ EtOAc 6/4) corresponding aldehyde was obtained.

To a solution of aldehyde **123** in THF (3.34 mL) was added, at 0°C, a solution of vinylmagnesium bromide (2 mL, 1M in THF). After stirring 3 hours at 0°C and one night at room temperature, the reaction was quenched by adding saturated aqueous solution of ammonium chloride. Organic layer was extracted with ethyl acetate washed with brine and dried over sodium sulfate. Solvents were evaporated and after purification on silica gel afforded compound **124** (130 mg, 52% 2 steps) as a mixture of 2 diastereoisomers (ratio : 0.28/0.72).

**Methyl (5*S*)-2,3-di-*O*-benzyl-5-*C*-vinyl-β-*L*-arabinofuranoside 124a**

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -74$  ( $c = 2.02$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ ppm 2.43 (brs, 1H, OH), 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.94 (d, 1H,  $J \sim 1$  Hz, H<sub>2</sub>), 3.97-3.99 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 4.14 (dd, 1H,  $J_{4-5} \sim 3.2$  and  $J_{3-4} \sim 4.8$  Hz, H<sub>4</sub>), 4.37-4.44 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 4.44-4.49 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.97 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 5.21 (dt, 1H,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}_{2b}} \sim 1.7$  and  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}} \sim 10.6$  Hz, CH<sub>2a</sub>=CH), 5.40 (dd, 1H,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}_{2b}} \sim 1.7$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2b</sub>=CH), 5.82 (ddd, 1H,  $J_{5\text{-CH}} \sim 5.1$ ,  $J_{\text{CH}_{2a}\text{-CH}} \sim 10.6$  and  $J_{\text{CH}_{2b}\text{-CH}} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2</sub>=CH) 7.26-7.37 (m, 10H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 62.5 MHz)** δ ppm 55.0 (CH<sub>3</sub>), 71.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (C<sub>5</sub>), 72.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 81.2 (C<sub>3</sub>), 85.8 (C<sub>4</sub>), 86.7 (C<sub>2</sub>), 107.6 (C<sub>1</sub>), 116.7 (CH<sub>2</sub>=CH), 128.0-128.6 (CH<sub>Ar</sub>'s), 135.8 (CH<sub>2</sub>=CH), 137.3 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 393.5$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3443, 2930, 2112, 1665, 1454, 1391, 1109.

**TLC (PE/EtOAc 8/2) : Rf = 0.34.**

**Methyl (5R)-2,3-di-O-benzyl-5-C-vinyl-β-L-arabinofuranoside 124b**

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -77$  ( $c = 0.87$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm** 2.36 (d, 1H,  $J_{5\text{-OH}} \sim 6.6$  Hz OH), 3.36 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.96-3.98 (m, 2H, H2 and H3), 4.05 (dd, 1H,  $J_{4\text{-5}} \sim 4.4$  and  $J_{3\text{-4}} \sim 5.6$  Hz, H4), 4.13-4.18 (m, 1H, H5), 4.45-4.58 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.95 (s, 1H, H1), 5.17 (dt, 1H,  $J_{\text{CH}_{2\text{a}}\text{-CH}_{2\text{b}}} \sim 1.4$  and  $J_{\text{CH}_{2\text{a}}\text{-CH}=\text{CH}} \sim 10.5$  Hz,  $\text{CH}_{2\text{a}}=\text{CH}$ ), 5.32 (d, 1H,  $J_{\text{CH}_{2\text{a}}\text{-CH}_{2\text{b}}} \sim 1.4$  and  $J_{\text{CH}_{2\text{b}}\text{-CH}=\text{CH}} \sim 17.2$  Hz,  $\text{CH}_{2\text{b}}=\text{CH}$ ), 5.88 (ddd, 1H,  $J_{5\text{-CH}} \sim 5.7$ ,  $J_{\text{CH}_{2\text{a}}\text{-CH}=\text{CH}} \sim 10.6$  and  $J_{\text{CH}_{2\text{b}}\text{-CH}=\text{CH}} \sim 17.1$  Hz,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ) 7.23-7.37 (m, 10H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ 's).

**$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm** 54.9 ( $\text{CH}_3$ ), 71.9 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 72.3 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 72.6 (C5), 83.2 (C2 or C3), 84.6 (C4), 87.3 (C2 or C3), 107.4 (C1), 116.5 ( $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 128.0-128.5 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ 's), 137.1 ( $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 137.3 ( $\text{C}_{\text{qAr}}$ ), 137.6 ( $\text{C}_{\text{qAr}}$ ).

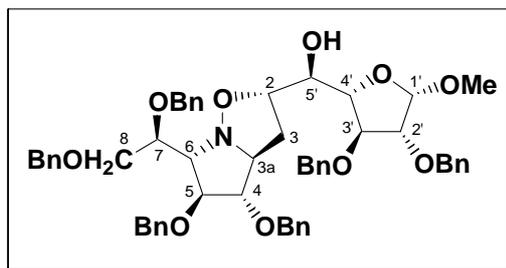
(+) **MS (ESI) :  $m/z = 393.5$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .**

**HRMS (ESI)  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{NaO}_5$ : calcd :  $m/z = 393.1678$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , found :  $m/z = 393.1687$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .**

**IR ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ )** 3457, 2916, 2869, 2601, 1645, 1497, 1455, 1366, 1104, 1047.

**TLC (PE/EtOAc 8/2) : Rf = 0.26.**

**Methyl-(5S)-2,3-di-O-benzyl-5-C-[(2S, 3aS, 4S, 5S, 6S)-4,5-dibenzyl-6-[1(S)-1,2-dibenzyl-ethyl]hexahydropyrrolo-[1,2-b]-isoxazol-2-yl]-β-L-arabinofuranoside 125**

Formula: C<sub>56</sub>H<sub>61</sub>NO<sub>10</sub>

Mol. Wt.: 908.08

To a solution of vinyl alcohol compound **124** (178 mg, 0.48 mmol, 1.2 equiv.) in toluene (6.4 mL) was added nitron (215 mg, 0.40 mmol). The mixture was stirred overnight at 110°C. The brown mixture was then concentrated and purification on silica gel (PE/EtOAc 4/1, 3/1 to 7/3) afforded cycloadduct product **125** (232 mg, 64%) as a yellow oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -10$  ( $c = 1.57$ , CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm 2.01-2.07 (m, 1H, H<sub>3A</sub>), 2.13-2.20 (m, 1H, H<sub>3B</sub>), 2.50 (d, 1H,  $J_{5\text{-OH}} \sim 7.1$  Hz, OH), 3.25 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.27 (d, 1H,  $J \sim 7.3$  Hz, H<sub>6</sub>), 3.47-3.54 (m, 1H, H<sub>5'</sub>), 3.61-3.54 (m, 1H, H<sub>3a</sub>), 3.70-2.76 (m, 3H, H<sub>3'</sub>, H<sub>8</sub>), 3.82 (t, 1H,  $J \sim 5.4$  Hz, H<sub>4</sub>), 3.88 (dd, 1H,  $J \sim 1.6$  and 2.8 Hz, H<sub>2'</sub>), 3.92 (dd, 1H,  $J \sim 3.1$  and 6.4 Hz, H<sub>4'</sub>), 3.98-4.02 (m, 2H, H<sub>7</sub> and H<sub>5</sub>), 4.09-4.14 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 4.27 (d, 1H,  $J \sim 11.5$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.38-4.50 (m, 10H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, 1H,  $J \sim 11.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.83 (s, 1H, H<sub>1'</sub>), 7.11-7.29 (m, 30H, CH<sub>Ar's</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm 37.0 (C<sub>3</sub>), 55.0 (CH<sub>3</sub>), 68.0 (C<sub>3a</sub>), 70.3 (C<sub>6</sub>), 71.9 (C<sub>5'</sub>), 71.98 (C<sub>8</sub>), 72.01 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (OCH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.6 (C<sub>3'</sub>), 76.9 (C<sub>2</sub>), 83.0 (C<sub>4'</sub>), 83.2 (C<sub>5</sub> or C<sub>7</sub>), 83.3 (C<sub>5</sub> or C<sub>7</sub>), 87.6 (C<sub>4</sub> or C<sub>2'</sub>), 87.6 (C<sub>4</sub> or C<sub>2'</sub>), 107.4 (C<sub>1'</sub>), 127.6-128.6 (CH<sub>Ar's</sub>), 137.5 (C<sub>qAr</sub>), 137.8 (C<sub>qAr</sub>), 137.9 (C<sub>qAr</sub>), 138.1 (C<sub>qAr</sub>), 138.6 (C<sub>qAr</sub>), 138.7 (C<sub>qAr</sub>).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 908.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

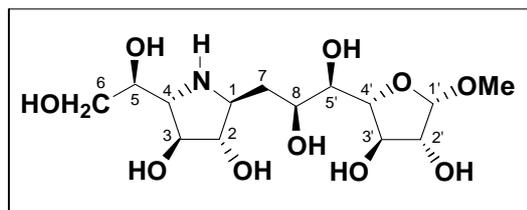
Anal. Calcd. for C<sub>56</sub>H<sub>61</sub>NO<sub>10</sub>: C, 74.07; H, 6.77; N, 1.54. Found: C, 74.24; H, 6.70; N, 1.53.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3340, 3063, 3030, 2909, 2867, 1496, 1454, 1365, 1103, 1028.

TLC (PE/EtOAc 7/3) : R<sub>f</sub> = 0.4.



**Methyl 7,8,11-trideoxy-8,11-imino- $\alpha$ -D-threo-L-galacto-D-gulo-trideco-1,4-furanoside**  
**127**

Formula: C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>10</sub>

Mol. Wt.: 369.36

To a solution of compound **126** (99 mg, 0.109 mmol) in MeOH (1 mL) was added Raney Ni (~300 mg). The mixture was stirred 24 hours at 40°C then more Raney Ni (~600 mg) was added. The discolored mixture was stirred during 48 hours at 40°C. The black mixture was then filtered through Millipore and washed with water. The light yellow mixture was then concentrated and purification on reversed phase silica gel (water) afforded product **127** (27.5 mg, 68%) as a colorless oil.

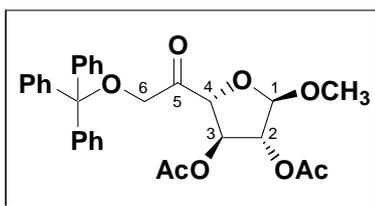
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -56$  ( $c = 1.46$ , H<sub>2</sub>O).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.71-1.79 (m, 1H, H7a), 1.86-1.95 (m, 1H, H7b), 2.98 (dd, 1H,  $J_{3-4} \sim 4.4$  and  $J_{4-5} \sim 7.2$  Hz, H4), 3.13-3.18 (m, 1H, H1), 3.37 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.53-3.72 (m, 5H, H6, H2, H3 and H5'), 3.88-3.94 (m, 3H, H8, H5 and H2'), 4.02-4.07 (m, 2H, H3' and H4'), 4.78 (d, 1H,  $J_{1'-2'} \sim 0.8$  Hz, H1').

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 37.4 (C7), 55.4 (CH<sub>3</sub>), 60.1 (C1), 63.9 (C4), 65.4 (C6), 71.3 (C8), 72.5 (C3), 74.6 (C5'), 79.1 (C3' or C4'), 79.5 (C5), 82.7 (C2), 83.1 (C2'), 84.5 (C3' or C4'), 110.6 (C1').

(+) MS (ESI) :  $m/z = 370$  [M+H]<sup>+</sup>, 392 [M+Na]<sup>+</sup>.

HRMS (ESI) C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>10</sub>: calcd :  $m/z = 370.1713$  [M+H]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 370.1714$  [M+H]<sup>+</sup>.

**Methyl 2,3-di-O-acetyl-6-O-triphenylmethyl-β-L-arabino-hexo-5-ulo-1,4-furanoside 128**Formula: C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 518.55

To a solution of alcohol **117** (135.7 mg, 0.26 mmol) in dichloromethane (2.6 mL) was added 4 angstrom molecular sieves (600 mg), NMO (61 mg, 0.52 mmol, 2 equiv.) and TPAP (9.1 mg, 0.026 mmol, 0.1 equiv.). After stirring for 2 hours at room temperature, the reaction mixture was filtered through celite and the filtrate was concentrated. Purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 85/15) afforded compound **128** as a colorless oil (102 mg, 76%).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -35$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 1.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 2.04 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.37 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.03 and 4.12 (2d, 2H,  $J \sim 18$  Hz, H6), 4.69 (d, 1H,  $J_{4-3} \sim 4.4$  Hz, H4), 4.91 (s, 1H, H1), 4.95 (d, 1H,  $J_{2-3} \sim 0.8$  Hz, H2), 5.14-5.16 (m, 1H, H3), 7.25-7.34 (m, 9H, CH<sub>Ar's</sub>), 7.45-7.47 (m, 6H, CH<sub>Ar's</sub>).

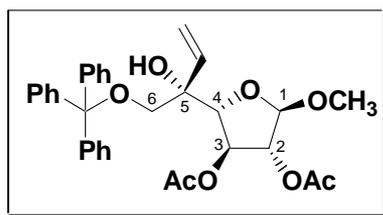
**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 20.8 (CH<sub>3</sub> OAc), 20.9 (CH<sub>3</sub> OAc), 55.5 (OCH<sub>3</sub>), 68.1 (C6), 77.5 (C3), 80.2 (C2), 84.5 (C4), 87.7 (Cq), 107.6 (C1), 127.5 (CH<sub>Ar's</sub>), 128.2 (CH<sub>Ar's</sub>), 128.7 (CH<sub>Ar's</sub>), 143.3 (Cq<sub>Ar</sub>), 169.5 (C=O), 169.9 (C=O), 202.6 (C5).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 541.5$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>NaO<sub>8</sub>: calcd :  $m/z = 541.1838$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 541.1835$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3422, 1745, 1641, 1491, 1449, 1372, 1217, 1112, 1071.

**TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 8/2)** : R<sub>f</sub> = 0.4.

**Methyl 2,3-O-acetyl-6-O-triphenylmethyl-5-C-vinyl- $\alpha$ -L-altrofuranoside 129**Formula: C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 546,61

To a solution of CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O (445 mg, 1.19 mmol, 6.3 equiv., dried overnight under high vacuum) in THF (2.5 mL) was added dropwise at -78°C a solution of vinyl magnesium bromide. The mixture was stirred at -78°C for 4 hours and a solution of ketone **128** (100 mg, 0.19 mmol) in THF (1 mL) was added. After stirring for 2 hours at -78°C, 144 μL of AcOH was added. The reaction mixture was allowed to warm up to room temperature. The organic layer was extracted with EtOAc, washed with NaHCO<sub>3</sub> saturated aqueous solution twice and then with water and brine. Organic layers were dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 8/2) afforded compound **129** as a colorless oil (58.5 mg, 55%).

$[\alpha]_D^{25} = -47$  ( $c = 0.51$ , CHCl<sub>3</sub>).

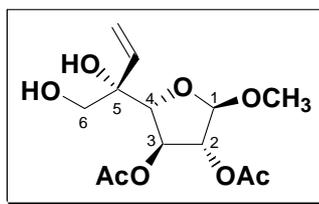
**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.10 (d, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 9.2$  Hz, H6a), 3.26 (d, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 9.2$  Hz, H6b), 3.34 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.41 (d, 1H,  $J_{3-4} \sim 5.2$  Hz, H4), 4.80 (s, 1H, H1), 4.95 (s, 1H, H2), 5.10 (d, 1H,  $J_{3-4} \sim 5.2$  Hz, H3), 5.27 (dd, 1H,  $J_{=CH_{2a}-CH_{2b}} \sim 1.2$  and  $J_{=CH_{2a}-CH=} \sim 10.8$  Hz, CH<sub>2a</sub>=), 5.51 (dd, 1H,  $J_{=CH_{2a}-CH_{2b}} \sim 1.6$  and  $J_{=CH_{2b}-CH=} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2b</sub>=), 5.86 (dd, 1H,  $J_{=CH_{2a}-CH=} \sim 10.8$  and  $J_{=CH_{2b}-CH=} \sim 17.6$  Hz, CH=), 7.20-7.30 (m, 9H, CH<sub>Ar</sub>'s), 7.41-7.44 (m, 6H, CH<sub>Ar</sub>'s).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  ppm 20.8 (CH<sub>3</sub> OAc), 21.2 (CH<sub>3</sub> OAc), 54.9 (OCH<sub>3</sub>), 67.1 (C6), 75.2 (C3), 76.6 (C5), 81.9 (C2), 83.8 (C4), 86.8 (Cq), 106.5 (C1), 117.0 (CH<sub>2</sub>=), 127.2 (CH<sub>Ar</sub>'s), 128.0 (CH<sub>Ar</sub>'s), 128.9 (CH<sub>Ar</sub>'s), 136.8 (CH=), 143.8 (Cq<sub>Ar</sub>), 169.8 (C=O), 170.6 (C=O).

(+) MS (ESI) :  $m/z = 569.0$  [M+Na]<sup>+</sup>.

IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3432, 2925, 2360, 1745, 1449, 1239, 1110.

TLC (PE/EtOAc 8/2) : R<sub>f</sub> = 0.15.

**Methyl 2,3-O-acetyl-5-C-vinyl- $\alpha$ -L-altrofuranoside 130**Formula: C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub>

Mol. Wt.: 304,29

Compound **129** (52.9 mg, 0.094 mmol) was dissolved in 80% acetic acid (484  $\mu$ L). The reaction mixture was stirred 1h30 at 70°C. After addition of 5 mL of water, organic layer was extracted with EtOAc, and washed with aqueous solution of sodium hydrogenocarbonate and then water. Organic layers were dried over sodium sulfate and solvent was evaporated. Purification by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc 1/1) afforded desired compound **130** (20.3 mg, 71 %) as a colorless oil.

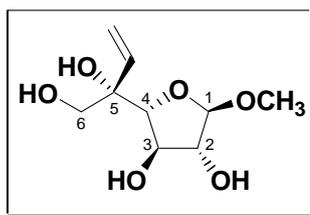
$[\alpha]_D^{25} = -40$  ( $c = 1.04$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ ppm 2.06 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 2.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub> OAc), 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.52 (d, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 11.2$  Hz, H6a), 3.59 (s, 1H, OH), 3.68 (d, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 10.8$  Hz, H6b), 4.16 (d, 1H,  $J_{3-4} \sim 4.8$  Hz, H4), 4.91 (s, 1H, H1), 4.97 (d, 1H,  $J_{3-4} \sim 4.8$  Hz, H3), 5.10 (s, 1H, H2), 5.34 (dd, 1H,  $J_{CH_{2a}-CH_{2b}} \sim 1.6$  and  $J_{CH_{2a}-CH=} \sim 10.8$  Hz, CH<sub>2a</sub>=), 5.57 (dd, 1H,  $J_{CH_{2b}-CH_{2a}} \sim 1.6$  and  $J_{CH_{2b}-CH=} \sim 17.2$  Hz, CH<sub>2b</sub>=), 5.93 (dd, 1H,  $J_{CH_{2a}-CH=} \sim 10.8$  and  $J_{CH_{2b}-CH=} \sim 17.2$  Hz, CH=).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ ppm 20.8 (CH<sub>3</sub> OAc), 21.2 (CH<sub>3</sub> OAc), 54.9 (OCH<sub>3</sub>), 66.7 (C6), 75.7 (C5), 77.3 (C3), 81.7 (C2), 84.8 (C4), 106.2 (C1), 117.3 (CH<sub>2</sub>=), 136.8 (CH=), 169.8 (C=O), 171.9 (C=O).

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3423, 2090, 2360, 1655, 1638.

**TLC (PE/EtOAc 1/1) : R<sub>f</sub> = 0.13.**

**Methyl 5-C-vinyl- $\alpha$ -L-altrofuranoside 131**Formula: C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>

Mol. Wt.: 220,22

To a solution of compound **130** (17 mg, 0.059 mmol) in MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1/1, 2 mL) was added few drops of a solution of MeONa until pH 9-10. The reaction mixture was stirred 4h at room temperature. After addition of few drops of AcOH, solvent evaporation afforded yellow crude product. Purification by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1) afforded desired compound **131** (14.1 mg, 99 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} = -86$  ( $c = 0.68$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)**  $\delta$  ppm 3.35 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.53 (d, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 11.2$  Hz, H<sub>6a</sub>), 3.60 (d, 1H,  $J_{6a-6b} \sim 11.2$  Hz, H<sub>6b</sub>), 3.93 (dd, 1H,  $J_{1-2} \sim 1.6$  and  $J_{2-3} \sim 3.2$  Hz, H<sub>2</sub>), 3.96 (d, 1H,  $J_{3-4} \sim 6.4$  Hz, H<sub>4</sub>), 4.06 (dd, 1H,  $J_{2-3} \sim 3.2$  and  $J_{3-4} \sim 6.4$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.72 (d, 1H,  $J_{1-2} \sim 1.2$  Hz, H<sub>1</sub>), 5.25 (dd, 1H,  $J_{=CH_{2a}-CH_{2b}} \sim 1.6$  and  $J_{=CH_{2a}-CH=} \sim 11.2$  Hz, CH<sub>2a</sub>=), 5.45 (dd, 1H,  $J_{=CH_{2a}-CH_{2b}} \sim 1.6$  and  $J_{=CH_{2b}-CH=} \sim 17.6$  Hz, CH<sub>2b</sub>=), 5.99 (dd, 1H,  $J_{=CH_{2a}-CH=} \sim 11.2$  and  $J_{=CH_{2b}-CH=} \sim 17.6$  Hz, CH=).

**<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)**  $\delta$  ppm 55.1 (OCH<sub>3</sub>), 67.4 (C<sub>6</sub>), 77.0 (C<sub>5</sub>), 78.3 (C<sub>3</sub>), 83.5 (C<sub>2</sub>), 86.4 (C<sub>4</sub>), 110.1 (C<sub>1</sub>), 116.1 (CH<sub>2</sub>=), 139.7 (CH=).

(+) **MS (ESI)** :  $m/z = 243.0$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)** C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>6</sub>: calcd :  $m/z = 243.0845$  [M+Na]<sup>+</sup>, found :  $m/z = 243.0859$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**IR (NaCl, cm<sup>-1</sup>)** 3388, 2926, 1103, 1018.

**TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1)** : R<sub>f</sub> = 0.24.

### III. INHIBITION ASSAY OF IMINO GALACTITOL DERIVATIVES FOR UDP-GALACTOPYRANOSE MUTASE FROM ESCHERICHIA COLI

**Enzyme:** UDP-galactopyranose mutase (UGM) was purified by following the previous report.<sup>81</sup>

**Inhibition assay:** The inhibition of the active form of UGM (UGMred) by the iminogalactitol derivatives was examined individually, along with the known inhibitor UDP as the positive control.<sup>109, 110</sup> The residual activity was calculated by dividing the conversion (%) in the presence of each inhibitor versus that in the absence of the inhibitor.

Two incubation conditions differing in the order of addition of the tested compound and sodium dithionite (a reductant to reduce UGM) were employed.

**Condition A:** UGM (4.7 µg/mL) was dissolved in 30 µL of 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5) and reduced by the addition of 10 µL of freshly prepared sodium dithionite solution (100 mM) in the same buffer. The inhibitor was pre-incubated with UGMred for 10 min at room temperature. After that, 20 µL of UDP-Galp (0.2 mM) was added as a substrate. The total volume of the reaction mixture was 80 µL and the concentrations of UGM, UDP-Galp, inhibitor, and sodium dithionite in the reaction mixture were 8.2 nM, 50 µM, 25 mM, and 12.5 mM, respectively. Samples containing 2.5 mM (instead of 25 mM) inhibitor were also examined under the identical conditions. The enzyme reaction was carried out at 37 °C for 2 min and the resulting mixture was immediately frozen by liquid nitrogen to terminate the reaction. The reaction mixture was analyzed by HPLC using C18 column (Microsorb-MV, Varian, 4.6 × 250 nm). A solution of 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) containing 2.5 mM tetrabutylammonium hydrogen sulfate (TBAHS) was used as mobile phase A and 50% acetonitrile in the same buffer containing 2.5 mM TBAHS was used as mobile phase B. The sample was eluted isocratically with mobile phase A containing 4% mobile phase B.<sup>398</sup> The detector was set at 262 nm and the flow rate was 0.55 mL/min. Under these conditions, UDP-Galp and UDP-Galf were eluted at 18.2 and 22.4 min, respectively.

**Condition B:** UGM (4.7 µg/mL) and the inhibitor were incubated in 30 µL of 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5) for 10 min at room temperature. To this solution was then added 10 µL of sodium dithionite (100 mM) and 20 µL of UDP-Galp (0.2 mM). The reaction was carried out and analyzed following the identical procedure as described for Condition A.

However, complications were noted during the analysis of **98**, **99**, and **57**, because of the overlapping of the substrate and/or product peaks with those of impurities in the samples. Thus, the inhibitor concentration was reduced to 2.5 mM in order to minimize the interference of impurity peaks.

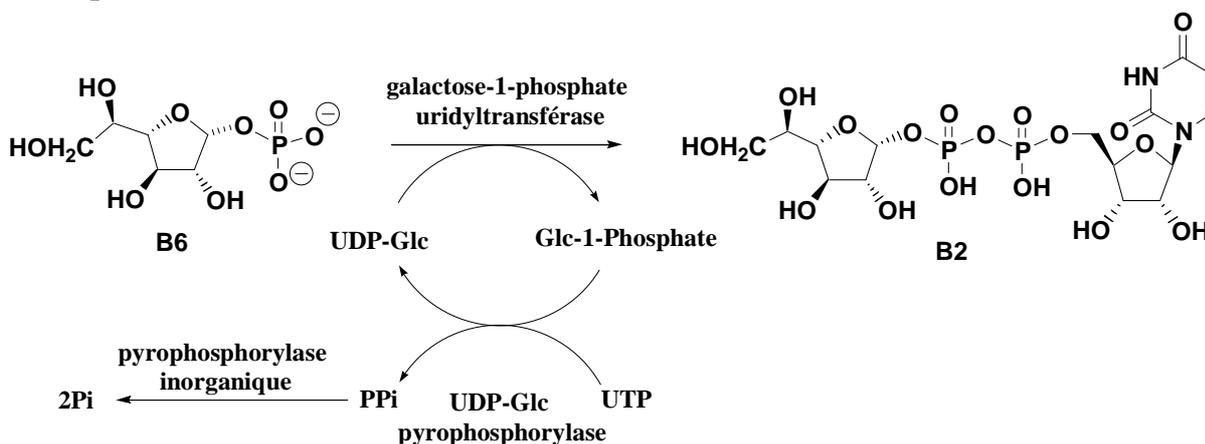
---

<sup>398</sup> Meynial, I.; Paquet, V.; Combes, D., *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1627-1631.

## IV. INHIBITION ASSAY OF IMINO GALACTITOL DERIVATIVES FOR GALACTOFURANOSYLTRANSFERASE 2 (GLFT2)

### IV.1. CHEMOENZYMATIC SYNTHESIS OF UDP-GALF

#### Principle:<sup>79</sup>



Production and immobilization of galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GalPUT) and glucose-1-phosphate uridylyltransferase (GalU) were made according to the reported procedure.<sup>79</sup> To set up the reaction UTP (24.4 mg, 40  $\mu$ mol) was dissolved in cold MQ (MilliQ water) and Galf-1-P **B6** (40.8 mg, 44  $\mu$ mol), and HEPES buffer (50 mM, pH 8) were added. HEPES buffer contained  $MgCl_2$  (10 mM) and KCl (5 mM). Then GalU (15  $\mu$ L, 19 mg/mL), inorganic pyrophosphorylase (15  $\mu$ L, 0.25 units/ $\mu$ L) and immobilized GalPUT (0.8 mL) were added. The reaction was initiated by addition of UDP-Glc (3  $\mu$ L of 50 mM UDP-Glc, 0.15  $\mu$ mol). The reaction mixture was flushed with nitrogen and reaction is incubated at room temperature with gentle reaction overnight. The monitoring of the reaction was made by HPLC of the spin filtered (Amicon YM10) solution and the reaction was stopped when the UTP peak is absent, after one night. Immobilized enzymes were removed by filtration on BD column cartridge. To remove inorganic pyrophosphatase and other large molecular weight molecules, the filtrate was filtered on a Millipore Amicon Ultra-15 centrifugal filter 10K MWCO. Centrifugation was made at 4°C for 20 min at 4500 rpm. Then filtrates were applied to a Sephadex G-15 filtration column to remove salts. **B2** containing fractions were concentrated at 25°C under reduced pressure. Purification was achieved using preparative HPLC on preparative reverse phase C18 column Phenomenex. Because the retention time of UTP is closed to that of **B2**, the reaction mixture is loaded on C18 column in fractions of 3 to 4 mL. The fraction containing desired compound **B2** were then concentrated and lyophilized. Compound **B2** was obtained as a white solid (around 40  $\mu$ g) and then stored under dessication at -80°C.

## IV.2. ACCEPTOR ANALOG INHIBITION STUDIES OF GLFT2 USING A COUPLED SPECTROPHOTOMETRIC ASSAY

Spectrophotometric assays were performed in 384-array microtitre plate wells containing 50 mM MOPS, pH 7.6, 50 mM KCl, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.1 mM NADH, 3.5 mM PEP, 7.5 U pyruvate kinase (PK, EC 2.7.1.40), and 16.8 U lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27). MOPS at pH 7.6, was added as a 20-fold stock solution. KCl, MgCl<sub>2</sub>, acceptor and acceptor analogs were dissolved in de-ionized distilled water (MQ). All other assay components were prepared in 50 mM MOPS, pH 7.6, with the exception of PEP, which, owing to its acidity, was buffered in 250 mM MOPS, pH 7.6. Stock solutions of NADH, PEP, PK, LDH, and native donor were made fresh on the day of use and all solutions were stored on ice. The donor UDP-Galf **B2** was at a final concentration of 3 mM and that of acceptor **B68** at its  $K_m$  of 0.5 mM. Addition of 1 µg of GlfT2 to the **B68** assay mixture initiated the reaction, bringing the final volume to 40 µL. When performed, twenty micrograms of GlfT2 was added to initiate the reaction when **B68** was the acceptor. Reactions were incubated at 37 °C and monitored at 340 nm at 10-15 sec intervals using a Spectra Max 340PC microplate reader. The velocities were expressed as a percentage of a control rate in the absence of inhibitor.

On the first day of use, acceptor analogs were reconstituted in filtered MQ to give a 32 mM stock, and were initially screened for acceptor activity ie in the absence of **B68**, will the transferase process the acceptor analog by adding a gal residue(s) to it. If the analogs showed less than 20 % of acceptor activity with **B68**, the samples were then screened at 4 mM for their ability to inhibit GlfT2 activity at a final concentration of 0.5 mM **B68** (Level 1). Compounds which showed greater than 50 % inhibition were re-tested at 2 mM or less (Level 2), depending on the degree of inhibition at 4 mM. Once the % inhibition could be accurately determined, the assays were repeated at 2x linking enzyme levels in order to rule out inhibition of the linking enzyme(s) by the acceptor analog (Level 2 at 2x LE). Unused portions of reconstituted acceptor analogs are stored at 4°C.

“Acceptor check” assays were not routinely performed as they were for donor analogs, unless it was noted that the initial absorbance value for the reaction was consistently lower than the initial absorbance of the control. If such is the case, an acceptor check would be run i.e. an assay mixture is prepared which contains all components except the transferase. The main purpose of this check was to detect impurities such as UDP that could potentially be shuttled through the linking enzyme reactions and thus give falsely high reaction velocities independent of GlfT2 activity.

### IV.3. DONOR ANALOG INHIBITION STUDIES OF GLFT2 USING A COUPLED SPECTROPHOTOMETRIC ASSAY

Spectrophotometric assays were performed in 384-array microtitre plate wells containing 50 mM MOPS, pH 7.6, 50 mM KCl, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.1 mM NADH, 3.5 mM PEP, 7.5 U pyruvate kinase (PK, EC 2.7.1.40), and 16.8 U lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27). MOPS at pH 7.6, was added as a 20-fold stock solution. KCl, MgCl<sub>2</sub>, acceptor, and inhibitors were dissolved in de-ionized distilled water (MQ). All other assay components were prepared in 50 mM MOPS, pH 7.6, with the exception of PEP which, owing to its acidity, was buffered in 250 mM MOPS, pH 7.6. Stock solutions of NADH, PEP, PK, LDH, and native donor were made fresh on the day of use and all solutions were stored on ice. The donor UDP-Galf **B2** was at 0.75 mM, and that of the acceptor **B68** at 2.0 mM. Addition of 0.5 ug of GlfT2 to the trisaccharide **B68** assay mixture initiated the reaction, bringing the final volume to 40 uL. When performed, 20 micrograms of GlfT2 was added to initiate the **B68** reaction. Reactions were incubated at 37 °C and monitored at 340 nm at 10-15 sec intervals using a Spectra Max 340PC microplate reader. The velocities were expressed as a percentage of a control rate in the absence of inhibitor

One the first day of use, donor analogs were reconstituted in filtered MQ to give a 32 mM stock. Each donor analog was pre-screened at 4 mM in a “donor check” assay i.e. a **B68** trisaccharide assay mixture which contained all assay components except the transferase. The main purpose of this donor check was to detect impurities such as UDP that could potentially be shuttled through the linking enzyme reactions and thus give falsely high reaction velocities independent of GlfT2 activity.

Analogues were initially screened in duplicate at a final concentration of 4 mM. Compounds which showed greater than 50 % inhibition were re-tested at 2 mM or less, depending on the degree of inhibition. Once the % inhibition could be accurately determined, the assays were repeated at 2x linking enzyme levels in order to rule out inhibition of the linking enzyme(s) by the analog. Compounds which showed 25 % or less of the control activity in the inhibition screen were titrated to obtain a  $K_d$  value. Unused portions of donor analogs were stored at -20 °C.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- Adle-Biassette, H.; Huerre, M.; Breton, G.; Ruimy, R.; Carbonnelle, A.; Trophilme, D.; Yacoub, M.; Regnier, B.; Yeni, P.; Vilde, J.-L.; Henin, D., *Ann. Pathol.* **2003**, *23*, 216-235.
- Raviglione, M. C.; Snider, D. E.; Kochi, A., *JAMA* **1995**, *273*, 220-226.  
[www.who.int/tb/fr/index.html](http://www.who.int/tb/fr/index.html).
- OMS, *Relevé Épidémiologique Hebdomadaire (REH)* **2008**, *83*, 293-300.
- Collins, F. M., *CRC Crit. Rev. Microbiol* **1993**, *19*, 1-16.
- Jarlier, V.; Nikaido, H., *FEMS Microbiol. Lett.* **1994**, *123*, 11-18.
- Yuong, D. B.; Duncan, K., *Annu. Rev. Microbiol.* **1995**, *49*, 641-673.
- Walsh, C. T.; Wrigth, G., *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391-393.
- Wang, J.; Soisson, S. M.; Young, K.; Shoop, W.; Kodali, S.; Galgoci, A.; Painter, R.; Parthasarathy, G.; Tang, Y. S.; Cummings, R.; Ha, S.; Dorso, K.; Motyl, M.; Jayasuriya, H.; Ondeyka, J.; Herath, K.; Zhang, C.; Hernandez, L.; Allocco, J.; Basilio, A.; Tormo, J. R.; Genilloud, O.; Vicente, F.; Pelaez, F.; Colwell, L.; Lee, S. H.; Michael, B.; Felcetto, T.; Gill, C.; Silver, L. L.; Hermes, J. D.; Bartizal, K.; Barrett, J.; Schmatz, D.; Becker, J. W.; Cully, D.; Singh, S. B., *Nature* **2005**, *441*, 358-361.
- O'Brien, R. J.; Nuun, P. P., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2001**, *163*, 1055-1058.
- Brennan, P. J.; Nikaido, H., *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 29-63.
- Stütz, A. E., *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*. Wiley-VCH: New York, 1999.
- Compain, P.; Martin, O. R., *Iminosugar: From synthesis to therapeutic applications*. Wiley: Chichester, 2007.
- Petit, J. F.; Lederer, E., The structure of the mycobacterial cell wall. In *The mycobacteria, A sourcebook.*, Kubica, G. P.; Wayne, L. G., Eds. Marcel Dekker: New York, **1984**; pp 301-322.
- Wee, A. G. H.; Tang, F., *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6677-6680.
- Brennan, P. J.; Crick, D. C., *Curr. Top. Med. Chem.* **2007**, *7*, 475-488.
- Kremer, L.; Besra, G. S.; Brennan, P. J.; Baulard, A. R., *médecine/sciences* **1999**, *15*, 842-850.
- Kanetsuna, F., *Biochim. Biophys. Acta* **1968**, *158*, 130-143.
- Misaki, A.; Yukawa, S.; Tsuchiya, K.; Yamasaki, T., *J. Biochem.* **1966**, *59*, 388-396.
- Misaki, A.; Yukawa, S., *J. Biochem.* **1966**, *59*, 511-520.
- Bhamidi, S.; Scherman, M. S.; Rithner, C. D.; Prenni, J. E.; Chatterjee, D.; Khoo, K.-H.; McNeil, M. R., *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 12992-13000.
- Wietzerbin, J.; Das, B. C.; Petit, J. F.; Lederer, E.; Leyh-Bouille, M.; Ghuysen, J. M., *Biochemistry* **1974**, *13*, 3471-3476.
- McNeil, M.; Daffe, M.; Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 18200-18206.
- Alderwick, L. J.; Radmacher, E.; Seidel, M.; Gande, R.; Hitchen, P. G.; Morris, H. R.; Dell, A.; Sahm, H.; Eggeling, L.; Besra, G. S., *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 32362-32371.
- Daffe, M.; Brennan, P. J.; McNeil, M. R., *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 6734-6743.
- Minnikin, D., Complex lipids: their chemistry, biosynthesis and roles. In *The biology of mycobacteria*, Ratledge, C.; Stanford, J., Eds. Academic Press: London, **1982**; Vol. 1, p 94.
- McNeil, M.; Daffe, M.; Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 13217-13223.
- Besra, G. S.; Khoo, K. H.; McNeil, M. R.; Dell, A.; Morris, H. R.; Brennan, P. J., *Biochemistry* **1995**, *34*, 4257-4266.
- Chatterjee, D., *Curr. Opinion Chem. Biol.* **1997**, *1*, 579-588.
- Lowary, T. L., Mycobacterial Cell Wall Components. In *Glycoscience*, Fraser-Reid, B. O. T., K.; Thiem, J.; Coté, G.L.; Flitsch, S.; Ito, Y.; Kondo, H.; Nishimura, S.-I.; Yu, B. , Ed. Springer: 2001; Vol. III, pp 2005-2082.
- Aspinall, G. O.; Chatterjee, D.; Brennan, P. J., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1995**, *51*, 169-242.

- Misaki, A.; Seto, N.; Azuma, I., *J. Biochem. (Tokyo)* **1974**, *76*, 15-27.
- Takayama, K.; Goldman, D. S., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, *33*, 1493-1499.
- Belanger, A. E.; Besra, G. S.; Ford, M. E.; Mikusova, K.; Belisle, J. T.; Brennan, P. J.; Inamine, J. M., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *33*, 1493-1499.
- Quemard, A.; Lacave, C.; Laneelle, G., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, *35*, 1035-1039.
- Baular, A. R.; Betts, J. C.; Engohang-Ndong, J.; Quan, S.; McAdam, R. A.; Brennan, P. J.; Loch, C.; Besra, G. S., *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 28326-28331.
- Rastogi, N.; Goh, K. S.; David, H. L., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 759-764.
- Pan, F.; Jackson, M.; Ma, Y.; McNeil, M. R., *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 3991-3998.
- De Lederkremer, R. M.; Colli, W., *Glycobiology* **1995**, *5*, 547-552.
- Bakker, H.; Kleczka, B.; Gerardy-Schahn, R.; Routier, F. H., *Biol. Chem.* **2005**, *7*, 657-661.
- Beverley, S. M.; Owens, K. L.; Showalter, M.; Griffith, C. L.; Doering, T. L.; Jones, V. C.; McNeil, M. R., *Eukaryotic Cell* **2005**, *6*, 1147-1154.
- Fincher, G. B.; Stone, B. A.; Clarke, A. E., *Annu. Rev. Plant Physiol.* **1983**, *34*, 47-70.
- Pedersen, L. L.; Turco, S. J., *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 259-266.
- Jann, B.; Shashkov, A. S.; Kochanowski, H.; Jann, K., *Carbohydr. Res.* **1994**, *264*, 305-311.
- Stevenson, G.; Neal, B.; Liu, D.; Hobbs, M.; Packer, N. H.; Batley, M.; Redmond, J. W.; Lindquist, L.; Reeves, P., *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 4144-4156.
- Kol, O.; Wieruszkeski, J. M.; Strecker, G.; Montreuil, J.; Fournet, B.; Zalisz, R.; Smets, P., *Carbohydr. Res.* **1991**, *217*, 177-125.
- Dmitriev, B. A.; Lvov, V. L.; Kochetkov, N. K., *Carbohydr. Res.* **1977**, *56*, 207-209.
- Perry, M. B., *Biochem. Cell Biol.* **1990**, *68*, 808-810.
- Sarvas, M.; Nikaido, H., *J. Bacteriol.* **1971**, *105*, 1063-1072.
- Abeygunawardana, C.; Bush, C. A.; Tjoa, S. S.; Fennessey, P. V.; McNeil, M. R., *Carbohydr. Res.* **1989**, *191*, 279-293.
- Abeygunawardana, C.; Bush, C. A.; Cisar, J. O., *Biochemistry* **1991**, *30*, 6528-6540.
- Bax, A.; Summers, M. F.; Egan, W.; Guirgis, N.; Schneerson, R.; Robbins, J. B.; Ørskov, F.; Ørskov, I.; Vann, W. F., *Carbohydr. Res.* **1988**, *173*, 53-64.
- Vilkas, E.; Amar, C.; Maekovits, J.; Vliegenthart, J.; Kamerling, J., *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, *297*, 423-435.
- McNeil, M.; Wallner, S. J.; Hunter, S. W.; Brennan, P. J., *Carbohydr. Res.* **1987**, *166*, 299-308.
- Clutterbuck, P. W.; Haworth, W. N.; Raistrick, H.; Smith, G.; Stacey, M., *Biochem. J.* **1934**, *28*, 94-110.
- Haworth, W. N.; Raistrick, H.; Stacey, M., *Biochem. J.* **1937**, *31*, 640-644.
- Gander, J. E., *Arch. Biochem. Biophys.* **1960**, *91*, 307-309.
- Garcia Trejo, A.; Chittenden, G. J. F.; Buchanan, J. G.; Baddiley, J., *Biochem. J.* **1970**, *117*, 637-639.
- Garcia Trejo, A.; Haddock, J. W.; Chittenden, G. J. F.; Baddiley, J., *Biochem. J.* **1971**, *122*, 49-57.
- Nikaido, H.; Sarvas, M., *J. Bacteriol.* **1971**, *105*, 1073-1082.
- Weston, A.; Stern, R. J.; Lee, R. E.; Nassau, P. M.; Monsey, D.; Martin, S. L.; Scherman, M. S.; Besra, G. S.; Duncan, K.; McNeil, M. R., *Tuber. Lung Dis.* **1998**, *78*, 123-131.
- Nassau, P. M.; Martin, S. L.; Brown, R. E.; Weston, A.; Monsey, D.; McNeil, M. R.; Duncan, K., *J. Bacteriol.* **1996**, *178*, 1047-1052.
- Köplin, R.; Brisson, J.-R.; Whitfield, C., *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 4121-4128.
- Damveld, R. A.; Franken, A.; Arentshorts, M.; Punt, P. J.; Klis, F. M.; van den Hondel, C. A. M. J. J.; Ram, A. F. J., *Genetics* **2008**, *178*, 873-881.
- Cole, S. T.; Brosch, R.; Parkhill, J.; Garnier, T.; Churcher, C.; Harris, D.; Gordon, S. V.; Eiglmeier, K.; Gas, S.; Barry III, C. E.; Tekaiia, F.; Badcock, K.; Basham, D.; Brown, D.;

- Chillingworth, T.; Connor, R.; Davies, R.; Devlin, K.; Feltwell, T.; Gentles, S.; Hamlin, N.; Holroyd, S.; Hornsby, T.; Jagels, K.; Krogh, A.; McLean, J.; Moule, S.; Murphy, L.; Oliver, K.; Osborne, J.; Quail, M. A.; Rajandream, M.-A.; Rogers, J.; Rutter, S.; Seeger, K.; Skelton, J.; Squares, R.; Squares, S.; Sulston, J. E.; Taylor, K.; S., W.; Barrell, B. G., *Nature* **1998**, *393*, 537-544.
- Zhang, Q. B.; Liu, H.-w., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9065-9070.
- Duax, W. K.; Griffin, J. F.; Ghosh, D., *Curr. Op. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 813-823.
- Huang, Z.; Zhang, Q.; Liu, H.-w., *Bioorganic Chemistry* **2003**, *31*, 494-502.
- Yuan, Y.; Bleile, D. W.; Wen, X.; Sanders, D. A. R.; Itoh, K.; Liu, H.-w.; Pinto, B. M., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3157-3168.
- Sanders, D. A. R.; Staines, A. G.; McMahon, S. A.; McNeil, M. R.; Whitfield, C.; Naismith, J. H., *Nat. Struct. Biol.* **2001**, *8*, 858-863.
- Beis, K.; Srikannathasan, V.; Liu, H.; Fullerton, W. B.; Bamford, V. A.; Sanders, D. A. R.; Whitfield, C.; McNeil, M. R.; Naismith, J. H., *J. Mol. Biol.* **2005**, *348*, 971-982.
- McMahon, S. A.; Leonard, G. A.; Buchanan, L. V.; Giraud, M.-F.; Naismith, J. H., *Acta Crystallogr. D* **1999**, *55*, 399-402.
- Lee, R.; Monsey, D.; Weston, A.; Duncan, K.; Rithner, C.; McNeil, M. R., *Anal. Biochem.* **1996**, *242*, 1-7.
- Barlow, J. N.; Blanchard, J. S., *Carbohydr. Res.* **2000**, *328*, 473-480.
- Tsvetkov, Y. E.; Nikolaev, A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 889-891.
- Marlow, A. L.; Kiessling, L. L., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2517-2519.
- Peltier, P.; Daniellou, R.; Nugier-Chauvin, C.; Ferrières, V., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5227-5230.
- Errey, J. C.; Mukhopadhyay, B.; Kartha, K. P. R.; Field, R. A., *Chem. Commun.* **2004**, 2706-2707.
- Rose, N. L.; Zheng, R. B.; Pearcey, J.; Zhou, R.; Completo, G. C.; Lowary, T. L., *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2130-2139.
- Barlow, J. N.; Girvin, M. E.; Blanchard, J. S., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6968-6969.
- Zhang, Q.; Liu, H.-w., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6756-6766.
- Burton, A.; Wyatt, P.; Boons, G.-J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 2375-2382.
- Namchuk, M. N.; Withers, S. G., *Biochemistry* **1995**, *34*, 16194-16202.
- Withers, S. G.; Namchuk, M.; Mosi, R., Potent Glycoside Inhibitors: Transition State Mimics or Simply Fortuitous Binders? In *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors*, Stütz, A. E., Ed. Wiley-VCH: New-York, 1999; pp 188-206.
- Kovensky, J.; Sinaý, P., *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3523-3525.
- Caravano, A.; Sinaý, P.; Vincent, S. P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1123-1125.
- Sadeghi-Khomami, A.; Blake, A. J.; Wilson, C.; Thomas, N. R., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4891-4894.
- Caravano, A.; Mengin-Lecreulx, D.; Brondello, J.-M.; Vincent, S. P.; Sinaý, P., *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5888-5898.
- Ghisla, S.; Massey, V., *Eur. J. Biochem.* **1989**, *181*, 1-17.
- Fullerton, W. B.; Daff, S.; Sanders, D. A. R.; Ingledew, W. J.; Whitfield, C.; Chapman, S. K.; Naismith, J. H., *Biochemistry* **2003**, *42*, 2104-2109.
- Edwards, A. M., General Properties of Flavoproteins. pp 1-10.
- Soltero-Higgin, M.; Carlson, E. E.; Gruber, T. D.; Kiessling, L. L., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 539-543.
- Williams, R. F.; Bruce, T. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 7752-7768.
- Miller, S. M., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 497-498.
- Yuan, Y.; Wen, X.; Sanders, D. A. R.; Pinto, B. M., *Biochemistry* **2005**, *44*, 14080-14089.
- Chad, J. M.; Sarthy, K. P.; Kiessling, L. L.; Sanders, D. A. R., *Biochemistry* **2007**, *46*, 6723-6732.

- Caravano, A.; Vincent, S. P.; Sinaÿ, P., *Chem. Commun.* **2004**, 1216-1217.
- Lee, R. E.; Smith, M. D.; Nash, R. J.; Griffiths, R. C.; McNeil, M. R.; Grewal, R. K.; Yan, X.; Besra, G. S.; Brennan, P. J.; Fleet, G. W. J., *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6733-6736.
- Lee, R. E.; Smith, M. D.; Pickering, L.; Fleet, G. W. J., *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8689-8692.
- Yoshikawa, M.; Murakami, T.; Shimada, H.; Matsuda, H.; Yamahara, J.; Tanabe, G.; Muraoka, O., *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8367-8370.
- Veerapen, N.; Yuan, Y.; Sanders, D. A. R.; Pinto, B. M., *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2205-2217.
- Owen, D. J.; Davis, C. B.; Hartnell, R. D.; Madge, P. D.; Thomson, R. J.; Chong, A. K. J.; Coppel, R. S.; von Itzstein, M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2274-2277.
- Davis, C. B.; Hartnell, R. D.; Madge, P. D.; Owen, D. J.; Thomson, R. J.; Chong, A. K. J.; Coppel, R. S.; von Itzstein, M., *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 1773-1780.
- Von Itzstein, M.; Davis, C. B.; Thomson, R. J.; Hartnell, D. R.; Madge, P. D. O. An Antimicrobial Agent. *Int. Pat. Appl.* WO2003/070715, 2003.
- Von Itzstein, M.; Davis, C. B.; Thomson, R. J.; Hartnell, D. R.; Madge, P. D. O. Novel Sulfenamides. *Int. Pat. Appl.* WO2005/019237, 2005.
- Kovensky, J.; McNeil, M. R.; Sinaÿ, P., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6202-6205.
- Itoh, K.; Huang, Z.; Liu, H.-w., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 879-882.
- Pan, W.; Ansiaux, C.; Vincent, S. P., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4353-4356.
- Scherman, M. S.; Winans, K. A.; Stern, R. J.; Jones, V.; Bertozzi, C. R.; McNeil, M. R., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 378-382.
- Soltero-Higgin, M.; Carlson, E. E.; Phillips, J. H.; Kiessling, L. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10532-10533.
- Carlson, E. E.; May, J. F.; Kiessling, L. L., *Chemistry and Biology* **2006**, *13*, 825-837.
- Dykhuisen, E. C.; May, J. F.; Tongpenyai, A.; Kiessling, L. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6706-6707.
- Leloir, L. F., *Annu. Rev. Biochem.* **1983**, *52*, 1-16.
- Breton, C.; Šnajdrová, L.; Jeanneau, C.; Koca, J.; Imberty, A., *Glycobiology* **2006**, *16*, 29R-37R.
- Mikusova, K.; Yagi, T.; Stern, R.; McNeil, M. R.; Besra, G. S.; Crick, D. C.; Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 33890-33897.
- Kremer, L.; Dover, L. G.; Morehouse, C.; Hitchin, P.; Everett, M.; Morris, H. R.; Dell, A.; Brennan, P. J.; McNeil, M. R.; Flaherty, C.; Duncan, K.; Besra, G. S., *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 26430-26440.
- Alderwick, L. J.; Dover, L. G.; Veerapen, N.; Gurcha, S. S.; Kremer, L.; Roper, D. L.; Pathak, A. K.; Reynolds, R. C.; Besra, G. S., *Protein Expression and Purification* **2008**, *58*, 332-341.
- Rose, N. L.; Completo, G. C.; Lin, S.-J.; McNeil, M. R.; Palcic, M. M.; Lowary, T. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6721-6729.
- Belanova, M.; Dianiskova, P.; Brennan, P. J.; Completo, G. C.; Rose, N. L.; Lowary, T. L.; Mikusova, K., *J. Bacteriol.* **2008**, *190*, 1141-1145.
- Mikusova, K.; Belanova, M.; Kordulakova, J.; Honda, K.; McNeil, M. R.; Mahapatra, S.; Crick, D. C.; Brennan, P. J., *J. Bacteriol.* **2006**, *188*, 6592-6598.
- Hagopian, A.; Eylar, E. H., *Arch. Biochem. Biophys.* **1986**, *128*, 422-433.
- Berg, S.; Kaur, D.; Jackson, M.; Brennan, P. J., *Glycobiology* **2007**, *17*, 25R-56R.
- Completo, G. C.; Lowary, T. L., *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4513-4525.
- Murray, B. W.; Takayama, S.; Schultz, J.; Wong, C.-H., *Biochemistry* **1996**, *35*, 11183-11195.
- Pathak, A. K.; Pathak, V.; Seitz, L.; Maddry, J. A.; Gurcha, S. S.; Besra, G. S.; Suling, W. J.; Reynolds, R. C., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 3129-3143.

- Cren, S.; Gurcha, S. S.; Blake, A. J.; Besra, G. S.; Thomas, N. R., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2418-2420.
- Cren, S.; Wilson, C.; Thomas, N. R., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3521-3523.
- Compain, P.; Martin, O. R., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 3077-3092.
- Paulsen, H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1966**, *5*, 495-511.
- Kajimoto, T.; Liu, K.; Pedersen, R. L.; Zhong, Z.; Ichikawa, Y.; Porco, J. A.; Wong, C.-H., *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6187-6196.
- Schramm, V. L.; Tyler, P. C., Transition state analogue inhibitors of *N*-ribosyltransferases. In *Iminosugars: from synthesis to therapeutic applications*, Compain, P.; Martin, O. R., Eds. Wiley: Chichester, 2007; pp 177-208.
- Lewandowicz, A.; Tyler, P. C.; Evans, G. B.; Furneaux, R. H.; Schramm, V. L., *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 31465-31468.
- Wang, R.; Steensma, D. H.; Takaoka, Y.; Yun, J. W.; Kajimoto, T.; Wong, C.-H., *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 661-672.
- Matsuura, N.; Onose, R.; Osada, H., *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 361-365.
- Takeyama, H.; Onose, R.; Phillip, C.-C. L.; Onozawa, C.; Matsumura, F.; Osada, H., *Cancer Res.* **1998**, *58*, 704-710.
- La Ferla, B.; Cipolla, L.; Nicotra, F., General strategies for the synthesis of iminosugars and new approaches towards iminosugar libraries. In *Iminosugars: From synthesis to therapeutic applications*, Compain, P.; Martin, O. R., Eds. Wiley: Chichester, 2007; pp 25-61.
- La Ferla, B.; Nicotra, F., Synthetic Methods for the Preparation of Iminosugars. In *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*, Stütz, A. E., Ed. Wiley-VCH: New York, 1999; pp 68-92.
- El Ashry, E. S. H.; El Nemr, A., Synthesis of Naturally Occurring Nitrogen Heterocycles from Carbohydrates. Wiley-Blackwell: London 2005.
- Paulsen, H.; Steinert, K.; Heyns, K., *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 1599-1620.
- Pham-Huu, D.-P.; Gizaw, Y.; BeMiller, J. N.; Petrus, L., *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 383-385.
- Lundt, I.; Madsen, R.; Al Daher, S.; Winchester, B., *Tetrahedron* **1994**, *50*, 7513-7520.
- Robina, I.; Gearing, R. P.; Buchanan, J. G.; Wightman, R. H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 2622-2624.
- Collins, P. M.; Overend, W. G.; Shing, T. K. S., *J. Chem. Soc., Chem. Commun* **1982**, 297-298.
- Lay, L.; Nicotra, F.; Paganini, A.; Pangrazio, C.; Panza, L., *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4555-4558.
- Cipolla, L.; Lay, L.; Nicotra, F.; Pangrazio, C.; Panza, L., *Tetrahedron* **1995**, *51*, 4679-4690.
- Dondoni, A.; Franco, S.; Junquera, F.; Merchán, F. L.; Merino, P.; Tejero, T.; Bertolasi, V., *Chem. Eur. J.* **1995**, *1*, 505-520.
- Dondoni, A.; Perrone, D., *Tetrahedron* **2003**, *59*, 4261-4273 ainsi que les références citées.
- Palmer, A. M.; Jäger, V., *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2547-2558.
- Behr, J. B.; Guillerme, G., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2369-2372.
- Moreno-Vargas, A. J.; Carmona, A. T.; Mora, F.; Vogel, P.; Robina, I., *Chem. Commun.* **2005**, 4949-4951.
- Moriarty, R. M.; Mitan, C. I.; Branza-Nichita, N.; Phares, K. R.; Parrish, D., *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3465-3467.
- Wong, C.-H.; Hiranauma, S.; Shimizu, T.; Nakata, T.; Kajimoto, T., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 8247-8250.
- Saotome, C.; Kanie, Y.; Kanie, O.; Wong, C.-H., *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2249-2261.
- Takebayashi, M.; Hiranauma, S.; Kanie, Y.; Kajimoto, T.; Kanie, O.; Wong, C.-H., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5280-5291.

- Kobayashi, S.; Sugiura, M.; Hagio, H., *Helv. Chem. Acta* **2002**, *85*, 3678-3691.
- Ferrières, V.; Bertho, J.-N.; Plusquellec, D., *Carbohydr. Res.* **1998**, *311*, 25-35.
- Wolfrom, M. L.; Thompson, A., *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 427-430.
- Green, J. W.; Pacsu, E., *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59*, 1205-1210.
- Jordaan, J. H.; Serfontein, W. J., *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 1395-1396.
- Stork, G.; Zhao, K., *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 287-290.
- Nakatsuka, M.; Ragan, J. A.; Sammakia, T.; Smith, D. B.; Uehling, D. E.; Schreiber, S. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5583-5601.
- Szarek, W. A.; Zamojski, A.; Tiwari, K. N.; Ison, E. R., *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3827-3830.
- Madhusudan, S. K.; Mirsa, A. K., *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 497-502.
- Lubineau, A.; Fischer, J.-C., *Synthetic Commun.* **1991**, *21*, 815-818.
- Ferrières, V.; Bertho, J.-N.; Plusquellec, D., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2749-2752.
- Koto, S.; Morishima, N.; Miyata, Y.; Zen, S., *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1976**, *49*, 2639-2640.
- Köll, P.; John, H.-G.; Schulz, J., *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 613-625.
- Hori, H.; Nishida, Y.; Ohru, H.; Meguro, H., *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1347-1353.
- Kobayashi, S.; Busujima, T.; Nagayama, S., *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3491-3494.
- Serianni, A. S.; Baker, R., *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3292-3300.
- Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Longbottom, D. A.; Nalbandian, A. Z.; Huang, X., *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5581-5606.
- Paulsen, H.; Pries, M.; Lorentzen, J.-P., *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 389-397.
- Kahne, D.; Walker, S.; Cheng, Y.; van Engen, D., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6881-6882.
- Tanaka, H.; Iwata, Y.; Takahashi, D.; Adachi, M.; Takahashi, T., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1630-1631.
- Colinas, P. A.; Bravo, R. D., *Tetrahedron Lett.* **2005** *46*, 1687-1689.
- Nagai, M.; Gaudino, J. J.; Wilcox, C. S., *Synthesis* **1992**, 163-168.
- Schweizer, F., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 230-253.
- Lockhoff, O., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1611-1620.
- Arsequell, G.; Valencia, G., *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 3045-3094.
- Colinas, P. A.; Bravo, R. D.; Vullo, D.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5086-5090.
- Ben Othman, R.; Bousquet, T.; Othman, M.; Dalla, V., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5335-5337.
- Dondoni, A.; Fogagnolo, M.; Medici, A.; Pedrini, P., *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5477-5480.
- Dondoni, A.; Fantin, G.; Fogagnolo, M.; Medici, A.; Pedrini, P., *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 693-702.
- Dondoni, A.; Orduna, J.; Merino, P. S., *Synthesis* **1992**, 201-210.
- Friestad, G. K.; Ding, H., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4491-4492.
- Kafaski, P.; Lejczak, B., *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1991**, *63*, 193-215.
- Behr, J. B.; Erard, A.; Guillerm, G., *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1256-1262.
- Behr, J. B.; Guillerm, G., *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 111-113.
- Behr, J. B.; Mvondo Evina, C.; N., P.; Guillerm, G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 1597-1600.
- Bosco, M.; Bisseret, P.; Constant, P.; Eustache, J., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 153-157.
- Yoda, H.; Yamazaki, H.; Kiwauchi, M.; Takabe, K., *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *11*, 2669-2672.
- Yoda, H.; Katoh, H.; Takabe, K., *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7661-7665.
- Cipolla, L.; La Ferla, B.; Peri, F.; Nicotra, F., *Chem. Commun.* **2000**, 1289-1290.
- Cipolla, L.; Palma, A.; La Ferla, B.; Nicotra, F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2161-2165.
- Kawana, M., *Chem. Lett.* **1981**, 1541-1542.

- Hirota, K.; Monguchi, Y.; Kitade, Y.; Sajiki, H., *Tetrahedron* **1997**, *53*, 16683-16698.
- Deloisy, S.; Kunz, H., *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 791-794.
- Sugiura, M.; Kobayashi, S., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 477-480.
- Ciuffarin, E.; Loi, A.; Isola, M.; Lupetti, A.; Sagramora, L.; Senatore, L., *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1047-1051.
- Kiyooka, S.-i.; Shiomi, Y.; Kira, H.; Kaneko, Y.; Tanimori, S., *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1958-1960.
- Ella-Menye, J.-R.; Dobbs, W.; Billet, M.; Klotz, P.; Mann, A., *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 1897-1900.
- Williams, D. R.; Brown, D. L.; Benbow, J. W., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1923-1925.
- Banks, R. L.; Bailey, G. C., *Ind. Eng. Chem. Prod. Des. Dev.* **1964**, *3*, 170-173.
- Schuster, M.; Blechert, S., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2036-2056.
- Phillips Petroleum Company, *Hydrocarbon Process* **1967**, *46*, 232.
- Freitas, E. R.; Gum, C. R., *Chem. Eng. Prog.* **1979**, *75*, 73-76.
- Chatterjee, A.; Choi, T.-L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360-11370.
- Hérisson, J. L.; Chauvin, Y., *Makromol. Chem.* **1970**, *141*, 161-176.
- Schrock, R. R., *Tetrahedron* **1999**, *55*, 8141-8153.
- Schwab, P.; France, M. B.; Ziller, J. W.; Grubbs, R. H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2039-2041.
- Fürstner, A.; Thiel, O. R.; Ackermann, L.; Schanz, H.-J.; Nolan, S. P., *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2204-2207.
- Chatterjee, A. K.; Grubbs, R. H., *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1751-1753.
- Morgan, J. P.; Grubbs, R. H., *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3135-3138.
- Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C. W.; Grubbs, R. H., *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953-956.
- Huang, J.; Stevens, E. D.; Nolan, S. P.; Petersen, J. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2674-2678.
- Kingsbury, J. S.; Harrity, J. P. A.; Bonitatebus Jr, P. J.; Hoveyda, A. H., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 791-799.
- Hoveyda, A. H.; Gillingham, D. G.; Van Veldhuizen, J. J.; Kataoka, O.; Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Harrity, J. P. A., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 8-23.
- Godin, G.; Compain, P.; Martin, O. R., *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3269-3272.
- Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Perrone, D., *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5508-5518.
- Compain, P., *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 1829-1846.
- Van de Weghe, P.; Bisseret, P.; Blanchard, N.; Eustache, J., *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 5078-5108.
- Chatterjee, A. K.; Choi, T.-L.; Grubbs, R. H., *Synlett* **2001**, 1034-1038.
- Lera, M.; Hayes, C. J., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2765-2768.
- Fürstner, A.; Langemann, K., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9130-9136.
- Chang, G. X.; Lowary, T. L., *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4561-4564.
- Hanessian, S.; Giroux, S.; Larsson, A., *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5481-5484.
- Yang, Q.; Xiao, W.-J.; Yu, Z., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 871-874.
- Bai, C.-X.; Lu, X.-B.; He, R.; Zhang, W.-Z.; Feng, X.-J., *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 4139-4142.
- Czech, B. P.; Bartsch, R. A., *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 4076-4078.
- Hawker, S.; Bhatti, M. A.; Griffin, K. G., *Chim. Oggi.* **1992**, *49*, 49-51.
- Vidil, C.; Morère, A.; Garcia, M.; Barragan, V.; Hamdaoui, B.; Rochefort, H.; Montero, J.-L., *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 447-450.
- Ladame, S.; Fauré, R.; Denier, C.; Lakhdar-Ghazal, F.; Wilson, M., *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 2070-2072.

- Lee, Y. C.; Lee, R. T., *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321-327.
- DeFrees, S. A.; Gaeta, F. C. A.; Lin, Y.-C.; Ichikawa, Y.; Wong, C.-H., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7549-7550.
- Johns, B. A.; Johnson, C. R., *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 749-752.
- Asensio, J. L.; Cañada, F. J.; Garcia-Herrero, A.; Murillo, M. T.; Fernandez-Mayoralas, A.; Johns, B. A.; Kozak, J.; Zhu, Z.; Johnson, C. R.; Jiménez-Barbero, J., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11318-11329.
- Lapeyre, C.; Bedos-Beval, F.; Duran, H.; Baltas, M.; Gorrichon, L., *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2445-2447.
- Peragament, I.; Srebnik, M., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 217-219.
- Iorga, B.; Eymery, F.; Savignac, P., *Synthesis* **1999**, *2*, 207-224.
- Sturtz, G.; Pondaven-Raphalen, A., *Bull. Soc. Chem. Fr.* **1983**, 125-130.
- Öhler, E.; Zbiral, E.; El-Badawi, M., *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5599-5602.
- Öhler, E.; El-Badawi, M.; Zbiral, E., *Chem. Ber.* **1988**, *118*, 4099-4130.
- Cristau, H.-J.; Yangkou, M. X.; Geze, A.; Beziat, Y.; Gasc, M.-B., *J. Organomet. Chem.* **1998**, *571*, 189-193.
- Stoianova, D. S.; Whitehead, A.; Hanson, P. R., *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5880-5889.
- Qi, X.; Xu, L.; Zhou, Z.-B.; Peng, X.-J., *Hecheng Huaxue* **2004**, *12*, 278-282.
- Cristau, H.-J.; Pirat, J.-L.; Drag, M.; Kafarski, P., *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9781-9785.
- Hirama, M.; MShimizu, M., *Synthetic Commun.* **1983**, *13*, 781-786.
- Smith, A. B., III; Nolen, E. G.; Shirai, R.; Blase, F. R.; Otha, M.; Chida, N.; Hartz, R. A.; Fitch, D. M.; Clark, W. M.; Sprengeler, P. A., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7837-7848.
- Pappo, R.; Allen Jr., D. S.; Lemieux, R. U.; Johnson, W. S., *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478-479.
- Hanessian, S.; H., S.; Munro, A.; Therrien, E., *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7219-7233.
- Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z., *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217-3219.
- Dondoni, A.; Marra, A.; Pasti, C., *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 305-317.
- Wone, D. W. G.; Rowley, J. A.; Garofalo, A. W.; Berkman, C. E., *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 67-76.
- Cimarelli, C.; Giulli, S.; Palmieri, G., *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1308-1317.
- Corey, E. J.; Suggs, J. W., *Tetrahedron Lett.* **1975**, *31*, 2647-2650.
- Lubineau, A.; Billault, I., *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5668-5671.
- Uramoto, M.; Kim, C. J.; Shin-ya, K.; Kusakabe, H.; Isono, K.; Phillips, D. R.; McCloskey, J. A., *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 375-381.
- Matsumura, F.; Onose, R.; Osada, H., *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 361-365.
- Takeyda, H.; Onose, R.; Phillip, C.-C. L.; Onozawa, C.; Matsumura, F.; Osada, H., *Cancer Res.* **1998**, *58*, 704-710.
- Roberts, W. P.; Tate, M. E.; Kerr, A., *Nature* **1977**, *265*, 379-381.
- Tate, M. E.; Murphy, P. J.; Roberts, W. P.; Kerr, A., *Nature* **1979**, *280*, 697-699.
- Hatano, M.; Hashimoto, Y., *Toxicon* **1974**, *12*, 231-236.
- Cox, R. J.; Gibson, J. S.; Mayo Martin, M. B., *ChemBioChem* **2002**, *3*, 874-886.
- Chakravarty, P. K.; Greenlee, W. J.; Parsons, W. H.; Patchett, A. A.; Combs, P.; Roth, A.; Bush, R. D.; Mellin, T. N., *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1886-1890.
- Robles, J.; Pedrosa, E.; Grandas, A., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4856-4861.
- Mizrahi, V.; Modro, T. A., *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3533-3539.
- Adams, L. A.; Charmant, J. P. H.; Cox, R. J.; Walter, M.; Whittingham, W. G., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 542-553.
- Zioudrou, C., *Tetrahedron* **1992**, *18*, 197-204.
- Challis, B. C.; Iley, J. N., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1987**, 1489-1494.
- Desmarchelier, J. M.; Fukuto, T. R., *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 4218-4220.
- Sprecher, M.; Kost, D., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1016-1026.

- Filippov, D.; Timmers, C. M.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H., *Nucleosides Nucleotides* **1997**, *16*, 1403-1406.
- Barroca, N.; Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 673-689.
- Shie, J.-J.; Fang, J.-M., *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1158-1160.
- Humphries, M. J.; Ramsden, C. A., *Synthesis* **1999**, *6*, 985-992.
- Owston, N. A.; Parker, A. J.; Williams, J. M. J., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 73-75.
- Moriguchi, T.; Yanagi, T.; Kunimori, M.; Wada, T.; Sekine, M., *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8229-8238.
- Sekine, M.; Okada, K.; Seio, K.; Kakeya, H.; Osada, H.; Obata, T.; Sasaki, T., *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 314-326.
- Adams, L. A.; Cox, R. J.; Gibson, J. S.; Mayo-Martin, M. B.; Walter, M.; Whittingham, W., *Chem. Commun.* **2002**, 2004-2005.
- Zwierzak, A.; Pilichowaska, S., *Synthesis* **1982**, 922-924.
- Singh, J.; Gurney, E.; Hategan, G.; Yu, P.; Zembower, D.; Zhou, N. Sulfonamide perisubstituted bicyclics for occlusive artery disease. *Int. Pat. Appl.* WO20060079520, 2006.
- Dondoni, A.; Perrone, D., *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 9375-9378.
- Turhanen, P. A.; Ahlgren, M. J.; Järvinen, T.; Vepsäläinen, J. J., *Synthesis* **2001**, *4*, 633-638.
- Beckmann, E., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 3331-3341.
- Revuelta, J.; Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A., *Synthesis* **2007**, 485-504.
- Cicchi, S.; Hold, I.; Brandi, A., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5274-5275.
- Goti, A.; De Sarlo, F.; Romani, M., *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6571-6574.
- Cicchi, S.; Corsi, M.; Goti, A., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7243-7245.
- Cicchi, S.; Marradi, M.; Goti, A.; Brandi, A., *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6503-6505.
- Ballini, R.; Marcantoni, E.; Petrini, M., *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1316-1318.
- Goti, A.; Cicchi, S.; Mannucci, V.; Cardona, F.; Guarna, F.; Merino, P.; Tejero, T., *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4235-4238.
- Cicchi, S.; Cardona, F.; Brandi, A.; Corsi, M.; Goti, A., *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1989-1992.
- Marcantoni, E.; Petrini, M.; Polimanti, O., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3561-3562.
- Duff, F. J.; Vivien, V.; Wightman, R. H., *Chem. Commun.* **2000**, 2127-2128.
- Grigg, R.; Hadjisoteriou, M.; Kennewell, P.; Markandu, J.; Thornton-Pett, M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1388-1389.
- Grigg, R.; Hadjisoteriou, M.; Kennewell, P.; Markandu, J., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1537-1538.
- Ali Dondas, H.; Grigg, R.; Thibault, S., *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7035-7045.
- Jäger, V.; Bierer, L.; Dong, H.-Q.; Palmer, A.; Shaw, D.; Frey, W., *J. Heterocycl. Chem.* **2000**, *37*, 455-465.
- Gulla, M.; Bierer, L.; Redcliffe, L.; Schmidt, S.; Jäger, V., *ARKIVOC* **2006**, (vii), 76-88.
- Hall, A.; Meldrum, K. P.; Therond, P. R.; Wightman, R. H., *Synlett* **1997**, 123-125.
- Holzapfel, C. W.; Crous, R., *Heterocycles* **1998**, *48*, 1337-1342.
- Tamura, O.; Toyao, A.; Ishibashi, H., *Synlett* **2002**, 1344-1346.
- Toyao, A.; Tamura, O.; Takagi, H.; Ishibashi, H., *Synlett* **2003**, 35-38.
- Chevrier, C.; LeNouen, D.; Neuburger, M.; Defoin, A.; Tarnus, C., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5363-5366.
- Pillard, C.; Desvergnès, V.; Py, S., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6209-6213.
- Cicchi, S.; Corsi, M.; Brandi, A.; Goti, A., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1678-1681.
- Cicchi, S.; Marradi, M.; Vogel, P.; Goti, A., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1614-1619.
- Closa, M.; Wightman, R. H., *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 3443-3450.
- Merino, P., *C.R. Chimie* **2005**, *8*, 775-788.
- Lombardo, M.; Trombini, C., *Synthesis* **2000**, 759-774.

- Merino, P.; Franco, S.; Merchan, F. L.; Tejero, T., *Synlett* **2000**, 442-454.
- Bloch, R., *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1407-1438.
- Enders, D.; Reinholdt, U., *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, 8, 1895-1946.
- Cardona, F.; Goti, A., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 7832-7835.
- Huisgen, R., *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357-396.
- Huisgen, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, 2, 565-598.
- Huisgen, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, 2, 633-645.
- Gothelf, K. V.; Jorgensen, K. A., *Chem. Rev.* **1998**, 98, 863-909.
- Jones, R. C. F.; Martin, J. N., Nitrones. In *Synthetic Application of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products*, Padwa, A.; Pearson, W. H., Eds. John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2002.
- Houk, K. N.; Sims, J.; Duke Jr., R. E.; Strozier, R. W.; George, J. K., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 7287-7301.
- Houk, K. N.; Sims, J.; Watts, C. R.; Luskus, L. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 7301-7315.
- Houk, K. N., *Acc. Chem. Res.* **1975**, 8, 361-369.
- Sims, J.; Houk, K. N., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 5798-5800.
- Tufariello, J. J.; Ali, S. A., *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 4647-4650.
- Tufariello, J. J., *Acc. Chem. Res.* **1979**, 12, 396-403.
- Fisera, L., *Top. Heterocycl. Chem.* **2007**, 7, 287-323.
- Cardona, F.; Faggi, E.; Liguori, F.; Cacciarini, M.; Goti, A., *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2315-2318.
- Carmona, A. T.; Wightman, R. H.; Robina, I.; Vogel, P., *Helv. Chim. Acta* **2003**, 86, 3066-3073.
- Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F. M.; Frignoli, R.; Goti, A.; Picasso, S.; Vogel, P., *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6806-6812.
- Chevrier, C.; LeNouen, D.; Defoin, A.; Tarnus, C., *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2384-2392.
- Ye, Y.; Li, L.-Y.; Tian, L.; Liu, L.-Z., *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2004**, 179, 2503-2508.
- Piotrowska, D. G., *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5363-5366.
- Revuelta, J.; Cicchi, S.; de Meijere, A.; Brandi, A., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1085-1091.
- Yu, C.-Y.; Huang, M.-H., *Org. Lett.* **2006**, 8, 3021-3024.
- Chevrier, C.; Defoin, A.; Tarnus, C., *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 4125-4135.
- Revuelta, J.; Cicchi, S.; Brandi, A., *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 8375-8377.
- Cicchi, S.; Bonanni, M.; Cardona, F.; Revuelta, J.; Goti, A., *Org. Lett.* **2003**, 5, 1773-1776.
- Karanjule, N. S.; Markad, S. D.; Sharma, T.; Sabharwal, S. G.; Puranik, V. G.; Dhavale, D. D., *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1356-1363.
- Cacatian, S. T.; Fuchs, P. L., *Tetrahedron* **2003**, 59, 7177-7187.
- Omura, K.; Sharma, A. K.; Swern, D., *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 957-962.
- Huang, S. L.; Omura, K.; Swern, D., *J. Org. Chem.* **1976**, 3329-3331.
- Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S.; Palmisanoj, G., *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 7272-7276.
- Yoon, K. S.; Lee, S. J.; Kim, K., *Heterocycles* **1996**, 43, 1211-1221.
- Dappen, M. S.; Pellicciari, R.; Natalini, B.; Monahan, J. B.; Chiorri, C.; Cordi, A. A., *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 161-168.
- Vogel, P.; Gerber-Lemaire, S.; Juillerat-Jeanneret, L., Imino-C-disaccharides and analogues: synthesis and biological activity. In *Iminosugars: Form synthesis to therapeutic applications*, Compain, P.; Martin, O. R., Eds. Wiley: Chichester, 2007; pp 87-123.
- Robina, I.; Vogel, P., *Synthesis* **2005**, 675-702.

- Legler, G., The catalytic Efficiency of Glycoside Hydrolases and Models of the Transition State Based on Substrate Related Inhibitors. In *Carbohydrate mimics*, Chapleur, Y., Ed. Wiley, VCH: Weinheim, 1998; pp 463-487.
- Johnson, C. R.; Miller, M. W.; Golebiowski, A.; Sundram, H.; Ksebati, M. B., *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8991-8994.
- Johns, B. A.; Pan, Y. T.; Elbein, A. D.; Johnson, C. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4856-4865.
- Leeuwenburgh, M. A.; Picasso, S.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Vogel, P.; van Boom, J. H., *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1185-1189.
- Cheng, X.; Kumaran, G.; Mootoo, D. R., *Chem. Commun.* **2001**, 811-812.
- Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Marra, A., *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 695-6199.
- Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Perrone, D., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7203-7214.
- La Ferla, B.; Cipolla, L.; Peri, F.; Nicotra, F., *J. Carbohydr. Chem.* **2001**, *20*, 667-680.
- Martin, O. R.; Liu, L.; Yang, F., *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1991-1994.
- Dong, W.; Jespersen, T.; Bols, M.; Skrydstrup, T.; Sierks, M. R., *Biochemistry* **1996**, *35*, 2788-2795.
- Marotte, K.; Ayad, T.; Génisson, Y.; Besra, G. S.; Baltas, M.; Prandi, J., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2557-2565.
- Watson, A. A.; Fleet, G. W. J.; Asano, N.; Molyneux, R. J.; Nash, R. J., *Phytochemistry* **2001**, *56*, 265-295.
- Watson, A. A.; Nash, R. J.; Wormald, M. R.; Harvey, D. J.; Dealler, S.; Lees, E.; Asano, N.; Kizu, H.; Kato, A.; Griffiths, R. C.; Cairns, A. J.; Fleet, G. W. J., *Phytochemistry* **1997**, *46*, 255-259.
- Kato, A.; Adachi, I.; Miyauchi, M.; Ikeda, K.; Komae, T.; Kizu, H.; Kameda, Y.; Watson, A. A.; Nash, R. J.; Wormald, M. R.; Fleet, G. W. J.; Asano, N., *Carbohydr. Res.* **1999**, *316*, 95-103.
- Asano, N.; Kuroi, H.; Ikeda, K.; Kizu, H.; Kameda, Y.; Kato, A.; Adachi, I.; Watson, A. A.; Nash, R. J.; Fleet, G. W. J., *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1-8.
- Hirouchi, S.; Tadahiro, I., *Chem. Pharm. Bull.* **1968**, *16*, 1129-1132.
- Cuzzupe, A. N.; Di Florio, R.; Rizzacasa, M. A., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4392-4398.
- Dubber, M.; Sperling, O.; Lindhorst, T. K., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3901-3912.
- Martin, O. R.; Szarek, W. A., *Carbohydr. Res.* **1984**, *130*, 195-219.
- Purrington, S. T.; Sheu, K.-W., *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3289-3292.
- Bai, Y.; Lowary, T. L., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9658-9671.
- Bai, Y.; Lowary, T. L., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9672-9680.
- Wagner, D.; Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G., *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 24-30.
- Mahajan, S.; Patnaik, S.; Kumar, P.; Gandhi, R. P.; Gupta, K. C., *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4302-4309.
- Chatterjee, A.; Bhattacharya, P. K., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 345-348.
- Molteni, G., *Heterocycles* **2006**, *68*, 2177-2202.
- Gholami, M. R.; Yangjeh, A. H., *J. Chem. Res.* **1999**, 226-227.
- Lee, Y. J.; Lee, B.-Y.; Jeon, H. B.; Kim, K. S., *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3971-3974.
- Pekari, K.; Tailler, D.; Weingart, R.; Schmidt, R. R., *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7432-7442.
- Wessel, H.-P.; Iversen, T.; Bundle, D. R., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 2247-2250.
- Haight, A. R.; Stoner, E. J.; Peterson, J. M.; Grover, V. K., *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8092-8096.
- Schmidt, B.; Nave, S., *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *348*, 531-537.
- Campagne, J.-M.; Prim, D., *Les complexes de palladium en synthèse organique*. CNRS éd.: Paris, 2001.
- Halim, R.; Brimble, M. A.; Merten, J., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1387-1399.

- Kaliappan, K. P.; Kumar, N., *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7461-7469.
- Stork, G.; Kahn, M., *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 3951-3954.
- Houk, K. N.; Moses, S. R.; Wu, Y.-D.; Rondan, N. G.; Jager, V.; Schohe, R.; Fronczek, F. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3880-3882.
- Houk, K. N.; Duh, H.-Y.; Wu, Y.-D.; Moses, S. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2754-2755.
- Annunziata, R.; Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Raimondi, L., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4697-4706.
- Annunziata, R.; Benaglia, M.; Cinquini, M.; Cozzi, F.; Raimondi, L., *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1823-1832.
- Houk, K. N.; Paddon-Row, M. N.; Rondan, N. G.; Wu, Y.-D.; Brown, F. K.; Spellmeyer, D. C.; Metz, J. T.; Li, Y.; Loncharich, J., *Science* **1986**, *231*, 1108-1117.
- Cho, J. H.; Bernard, D. L.; Sidwell, R. W.; Kern, E. R.; Chu, C. K., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1140-1148.
- Lee, J.-C.; Chang, S.-W.; Liao, C.-C.; Chi, F.-C.; Chen, C.-S.; Wen, Y.-S.; Wang, C.-C.; Kulkarni, S. S.; Puranik, R.; Liu, Y.-H.; Hung, S.-C., *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 399-415.
- Fürstner, A.; Domostoj, M. M.; Scheiper, B., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11620-11621.
- Ley, S. V.; Norman, J.; Griffith, W. P.; Marsden, S. P., *Synthesis* **1994**, 639-666.
- Lenz, R.; Giese, B., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2784-2794.
- Imamoto, T.; Sugiura, Y.; Takiyama, N., *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4233-4236.
- Imamoto, T.; Takiyama, N.; Nakamura, K.; Hatajima, T.; Kamiya, Y., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4392-4398.
- Shigeno, K.; Sasai, H.; Shibasaki, M., *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4937-4940.
- Silvia, I.; Dumitru Petru, I., *Proceeding of the Romanian Academy, Series B* **2004**, *6*, 3-6.
- Rao, A. S.; Roy, N., *Carbohydr. Res.* **1977**, *59*, 393-401.
- Meynial, I.; Paquet, V.; Combes, D., *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1627-1631.

# ANNEXES

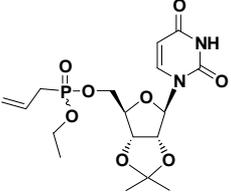
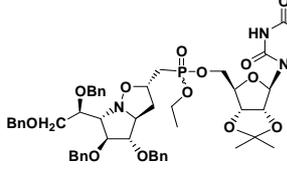
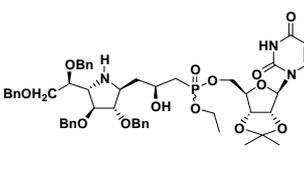
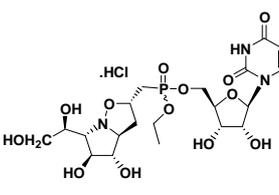
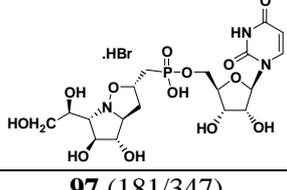
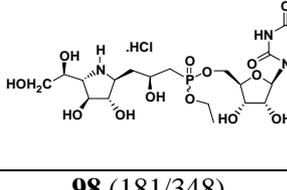
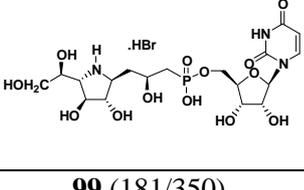
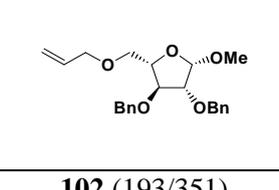
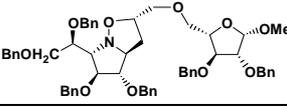
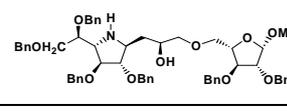
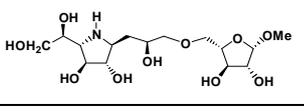
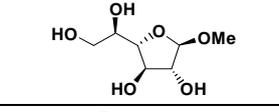
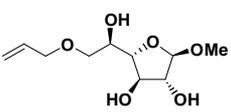
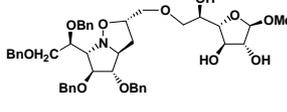
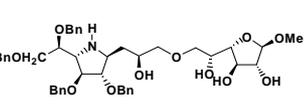
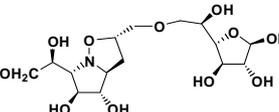
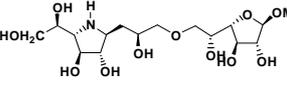
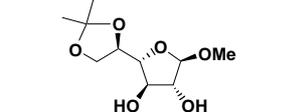
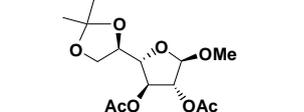
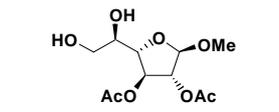
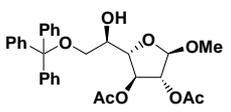
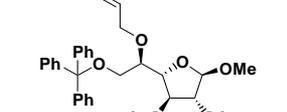
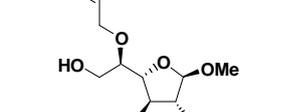
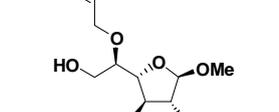
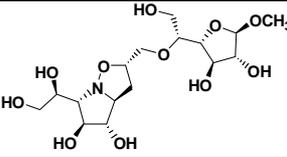
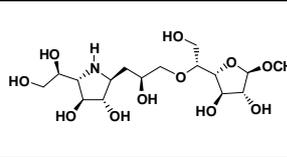
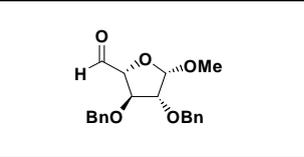
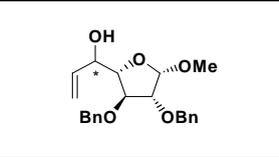
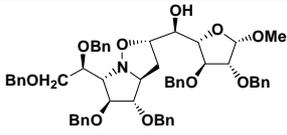
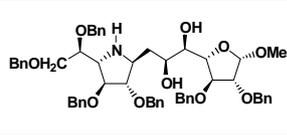
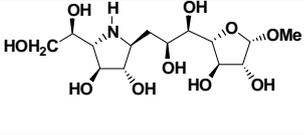
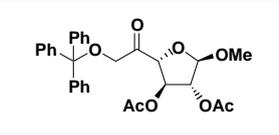
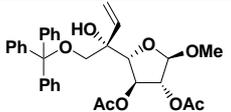
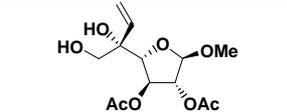
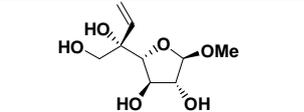


## LISTE RECAPITULATIVE DES PRODUITS SYNTHETISES

Liste des produits synthétisés avec les N° (page de la première apparition dans la partie résultat-discussion/dans la partie expérimentale)

<b>1</b> (91/244)	<b>2</b> (91/245)	<b>3</b> (91/246)	<b>4</b> (92/247)
<b>5</b> (92/249)	<b>6</b> (92/251)	<b>8</b> (99/252)	<b>9</b> (99/253)
<b>10</b> (99/254)	<b>11</b> (99/255)	<b>12</b> (99/256)	<b>13</b> (99/257)
<b>14</b> (99/258)	<b>15</b> (99/259)	<b>16</b> (102/260)	<b>17</b> (105/262)
<b>18</b> (105/263)	<b>20</b> (106/264)	<b>21</b> (106/265)	<b>22</b> (107/266)
<b>23</b> (107/267)	<b>24</b> (107/268)	<b>25</b> (108/270)	<b>26</b> (108/271)
<b>27</b> (113/272)	<b>28</b> (113/273)	<b>29</b> (113/274)	<b>30</b> (114/275)
<b>31</b> (114/276)	<b>32</b> (115/277)	<b>33</b> (115/278)	<b>34</b> (113/279)
<b>35</b> (113/281)	<b>36</b> (113/282)	<b>37</b> (114/283)	<b>38</b> (114/284)
<b>39</b> (115/285)	<b>40</b> (115/286)	<b>41</b> (116/287)	<b>42</b> (116/288)

<b>43</b> (118/289)	<b>44</b> (118/290)	<b>45</b> (124/291)	<b>46</b> (124/292)
<b>47</b> (128/294)	<b>48</b> (129/295)	<b>49</b> (130/296)	<b>50</b> (132/297)
<b>51</b> (133/298)	<b>52</b> (133/299)	<b>53</b> (134/300)	<b>54</b> (134/301)
<b>55</b> (135/303)	<b>56</b> (136/305)	<b>57</b> (136/307)	<b>60</b> (140/308)
<b>62</b> (141/309)	<b>63</b> (142/311)	<b>64</b> (142/312)	<b>65</b> (143/313)
<b>67</b> (144/314)	<b>68</b> (148/315)	<b>69</b> (149/316)	<b>70</b> (149/317)
<b>71</b> (148/318)	<b>72</b> (151/319)	<b>73</b> (151/320)	<b>74</b> (154/321)
<b>75</b> (154/322)	<b>79</b> (172/324)	<b>80</b> (172/326)	<b>81</b> (172/328)
<b>82</b> (172/329)	<b>84</b> (173/330)	<b>85</b> (175/332)	<b>87</b> (177/334)
<b>88</b> (177/335)	<b>89</b> (178/336)	<b>90</b> (178/337)	<b>92</b> (179/338)

			
<b>93</b> (179/339)	<b>94</b> (180/341)	<b>95</b> (180/343)	<b>96</b> (181/345)
			
<b>97</b> (181/347)	<b>98</b> (181/348)	<b>99</b> (181/350)	<b>102</b> (193/351)
			
<b>103</b> (193/352)	<b>104</b> (194/353)	<b>105</b> (195/354)	<b>108β</b> (197/355)
			
<b>109</b> (198/356)	<b>110</b> (198/357)	<b>111</b> (199/358)	<b>112</b> (200/359)
			
<b>113</b> (199/360)	<b>114</b> (202/361)	<b>115</b> (202/362)	<b>116</b> (202/363)
			
<b>117</b> (202/364)	<b>118</b> (202/365)	<b>119</b> (203/367)	<b>120</b> (203/368)
			
<b>121</b> (204/369)	<b>122</b> (204/370)	<b>123</b> (205/371)	<b>124</b> (205/372)
			
<b>125</b> (206/374)	<b>126</b> (207/375)	<b>127</b> (208/376)	<b>128</b> (209/377)
			
<b>129</b> (210/378)	<b>130</b> (210/379)	<b>131</b> (210/380)	

## PUBLICATIONS

1. Liautard, V.; Desvergnès, V.; Martin, O. R., Stereoselective Synthesis of  $\alpha$ -C-Substituted 1,4-Dideoxy-1,4-imino-D-galactitols. Toward Original UDP-Galf Mimics via Cross-Metathesis. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1299-1302.
2. Liautard, V.; Christina, A. E.; Desvergnès, V.; Martin, O. R., Diastereoselective Synthesis of Novel Iminosugar-Containing UDP-Galf Mimics: Potential Inhibitors of UDP-Gal Mutase and UDP-Galf Transferases. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7337-7345.
3. Liautard, V.; Pillard, C.; Desvergnès, V.; Martin, O. R., One-step synthesis of *N*-protected glycosylamines from sugar hemiacetals. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2111-2117.
4. Liautard, V.; Desvergnès, V.; Itoh, K.; Liu, H.-w.; Martin, O. R., Convergent and Stereoselective Synthesis of Iminosugar-Containing Galf and UDP-Galf Mimics: Evaluation as Inhibitors of UDP-Gal Mutase. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3103-3115.
5. Liautard, V.; Desvergnès, V.; Martin, O. R., Novel Galf-disaccharide mimics: synthesis by way of 1,3-dipolar cycloaddition reactions in water. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1999-2002.



**Virginie LIAUTARD**  
**CONCEPTION ET SYNTHÈSE D'IMINO-C-GALACTOFURANOSIDES**  
**COMME INHIBITEURS DE LA BIOSYNTHESE DES GALACTANES**  
**MYCOBACTERIENS**

## Résumé

Dans le contexte de la recherche de molécules actives agissant spécifiquement sur des microorganismes pathogènes tels que les mycobactéries, la biosynthèse du galactofuranose (Galf) constitue une cible chimiothérapeutique intéressante. Notre approche consiste à concevoir et synthétiser des iminosucres originaux comme inhibiteurs potentiels et/ou sondes mécanistiques des enzymes mises en jeu : l'UDP-Galp mutase (UGM) et les Galf transférases (GlfT). Pour cela nous avons développé deux approches stéréodivergentes conduisant à des imino-*C*-galactosides originaux.

Nous avons mis au point une méthodologie performante basée sur l'addition de nucléophiles silylés, assistée par acide de Lewis, sur une *N*-glucosylamine protégée qui a permis la synthèse d'une petite librairie de dérivés  $\alpha$ -1,4-didésoxy-1,4-imino-*D*-galactitols substitués en position C-1. L'utilisation de séquences synthétiques convergentes, notamment une métathèse croisée, nous a ensuite conduits à des analogues de l'UDP-Galf possédant un squelette iminosucre diversement lié à l'UridineMonoPhosphate.

D'autre part, la cycloaddition 1,3-dipolaire entre un phosphonate fonctionnalisé et une nitrone cyclique de configuration *D-galacto* a conduit régio- et stéréosélectivement à l'isoxazolidine, analogue de l'UDP-Galf et précurseur d'UMP- $\beta$ -1,4-iminogalactitol. Cette approche concise et efficace permet également l'obtention d'analogues disaccharidiques du Galf. En effet, nous avons constaté qu'une nitrone polyhydroxylée non protégée réagit facilement, dans l'eau, avec des oléfines de sucre pour conduire au cycloadduit correspondant, précurseur d'imino-disaccharide.

L'évaluation biologique de ces composés comme inhibiteurs de l'UGM et de GlfT2 a montré qu'un analogue de l'UDP-Galf présente une activité intéressante de GlfT2.

Mots Clés: UGM, GlfT2, UDP-Galf, Iminogalactitol, Imino-disaccharide, Cycloaddition 1,3-dipolaire, Métathèse croisée

## **DESIGNING AND SYNTHESIZING IMINO-C-GALACTOFURANOSIDES** **AS INHIBITORS OF MYCOBACTERIAL GALACTAN BIOSYNTHESIS**

## Abstract

In the context of the search for active molecules that would act specifically on pathogenic microorganisms such as mycobacteria, galactofuranose biosynthesis has become a challenging new drug target. Our approach consists in designing and synthesizing original iminosugars that could act as mechanistic probes and/or inhibitors of the enzymes involved: UDP-Galp mutase (UGM) and Galf transferases (GlfT). Consequently, we investigated two stereodivergent approaches to imino-*C*-galactosides.

We developed a methodology based on the Lewis-Acid mediated addition of silylated nucleophiles onto protected *N*-glucosylamine which lead to  $\alpha$ -1-*C*-substituted 1,4-dideoxy-1,4-imino-*D*-galactitol derivatives with a diversity of functionalized groups at C-1 position. Following convergent synthetic sequences such as cross-metathesis reactions we then synthesized iminosugar-based UDP-Galf mimics linked to UMP by structurally various tethers.

On the other hand, 1,3-dipolar cycloaddition of functionalized phosphonate with a *D-galacto*-configured cyclic nitron provided an isoxazolidine with high regio- and stereoselectivity. This bicyclic compound is an original UDP-Galf analog and a precursor of  $\beta$ -linked 1,4-iminogalactitol-UMP conjugates. This methodology also provided a concise and convergent approach to various Galf-disaccharide mimics. We also found that unprotected polyhydroxylated nitron reacted readily, in water, with sugars olefins to provide the corresponding cycloadducts as imino-disaccharides precursors.

Biological evaluation of these compounds as potential inhibitors of UGM and GlfT2 showed that one UDP-Galf analog exhibited interesting activity toward GlfT2.

Key words: Iminogalactitol, UDP-Galf, UGM, GlfT2, imino-disaccharides, 1,3-dipolar cycloaddition, cross-metathesis



**Institut de Chimie Organique et Analytique**  
**UFR Sciences - BP 6759 rue de Chartres 45067 Orléans cedex 2**

