HAL
open science

Fonctionnalisation d'un squelette aminoribosyluridine : vers de nouveaux inhibiteurs et des outils moléculaires pour la caractérisation de la transférase bactérienne MraY

Mickaël Fer

To cite this version:

Mickaël Fer. Fonctionnalisation d'un squelette aminoribosyluridine : vers de nouveaux inhibiteurs et des outils moléculaires pour la caractérisation de la transférase bactérienne MraY. Chimie organique. Université René Descartes - Paris V, 2014. Français. NNT : 2014PA05P631 . tel-01424114

HAL Id: tel-01424114

https://theses.hal.science/tel-01424114v1

Submitted on 2 Jan 2017

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

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

Université Paris Descartes
Faculté des Sciences Fondamentales et Biomédicales

École Doctorale
Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries

Année : 2014

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de
Docteur de l'Université Paris Descartes

Discipline : Sciences de la Vie et de la Matière
Spécialité : Chimie Organique

Par

Mickaël FER

Fonctionnalisation d'un squelette aminoribosyluridine : Vers de nouveaux inhibiteurs et des outils moléculaires pour la caractérisation de la transférase bactérienne MraY

Directeur de thèse : Dr Christine GRAVIER-PELLETIER

Soutenance prévue le 24 novembre 2014 devant le jury composé de :

Monsieur le Professeur Philippe COMPAIN	**Rapporteur**
Monsieur le Docteur Christophe MEYER	**Rapporteur**
Monsieur le Professeur Philippe BELMONT	**Président**
Monsieur le Docteur Sébastien GOUIN	**Examinateur**
Madame le Docteur Sandrine CALVET-VITALE	**Examinateur**
Madame le Docteur Christine GRAVIER-PELLETIER	**Examinateur**

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques de l'Université Paris Descartes, UMR 8601 du CNRS dirigé successivement par Madame le Dr. Isabelle Artaud, et Madame le Dr. Francine Acher, Directrices de Recherches au CNRS. Je tiens à les remercier pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire.

Cette thèse a été effectuée sous la direction de Madame le Dr. Christine Gravier-Pelletier, Directrice de Recherches au CNRS et Madame le Dr. Sandrine Calvet-Vitale, Maître de Conférences à l'Université Paris Descartes. Je les remercie d'avoir été bien plus que mes encadrantes tout au long de ces années, pour tous les conseils qu'elles m'ont prodigués, pour leur disponibilité, leur bonne humeur et leur gentillesse quotidiennes. Cette aventure humaine et scientifique aurait été bien différente sans le soutien qu'elles m'ont apporté.

Je témoigne toute ma gratitude à Monsieur le Dr. Philippe Compain, Professeur à l'Université de Strasbourg, et à Monsieur le Dr. Christophe Meyer, Directeur de Recherches au CNRS qui ont accepté de juger ce travail et d'en être les rapporteurs scientifiques.

Je tiens également à remercier Monsieur le Dr. Philippe Belmont, Professeur à l'Université Paris Descartes, et Monsieur le Dr. Sébastien Gouin, Chargé de Recherches au CNRS, pour avoir accepté d'examiner ce travail et en particulier ce dernier pour la collaboration que nous avons engagée au cours de cette thèse.

Je tiens à remercier Madame le Dr. Ana Amoroso du Centre d'Ingénierie des Protéines de Liège, ainsi que Monsieur le Dr. Ahmed Bouhss, Chargé de Recherches au CNRS, pour l'évaluation de l'activité biologique des composés synthétisés au cours de cette thèse.

Je remercie Monsieur le Dr. Thierry Prangé, Professeur Emérite à l'Université Paris Descartes pour notre collaboration concernant la résolution de la structure cristallographique d'un intermédiaire de synthèse.

Je tiens également à remercier Monsieur le Dr. Nicolas Pietrancosta, Chargé de Recherches au CNRS et Monsieur le Dr. Laurent Le Corre, Ingénieur d'Etudes au CNRS, pour les études préliminaires de modélisation moléculaire ainsi que pour leur disponibilité.

Je tiens à remercier Monsieur le Dr. Guillaume Prestat, Professeur à l'Université Paris Descartes, pour ses précieux conseils concernant la chimie organométallique.

Un grand merci également à Assia Hessani pour toutes ces analyses de masse effectuées toujours "en urgence !".

Je tiens à remercier Monsieur Serge Turcaud (« de la vega »), Ingérieur de Recherches au CNRS, pour son aide précieuse concernant la purification par HPLC de mes composés et pour son rire si communicatif.

Merci à Madame le Dr. Patricia Busca, Maître de Conférences à l'Université Paris Descartes pour sa bonne humeur quotidienne "jamais morose mais toujours en rose" et à qui ce fameux sucre rappellera probablement quelques cauchemars.

Je souhaite remercier Monsieur le Dr. Farouk Berhal, Maître de Conférences à l'Université Paris Descartes, pour toutes ces parties de rire à côté d'une colonne toujours trop longue ou avant un TD de PACES ("YO FOOO !").

Mille mercis également à tous les enseignants, Professeur ou Maître de conférences à l'Université Paris Descartes qui, au cours de mes années de formation, ont su me transmettre une partie de leur savoir et de leur culture scientifique à travers un enseignement de grande qualité.

Je témoigne en particulier toute ma reconnaissance au Professeur Yves Le Merrer qui, dès ma première année à l'Université, a su me transmettre le goût de la Chimie.

Merci également aux autres thésards qui ont partagé cet exercice à mes cotés. Je pense notamment à Laetitia, Aurélie, Christine, Laura, Sandy, Arnaud, Bruno et tous les étudiants rencontrés lors de la SECO51. Je témoigne ma sympathie à la « relève » et aux futurs docteurs comme Anne-Doriane, Expédite, Hélène, Sarah, Djibo, Nicolas, Guillaume en leur souhaitant tout le meilleur durant leur thèse.

Ce travail aurait été bien différent sans les personnes rencontrées autour de ma hotte, devenues, au fil du temps, bien plus que de simples collègues. Je pense notamment aux "jeunes" avec qui j'ai eu la chance de travailler au cours de cette thèse tels qu'Anaïs (El phenomeno), Divya (pour qui la colonne est toujours "bizarre"), Marion (qui doit encore mettre trop de silice), Jessica (qui ne m'a pas encore fait arrêter le café), Pierre (qui devrait penser à dormir de temps en temps), Mariana (de la « BEBOM quoi ! ») et les étudiants que j'ai encadré dans le cadre de la licence PIP. Un grand merci à eux.

Je voudrais remercier particulièrement Laurent Le Corre et Arthur Guillard pour tous les bons moments des pauses café et pour avoir réussi à faire s'entendre "une mouche" (Bzzz) et "un canard" (le pauvre quand même ce canard). C'est avant tout grâce à eux que la motivation revenait lorsque "l'envie n'y était plus".

Merci également à Astrid Beyer (qui devrait songer à prendre un café, un thé ou bien …), Michaël Bosco (pour son amour de la langue de Molière) et Geordie Creste (LUIGIII) pour cette bonne ambiance de tous les jours.

Merci à toutes les personnes avec qui j'ai pu sympathiser au cours de cette aventure : Anas (mon jumeau de chez Celio !), Carole (pour son imagination concernant mon surnom), Isabelle (bisouquipique), Delphine (street spirit) et Rodolphe (Mr. Sécurité)… et tant d'autres…

Je ne peux terminer ces remerciements sans penser à tous mes amis des Sablons, ils sauront évidemment se reconnaître.

Enfin, je dédie cette thèse à ma famille, qui à toujours été là pour moi dans les moments les plus difficiles, pour le meilleur et pour le pire.

A ma Mère, qui m'a toujours dit de "m'accrocher" ;

A mon Père, qui m'a toujours poussé à me surpasser pour le meilleur ;

A mes Mamies, qui ont toujours été bienveillantes à mon égard.

A la mémoire de mon Papi.

Sommaire

Sommaire

LISTE DES ABREVIATIONS *8*

INTRODUCTION *12*

CHAPITRE 1 : Les antibiotiques *14*

I Antibiotiques et antibiorésistance **14**

A) Historique, définition et généralités sur les antibiotiques 14
1) Historique 14
2) Définitions 16
B) Résistance bactérienne aux antibiotiques 16
1) Types de résistances 16
2) Principaux mécanismes de la résistance acquise 17
a) Adaptation de la cible 17
b) Modification chimique de l'antibiotique 17
c) Diminution de la perméabilité membranaire 18
d) Efflux actif 18
C) Cibles biochimiques et grandes familles d'antibiotiques 19
1) Structure des bactéries 19
2) Cibles principales des antibiotiques et modes d'action 21
a) Métabolisme des acides nucléiques 21
b) Synthèse de l'ARN 22
c) Synthèse des protéines 23
d) Synthèse de la paroi bactérienne 25
D) Le Peptidoglycane Bactérien 27
1) Structure du peptidoglycane 27
2) Biosynthèse du peptidoglycane et antibiotiques associés 30
a) Etapes cytoplasmiques 30
b) Etapes membranaires 43
c) Etapes périplasmiques 46

II La transférase bactérienne MraY, une cible pertinente **49**

A) Rôle, topologie 49
1) Classification et rôle de MraY 49
2) Séquence protéique et topologie de MraY 50
B) Paramètres enzymatiques et donnés mécanistiques 50
C) Structure cristallographique 52
D) Inhibiteurs naturels de MraY 54
E) Inhibiteurs de MraY et approches synthétiques 56
1) Approches de Dini et coll. 56
2) Approches envisagées au laboratoire 60
3) Approches envisagées par Knapp et Kurosu 61
4) Approches envisagées par Matsuda et coll. 62
5) Approches de Shibasaki, Watanabe et coll. 66
6) Approches de Sarabia et Ducho 67

III Objectifs **69**

CHAPITRE 2 : Synthèse de nouveaux analogues d'inhibiteurs naturels de MraY : les dérivés 5'-triazole-aminoribosyluridine (famille I) **72**

I Rétrosynthèse **72**

II Généralités sur les donneurs de glycosyle et synthèse de l'intermédiaire B **73**
A) Généralités sur les glycosides, méthodes de formation de liaisons glycosidiques 73
1) Groupements activateurs de la position anomérique et promoteurs de la réaction de glycosylation 75
2) Choix des groupements protecteurs et du groupe activateur en position anomérique 78
B) Résultats : Synthèse du ribose fluoré B 79
1) Protection des fonctions alcools en position 2,3 79
2) Introduction d'une fonction amine masquée en position 5 79
a) Amine protégée sous forme de carbamate de *tert*-butyle 79
b) Introduction de l'amine sous forme de phtalimide 80
3) Protection de la position anomérique 82
4) Introduction de la fonction amine sur le dérivé protégé 112 83
5) Déprotection de la position anomérique 83
6) Fluoration de la position anomérique : accès à l'intermédiaire B 85

III Synthèse du dérivé 5'-éthynyl-Uracile C **87**
A) Bibliographie : approche envisagée par Vasella et coll. 87
B) Résultats : Application à la synthèse du dérivé 5'-*(S)*-éthynyl-uridine C 89
1) Protection des fonctions alcool de l'uridine 89
a) Sous forme d'acétonide **22** 89
b) Sous forme d'éther de *tert*-butyldiméthylsilyle **120** 89
2) Oxydation des alcools 22 et 120 en aldéhyde 90
3) Alcynylation des aldéhydes 122 et 98b 92
a) Alcynylation de l'aldéhyde **122** 92
b) Alcynylation de l'aldéhyde **98b** 93
c) Attribution de la configuration de l'alcool propargylique 123a 94
4) Inversion de configuration par réaction de Mitsunobu 96
5) Ouverture du cycle : accès à l'alcool C 97

IV Glycosylation β sélective : obtention du squelette phtalimidoribosyluridine A **99**

V Chimie click : synthèse d'azotures et réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre. **101**
A) La « chimie click » 101
1) Concept 101
2) Cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen 101
B) Préparation d'azotures : Choix et voies de synthèse 103
C) Synthèse d'azotures par substitution nucléophile sur un dérivé bromé 104
D) Synthèse d'azotures par substitution nucléophile sur un alcool activé 105
E) Synthèse d'azotures par réaction de transfert de groupement diazo 107
F) Synthèse d'azotures présentant un motif benzophénone 108
G) Réaction de cycloaddition catalysée au cuivre 109

VI Etapes de déprotections **110**
A) Déprotection de l'amine en position 5" 110
B) Déprotections des cétals et accès aux triazoles d'intérêt 112
C) Synthèse du squelette 5'-éthynyl-aminoribosyluridine 140 déprotégé 113

VII Conclusion **115**

CHAPITRE 3 : Synthèse des familles II et III *116*

I Introduction et rétrosynthèse **116**
A) Introduction 116
B) Rétrosynthèse 117

II Synthèse de la 5',6'-époxyuridine H **118**
A) Stratégies de synthèse du dérivé 5',6'-époxyuridine H 118
B) Synthèse d'une 5',6'-époxyuridine protégée, par fermeture de cycle, à partir du diol 1,2 correspondant 118
1) Synthèse du diol à partir du "pool chiral" 118
2) Synthèse du diol 146 par dihydroxylation 119
C) Synthèse de 5',6'-époxyuridine par réaction de Corey-Chaykovsky à partir d'un aldéhyde 120
D) Résultats : application à la synthèse du dérivé 5'*(S)*,6'-époxyuridine C 121
1) Réaction de Corey-Chaykovsky sur les aldéhydes 22 et 149 121
E) Synthèse de 5',6'-époxyuridine par époxydation 121
1) Epoxydation asymétrique de Sharpless 121
2) Epoxydation sans ligands chiraux 122
2) Synthèse des l'alcènes 148 et 153 123
a) Alcène protégé sous forme d'acétonide **148** 123
b) Alcène protégé sous forme d'éther de *tert*-butyldiméthylesilyle **153** 123
3) Epoxydation de l'alcène 148 123
4) Epoxydation de l'alcène 153 124
a) Optimisation 124
b) Détermination de la configuration absolue du carbone 5' 125
F) Ouverture de l'époxyde 154a : synthèses des intermédiaires F et G 126
G) Déprotection de l'alcool homopropargylique 162 129

III Glycosylation des alcools 163 et 157 **129**

IV Préparation des partenaires pour les réactions de cycloaddition **130**
A) Choix des partenaires de cycloaddition 130
B) Synthèse de nouveaux azotures 130
C) Synthèse des alcynes complémentaires 131
1) Stratégie de synthèse 131
2) Synthèse des alcynes vrais 132

V Réactions de cycloaddition impliquant l'alcyne 164 et l'azoture 165 **135**

VI Déprotections et obtention des inhibiteurs des familles II et III **135**

VII Conclusion **137**

CHAPITRE 4 : Evaluation de l'activité biologique, comparaison entre les différentes séries et études de modélisation moléculaire *138*

I Principe du test **138**

II Evaluation de l'activité inhibitrice des familles I à III sur MraY **139**

IV Etudes préliminaires de modélisation moléculaire **143**

V Evaluation de l'activité antibactérienne des inhibiteurs des familles I, II et III **146**

VI Conclusion **148**

CHAPITRE 5 : Inhibiteurs multivalents et sondes photoactivables *150*

I La multivalence : généralités et plateformes typiques **150**

A) Concept de multivalence et effet « cluster » des sucres 150

B) Plateformes typiques 152

II Structure, rétrosynthèse et synthèse des composés multivalents **154**

III Evaluation biologique **156**

IV Sondes photoactivables : Intérêts, principe et résultats préliminaires **157**

A) Intérêt 157

B) Principe et sondes photoactivables utilisées 157

C) Sondes photoactivables synthétisées et préparation d'un linker 159

V Conclusion **161**

CONCLUSION GENERALE *164*

PARTIE EXPERIMENTALE *168*

BIBLIOGRAPHIE *300*

INDEX DES MOLECULES PREPAREES *302*

Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac	acétyle
ADN	acide désoxyribonucléique
All	allyle
Alr	alanine racémase
APCI	ionisation chimique
APPI	photoionisation
ARN	acide ribonucléique
ARNm	acide ribonucléique messager
ARNt	acide ribonucléique de transfert
B:	base
Bn	benzyle
Boc	*tert*-butoxycarbonyle
BOM	acétal de benzyloxyméthylène
BP	benzophénone
br	large
Bu	butyle
Cat	catalytique
Cbz	carboxybenzyle
CCM	chromatographie sur couche mince
CI_{50}	concentration inhibitrice à 50%
CMB	concentration minimale bactéricide
CMI	concentration minimale inhibitrice
CoA	coenzyme A
coll.	collaborateurs
CuAAc	cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre
d	doublet
DAST	trifluorure de diéthylaminosulfure
DCM	dichlorométhane
Ddl	D-alanyl-D-alanine ligase
DEAD	azodicarboxylate de diéthyle
DET	diéthyltartrate
DIAD	azodicarboxylate de diisopropyle
DIPEA	diisopropyléthylamine

DMAP	2,4-diméthylaminopyridine
DMDO	diméthyldioxirane
DMF	*N,N*-diméthylformamide
DMP	periodinane de Dess-Martin
DMSO	diméthylsulfoxyde
dppp	1,3-bis-(diphenylphosphino)-propane
equiv	équivalent
ESI	ionisation par électrospray
Et	éthyle
F6P	fructose-6-phosphate
FADH	flavine adénine dinucléotide
Glc*N*Ac	*N*-acétylglucosamine
Glc*N*Ac-1P	*N*-acétylglucosamine-1-phosphate
$GlcNH_2$-1P	glucosamine-1-phosphate
$GlcNH_2$-1,6P	glucosamine-1,6-diphosphate
$GlcNH_2$-6P	glucosamine-6-phosphate
GlmM	glucosamine mutase
GlmS	glucosamine synthase
GP	groupe partant
HMPA	hexaméthylphosphoramide
IBX	acide *o*-iodoxybenzoïque
ImH	imidazole
*i*Pr	isopropyle
IR	infrarouge
Km	constante de Michaëlis
m	multiplet
m	médian
MBH	milieu de Mueller Hinton
MBP	mannose binding protein
*m*CPBA	acide *méta*-chloroperbenzoïque
*m*DAP	acide diaminopimélique
MDR	multi-drug resistant
Me	méthyle
m.p.	melting point
MS	tamis moléculaire

Ms	méthanesulfonyle
Mur*N*Ac	*N*-acétylmuramoyle
NADH	nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
*n*Bu	*n*-butyle
NMO	*N*-méthylmorpholine-*N*-oxyde
nOe	effet Overhauser nucléaire
P	groupe protecteur
PBP	penicillin binding protein
PEP	phosphoénolpyruvate
Ph	phényle
Pht	phtalimide
Pi	phosphate
PLP	phosphate de pyridoxal
PPi	pyrophosphate
ppm	partie par million
r.d.	rapport diastéréoisomérique
Rdt	rendement
R*f*	rapport frontal
RMN	résonance magnétique nucléaire
r.t.	room temperature
s	singulet
s	fort
SAD	dihydroxylation asymétrique de Sharpless
SAE	époxydation asymétrique de Sharpless
T.A.	température ambiante
TBAF	fluorure de tétrabutylammonium
TBDMS	*tert*-butyldiméthylsilyle
*t*Bu	*tert*-butyle
TEA	triéthylamine
TES	triéthylsilyle
TFA	acide trifluoroacétique
Tf	trifluorométhanesulfonyle
THF	tétrahydrofurane
TIPS	triisopropylesilyle

TMS	triméthylsilyle
Troc	2,2,2-trichloréthoxycarbonyle
Ts	*para*-toluènesulfonyle
UDP	uridine diphosphate
UFC	unité formant colonie
UMP	uridine monophosphate
w	faible

INTRODUCTION

Les infections bactériennes et parasitaires sont la deuxième cause de décès dans le monde. En effet, depuis l'avènement des antibiotiques et malgré les progrès constants de la médecine face aux infections bactériennes, les bactéries n'ont cessé de développer des résistances contre ces molécules. A terme, la communauté scientifique redoute l'émergence de souches résistantes à tous les antibiotiques connus. L'antibiorésistance constitue donc, à l'heure actuelle, un problème majeur de santé publique et endiguer ce phénomène est devenu une des priorités de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Pour faire face à cette menace, plusieurs stratégies existent. Parmi elles, le développement de nouveaux agents antibactériens dirigés contre des cibles enzymatiques peu ou pas exploitées constitue un des moyens de lutte les plus efficaces.

Dans ce contexte, les enzymes impliquées dans la biosynthèse de la paroi bactérienne sont des cibles attractives. Spécifiques, essentielles et ubiquitaires au sein du monde bactérien, ces protéines sont en effet des cibles de grand intérêt car leurs inhibiteurs présenteraient le profil d'inhibition idéal : inertes vis-à-vis des cellules eucaryotes et efficaces face aux bactéries.

Le laboratoire s'intéresse en particulier à la transférase bactérienne MraY. Cette protéine catalyse la première étape membranaire de la biosynthèse du peptidoglycane bactérien, constituant essentiel de la paroi bactérienne.

Plusieurs familles d'inhibiteurs naturels de MraY ont déjà été identifiées. Néanmoins, leurs propriétés antibactériennes sont limitées. En conséquence, plusieurs approches dédiées à la synthèse d'analogues simplifiés de ces inhibiteurs naturels ont déjà été envisagées au laboratoire et leurs propriétés inhibitrices de MraY ont été étudiées.

De manière complémentaire à ces travaux, les objectifs de cette thèse sont, d'une part, la synthèse de nouveaux analogues simplifiés d'inhibiteurs naturels de MraY et, d'autre part, la préparation d'outils moléculaires pour l'étude du site actif de cette protéine.

La stratégie envisagée repose sur la fonctionnalisation d'un squelette aminoribosyluridine, structure retrouvée dans de nombreux inhibiteurs naturels, *via* une réaction de cycloaddition conduisant à des analogues de type triazole.

Le premier chapitre de cette thèse sera consacré à la présentation du contexte biologique des travaux réalisés et précisera l'état de l'art concernant la transférase MraY.

Le deuxième chapitre dédié aux inhibiteurs de structure 5'-triazole-aminoribosyluridine présentera l'accès au squelette 5'-éthynyl-aminoribosyluridine par réaction de glycosylation entre deux intermédiaires clés : des synthons dérivés de l'uridine et des synthons dérivés du ribose. Puis, seront exposées l'étape clef de cycloaddition permettant la fonctionnalisation de ce squelette et les réactions finales conduisant aux analogues souhaités.

Le chapitre 3 traitera de la synthèse d'une deuxième série d'analogues possédant un méthylène entre le squelette aminoribosyluridine et l'espaceur de type triazole afin d'évaluer l'influence de la plus grande flexibilité de ces inhibiteurs par rapport aux précédents, sur l'activité biologique.

Le chapitre 4 présentera les résultats des évaluations biologiques des molécules synthétisées effectuées *in vitro* sur la transférase MraY et *in cellulo* sur plusieurs souches bactériennes Gram (+) et Gram (-).

Enfin, le chapitre 5 rassemblera les résultats concernant d'une part, la synthèse d'inhibiteurs multivalents menée en collaboration avec l'équipe du Dr. Sébastien Gouin (Université des Sciences et Techniques de Nantes) et d'autre part, les nouveaux outils moléculaires élaborés pour l'étude de la transférase bactérienne MraY.

Chapitre 1

CHAPITRE 1 : Les antibiotiques

I Antibiotiques et antibiorésistance

A) Historique, définition et généralités sur les antibiotiques

1) Historique

Les premières mentions de médicaments sont retrouvées dès le IIIème millénaire avant JC alors que la notion même de « molécule » n'est pas encore connue. Ainsi, la pharmacopée de Nippur, plus ancienne pharmacopée découverte à ce jour, recense non loin d'une douzaine de « remèdes » tels que des substances minérales, des sels inorganiques, ou encore des fragments animaux comme des écailles de tortues[1].

Le contenu de ces écrits, transmis au fil des siècles, a permis la guérison de certaines pathologies même si leurs causes scientifiques n'étaient pas encore connues. Par exemple, les plaies infectées étaient soignées par nos ancêtres grecs et chinois grâce à des potions, décoctions et myrrhes, sans pour autant qu'ils sachent que ces infections étaient dues à des micro-organismes pathogènes.

Il a en effet fallu attendre le XVIIème siècle pour que le Hollandais Antoine van Leeuwenhoek observe, en 1676, les microbes, les globules du sang et les levures à travers le microscope qu'il a lui-même conçu[2]. Cette découverte majeure a permis de nombreuses avancées scientifiques, notamment en ouvrant la voie à la discipline de la microbiologie.

Par exemple, Lazzaro Spalanzani a découvert en 1768 que soumettre des micro-organismes à une heure d'ébullition provoquait leur destruction et donc la stérilisation du milieu[3]. C'est en poursuivant ces travaux que Louis Pasteur a relié, près d'un siècle plus tard (1859), les phénomènes de fermentation à la présence de micro-organismes[4]. Dans la même période, Robert Koch a démontré leur rôle en tant qu'agents infectieux et a identifié les germes responsables de la tuberculose et du choléra[5].

Malgré ces découvertes majeures, ce n'est qu'au début du XXème siècle, alors que la tuberculose et la syphilis faisaient des ravages, qu'est né le concept de chimiothérapie. C'est l'allemand Paul Ehrlich qui a mis au point, en 1910, le Salvarsan® (Figure 1), antibiotique efficace contre la syphilis et premier antibiotique de synthèse[6].

---

[1] Landry, Y. *Petite histoire des médicaments-de l'antiquité à nos jours* ; Dunod, **2011**.
[2] Porter, J. R. *Microbiol. Rev.* **1976**, *40*, 260-269.
[3] Spalanzani, M. *Nouvelles recherches sur les découvertes microscopiques et la génération des corps organisés*, traduit de l'italien par M. l'Abbé Régley ; Paris, **1769**.
[4] Pasteur, L. *Œuvres de Pasteur. Tome 2* ; Masson (Paris), **1922**.
[5] Koch, R. *Berliner klinische Wochen- schrift*, **1882**, 428-445.
[6] Lloyd, N.C. ; Morgan, H. W. ; Nicholson, B. K. ; Rominus, R. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 941-944.

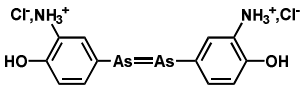


Figure 1 : Structure de l'arsphénamine proposée par Ehrlich (Salvarsan®)

Bien qu'il soit mieux toléré que l'iodure de potassium utilisé jusqu'alors, la toxicité du Salvarsan® a toutefois nécessité la recherche de nouveaux composés.

Dans ce but, une autre stratégie visant à isoler des antibiotiques produits par des champignons a vu le jour. On doit cette approche au bactériologiste britannique Alexander Flemming qui, en 1928[7], observa qu'une souche de *Penicillium notatum* était capable d'inhiber la croissance de pneumocoques au cours de son développement. C'est en 1940 que la pénicilline G (Figure 2), substance responsable de cette inhibition fut isolée par le pharmacologue Howard Florey et le biochimiste Ernst Boris Chain. Pour ces travaux, ces trois scientifiques reçurent conjointement le prix Nobel de médecine en 1945.

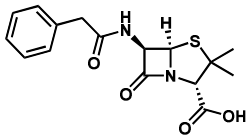


Figure 2 : Structure de la pénicilline G (Extencilline®)

Ces découvertes ont permis l'utilisation de la pénicilline à l'échelle mondiale ce qui fit d'elle pendant plusieurs décennies l'antibiotique de référence. Il est estimé que son utilisation a engendré une augmentation de l'espérance de vie de plus d'une dizaine d'année[8], impact supérieur à celui de n'importe quel autre traitement commercialisé depuis.

Cependant, au fil des générations, les bactéries ont été capables de s'adapter en développant de nouveaux moyens nécessaires à leur survie : elles sont devenues résistantes à la pénicilline.

En effet, comme n'importe quel autre organisme, les bactéries sont soumises à l'évolution de leur espèce. En outre, leur cycle cellulaire étant particulièrement court, cette évolution est facilement observable à l'échelle humaine.

La résistance est donc un processus naturel qui se produit lorsqu'une bactérie est contrainte de se développer en présence d'un antibiotique : c'est **la pression de sélection** d'un antibiotique. Les bactéries qui présentent une mutation leur permettant d'y survivre continuent à se multiplier, en transmettant à leur descendance les gènes de résistance. Elles produisent rapidement une nouvelle génération de bactéries, pleinement ou majoritairement résistantes.

Ainsi, depuis le début de l'utilisation massive des antibiotiques en 1940, on constate une augmentation du nombre de souches résistantes aux antibiotiques. Par ailleurs, ce

---

[7] Brezinski, C. *Histoires de sciences : Inventions, découvertes et savants*, L'Harmattan, **2006**.
[8] McDermott, W.; Rogers, D. E. *The Johns Hopkins Medical Journal*, **1982**, *151*, 302-312.

phénomène est accéléré par l'usage abusif ou inapproprié d'antibiotiques qui favorise la sélection de bactéries résistantes. Ce phénomène inévitable rend donc la découverte de nouveaux agents antibactériens primordiale car, à terme, la communauté scientifique craint de rencontrer des souches devenues résistantes à tous les antibiotiques connus. L'étude et la résolution de ce problème fait d'ailleurs partie des dix premières priorités de recherche de l'organisation mondiale de la santé (OMS).

Après avoir brièvement rappelé le contexte historique concernant la découverte des antibiotiques et l'apparition de la résistance bactérienne aux antibiotiques, nous allons définir ces termes.

2) Définitions

Le terme « **antibiotique** », proposé par le mycologue français Jean Paul Vuillemin[9], désigne toute substance présentant une toxicité sélective à l'égard des bactéries vis-à-vis des cellules de l'hôte infecté. Ainsi, on peut définir différents paramètres permettant de caractériser un antibiotique donné et d'en refléter l'efficacité :

- Le spectre d'activité, spécifiant le nombre de germes différents sur lequel l'antibiotique agit ;

- La concentration minimale inhibitrice (CMI), caractérisant la plus petite concentration en antibiotique pour laquelle la croissance bactérienne est arrêtée. Cette dernière, usuellement donnée en µg/mL reflète le pouvoir bactériostatique de l'antibiotique ;

- La concentration minimale bactéricide (CMB), déterminant la plus petite concentration en antibiotique pour laquelle au moins 99,9 % des bactéries sont tuées. On parle alors de pouvoir bactéricide de l'antibiotique.

La résistance bactérienne[10] à un antibiotique est la capacité d'une bactérie à se développer en présence d'une quantité importante d'antibiotique qui serait létale pour une souche non résistante. Cette aptitude est conférée aux bactéries lorsqu'elles s'adaptent à la pression de sélection exercée par des antibiotiques.

Plusieurs mécanismes de résistance ont été recensés, ils vont maintenant être présentés.

B) Résistance bactérienne aux antibiotiques

1) Types de résistances

On peut distinguer deux grands types de résistance :

- La résistance dite « **innée** », qui est un caractère propre à une espèce donnée. Elle fait partie intégrante du génome de l'espèce considérée et toutes les souches de cette espèce en sont pourvues.

- La résistance dite « **acquise** », propre à une souche bactérienne particulière. Elle survient face à la pression de sélection exercée par un antibiotique sur cette souche

---

[9] Vuillemin, J.-P. *Antibiose et symbiose*, Notes et mémoires, **1890**, *11,* 525-543.
[10] (a) C. Walsh and G. Wright *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391 (volume dédié à la résistance bactérienne) ; (b) S. Jovetic, Y. Zhu, G.L. Marcone, F. Marinelli and J. Tramoper *Trends in Biotechnology,* **2010**, *28*, 596-604.

et résulte généralement de mutations aléatoires dans son génome provoquant divers mécanismes de résistance.

On peut dénombrer six mécanismes de résistance acquise :

- l'adaptation de la cible ;
- la modification chimique de l'antibiotique ;
- la diminution de la perméabilité membranaire à un antibiotique ;
- l'efflux actif ;
- la surproduction de la cible ;
- l'utilisation du métabolisme secondaire ;

Les quatre premiers mécanismes sont les plus répandus et nous allons donc les présenter plus en détail.

2) Principaux mécanismes de la résistance acquise

a) Adaptation de la cible

Une bactérie exposée à la pression de sélection d'un antibiotique peut subir des mutations de son génome. Ces dernières peuvent modifier la séquence protéique de la cible, et réduire l'efficacité de l'antibiotique. Ce phénomène est notamment rencontré chez la souche *Campylobacter jejuni* résistante aux sulfonamides tels que le sulfaméthoxazole (Figure 3).

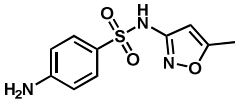


Figure 3 : Structure du sulfaméthoxazole (Bactrim®), un sulfonamide antibactérien

Dans le cas de la souche résistante, la dihydroptéroate synthase, cible de cette famille d'antibiotique, diffère de quatre amino-acides par rapport à l'enzyme sensible[11]. Ce changement de séquence rend l'antibiotique inefficace car il ne peut plus se fixer à sa cible.

b) Modification chimique de l'antibiotique

Ce mécanisme de résistance est typique des bactéries résistantes aux β-lactamines comme la pénicilline (Figure 2). Le cycle β-lactame de ces molécules est responsable de leur activité antibiotique. Ainsi, les souches résistantes expriment des enzymes spécifiques permettant l'hydrolyse de ces composés : **les β-lactamases**[12]. En ouvrant le cycle β-lactame, ces enzymes rendent ces molécules inefficaces (Figure 4).

---

[11] Gibreel, A.; Sköld, O. *Agents Chemother.* **1999**; *43* 2156–2160.
[12] Walsh, T. R.; Toleman, M. A.; Poirel, L.; Nordmann, P. *Clin. Microbiol. Rev.* **2005**, *18*, 306–325 et références citées.

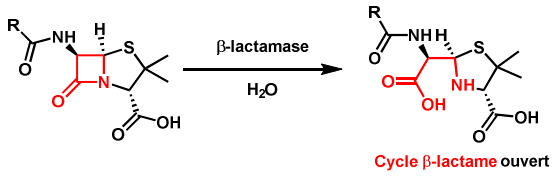


Figure 4 : Hydrolyse d'une péniciline par une β-lactamase

Ce phénomène est sans doute le plus connu des mécanismes de résistance car il a mis un terme à « l'hégémonie » des pénicillines.

c) Diminution de la perméabilité membranaire

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il doit tout d'abord atteindre sa cible en traversant les membranes bactériennes. Cette traversée est plus ou moins facile selon la complexité des membranes bactériennes. Ainsi, les bactéries à Gram positif laissent diffuser les petites molécules. En revanche, dans le cas des bactéries à Gram négatif, la membrane externe supplémentaire qu'elles présentent, empêche la libre diffusion de l'eau et des molécules hydrophiles. Ainsi, l'eau et les nutriments sont échangés avec le milieu extérieur grâce aux **porines**. Ces canaux permettent également le passage des antibiotiques comme les aminosides, les β-lactamines ou les carabapénèmes. En modifiant la structure de ses porines, une bactérie est capable de ne plus laisser passer un antibiotique à travers sa membrane. Une réduction du nombre de porines peut également être observée dans ce mécanisme de résistance[13]. Ce phénomène est notamment observé chez *Klebsiella pneumoniae*[14], bactérie résistante à la céfoxitine (Figure 5).

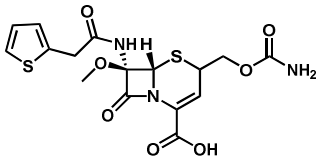


Figure 5 : Structure de la céfoxitine (Mefoxin®), un carbapénème

d) Efflux actif

L'efflux actif d'un antibiotique correspond au rejet de celui-ci à l'extérieur de la bactérie. Sous l'action de la pression de sélection, la bactérie peut sur-exprimer à sa surface des protéines appelées **pompes d'efflux**[15-16]. Ces pompes, sélectives ou non d'un antibiotique, réduisent la concentration intracellulaire de ce dernier et le rendent inefficace. Lorsqu'elles ne sont pas spécifiques d'un antibiotique, ces pompes peuvent être responsables de l'apparition de souches multirésistantes (MDR pour *Multi-Drug Resistant*). C'est notamment le cas chez les souches *Escherichia coli* résistantes aux tétracyclines et aux fluoroquinolones (Figure 6).

---

[13] Pagès, J.-M.; James, C. E.; Winterhalter, M. *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, *6*, 893–903.
[14] Martínez-Martínez, L.; Hernández-Allés, S.; Albertí, S.; Tomás, J. M.; Benedi, V. J.; Jacoby, G. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 342–348.
[15] Ambudkar, S. V.; Dey, S.; Hrycyna, C. A.; Ramachandra, M.; Pastan, I.; Gottesman, M. M. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **1999**, *39*, 361–398.
[16] Nikaido, H. *Science* **1994**, *264*, 382–388.

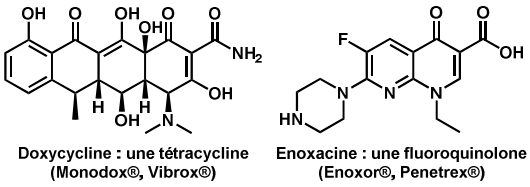


Figure 6 : Structures de la doxycycline et de l'énoxacine

Les antibiotiques, de structures très variées, agissent *via* différents mécanismes d'action selon leur famille chimique. Avant de donner un aperçu général de la grande diversité structurale des antibiotiques, nous allons détailler pourquoi ces substances sont si performantes, en nous intéressant d'abord à la structure des bactéries.

C) Cibles biochimiques et grandes familles d'antibiotiques

1) Structure des bactéries

L'efficacité des antibiotiques réside surtout dans leur sélectivité d'action prononcée contre les bactéries vis-à-vis des cellules animales. D'apparence plus simples que ces dernières, les bactéries se distinguent par certaines spécificités, tant sur le plan structural que métabolique. Comprendre ces différences est donc primordial pour appréhender les mécanismes d'action des antibiotiques.

Quel que soit leur genre, et contrairement aux cellules animales, les bactéries sont des espèces protozoaires dépourvues de noyaux et d'organites. De ce fait, la synthèse des protéines et des acides nucléiques a lieu directement dans le cytoplasme. Le support de leur information génétique est un filament d'acide désoxyribonucléique (ADN) surenroulé sur lui-même, formant parfois une zone très dense appelée nucléoïde. En plus de ce chromosome bactérien, sont généralement retrouvés des filaments d'ADN double brin extra-chromosomique : **les plasmides**. Ce sont ces courts fragments d'ADN qui confèrent à la bactérie, *via* les gènes qu'ils contiennent, des aptitudes comme la résistance. Ces gènes sont une arme redoutable contre les médicaments car ils peuvent être transmis d'une espèce ou d'un individu à l'autre par échange de matériel génétique.

En outre, les bactéries sont protégées du milieu extracellulaire par une paroi de structure complexe (Figure 7).

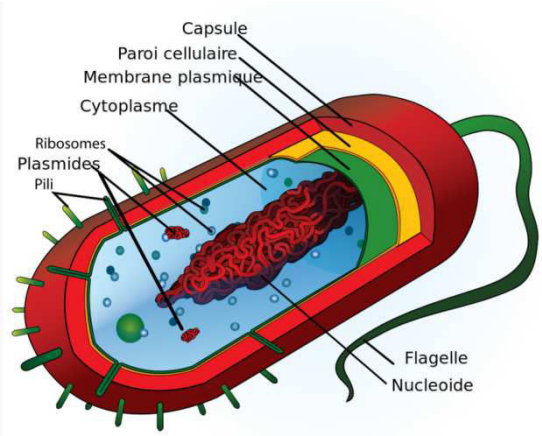


Figure 7 : Représentation schématique d'une bactérie

Ainsi, une enveloppe externe constituée d'une membrane plasmique, d'une paroi cellulaire et d'une capsule leur apporte élasticité, rigidité et protection vis-à-vis des agressions extérieures telles que des chocs osmotiques ou des médicaments par exemple. Certaines bactéries possèdent également des pili, un flagelle et d'autres éléments nécessaires à leur motilité et au transfert de matériel génétique.

Généralement, les bactéries sont classées en deux types selon leur complexité membranaire (Figure 8) [17].

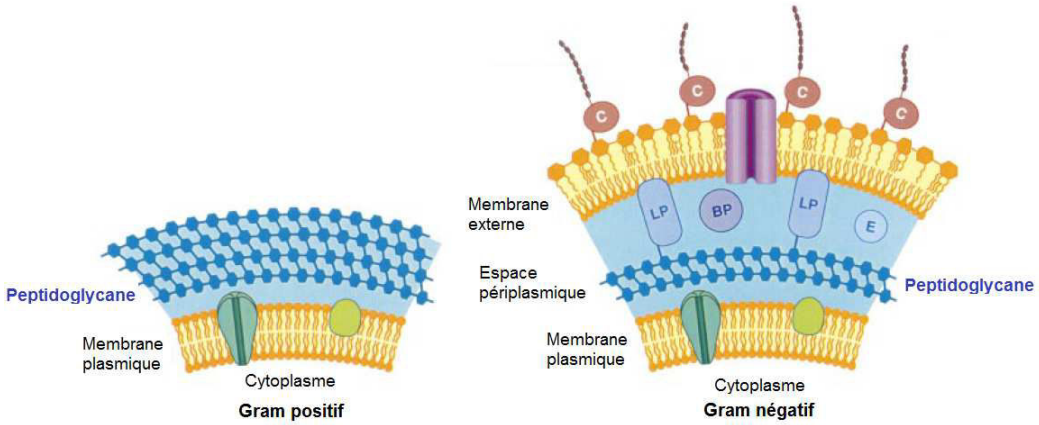


Figure 8 : Les enveloppes dites à Gram positif et Gram négatif d'après Ritter et Wong[17]

La classification rend compte de la réactivité différente des deux types de membranes face à certains colorants comme le violet de gentiane, la safranine ou la fushine[18]. Le procédé, mis au point en 1884, est appelé « coloration de gram » et permet de distinguer :

- Les enveloppes dites à Gram positif (Gram (+)), possédant une membrane plasmique recouverte d'une épaisse couche d'un biopolymère essentiel : **le peptidoglycane**. Aussi appelée muréïne, cette molécule est directement en contact avec le milieu extracellulaire ;

- Les enveloppes dites à Gram négatif (Gram (-)), constituées de deux bicouches lipidiques entre lesquelles existe un espace périplasmique. Ce dernier est le siège d'échanges avec le milieu extérieur. Dans les bactéries Gram (-), la couche de peptidoglycane est plus fine que celle des bactéries Gram (+). Néanmoins, leur complexité membranaire plus importante et en particulier la présence d'une membrane externe rend les pathologies provoquées par les bactéries Gram (-) plus difficiles à traiter.

Après avoir détaillé les caractéristiques spécifiques des bactéries, nous allons maintenant présenter différents exemples représentatifs d'antibiotiques, en précisant leurs cibles principales, ainsi que leurs modes d'action.

---

[17] Ritter, T. K.; Wong, C.-H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3508-3533.
[18] Ryan, K.J.; Ray, C.G. *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.), **2004**, McGraw Hill editors, 232–233.

2) Cibles principales des antibiotiques et modes d'action

a) Métabolisme des acides nucléiques

Comme c'est le cas dans les cellules eucaryotes, la synthèse protéique démarre par la transcription de l'ADN bactérien en acide ribonucléique messager (ARNm). L'ARNm est ensuite pris en charge par le ribosome bactérien, pour être traduit en protéine, en suivant le code génétique. Toutefois, chez les bactéries, le surenroulement de l'ADN nécessite l'intervention d'une enzyme spécifique : **l'ADN gyrase**. Cette protéine facilite le déroulement de l'ADN, le rendant ainsi accessible aux enzymes de transcription. Elle est la cible d'une famille d'antibiotiques utilisés depuis plus de 40 ans en clinique : **les quinolones** (Figure 9)[19]. Ces composés se fixent sur le complexe ADN gyrase/ADN, rendant le processus de réplication impossible.

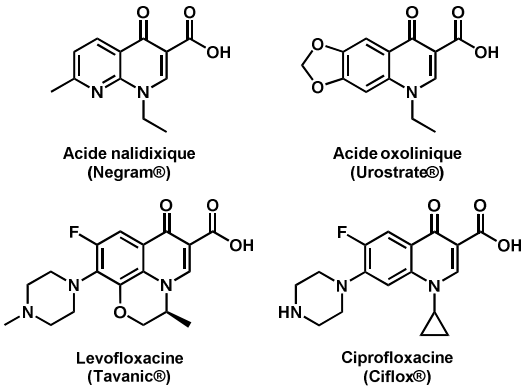


Figure 9 : Quelques exemples de quinolones et fluoroquinolones

Ces antibiotiques sont constitués de cycles quinolines différemment substitués. La première molécule de cette classe, l'acide nalidixique, a été découverte par George Lesher en 1962 comme sous-produit de synthèse de la chloroquine[20]. L'introduction d'un atome de fluor en position 6 augmente l'efficacité de ces molécules jusqu'à un facteur de dix et donne son nom à une autre série : les fluoroquinolones. Malgré cette avancée, plusieurs mécanismes de résistance concernant ces composés ont déjà été recensés. On peut notamment citer la mutation de l'ADN gyrase ainsi que l'altération de la perméabilité membranaire à ces antibiotiques[21].

Un autre exemple de composés ciblant le métabolisme des acides nucléiques est celui des **sulfonamides** (Figure 10). Le premier représentant de cette classe, le sulfanilamide, a été synthétisé par l'étudiant Paul Gemo en 1908 mais sans connaissance de ses propriétés thérapeutiques[22a-b]. C'est seulement en 1935 que cette molécule fut identifiée par le

---

[19] Andersson, M. I.; MacGowan, A. P. *Antimicro.l Chem.* **2003**, *51*, 1–11.
[20] Emmerson, A. M.; Jones, A. M. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 13–20.
[21] Hooper, D.C. *Emerg. Infect. Dis*. **2001**, *7,* 337–341.
[22] (a) Gelmo P., *Journal für praktische Chemie*, **1908**, *77*, 369-370. (b) Actor, P.; Chow, A. W.; Dutko, F. J.; McKinlay, M. A. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2000**.

bactériologiste Gerhard Domagk comme substance active du Prontosil®[23*] (Figure 10), médicament alors commercialisé par la société Bayer®.

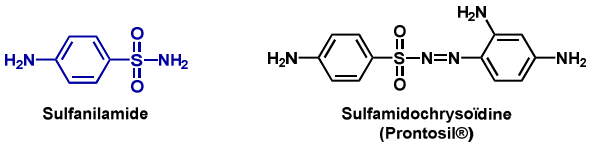


Figure 10 : Structures du sulfanilamide et du Prontosil®

Les sulfonamides agissent en amont des phénomènes de réplication de l'ADN en inhibant une enzyme essentielle à la formation des acides nucléiques : la dihydroptéroate synthase très peu présente chez les eucaryotes (Figure 11). Cette protéine intervient dans la synthèse de l'acide tétrahydrofolique, co-enzyme indispensable à de nombreuses réactions biochimiques.

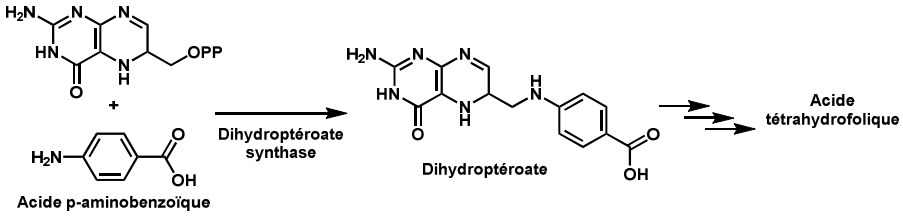


Figure 11 : Rôle de la dihydropréroate synthase

Le sulfanilamide, analogues de structure de l'acide *para*-aminobenzoïque, intervient en tant qu'inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate synthase. Le principal mécanisme de résistance aux sulfonamides est la mutation de la dihydroptéroate synthase[24].

b) Synthèse de l'ARN

Utilisées en clinique contre la méningite bactérienne contagieuse et contre la tuberculose, les **ansamycines**[25] telles que la rifamycine et la rifampicine (Figure 12) ont été isolées pour la première fois en 1983 par Sensi et coll.[26] d'*Amycolatopsis mediterranei*. Elles empêchent la formation de l'ARN messager en se liant à l'ARN polymérase des procaryotes. La synthèse protéique est alors bloquée au niveau de la transcription et la bactérie meurt.

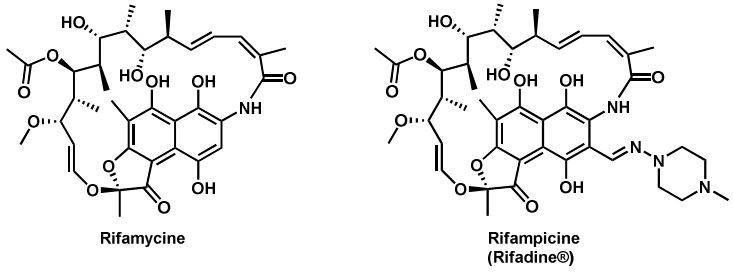


Figure 12 : Structures de la rifamycine et de la rifampicine

---

[23] Domagk, G. *Deutsch. Med. Wschr.* **1935**, *61*, 250-262.
[*] Il reçut pour ses travaux le prix Nobel de médecine en 1939.
[24] Huovinen, P. *Clin. Infect. Dis.***2001**, *32*, 1608–1614.
[25] Floss, H. G.; Yu, T.-W. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 621–632.
[26] Sensi, P. *Rev. Infect. Dis.* **1983**, *5* (*Suppl. 3*), S402.

Les principaux mécanismes de résistance aux ansamycines font intervenir des mutations de l'ARN polymérase et un efflux actif de cet antibiotique[25].

c) Synthèse des protéines

La traduction de l'ARNm chez la bactérie a lieu directement dans le cytoplasme grâce au ribosome bactérien qui est la cible de nombreux antibiotiques. On peut distinguer les molécules se liant à la sous unité 30S du ribosome (tétracyclines, aminoglycosides) et celles se fixant sur la sous-unité 50S (macrolides, phénicols).

- La **tétracycline**, de la famille du même nom[27], est un antibiotique encore très utilisé pour son large spectre d'activité. Comme l'indique son nom, cette famille se caractérise par la présence de 4 cycles accolés dont la substitution varie (Figure 13). La chlortétracycline, première tétracycline découverte en 1948 par Duggar[28a-b], a été isolé de *Streptomyces aureofaciens*. Elle est encore utilisée aujourd'hui sous le nom commercial d'auréomycine.

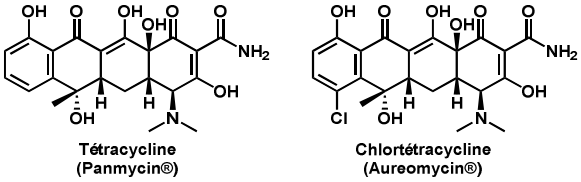


Figure 13 : Structures de la tétracycline et de la chlortétracycline

Concernant les mécanismes de résistance aux tétracyclines, on rencontre : la mutation du ribosome bactérien, l'efflux actif de l'antibiotique ainsi que sa méthylation de l'atome d'azote notamment[29].

- Les **aminoglycosides** ou plus simplement **aminosides**[30a-b] sont des molécules présentant un ou plusieurs sucres ainsi qu'une partie aglycone. Le plus connu d'entre eux est la streptomycine découverte en 1944 par Selsman Waksman[31] et isolée de *Streptomyces griseus* (Figure 14).

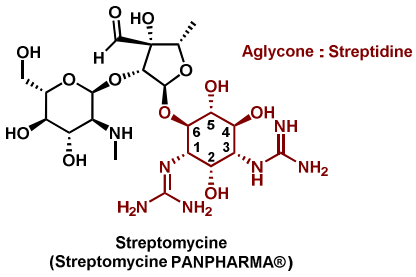


Figure 14 : Structure de la streptomycine

---

[27] Chopra, I.; Howe, T. G. B.; Linton, A. H.; Linton, K. B.; Richmond, M. H.;Speller, D. C. E. *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, *8*, 5-21.
[28] Duggar, B. M. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1948**, *51*, 177–181.Jukes, T. H. *Rev. Infect. Dis.* **1985**, *7*, 702–707.
[29] Roberts, M. *FEMS Microbiol. Rev.* **1996**, *19*, 1–24.
[30] (a) Hancock, R. E. W. *J. Antimicrob. Chem.* **1981**, *8*, 249-276. (b) Hancock, R. E. W. *J. Antimicrob. Chem.* **1981**, *8*, 429-445.
[31] Jones, D.; Metzger, H. J.; Schatz, A.; Waksman, S. A. *Science* **1944**, *100*, 103–105.

Les autres aminoglycosides tels que la gentamycine, la kanamycine ou l'amikacine se différencient par l'aglycone présent dans leur structure (streptidine ou 2-désoxystreptidine) ainsi que par le profil de substitution de ce dernier (en position 4, 6 ou en position 4, 5). En fonction de leur profil de substitution, ils sont plus ou moins bien tolérés par les patients.

Le principal mécanisme de résistance aux aminoglycosides est la mutation du ribosome bactérien[30].

- Les **macrolides**[32, 33] sont des macrolactones substituées par des sucres. Ils possèdent l'avantage de pouvoir diffuser librement à travers les tissus et sont, par conséquent, utilisés dans le traitement d'infections pulmonaires. Parmi eux, on trouve l'érythromycine A, isolée de *Streptomyces erythreus* et la spiramycine produite de *Streptomyces ambofaciens* (Figure 15), respectivement à quatorze et seize chaînons.

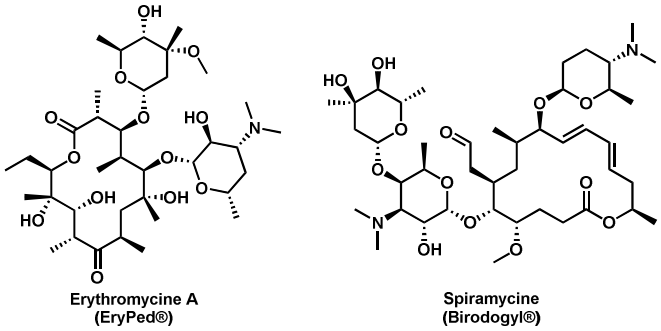


Figure 15 : Structures de l'érythromycine A et de la spiramycine

Le principal mécanisme de résistance aux macrolides est l'apparition de mutations du ribosome au niveau de leur domaine de liaison.

- Les **phénicols**[34], présentent un squelette de type phényl propanoïde.

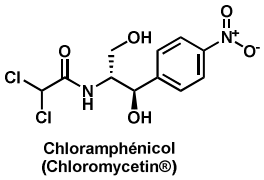


Figure 16 : Structure du chloramphénicol

Le plus ancien représentant de cette famille est le chloramphénicol isolé en 1948 de *Streptomyces venezuelae*[35]. Parmi les mécanismes de résistance concernant le chloramphénicol, on trouve notamment la mono ou polyacétylation de celui-ci, la réduction de la perméabilité membranaire et, plus rarement, la mutation du ribosome[36].

---

[32] Menninger, J. R.; Otto, D. P. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, *21*, 811-818**.**
[33] Weisblum, B. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, *39*, 797-805.
[34] Moaze, D.;Noller, H. F. *Biochimie,* **1987**, 69, 879-884.
[35] Bartz, Q. R. *J. Biol. Chem.* **1948**, *172*, 445–450.
[36] Davies, J. *Science*, **1994**, *264, 376-381.*

d) Synthèse de la paroi bactérienne

La biosynthèse de la paroi bactérienne fait intervenir de nombreuses enzymes qui constituent autant de cibles potentielles pour des agents anti-bactériens. En effet, avec une paroi défectueuse, la bactérie ne peut maintenir son intégrité, ce qui provoque sa lyse. Parmi ces inhibiteurs, on peut distinguer deux grandes familles : les β-lactamines et les antibiotiques peptidiques.

- Les **β-lactamines** ont été et sont toujours les antibiotiques les plus largement utilisés. Cette grande famille regroupe notamment les pénicillines et les céphalosporines.

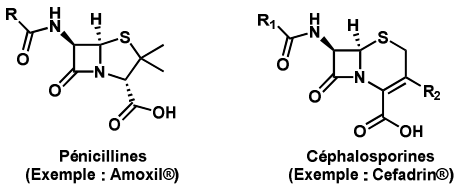


Figure 17 : Structures générales des pénicillines et des céphalosporines

Ces molécules sont constituées de deux cycles accolés : un cycle β-lactame, responsable de l'activité de ces composés et un cycle thiazolidine pour les pénicillines ou dihydrothiazine pour les céphalosporines. Ces antibiotiques agissent en se fixant sur les protéines de liaison aux pénicillines (PBPs pour *Penicillin Binding Proteins*), transpeptidases essentielles à l'intégrité membranaire des bactéries. Outre le principal mécanisme de résistance présenté précédemment dû aux beta-lactamases, des mutations dans les PBPs peuvent empêcher la fixation des pénicillines à leur cible[37]. L'efflux actif est également mis en cause dans la résistance aux pénicillines[37].

- Les **antibiotiques peptidiques** sont des composés extrêmement volumineux présentant des différences structurales notables par rapport aux autres molécules naturelles. Ils peuvent comporter des acides aminés non naturels, appartenant à la série D, être fonctionnalisés par des chaînes lipidiques, des sucres ou bien encore des hétérocycles. Cette famille est divisée en plusieurs sous-familles telles que :
  - les polypeptides cycliques (polymyxines[38])
  - les lipopeptides (daptomycine[39])
  - les glycopeptides (vancomycine[40])
  - les lipoglycopeptides (télavancine[41]).

Trop volumineux pour pénétrer dans le cytoplasme, ils agissent en surface selon plusieurs modes d'action.

---

[37] McKenna, M. *Nature* **2013**, *499*, 394–396.
[38] Storm, D.R.; Rosenthal, K.S.; Swanson, P.E. *Annu. Rev. Biochem.* **1977**, *46*, 723–763.
[39] Silverman, J. A.; Perlmutter, N. G.; Shapiro, H. M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 2538–2544.
[40] Williams, D. H.; Bardsley, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1172-1193.
[41] Lunde, C. S.; Hartouni, S. R.; Janc, J. W.; Mammen, M.; Humphrey, P. P.; Benton, B. M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 3375–3383.

Par exemple, la colistine (Figure 18)[42, 43] est un antibiotique commercialisé sous sa forme de méthanesulfonate de sodium. Elle agit en se liant aux cations divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}) initialement fixés aux phospholipides membranaires, ce qui déstabilise la membrane externe des bactéries Gram (-). Les résistances à cette molécule sont rares mais elles existent. Elles sont dues à la réduction du nombre de phospholipides membranaires ou de la concentration en cations divalents[43].

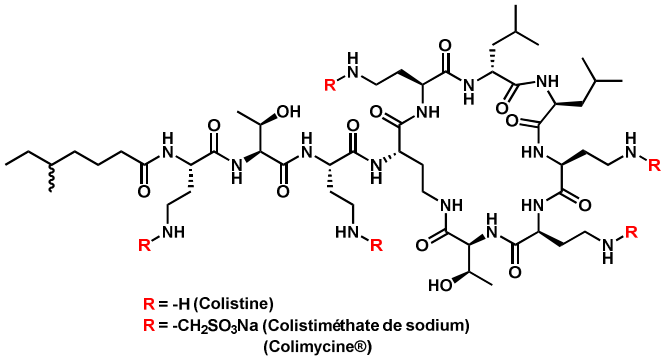


Figure 18 : Structure de la colistine, une polymyxine et de sa forme commerciale

Après avoir identifié les différentes classes d'antibiotiques et leurs cibles, fait état de leur grande diversité structurale, il apparait qu'un moyen de retarder le phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques est de viser des cibles encore peu ou pas exploitées jusqu'à présent et qui ne font donc pas encore l'objet de mécanismes de résistance. C'est notamment le cas de certaines enzymes impliquées dans la biosynthèse du peptidoglycane bactérien.

Nous allons donc maintenant examiner en détail la structure et la construction de cette macromolécule. Nous présenterons également les différents inhibiteurs qui ciblent les enzymes impliquées dans sa biosynthèse ainsi que les mécanismes de résistance s'ils ont été identifiés. Evidemment, dans le cas des enzymes qui ne sont la cible d'aucun antibiotique mis sur le marché, aucun mécanisme de résistance n'a été recensé.

---

[42] Li, J.; Nation, R. L.; Milne, R. W.; Turnidge, J. D.; Coulthard, K. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2005**, *25*, 11–25.
[43] Falagas, M. E.; Kasiakou, S. K. *Clin. Infect. Dis.* **2005**, *40*, 1333–1341.

D) Le Peptidoglycane Bactérien

1) *Structure du peptidoglycane*

Le peptidoglycane[44] est un biopolymère essentiel[45] présent dans toutes les bactéries. Cette macromolécule très complexe est organisée en un réseau réticulé dans lequel s'enchaînent, en alternance, des monomères de *N*-acétylglucosamine et d'acide *N*-acétylmuramique liés par des liaisons β-1→4 (Figure 19).

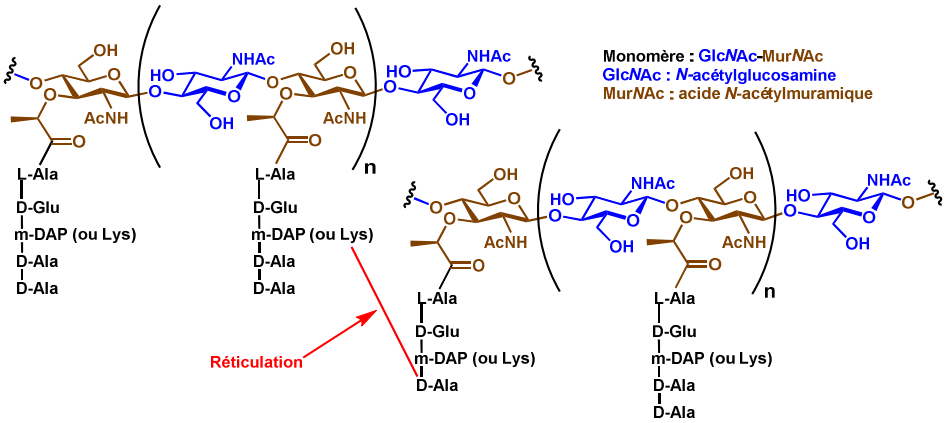


Figure 19 : Structure d'une chaîne polysaccharidique du peptidoglycane réticulé

La réticulation du réseau[46] (Figure 19, Figure 20) s'effectue *via* de courts peptides greffés par l'intermédiaire de la fonction acide carboxylique du Mur*N*Ac. Chez la plupart des bactéries Gram (-), cette chaîne peptidique est constituée d'un tétrapeptide : L-Ala-D-Glu-*m*-DAP-D-Ala. Toutefois, chez la plupart des bactéries Gram (+), l'acide méso-diaminopimélique (*m*-DAP) est remplacé par une L-lysine.

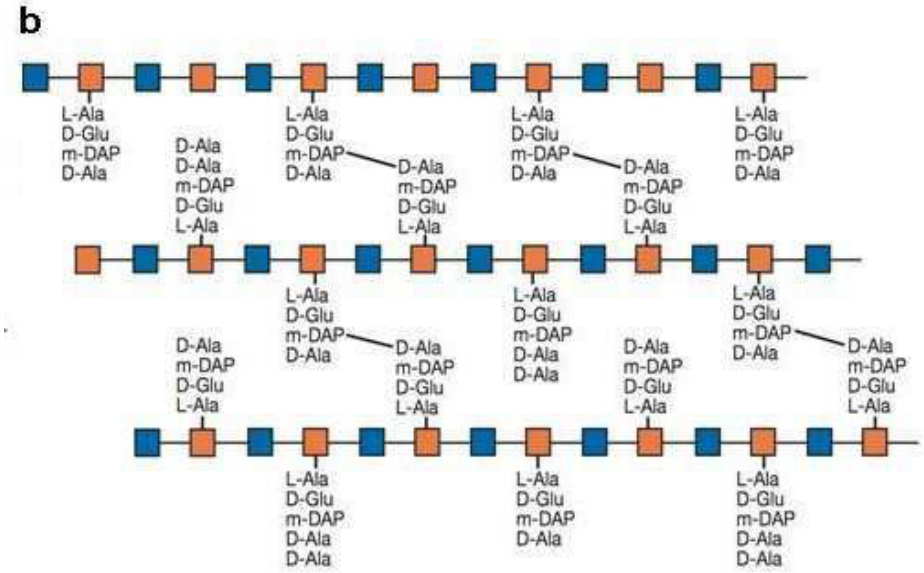


Figure 20 : Réticulation du peptidoglycane d'une bactérie Gram (-) d'après Varki et coll.[46]

---

[44] Vollmer, W.; Blanot, D.; de Pedro, M. A. *FEMS Microbiol Rev.* **2008**, *32*, 149-467.
[45] Coyette, J.; van der Ende, A. *FEMS Microbiol Rev.* **2008**, *32*, 147-148.
[46] Essentials of Glycobiology. 2nd edition. Varki A, Cummings RD, Esko JD et al., editors.

La diversité chimique présente au sein du peptidoglycane est peu commune et explique en partie sa robustesse : acides aminés non protéinogéniques (*m*-DAP), ou appartenant à la série D (D-Ala, D-Glu), saccharide absent des cellules eucaryotes (Mur*N*Ac) sont autant d'éléments qui lui sont propres.

Les enzymes impliquées dans la biosynthèse du peptidoglycane sont nombreuses et nous allons nous intéresser au rôle joué par ces protéines.

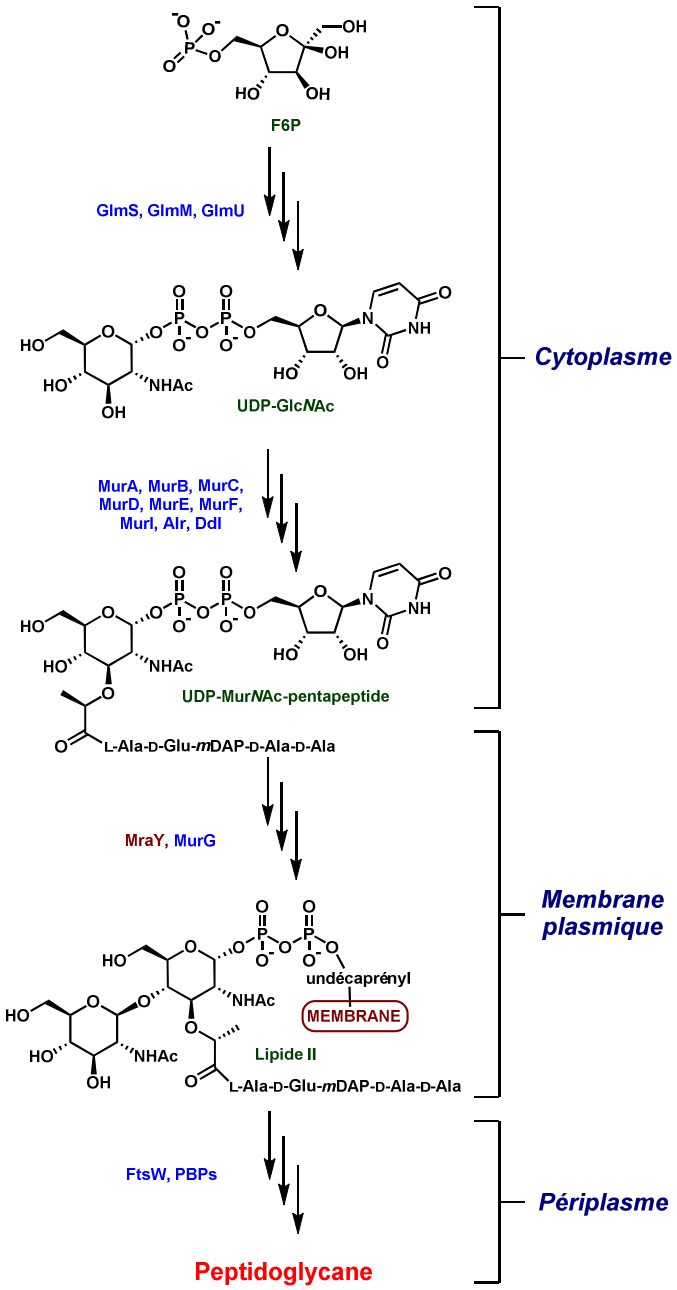


Schéma 1 : Les grandes étapes de la biosynthèse du peptidoglycane

2) Biosynthèse du peptidoglycane et antibiotiques associés

La biosynthèse du peptidoglycane est un processus complexe[47] qui fait intervenir tous les sites de la bactérie (cytoplasme, membrane plasmique, périplasme) et implique de nombreuses enzymes. L'inhibition d'une seule de ces enzymes entraîne l'arrêt de la croissance, puis la lyse bactérienne.

Cette biosynthèse, résumée ci-contre (Schéma 1), conduit à la formation de plusieurs intermédiaires clés. Les premières étapes cytoplasmiques mettent d'abord en jeu la conversion du fructose-6-phosphate (F6P) en uridine diphosphate-*N*-acétylglucosamine (UDP-Glc*N*Ac). Sur ce substrat sont ensuite introduits un lactoyle et une chaîne pentapeptidique pour conduire à l'uridine diphosphate *N*-acétylmuramoyl-pentapeptide (UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide). Cette molécule est ensuite ancrée dans la membrane plasmique *via* sa fixation sur l'undécaprénylphosphate puis glycosylée pour aboutir au lipide II. Ce dérivé est alors transféré sur la face externe de la membrane, grâce à la flippase FTsW, découverte très récemment[48]. Enfin, ce monomère est polymérisé, lors d'étapes périplasmiques, par réactions de transglycosylations et transpeptidations sous l'action des protéines liant la pénicilline (PBPs) pour donner le peptidoglycane mature.

Nous allons maintenant détailler ces étapes, en précisant pour chacune d'elles, lorsque cela est possible, les mécanismes enzymatiques impliqués, les inhibiteurs connus et les éventuels mécanismes de résistance déjà identifiés et dirigés contre ces inhibiteurs.

a) Etapes cytoplasmiques

Les étapes cytoplasmiques de la biosynthèse du peptidoglycane[49] consistent à transformer le F6P en UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide (Schéma 1). Ce dernier est formé à partir d'un précurseur nucléotidique : l'uridine diphosphate-*N*-acétylglucosamine (UDP-Glc*N*Ac). Bien que ce sucre soit commun au métabolisme eucaryote et procaryote, les voies biochimiques mises en jeu pour sa biosynthèse sont différentes. En effet, les bactéries utilisent trois enzymes spécifiques GlmS, GlmM et GlmU qui vont maintenant être présentées (Schéma 2).

---

[47] van Heijenoort, J. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 503-519.
[48] Mohammadi, T.; Van Dam, V.; Sijbrandi, R.; Vernet, T.; Zapun, A.; Bouhss, A.; Diepeveen-de Bruin, M.; Nguyen-Distèche, M.; De Kruijff, B.; Breukink, E. *EMBO J.* **2011**, *30*, 1425–1432.
[49] Barreteau, H.; Kovac, A.; Boniface, A.; Sova, M.; Gobec, S.; Blanot, D. *FEMS Microbiol Rev.* **2008**, *32*, 168-207.

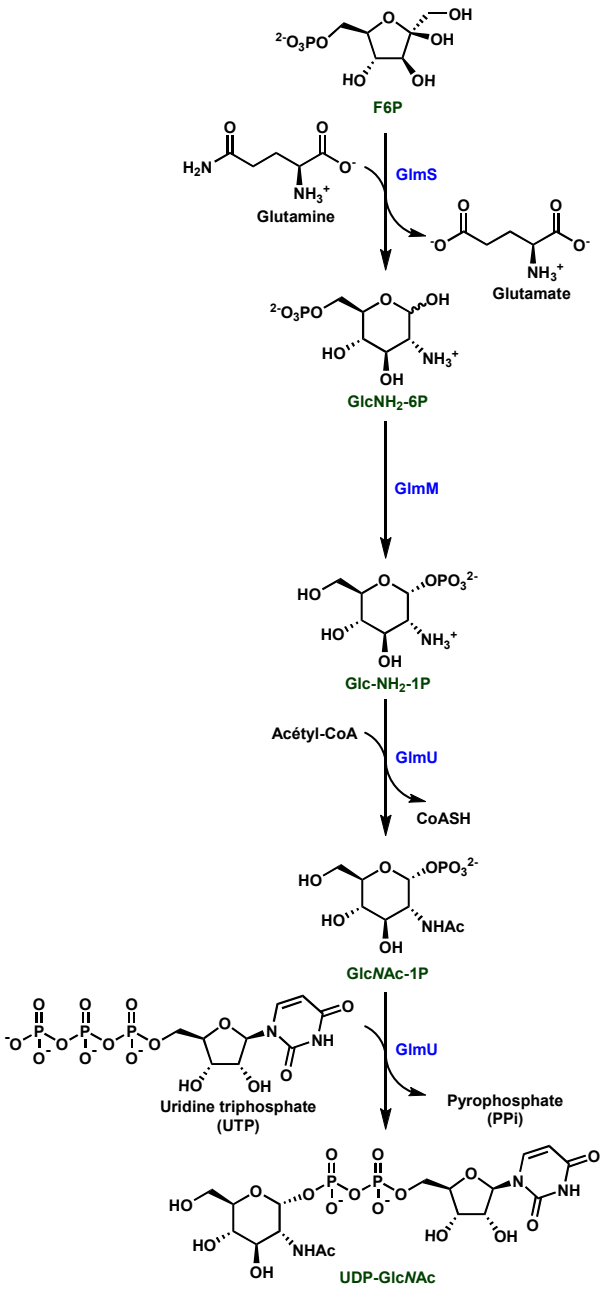


Schéma 2 : Synthèse de l'UDP-GlcNAc à partir du F6P

- **GlmS**

Au cours de la première étape de la biosynthèse du peptidoglycane, le F6P est d'abord converti en glucosamine-6-phosphate grâce à l'action de la glucosamine-6-phosphate synthase (**GlmS**)[50, 51, 52, 53].

Cette enzyme utilise la glutamine comme donneur d'ammoniac[50] et libère le glutamate au cours de la réaction.

La réaction globale se déroule en trois temps : désamination de la glutamine, transfert de l'ammoniac résultant au fructose-6-phosphate et enfin isomérisation du cycle fructose en glucose.

Contrairement aux deux premières étapes de cette réaction, l'isomérisation du cycle fructose en glucose a été clairement élucidé[54] (Schéma 3).

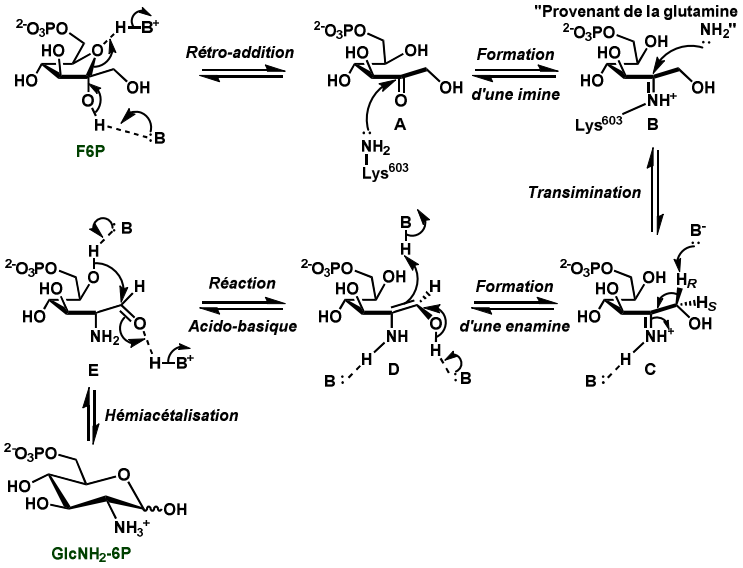


Schéma 3 : Mécanisme de l'isomérisation du fructose en glucose catalysée par GlmS d'après le groupe de Badet

Suite à l'ouverture du cycle furanose, par réaction de rétro-addition en catalyse acido-basique générale, la cétone résultante **A** réagit avec l'amine de la lysine 603 (K^{603}) pour former l'iminium **B**. Après transimination réalisée par le donneur d'ammoniac pour conduire à l'iminium primaire **C**, celui-ci est isomérisé en énamine d'énol **D**. La fonction aldéhyde de l'aldose **E** est ensuite générée par réaction acido-basique. Celui-ci subit ensuite une réaction d'hémiacétalisation en catalyse acido-basique générale pour donner la glucosamine-6-phosphate ($GlcNH_2$-6P).

---

[50] Milewski, S. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1597*, 173–192.
[51] Winkler, W. C.; Nahvi, A.; Roth, A.; Collins, J. A.; Breaker, R. R. *Nature* **2004**, *428*, 281-286.
[52] Cochrane, J. C.; Lipchock, S. V.; Strobel, S. A. *Chemistry and Biology* **2007**, *14,* 97-105.
[53] Lim, J.; Grove, B. C.; Roth, A.; Breaker, R. R. *Angew Chem Int Ed.* **2006**, *45*, 6689-6693.
[54] Golinelli-Pimpaneau, B.; Le Goffic, F.; Badet, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3029–3034.

Connaissant ce mécanisme, plusieurs inhibiteurs de GlmS ont été développés[50]. Ils peuvent être classés en deux types : les inhibiteurs spécifiques et les inhibiteurs non spécifiques (Schéma 4).

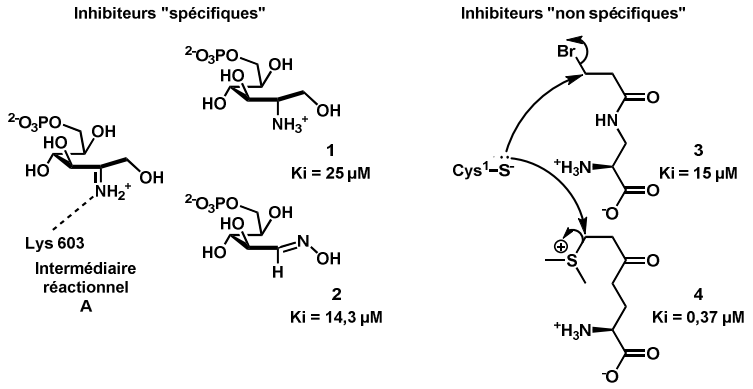


Schéma 4 : Inhibiteurs spécifiques et non spécifiques de GlmS

Les inhibiteurs « spécifiques » sont des analogues structuraux de l'intermédiaire réactionnel **A**. Ils prennent la place de ce dernier au site actif de GlmS avec une meilleure affinité que lui. On peut citer comme exemples l'ammonium **1**[50] et l'acide hydroxamique **2**[55] qui présentent des constantes d'inhibition respectives de 25 et 14,3 µM.

Les inhibiteurs « non-spécifiques » sont des analogues structuraux électrophiles de la glutamine. Ils agissent en alkylant la cystéine[1] (C^1) impliquée dans le transfert d'ammoniac[50]. Deux exemples représentatifs sont le dérivé bromé **3**[56] et le sulfonium **4**[57].

A l'heure actuelle, aucun médicament sur le marché ne cible cette enzyme.

Dans la suite de la biosynthèse, la glucosamine-6-phosphate ($GlcNH_2$-6P), produit de la réaction catalysée par **GlmS** est pris en charge par la glucosamine mutase **GlmM**.

- **GlmM**

La glucosamine mutase **GlmM**[58, 59] catalyse ensuite l'isomérisation de $GlcNH_2$-6P en glucosamine-1-phosphate ($GlcNH_2$-1P). Même si peu de données sur cette enzyme sont disponibles, son mode de fonctionnement typique des phosphomutases a toutefois été élucidé[58]. Ainsi, la réaction se déroule en passant par un intermédiaire phosphoryle-enzyme selon un mécanisme en deux temps.

---

[55] Tourian, A.; Callahan, M.; Hung, W. *Neurochem. Res.* **1983**, *8*, 1589–1595.
[56] Andruszkiewicz,, R.; Chmara, H.; Milewski, S.; Borowski, E. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1986**, 449–453.
[57] Milewski,S.; Chmara, H.; Andruszkiewicz, R.; Borowski, E. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1115*, 225–229.
[58] Mengin-Lecreulx, D.; van Heijenoort, J. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 32-39.
[59] Jolly, L.; Ferrari, P.; Blanot, D.; Van Heijenoort, J.; Fassy, F.; Mengin-Lecreulx, D. *Eur. J. Biochem.* **1999**, *262*, 202–210.

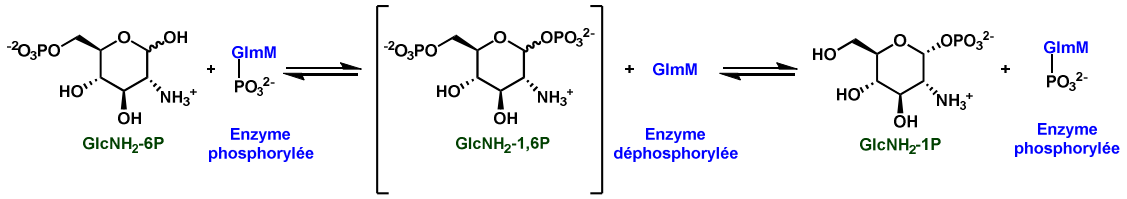


Schéma 5 : Réaction catalysée par GlmM selon le groupe de Mengin-Leucreux[58]

Le groupement phosphate de GlmM phosphorylée est d'abord transféré sur son substrat pour former la Glucosamine-1,6-diphosphate ($GlcNH_2$-1,6P) puis le phosphate en position 6 du sucre est clivé par une activité phosphatase de l'enzyme pour libérer la glucosamine-1-phosphate ($GlcNH_2$-1P).

Les deux dernières étapes de synthèse de l'UDP-N-Acétylglucosamine (UDP-Glc-*N*Ac), sont ensuite catalysées par une même enzyme bi-fonctionnelle : **GlmU**

- **GlmU**

Lors des deux dernières étapes de synthèse de l'UDP-Glc*N*Ac sous l'action de **GlmU**[60], l'amine en position 2 de la $GlcNH_2$-1P est acétylée à partir d'acétyl-co-enzyme A (AcétylCoA) et une unité d'uridine diphosphate est transférée en position 3 à partir d'uridine triphosphate (UTP). Bien que la structure cristallographique de l'enzyme ait été résolue[61, 62], le mécanisme n'a pas été entièrement élucidé[60].

Les inhibiteurs de **GlmU** les plus actifs ont été découverts par criblage haut débit (Figure 21)[63].

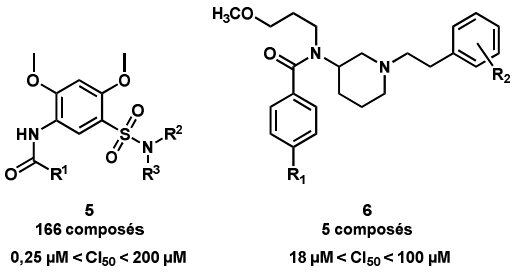


Figure 21 : Inhibiteurs de GlmU compétitifs de l'acétyl-CoA (5) et allostériques (6)

Les sulfonamides **5**[63] inhibent l'activité acétyltransférase de **GlmU** en prenant la place de l'AcétylCoA. Bien que ce substrat soit de structure très différente des composés **5**, ce résultat a été confirmé par des expériences de co-cristallisation des inhibiteurs avec l'enzyme. De plus, grâce aux groupements R^1-R^4 qu'ils possèdent, ces inhibiteurs interagissent également avec une poche hydrophobe proche du domaine catalytique de l'enzyme.

---

[60] (a) Mengin-Lecreulx, D.; van Heijenoort, J. *J. Bacteriol.* **1993**, *175*, 6150-6155 (b) Mengin-Lecreulx, D.; van Heijenoort, J. *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 5788.
[61] Brown, K. *The EMBO Journal* **1999**, *18*, 4096–4107.
[62] Olsen, L. R.; Roderick, S. L. *Biochemistry* **2001**, *40*, 1913–1921.
[63] Green, O. M.; McKenzie, A. R.; Shapiro, A. B.; Otterbein, L.; Ni, H.; Patten, A.; Stokes, S.; Albert, R.; Kawatkar, S.; Breed, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1510–1519.

Les amides aromatiques **6**[64] se fixent sur un site allostérique de **GlmU**. Ils induisent des changements conformationnels dans sa structure et, par conséquent, diminuent l'affinité de l'enzyme pour son substrat.

Les dernières étapes cytoplasmiques de la biosynthèse du peptidoglycane consistent en la formation de l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide à partir de l'UDP-Glc*N*Ac sous l'action des Mur ligases (MurA à F) (Schéma 6).

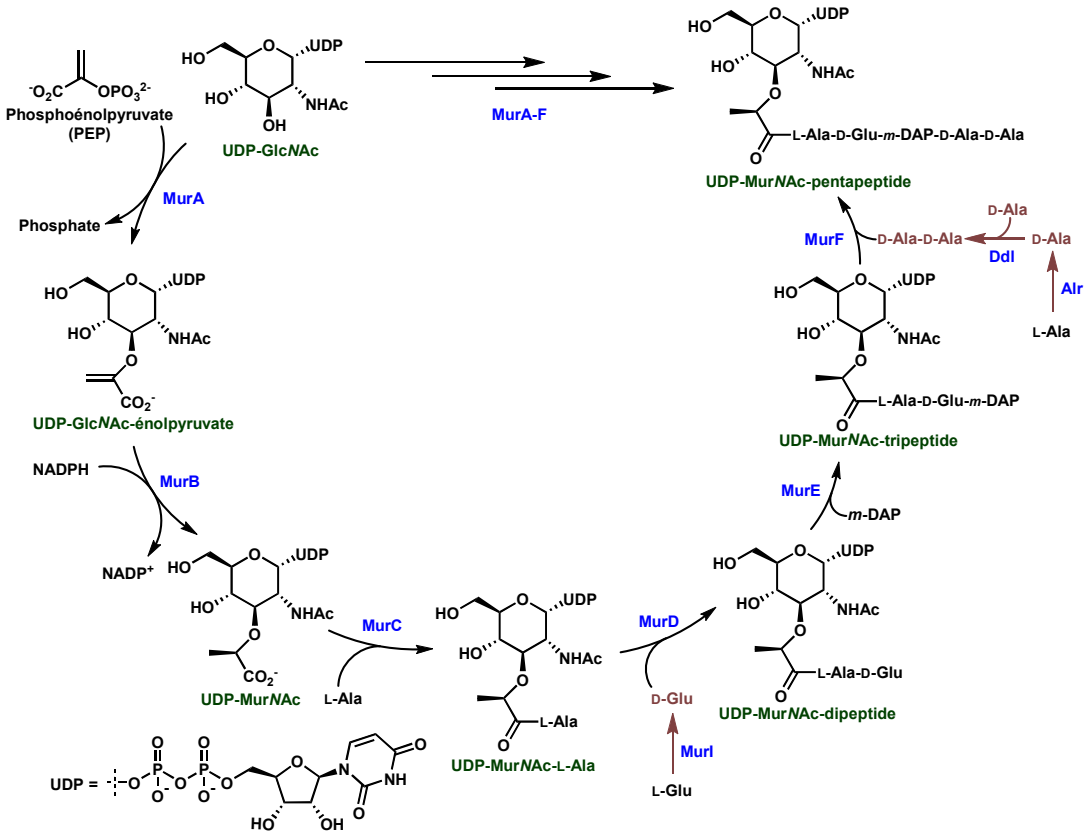


Schéma 6 : Dernières étapes cytoplasmiques de la biosynthèse du peptidoglycane chez E. Coli : de l'UDP-Glc*N*Ac à L'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide

- **MurA**

L'enzyme **MurA** catalyse tout d'abord la formation de l'UDP-Glc*N*Ac-énolpyruvate par addition de l'UDP-Glc*N*Ac sur le phosphoénol pyruvate suivie de l'élimination de phosphate inorganique. La structure cristallographique de **MurA**[65] ainsi que son mécanisme[66] sont connus (Schéma 7). Celui-ci a été découvert en isolant l'intermédiaire **F** formé lors de la réaction d'addition-élimination catalysée par la cystéine (C^{115})[67].

---

[64] Mochalkin, I.; Lightle, S.; Narasimhan, L.; Bornemeier, D.; Melnick, M.; VanderRoest, S.; McDowell, L. *Protein Science* **2008**, *17*, 577–582.
[65] Skarzynski, T.; Mistry, A.; Wonacott, A.; Hutchinson, S. E.; Kelly, V. A.; Duncan, K. *Structure* **1996**, *4*, 1465–1474.
[66] Skarzynski, T.; Kim, D. H.; Lees, W. J.; Walsh, C. T.; Duncan, K. *Biochemistry* **1998**, *37*, 2572–2577.
[67] Marquardt, J. L.; Brown, E. D.; Walsh, C. T.; Anderson, K. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10398–10399.

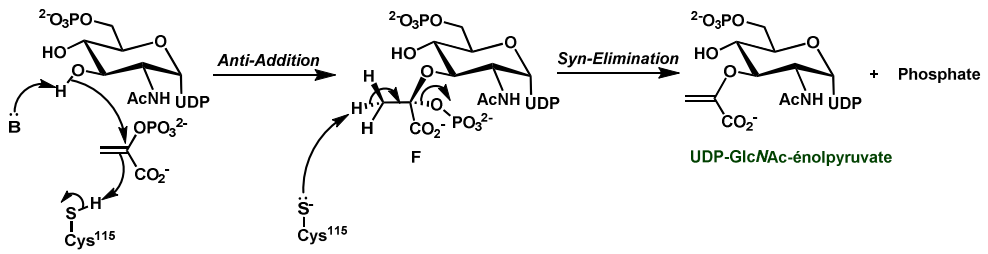


Schéma 7 : Mécanisme de la réaction catalysée par MurA proposé par Skarzynski et coll.

MurA est notamment la cible de la fosfomycine (Figure 22)[68, 69]. Ce composé est un analogue structural du phosphoénolpyruvate.

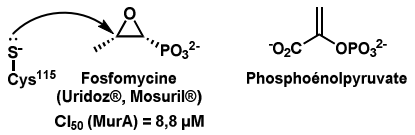


Figure 22 : Structures de la fosfomycine et du phosphoénolpyruvate représentés avec la cystéine 115 de MurA

La fosfomycine inhibe **MurA** en se liant de manière covalente à la cystéine 115 catalytique[70]. Les problèmes de toxicité intrinsèque dûs à sa nature d'agent alkylant ont toutefois limité son utilisation en clinique. De plus, de nombreux mécanismes de résistance à la fosfomycine ont été identifiés. Parmi ceux-ci ont été recensées la mutation de MurA ainsi que la modification chimique de l'antibiotique[71]. Par exemple, les bactéries résistantes peuvent exprimer des enzymes qui ouvrent l'époxyde de la fosfomycine par divers nucléophiles, rendant alors ce composé inactif. Le cas de l'hydrolase FosX est exposé ci-après (Schéma 8)[72].

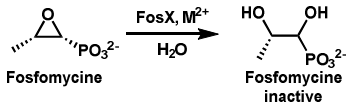


Schéma 8 : Hydrolyse de la fosfomycine par FosX d'après Fillgrove et coll.[72]

Dans la suite de cette biosynthèse, le substituant énolpyruvyle de l'UDP-GlNAc-énolpyruvate est réduit en lactoyle par l'enzyme **MurB**.

- **MurB**

La réductase **MurB** catalyse la réduction stéréosélective de l'UDP-Glc*N*Ac-énolpyruvate par le nicotinamide adénine dinucléotide (NADPH) pour conduire à L'UDP-Mur*N*Ac. La structure cristallographique[73] ainsi que le mécanisme de MurB (Schéma 9)[74] ont déjà été élucidés.

---

[68] El Zoeiby, A.; Sanschagrin, F.; Levesque, R. C. *Mol. Microbiol.* **2003**, *47*, 1–12.
[69] Pour une revue sur les Mur ligases et leurs inhibiteurs voir : Hrast, M.; Sosič, I.; Sink, R.; Gobec, S. *Bioorg. Chem.* **2014**, *55*, 2–15.
[70] Marquardt, J. L.; Brown, E. D.; Lane, W. S.; Haley, T. M.; Ichikawa, Y.; Wong, C.-H.; Walsh, C. T. *Biochemistry* **1994**, *33*, 10646-10651.
[71] Pour une revue sur la résistance aux antibiotiques ciblant le peptidoglycane voir : Nikolaidis, I.; Favini-Stabile, S.; Dessen, A. *Protein Science* **2014**, *23*, 243–259.
[72] Fillgrove, K. L.; Pakhomova, S.; Newcomer, M. E.; Armstrong, R. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15730–15731.
[73] Benson, T. E.; Filman, D. J.; Walsh, C. T.; Hogle, J. M. *Nat. Struct. Biol.* **1995**, *2*, 644–653.

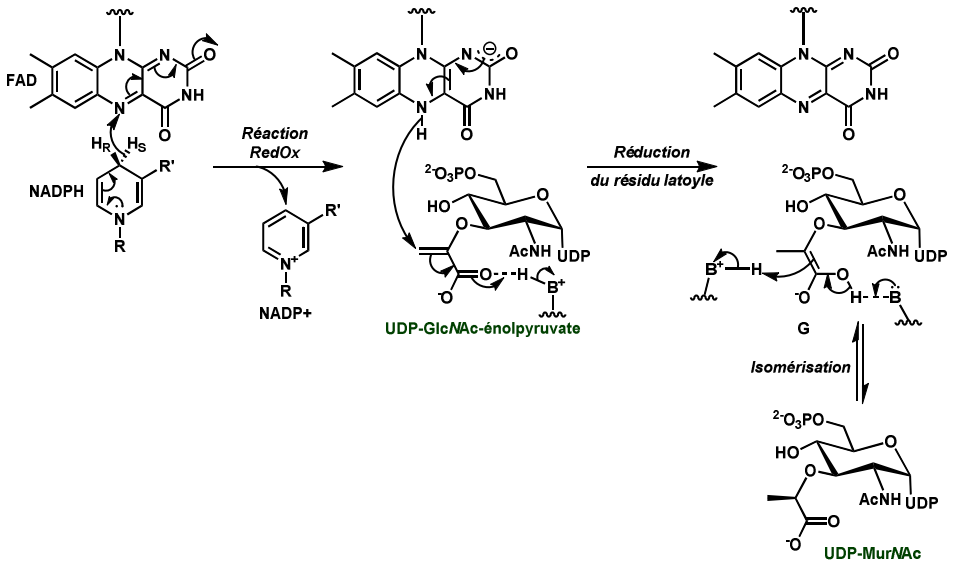


Schéma 9 : Mécanisme de la réaction catalysée par MurB d'après Benson et coll.[74]

Le NAPDH entre d'abord dans le site actif de l'enzyme pour y réduire le cofacteur FAD (flavine adénine dinucléotide) fixé de manière covalente à MurB (Schéma 9). L'autre substrat de l'enzyme, l'UDP-Glc*N*Ac-énolpyruvate, prend alors la place du NADP et est réduit par transfert d'hydrure pour conduire à l'énol carboxylate **G**. l'UDP-Mur*N*Ac est ensuite formé de manière totalement stéréosélective après isomérisation.

Les premiers inhibiteurs développés contre MurB sont des 4-thiazolidinones (Figure 23 composés **7**)[75a-c].

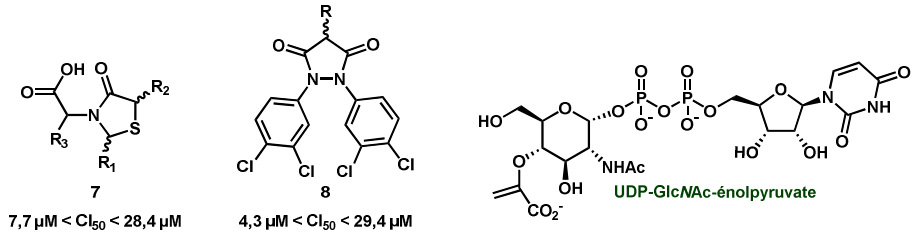


Figure 23 : Structures d'inhibiteur de MurB de type 1,4 thiazolidinone (7), 3,5 dioxopyrazolidine (8), et du substrat naturel de MurB

Dans le cas des thiazolidinones **7**, les auteurs proposent qu'il s'agisse d'un bioisotère du groupement diphosphate présent dans le substrat naturel alors que les composés de type 3,5 dioxopyrazolidine[76] **8** inhibent MurB en interagissant avec la flavine (FAD) présente au site actif.

---

[74] Benson, T. E.; Marquardt, J. L.; Marquardt, A. C.; Etzkorn, F. A.; Walsh, C. T. *Biochemistry* **1993**, *32*, 2024–2030.

[75] (a) Andres, C. J.; Bronson, J. J.; D'Andrea, S. V.; Deshpande, M. S.; Falk, P. J.; Grant-Young, K. A.; Harte, W. E.; Ho, H.-T.; Misco, P. F.; Robertson, J. G.; Stock, D.; Sun, Y.; Walsh, A. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 715–717. (b) Bronson, J. J.; DenBleyker, K. L.; Falk, P. J.; Mate, R. A.; Ho, H.-T.; Pucci, M. J.; Snyder, L. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 873–875. (c) Francisco, G. D.; Li, Z.; Albright, J. D.; Eudy, N. H.; Katz, A. H.; Petersen, P. J.; Labthavikul, P.; Singh, G.; Yang, Y.; Rasmussen, B. A.; Lin, Y.-I.; Mansour, T. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 235–238.

[76] Yang, Y.; Severin, A.; Chopra, R.; Krishnamurthy, G.; Singh, G.; Hu, W.; Keeney, D.; Svenson, K.; Petersen, P. J.; Labthavikul, P.; Shlaes, D. M.; Rasmussen, B. A.; Failli, A. A.; Shumsky, J. S.; Kutterer, K. M. K.; Gilbert, A.; Mansour, T. S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 556–564.

Les prochaines étapes cytoplasmiques de cette biosynthèse visent à introduire, sur l'UDP-Mur*N*Ac, la chaîne pentapeptide nécessaire aux étapes de réticulation lors de la formation du peptidoglycane.

- **MurC-F**

La chaîne pentapeptidique de l'UDP-Mur-*N*Acpentapeptide est synthétisée de manière séquentielle par les **Mur Ligases** (**MurC**[77], **MurD**[78], **MurE**[79] et **MurF**[80]). Ces enzymes fonctionnent suivant le même schéma réactionnel (Schéma 10).

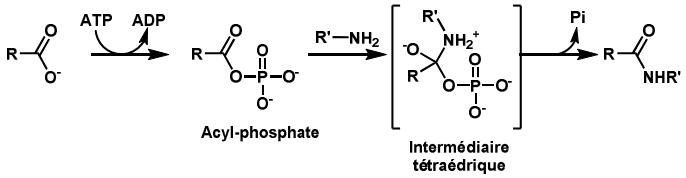


Schéma 10 : Schéma réactionnel général des Mur ligases

L'acide carboxylique est tout d'abord activé sous forme d'acylphosphate puis l'amino-acide est introduit par addition-élimination sur le carbonyle via un intermédiaire tétraédrique. Dès lors, les plus puissants inhibiteurs connus de ces enzymes (Figure 24)[68] fonctionnent selon le même mode d'action : en mimant l'intermédiaire tétraédrique et en prenant la place du substrat naturel de la cible avec une meilleure affinité que ce dernier.

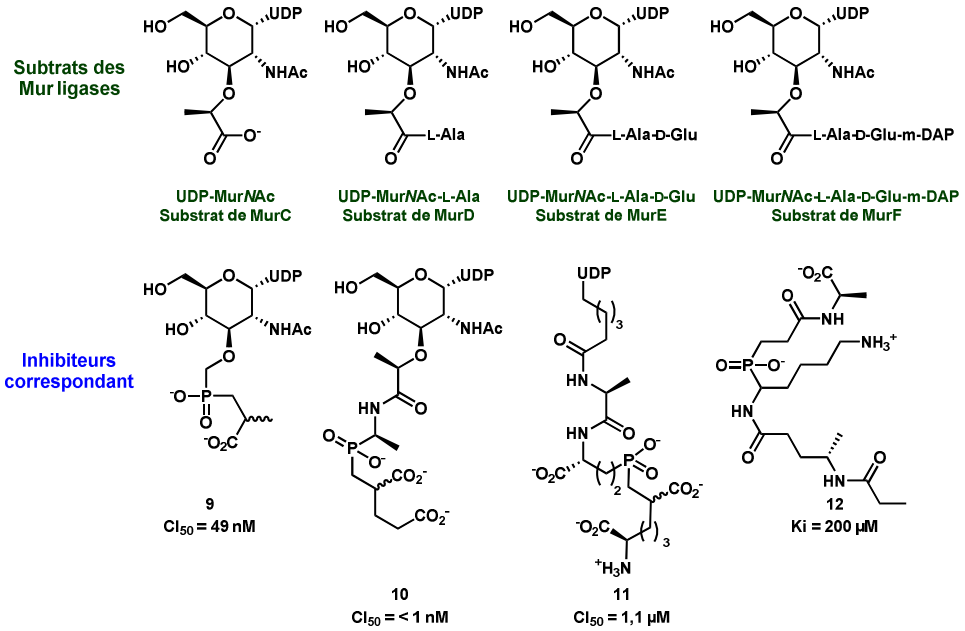


Figure 24 : Structure des substrats des Mur ligases (Mur C-F) et exemples d'inhibiteurs correspondants

---

[77] Mol, C. D.; Brooun, A.; Dougan, D. R.; Hilgers, M. T.; Tari, L. W.; Wijnands, R. A.; Knuth, M. W.; McRee, D. E.; Swanson, R. V. *J. Bacteriol.* **2003**, *185*, 4152–4162.
[78] Bertrand, J. A.; Fanchon, E.; Martin, L.; Chantalat, L.; Auger, G.; Blanot, D.; Van Heijenoort, J.; Dideberg, O. *J. Mol. Biol.* **2000**, *301*, 1257–1266.
[79] Gordon, E.; Flouret, B.; Chantalat, L.; Van Heijenoort, J.; Mengin-Lecreulx, D.; Dideberg, O. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 10999–11006.
[80] Longenecker, K. L.; Stamper, G. F.; Hajduk, P. J.; Fry, E. H.; Jakob, C. G.; Harlan, J. E.; Edalji, R.; Bartley, D. M.; Walter, K. A.; Solomon, L. R.; Holzman, T. F.; Gu, Y. G.; Lerner, C. G.; Beutel, B. A.; Stoll, V. S. *Protein Science* **2005**, *14*, 3039–3047.

Ainsi, les phosphinates **9**[81], **10**[82, 83], **11**[84] et **12**[85, 86] (Figure 24) présentent des activités intéressantes sur les Mur ligases.

Plus récemment, MurF a fait l'objet d'un criblage à haut débit[87]. Les études de docking ont notamment permis d'identifier des composés de type cyanothiophène **13** comme inhibiteurs de cette protéine (Figure 25)[88].

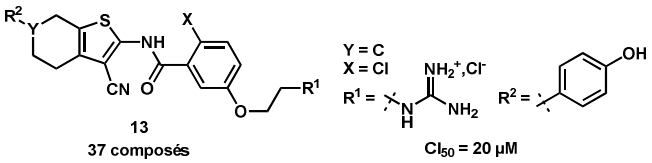


Figure 25 : cyanothiophènes du groupe de Gobec[88]

La modulation des groupements R^1 et R^2 permet l'ajustement de la lipophilie et de la solubilité de ces composés tout en gardant une bonne CI_{50}. Le meilleur d'entre eux montre une activité de 20 µM sur MurF.

Grâce aux MurA-F certains des acides aminés introduits pour former le pentapeptide sont non naturels (D-Ala, D-Glu). Ils sont synthétisés par des enzymes spécifiques aux bactéries qui sont également les cibles de certains antibiotiques.

- **Glutamate racémase (MurI), Alanine racémase (Alr) et D-Ala-D-Ala ligase (Ddl)**

Les enzymes qui synthétisent les acides aminés non-naturels intervenant dans la biosynthèse du peptidoglycane sont l'alanine racémase (Alr) et la glutamate racémase (MurI). Elles catalysent respectivement l'inversion de configuration de la L-alanine et de l'acide L-glutamique. La D-Ala-D-Ala ligase (Ddl) lie deux résidus D-alanine entre eux pour former le dipeptide D-Ala-D-Ala correspondant.

Nous allons d'abord nous intéresser aux racémases Alr[89] et MurI[90]. Les structures cristallographiques des ces deux enzymes ont déjà été résolues et leurs mécanismes déjà établis. Toutefois, bien que ces deux enzymes aient la même fonction d'épimérisation d'un amino-acide, leurs mécanismes sont très différents :

---

[81] Reck, F.; Marmor, S.; Fisher, S.; Wuonola, M. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1451–1454.
[82] Gegnas, L. D.; Waddell, S. T.; Chabin, R. M.; Reddy, S.; Wong, K. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1643–1648.
[83] Tanner, M. E.; Vaganay, S.; van Heijenoort, J.; Blanot, D. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1756–1760.
[84] Zeng, B.; Wong, K. K.; Pompliano, D. L.; Reddy, S.; Tanner, M. E. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 10081–10085.
[85] Miller, D. J.; Hammond, S. M.; Anderluzzi, D.; Bugg, T. D. H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 131–142.
[86] Baum, E. Z.; Crespo-Carbone, S. M.; Foleno, B. D.; Simon, L. D.; Guillemont, J.; Macielag, M.; Bush, K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 3240–3247.
[87] Taha, M. O.; Atallah, N.; Al-Bakri, A. G.; Paradis-Bleau, C.; Zalloum, H.; Younis, K. S.; Levesque, R. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 1218–1235.
[88] Hrast, M.; Anderluh, M.; Knez, D.; Randall, C. P.; Barreteau, H.; O'Neill, A. J.; Blanot, D.; Gobec, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *73*, 83–96.
[89] Shaw, J. P.; Petsko, G. A.; Ringe, D. *Biochemistry* **1997**, *36*, 1329–1342.
[90] Hwang, K. Y.; Cho, C.-S.; Kim, S. S.; Sung, H.-C.; Yu, Y. G.; Cho, Y. *Nature Structural Biology* **1999**, *6*, 422.

L'alanine racémase présente un mécanisme classique des racémases dépendantes du phosphate de pyridoxal (PLP pour *pyridoxal phosphate*). Ce cofacteur est fixé de manière covalente au site actif d'Alr par l'intermédiaire de la Lys[39] dans le cas de l'enzyme de *Bacillus stearothermophilus* (Schéma 11).

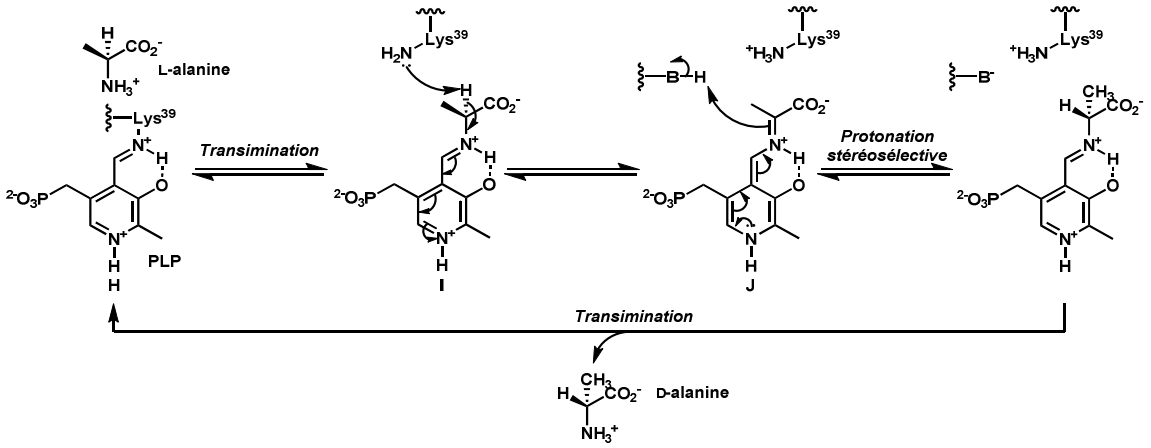


Schéma 11 : Mécanisme de la réaction enzmatique catalysée par Alr d'après Shaw et coll.[39]

L'intermédiaire **I** est tout d'abord formé après réaction de transimination de la L-alanine sur l'aldiminium PLP-Lys[39] **H**. Puis, la lysine, ainsi libérée, déprotone la position alpha de l'adduit **I** pour former l'intermédiaire quinonoïde **J**. Après protonation totalement stéréosélective de ce dernier et transimination, la D-alanine est libérée et l'aldiminium **H** est régénéré.

L'alanine racémase est notamment la cible de la D-cyclosérine (Figure 26)[91].

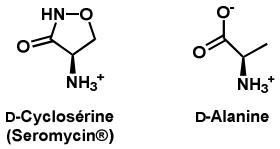


Figure 26 : Structures de la D-cyclosérine et de la D-alanine

Cet antibiotique, utilisé comme médicament de deuxième ligne contre la tuberculose, est un analogue structural de la D-alanine. L'inactivation d'Alr par la D-cyclosérine est présentée ci-après (Schéma 12)[92]. Après réaction de transimination, d'une forme tautomère de la D-cyclosérine sur l'intermédiaire **H**, est formé l'aldiminium **K**. Ce dernier est ensuite isomérisé en cétiminium **L** par catalyse acido-basique. Enfin, l'aromatisation du cycle hydroxy-isoxazole fixe la D-cyclosérine de manière irréversible au phosphate de pyridoxal en formant un ammonium aromatique stable **M**[93].

Le phosphate de pyridoxal est un co-facteur présent également chez les eucaryotes ce qui explique la toxicité de la D-cyclosérine et la limitation de son utilisation en clinique.

---

[91] Lambert, M. P.; Neuhaus, F. C. *J. Bacteriol.* **1972**, *110*, 978–987.
[92] Peisach, D.; Chipman, D. M.; Van Ophem, P. W.; Manning, J. M.; Ringe, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2268–2274.
[93] Fenn, T. D.; Stamper, G. F.; Morollo, A. A.; Ringe, D. *Biochemistry* **2003**, *42*, 5775–5783.

De plus, un mécanisme de résistance mettant en jeu la mutation d'Alr a été recensé récemment[94].

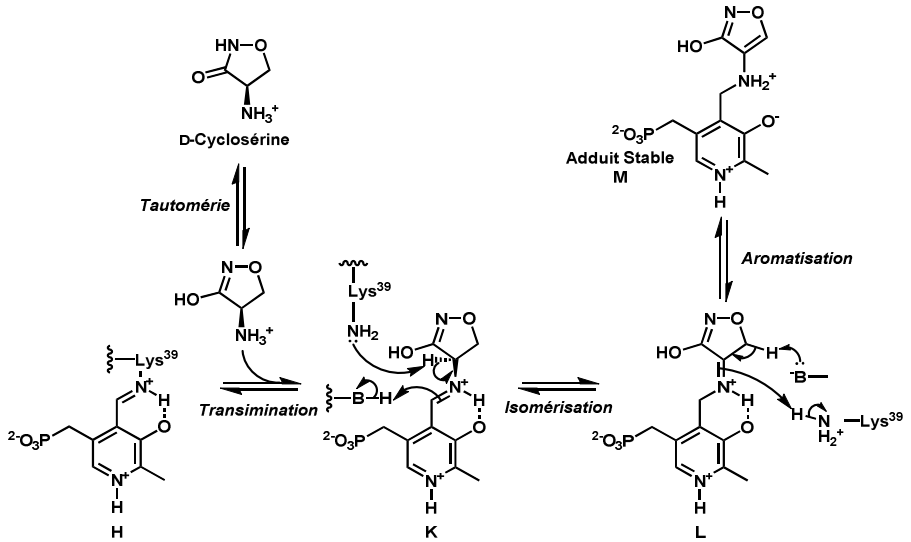


Schéma 12 : Mécanisme d'inactivation de l'alanine racémase par la D-cyclosérine d'après Peisach et coll.[92]

Suite à la synthèse de ce résidu par Alr, l'enzyme Ddl[95] (D-Ala-D-Ala-ligase) lie deux résidus D-Ala entre eux. Comme pour les autres ligases décrites dans le paragraphe précédent, le mécanisme de la réaction qu'elle catalyse passe par un intermédiaire acyl-phosphate (Schéma 13).

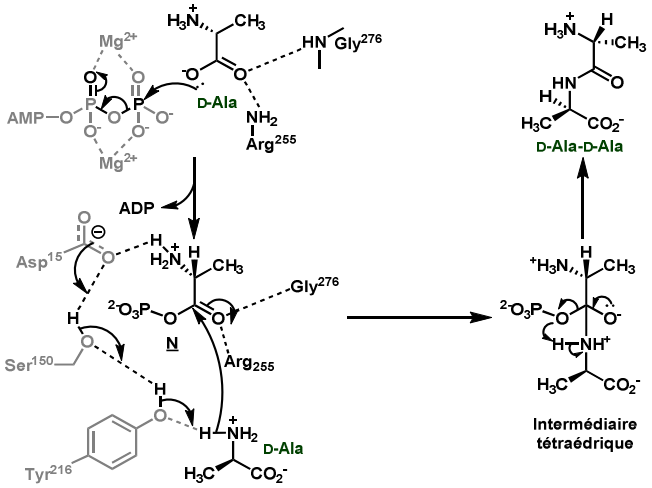


Schéma 13 : Mécanisme de la réaction enzymatique catalysée par la D-ala-D-ala ligase d'après Fan et coll.[95]

Après formation d'un D-alaninyl-phosphate **N**, un deuxième résidu D-alanine, activé par un réseau de liaison hydrogène, attaque le carbonyle de l'acyl-phosphate pour conduire à un intermédiaire tétraédrique. Ce dernier évolue par élimination de phosphate pour mener au dipeptide D-Ala-D-Ala.

---

[94] Asojo, O. A.; Nelson, S. K.; Mootien, S.; Lee, Y.; Rezende, W. C.; Hyman, D. A.; Matsumoto, M. M.; Reiling, S.; Kelleher, A.; Ledizet, M.; Koski, R. A.; Anthony, K. G. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* **2014**, *70*, 1922–1933.

[95] Fan, C.; Moews, P. C.; Walsh, C. T.; Knox, J. R. *Science* **1994**, *266*, 439–443.

Cette enzyme est également la cible de la D-cyclosérine (Figure 27)[96].

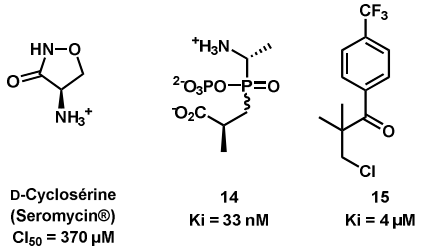


Figure 27 : Inhibiteurs de Ddl

Elle agit comme analogue de substrat de la D-alanine avec une CI_{50} de 370 µM. En outre, les phosphinates[97, 98] **14** ont également été utilisés en tant qu'inhibiteurs de Ddl : ils miment l'intermédiaire tétraédrique formé au cours de la réaction et présentent d'excellentes constantes d'inhibition nanomolaires. Plus récemment, d'autres structures aromatiques plus simples telles que **15** ont été découvertes comme inhibiteurs de Ddl[99]. Ils agissent en tant qu'inhibiteurs allostériques et empêchent le positionnement correct du substrat de l'enzyme au site actif. Des études de docking et de criblage à haut débit ont également permis de trouver d'autres composés par similarité de structure[100]. Toutefois, le mécanisme d'interaction de telles molécules avec l'enzyme n'est à l'heure actuelle pas connu.

Une autre racémase intervenant dans la biosynthèse du peptidoglycane bactérien est l'enzyme MurI qui catalyse l'inversion de configuration de l'acide D-glutamique. Contrairement à l'alanine racémase, MurI ne requiert la présence d'aucun co-facteur comme le montre son mécanisme d'action présenté ci-après (Schéma 14)[101].

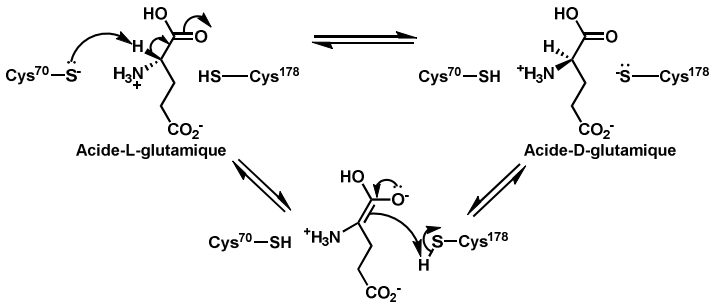


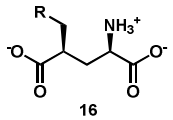
Schéma 14 : Mécanisme réactionnel de MurI d'après Hwang et coll.

Deux cystéines présentes au site actif de l'enzyme s'échangent le proton en position α de l'acide aminé pour parvenir à son épimérisation[101].

---

[96] Bruning, J. B.; Murillo, A. C.; Chacon, O.; Barletta, R. G.; Sacchettini, J. C. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 291–301.
[97] Parsons, W. H.; Patchett, A. A.; Bull, H. G.; Schoen, W. R.; Taub, D.; Davidson, J.; Combs, P. L.; Springer, J. P.; Gadebusch, H. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1772–1778.
[98] Fan, C.; Park, I.-S.; Walsh, C. T.; Knox, J. R. *Biochemistry* **1997**, *36*, 2531–2538.
[99] Liu, S.; Chang, J. S.; Herberg, J. T.; Horng, M.-M.; Tomich, P. K.; Lin, A. H.; Marotti, K. R. *PNAS* **2006**, *103*, 15178–15183.
[100] Vehar, B.; Hrast, M.; Kovač, A.; Konc, J.; Mariner, K.; Chopra, I.; O'Neill, A.; Janežič, D.; Gobec, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 5137–5146.
[101] Hwang, K. Y.; Cho, C. S.; Kim, S. S.; Sung, H. C.; Yu, Y. G.; Cho, Y. *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 422–426.

Les premiers inhibiteurs de MurI sont des analogues structuraux de l'acide D-glutamique **16** (Figure 28)[102].



16

Analogues de l'acide D-glutamique R = 2-Naphtyle, Ki = 16 nM

Figure 28 : Inhibiteurs de MurI

Ces molécules montrent une activité intéressante sur l'enzyme. Leur activité antimicrobienne, comprise entre 0,1 et 250 µg/mL, est en revanche fortement dépendante du groupement R qui influence surtout leur lipophilie et donc leur capacité à traverser les membranes bactériennes.

Après avoir détaillé les différentes étapes cytoplasmiques de la biosynthèse du peptidoglycane nous allons maintenant présenter les étapes membranaires puis périplasmiques.

b) Etapes membranaires

Les enzymes impliquées dans ces étapes sont ancrées dans la membrane plasmique, et n'ont été étudiées que très récemment en raison des difficultés d'expression, de purification et de caractérisation, intrinsèques à la nature transmembranaire de ces protéines.

- **MraY**

Les étapes membranaires de la biosynthèse du peptidoglycane[103] débutent par la translocation de l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide au sein de la membrane plasmique des bactéries grâce à sa fixation sur un transporteur lipidique ancré dans la membrane : l'undécaprénylphosphate (Schéma 15).

Le couplage entre ces deux molécules est catalysé par la transférase **MraY** et forme le lipide I (undécaprényl-pyrophosphoryl-Mur*N*Ac-pentapeptide). Cette enzyme fait l'objet de notre étude et les données la concernant seront développées ultérieurement.

---

[102] De Dios, A.; Prieto, L.; Martín, J. A.; Rubio, A.; Ezquerra, J.; Tebbe, M.; López de Uralde, B.; Martín, J.; Sánchez, A.; LeTourneau, D. L.; McGee, J. E.; Boylan, C.; Parr, Thomas R.; Smith, M. C. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4559–4570.

[103] Bouhss, A.; Trunkfield, A. E.; Bugg, T. D.; Mengin-Lecreulx D. *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208-233.

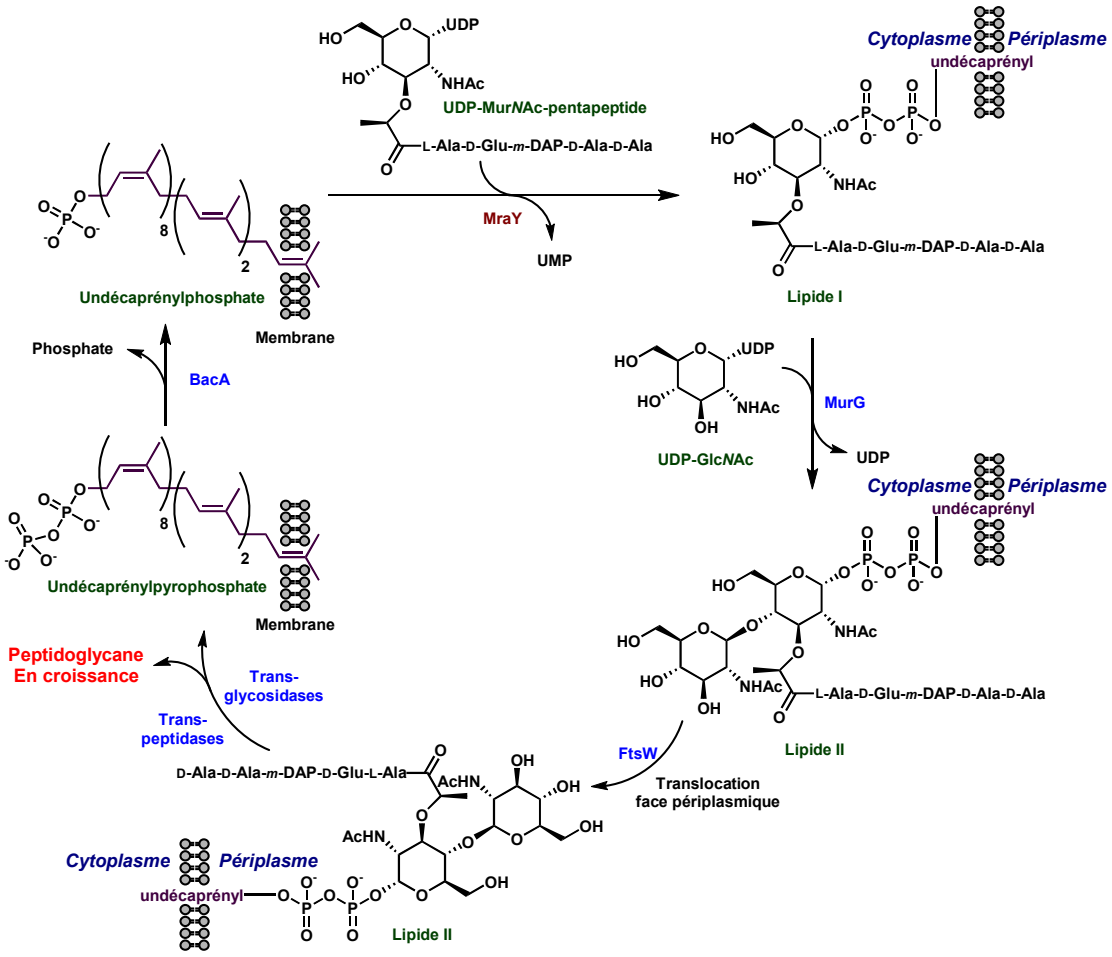


Schéma 15 : Etapes membranaires et périplasmiques de la biosynthèse du peptidoglycane

- **MurG**

Le lipide I subit ensuite une étape de glycosylation réalisée par la glycosyltransférase **MurG**. Cette protéine catalyse le transfert d'un résidu de Glc*N*Ac, provenant de l'UDP-Glc*N*Ac, sur la position 4 du résidu Mur*N*Ac du lipide I pour former le lipide II.

Sa structure cristallographique et son mécanisme ont été élucidés (Schéma 16)[104].

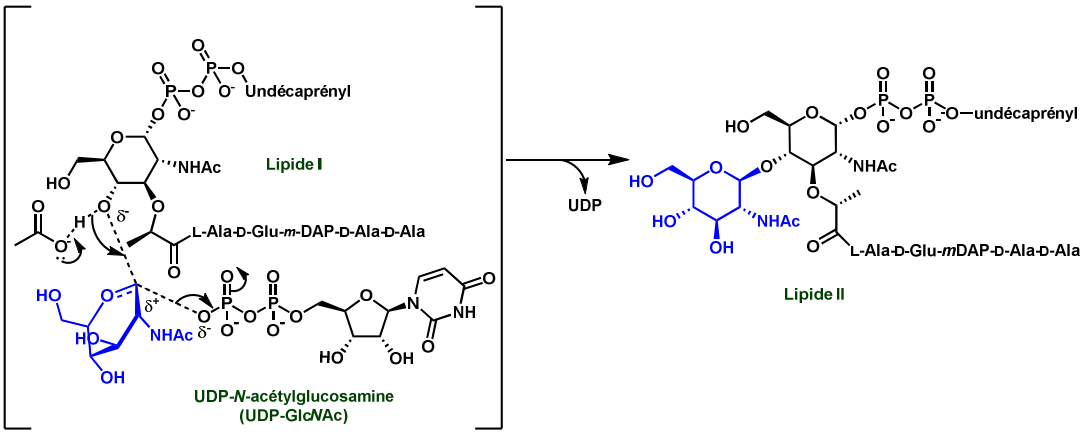


Schéma 16 : Etat de transition de la réaction catalysée par MurG d'après le groupe de Walker[104]

[104] Ha, S.; Walker, D.; Shi, Y.; Walker, S. *Protein Science* **2000**, *9*, 1045–1052.

Il s'agit d'une glycosylation avec inversion de configuration relative au niveau de la position anomérique du Glc*N*Ac (Schéma 16).

Des études de criblage à haut débit ont permis d'identifier des composés de type thiazolidinethione **17**[105], et pyrimidinetrione **18**[106] comme inhibiteurs compétitifs de MurG (Figure 29). De manière complémentaire, notre laboratoire a également développé l'accès aux diazépanones **19**[107a-b] inhibitrices de MurG.

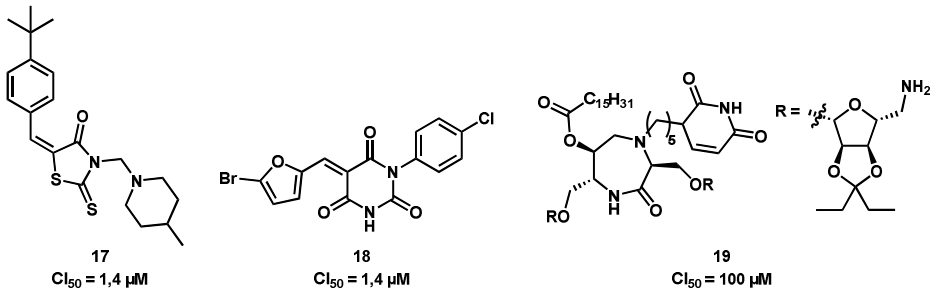


Figure 29 : Inhibiteurs synthétiques de MurG

- **FtsW**

Sous l'action de la flippase FtsW, le lipide II est ensuite transféré sur la face externe de la membrane plasmique. Le rôle de cette protéine n'a été identifié que très récemment[108] et aucune structure aux rayons X de cet enzyme n'a été décrite à ce jour. A notre connaissance il n'existe pas d'inhibiteur connu de FtsW.

Une fois que le lipide II a été transféré sur la face périplasmique, ce dernier est engagé dans des réactions de transglycosylation catalysées par les protéines liant la pénicilline (PBPs). Au cours de ces réactions se forme l'undécaprénylpyrophosphate qui est recyclé par l'enzyme BacA lors d'une dernière étape membranaire.

- **BacA**

L'undécaprénylpyrophosphate généré lors des réactions de transglycosylation est régénéré en undécaprénylphosphate par la pyrophosphatase BacA[109]. Bien que cette enzyme ait fait l'objet de récentes études concernant sa séquence protéique[110,111], sa structure cristallographique, ainsi que son mécanisme restent, à ce jour, inconnus.

---

[105] Helm, J. S.; Hu, Y.; Chen, L.; Gross, B.; Walker, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11168–11169.
[106] Hu, Y.; Helm, J. S.; Chen, L.; Ginsberg, C.; Gross, B.; Kraybill, B.; Tiyanont, K.; Fang, X.; Wu, T.; Walker, S. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 703–711.
[107] (a) Monasson, O.; Ginisty, M., Mravljak, J.; Bertho, G.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2320-2330. (b) Mravljak, J.; Monasson, O.; Al-Dabbagh, B.; Crouvoisier, M.; Bouhss, A.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1582-1592.
[108] Mohammadi, T.; Van Dam, V.; Sijbrandi, R.; Vernet, T.; Zapun, A.; Bouhss, A.; Diepeveen-de Bruin, M.; Nguyen-Distèche, M.; De Kruijff, B.; Breukink, E. *EMBO J.* **2011**, *30*, 1425–1432.
[109] El Ghachi, M.; Bouhss, A.; Blanot, D.; Mengin-Lecreulx, D. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 30106–30113.
[110] Tatar, L. D.; Marolda, C. L.; Polischuk, A. N.; Leeuwen, D. van; Valvano, M. A. *Microbiology* **2007**, *153*, 2518–2529.
[111] Chang, H.-Y.; Chou, C.-C.; Hsu, M.-F.; Wang, A. H. J. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 18719–18735.

En outre, cette protéine est indirectement la cible de la bacitracine (Figure 30)[112]. En effet, cet antibiotique piège l'undécaprénylpyrophosphate par l'intermédiaire d'un cation divalent.[113]. Ce substrat ne peut alors plus être pris en charge par BacA.

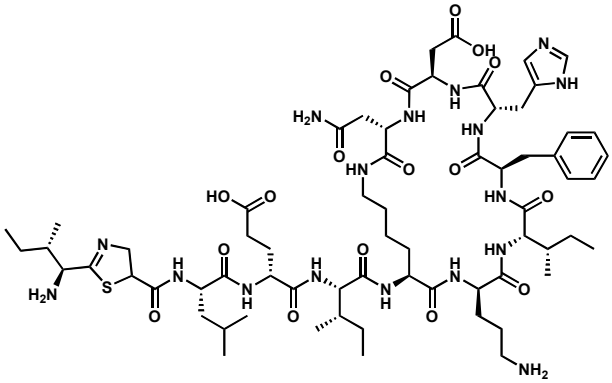


Figure 30 : Structure de la bacitracine Bacicoline®

La toxicité de la bacitracine limite son utilisation à un usage local. La résistance à la bacitracine est principalement due à l'efflux actif de cet antibiotique[114].

Après avoir présenté ces étapes membranaires, intéressons-nous maintenant aux étapes périplasmiques[115].

c) Etapes périplasmiques

La polymérisation et la réticulation du peptidoglycane sont ensuite assurées par les protéines liant la pénicilline ou PBPs (pour *Penicilin Binding Proteins*)[115]. Ces protéines présentent deux activités enzymatiques distinctes :

- Une activité **transglycosidase** effectuée par leur domaine C-terminal ;
- Une activité **transpeptidase** réalisée par leur domaine N-terminal.

- **PBPs et MGT**

Les réactions de transglycosylation peuvent également être effectuées par des glycosyletransférases possédant uniquement cette activité enzymatique (MGT pour *Monofunctionnal Glycosyltransferase*)[116]. Le mécanisme d'action de ces enzymes a été proposé par le groupe de Ma[117], après résolution de la structure cristallographique du domaine C-terminal de la MGT de *Staphyloccocus aureus* (Figure ci-après).

---

[112] Stone, K. J.; Strominger, J. L. *PNAS* **1971**, *68*, 3223–3227.
[113] Storm, D. R.; Strominger, J. L. *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 3940–3945.
[114] Chancey, S. T.; Zähner, D.; Stephens, D. S. *Future Microbiol.* **2012**, *7*, 959–978.
[115] Sauvage, E.; Kerff, F.; Terrak, M.; Ayala, J. A.; Charlier, P. *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 234–258.
[116] Heijenoort, J. van. *Glycobiology* **2001**, *11*, 25R – 36R.
[117] Huang, C.-Y.; Shih, H.-W.; Lin, L.-Y.; Tien, Y.-W.; Cheng, T.-J. R.; Cheng, W.-C.; Wong, C.-H.; Ma, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2012**, *109*, 6496–6501.

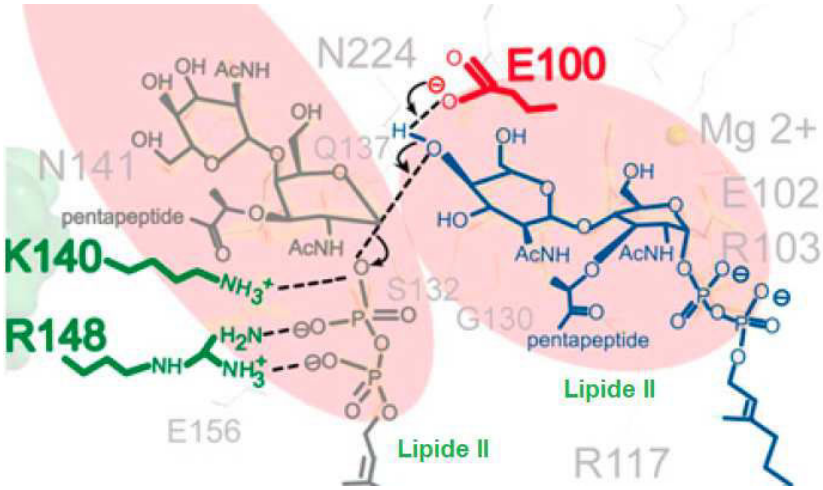


Figure 31 : Etat de transition de transglycosylation d'après le groupe de Ma[117] chez *Staphyloccocus aureus* (Gram (+))

Ainsi, l'aspartate 100 (E^{100}) activerait l'alcool en position 4 du résidu Glc*N*Ac du lipide II. Ce nucléophile attaquerait alors la position anomérique du résidu MurNAc-pentapeptide d'un autre lipide II pour former une liaison glycosidique. La lysine 140 (K^{140}) et l'arginine 148 (R^{148}) assisteraient le départ de l'undécaprénylpyrophosphate formés au cours de la réaction en masquant ses charges négatives.

La vancomycine, antibiotique utilisé en clinique contre de nombreuses infections à Gram (+), inhibe l'activité transglycosidase en se fixant très fortement au lipide II (Figure 32)[17]. Ce dernier, alors trop encombré, ne peut entrer dans le site actif des PBPs.

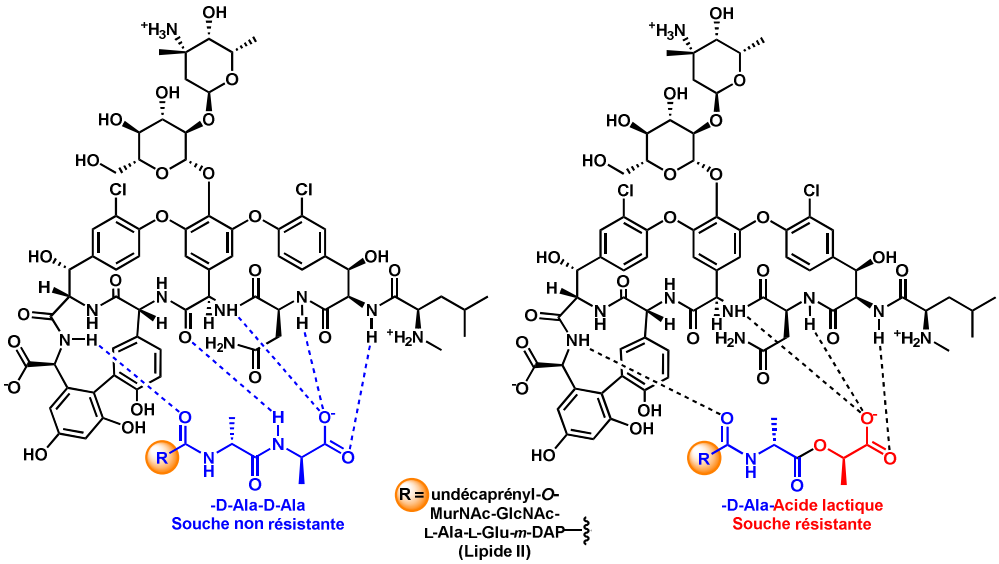


Figure 32 : Fixation de la vancomycine au lipide II et résistance d'après Ritter et Wong[17]

Chez les bactéries résistantes à la vancomycine le dernier acide aminé présent sur la chaîne pentapeptidique du lipide II est remplacé par un acide lactique entrainant une perte d'une liaison hydrogène. Cette dernière fait chuter drastiquement l'affinité de la vancomycine pour le lipide II.

Suite aux transglycoslylations, des ponts peptidiques sont ensuite créés par les PBPs. Elles ont pour substrat le pentapeptide et fonctionnent selon le mécanisme présenté ci-après (Schéma 17).

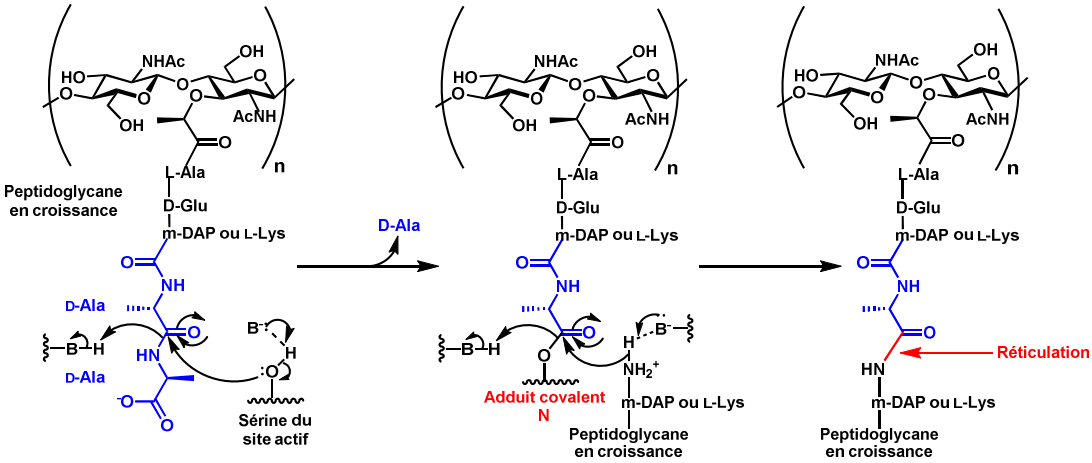


Schéma 17 : Mécanisme général d'une transpeptidase

Lors de cette réaction de transpeptidation, l'enzyme forme un adduit covalent **N** avec le peptidoglycane en élongation par l'intermédiaire d'une sérine de son site actif. L'amine d'un résidu *m*-DAP (ou L-Lys) d'une autre chaîne polysaccharidique du peptidoglycane attaque alors l'acyl-enzyme **N** pour former un pont peptidique et assurer la réticulation entre ces deux chaînes.

Les PBPs sont notamment la cible des pénicillines (Schéma 18-Figure 17). Ces dernières se fixent au site actif des PBP par addition nucléophile et ouverture du cycle β-lactame, bloquant ainsi l'accès au site actif.

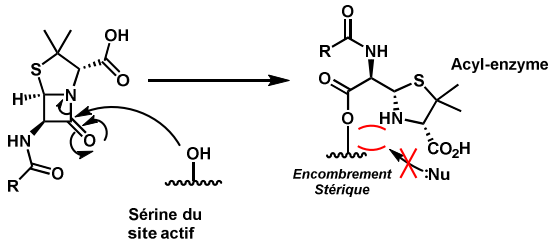


Schéma 18 : Inactivation d'une transpeptidase par une pénicilline
(résidus acido-basiques catalytiques non représentés)

La principale cause de résistances aux pénicillines est due aux β-lactamases. Ce mécanisme de résistance a déjà été évoqué (Figure 4).

Au cours de cette partie, nous avons donné un aperçu global de la diversité structurale des antibiotiques et traité du phénomène naturel et inévitable de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Pour contourner ce problème, un moyen efficace est de viser des cibles peu ou pas exploitées qui ne font pas encore l'objet de mécanisme de résistance. Dans ce contexte, certaines enzymes impliquées dans la biosynthèse du peptidoglycane bactérien sont des cibles qui répondent à ce critère. Les mécanismes d'action de ces protéines ont été détaillés de manière à comprendre le mode d'action des inhibiteurs qui les ciblent. Des résistances sont déjà apparues, notamment aux pénicillines qui ciblent des enzymes situées dans l'espace périplasmique.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à **la transférase MraY** qui exerce son activité plus en amont de la biosynthèse.

Cette enzyme, impliquée dans la construction du peptidoglycane possède de nombreux avantages qui font d'elle une cible thérapeutique intéressante : elle est essentielle à la survie bactérienne[118], ubiquitaire au sein du monde bactérien et ne possède pas d'équivalent chez les cellules eucaryotes. De plus, à l'heure actuelle, elle ne fait l'objet d'aucun mécanisme de résistance.

II La transférase bactérienne MraY, une cible pertinente

A) Rôle, topologie

1) Classification et rôle de MraY

MraY est une enzyme de la famille des **polyprénylphosphate-*N*-acétylhexosamine-1-phosphate-transférase**.[119] A l'heure actuelle, sept enzymes de cette famille sont connues dont six protéines procaryotes (MraY, TagO, WbpL, RgpG, WbcO et WecA). GPT est la seule enzyme eucaryote de cette famille à avoir été identifiée : elle est impliquée dans la *N*-glycosylation des protéines. Toutefois, GPT et MraY diffèrent par leur spécificité de substrat notamment au niveau du nucléotide sucre : MraY utilise l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide tandis que GPT prend en charge l'UDP-Glc-*N*Ac. Cette différence permet d'envisager le développement d'inhibiteurs sélectifs de MraY.

MraY est impliquée dans la première étape membranaire de la biosynthèse du peptidoglycane bactérien (pages 43 et Schéma 15). La réaction catalysée par cette enzyme est rappelée Figure 33. Elle consiste en la substitution nucléophile de l'uridine monophosphate (UMP) du substrat (UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide), par l'undécaprénylphosphate et conduit au lipide I.

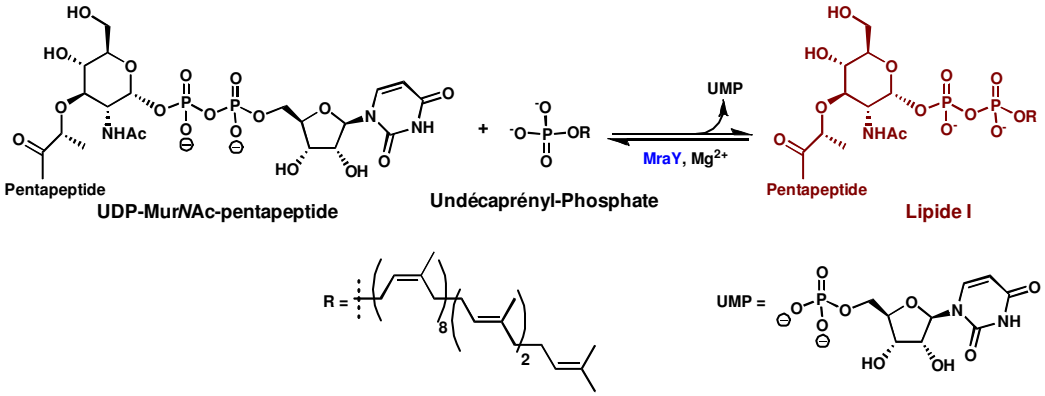


Figure 33 : Réaction catalysée par MraY

Nous allons à présent décrire les caractéristiques structurales et les paramètres enzymatiques de MraY.

---

[118] Ikeda, M.; Wachi, M.; Jung H. K.; Ishino F.; Matsuhashi M. *J. Bacteriol.* **1991**, *173*, 1021-1026.
[119] Pour une revue sur ces enzymes voir : Price, N. P.; Momany, F. A. *Glycobiology* **2005**, *15*, 29R–42R.

2) Séquence protéique et topologie de MraY

L'alignement des séquences protéiques d'enzymes MraY produites à partir de plusieurs souches bactériennes a été réalisé par Bouhss et coll.[120]. Cette étude a permis de démontrer que certains acides aminés étaient très conservés chez toutes les souches, soit à l'identique, soit par homologie de structure (Figure 34)[121].

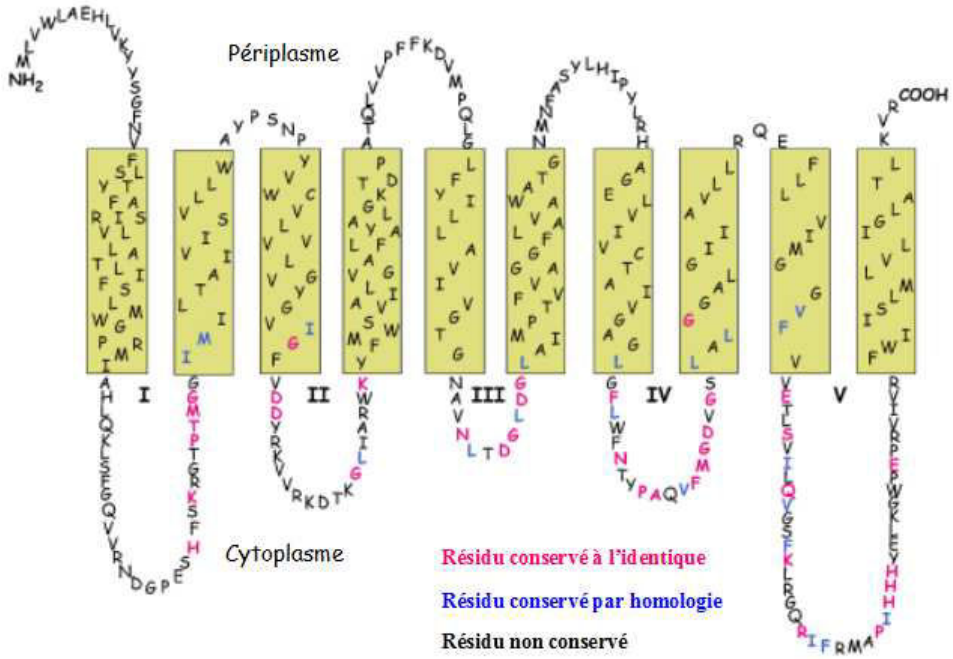


Figure 34 : Topologie de MraY chez *E. Coli* d'après Bouhss et coll.[120]

Cette protéine, d'environ 350 acides aminés (autour de 320 chez les Gram (+) et 360 chez les Gram (-)), est constituée de dix segments transmembranaires, cinq boucles cytoplasmiques et quatre boucles périplasmiques[121]. La conservation très importante des acides aminés des boucles cytoplasmiques (notamment les aspartates D^{115}, D^{116}, et D^{267} chez *E. Coli*) a permis aux auteurs de proposer que le site actif de l'enzyme était situé à proximité de ces résidus.

B) Paramètres enzymatiques et donnés mécanistiques

Le mécanisme et les paramètres enzymatiques de MraY ont également été étudiés depuis la purification et l'expression de cette enzyme à l'échelle du milligramme par Bouhss et coll.[122].

Ainsi des constantes reflétant l'affinité de l'enzyme pour ses substrats ont été définies (

Figure 35). La constante de Michaëlis (Km) représente la concentration en substrat pour laquelle la vitesse de l'enzyme atteint 50% de sa vitesse maximale. De ce fait, plus cette concentration est faible, plus le substrat a d'affinité pour l'enzyme.

---

[120] Bouhss, A.; Mengin-Lecreulx, D.; Le Beller, D.; Van Heijenoort, J. *Mol. Microbiol.* **1999**, *34*, 576–585.
[121] Bouhss, A.; Trunkfield, A. E.; Bugg T. D.; Mengin-Lecreulx, D. *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208-233.
[122] Bouhss, A.; Crouvoisier, M.; Blanot, D.; Mengin-Lecreulx D. *J. Biol chem.* **2004**, *279*, 29974-29980.

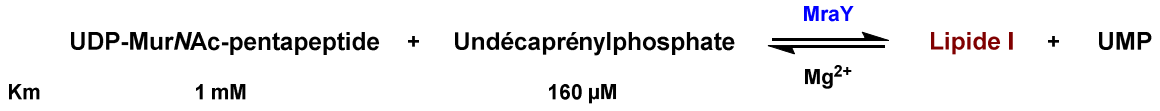


Figure 35 : Constantes de Michaëlis de MraY pour ses substrats chez Bacillus substilis

A noter que cette concentration est relativement élevée dans le cas de l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide, témoignant d'une relativement faible affinité de l'enzyme pour ce substrat.

Les auteurs ont également démontré que la présence de cations Mg^{2+} était nécessaire pour assurer l'activité de l'enzyme et que le pH optimal devait être voisin de celui du cytoplasme bactérien (entre 7,2 et 8,0).

Concernant le mécanisme de MraY, le groupe de Neuhaus[123] a tout d'abord proposé un mécanisme en deux étapes avec formation de l'adduit covalent phosphoryl-enzyme **O**. Le groupe de Bugg a, par la suite, étayé cette hypothèse (Schéma 19)[124].

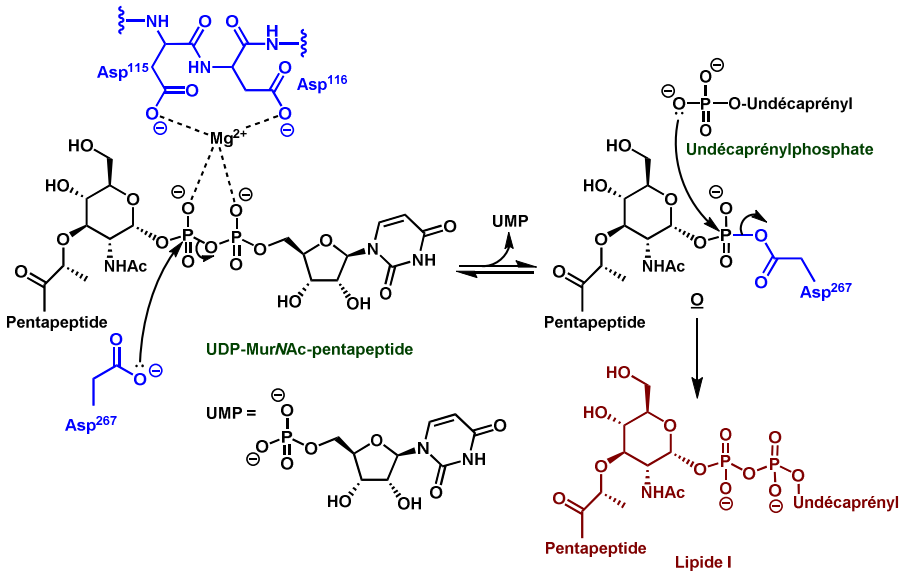


Schéma 19 : Mécanisme en deux étapes proposé par Lloyd et coll. chez *E. coli*

Lors de la première étape, l'aspartate D^{267} jouerait le rôle de nucléophile pour former l'adduit covalent **O** par substitution nucléophile (SN_2) de l'uridine monophosphate (UMP), tandis que les aspartates D^{115} et D^{116} auraient pour fonction la chélation de l'ion Mg^{2+}. Cet acide de Lewis se coordinerait au groupement pyrophosphate du substrat en masquant ses charges négatives. Par la suite, L'undécaprénylphosphate effectuerait une deuxième SN_2 afin de libérer l'aspartate D^{267} et le lipide I.

Toutefois, les expériences de mutagénèse dirigée réalisées par Al-Dabbagh et coll.[125] sur la transférase MraY de *Bacillus subtilis* sont en faveur d'un mécanisme en une seule étape. En effet, même si les mutations individuelles des aspartates D^{267}, D^{115}, D^{116} (D^{231}, D^{98}

---

[123] Heydanek, M.G.; Struve, W.G.; Neuhaus, F.C. *Biochemistry* **1969**, *8*, 1214-1221
[124] Lloyd, A. J.; Brandish, P. E.; Gilbey , A. M.; Bugg, T. D. *J. Bacteriol*. **2004**, *186*, 1747-1757.
[125] Al-Dabbagh, B.; Henry, X.; Ghachi, M. E.; Auger, G.; Blanot, D.; Parquet, C.; Mengin-Lecreulx, D.; Bouhss, A. *Biochemistry* **2008**, *47*, 8919–8928.

et D[99] chez *B. subtilis*) en asparagine entrainent une diminution de l'activité enzymatique de MraY, aucune perte totale d'activité n'est constatée. Ces observations réfutent l'hypothèse des groupes de Neuhauss[123] et Bugg[124] qui soutenait que l'aspartate D[267] (D[231] chez *B. subtilis*) avait un rôle de nucléophile. En outre, l'enzyme mutée D98N (aspartate D[98] muté en asparagine) est le seul mutant dont le profil d'activité enzymatique en fonction du pH diffère notablement de celui de l'enzyme sauvage. Ainsi, les auteurs ont attribué un rôle de base catalytique au résidu D[98] (D[115] chez *E.coli*) et ont conclu que MraY fonctionnait selon un mécanisme en une étape (Schéma 20).

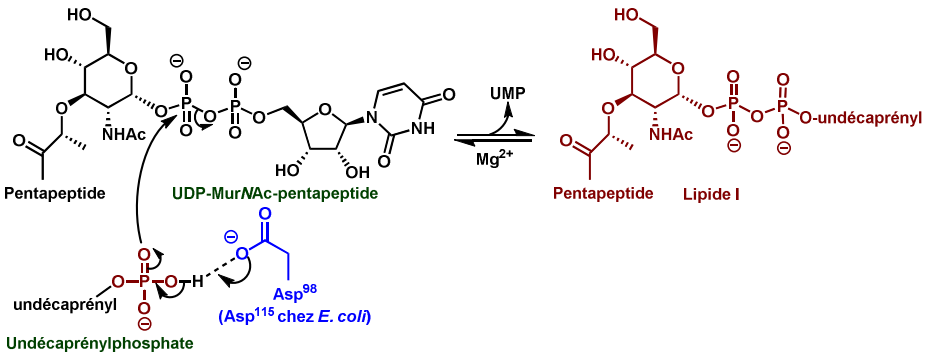


Schéma 20 : Mécanisme en seule étape de MraY de *Bacillus subtilis* d'après Al-Dabbagh et coll.[125]

Selon ces travaux, l'aspartate D[98] (équivalent à D[115] chez *E. coli*) déprotonerait l'undécaprénylphosphate qui réaliserait alors la substitution nucléophile directe de l'UMP du substrat. Les données structurales concernant MraY ont été étayées très récemment par la résolution de sa structure cristallographique.

C) Structure cristallographique

Malgré les difficultés d'expression, de purification et de cristallisation des protéines transmembranaires, l'équipe de Chung et coll. a réussi en 2013[126], la performance de résoudre la structure cristallographique de MraY (Figure 36).

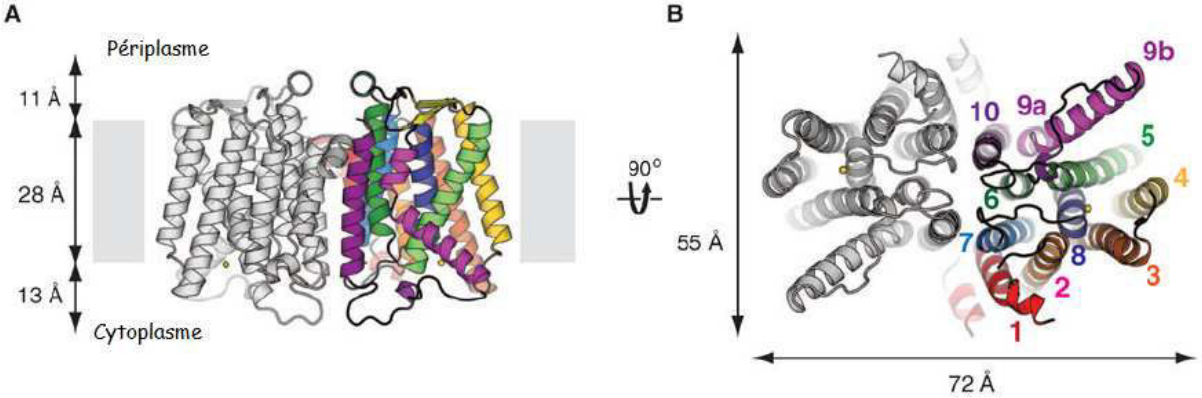


Figure 36 : Structure cristallographique de MraY d'*Aquiflex aeolicus* d'après Chung et coll.[126]

[126] Ben C. Chung, B. C.; Zhao, J.; Gillespie, R. A.; Kwon, D.-Y.;Guan, Z.; Hong, J.; Zhou, P.; Lee S.-Y. *Science* **2013**, *341*, 1012-1016.

La protéine, produite de la souche *Aquifex aeolicus*, a été purifiée et cristallisée. Sa structure aux rayons X confirme la topologie déjà établie par Bouhss et coll.[121]. Cette protéine dimérique présente en son centre un tunnel hydrophobe (pointillés Figure 37) suffisamment étendu pour accueillir l'undécaprénylphosphate.

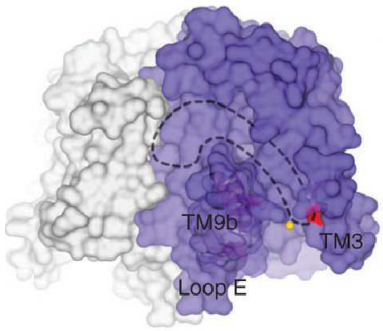


Figure 37 : Structure aux rayons X de MraY (densités électroniques) d'*Aquiflex aeolicus* d'après Chung et coll.[126]

Le site actif proposé met en évidence les résidus aspartate évoqués dans la partie précédente (Figure 38). En revanche, Chung et coll. ont démontré que seul l'aspartate D^{265} (D^{267} chez *E. coli*) interagissait avec le métal présent au site actif.

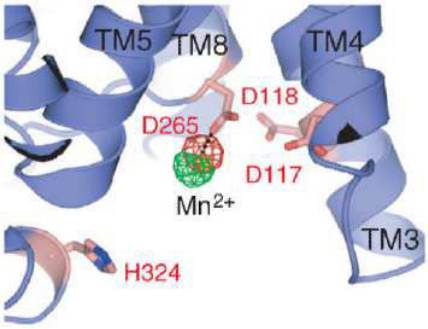


Figure 38 : Site actif de MraY (cristallisé en présence de cations Mn2+) d'après Chung et coll.126

Par ailleurs, les auteurs ont également démontré l'importance de trois résidus histidine (H^{324}, H^{325}, H^{326}). Si l'histidine H^{324} est mutée, l'enzyme résultante perd presque totalement son activité résiduelle. Les auteurs supposent donc une activité catalytique de la part de ce résidu. Les histidines H^{325} et H^{326} situées, quant à elles, hors du site actif, auraient un rôle de maintien de l'intégrité structurale de la protéine. De plus, ces résultats sont également en accord avec les observations d'Al-Dabbagh et coll.[125] car la mutation de l'aspartate D^{117} (D^{98} chez *Bacillus subtilis*, D^{115} chez *E. coli*) entraine aussi une perte d'activité de l'enzyme soutenant l'hypothèse d'un mécanisme en une étape.

Toutefois, même si la résolution de la structure de MraY d'*Aquiflex aeolicus* est une avancée majeure, aucune structure cristallographique d'un complexe entre MraY et un de ses substrats ou inhibiteurs n'a encore été résolue. Les interactions entre ces différents partenaires restent donc à définir.

Plusieurs familles d'inhibiteurs naturels de MraY ont déjà été identifiées. Nous allons d'abord rappeler la structure de ces molécules puis nous détaillerons les différentes stratégies de synthèse décrites dans la littérature pour accéder à des analogues de ces inhibiteurs.

D) Inhibiteurs naturels de MraY

Plusieurs classes de produits naturels, isolés de souches fongiques ou bactériennes inhibent l'activité enzymatique de MraY[127].

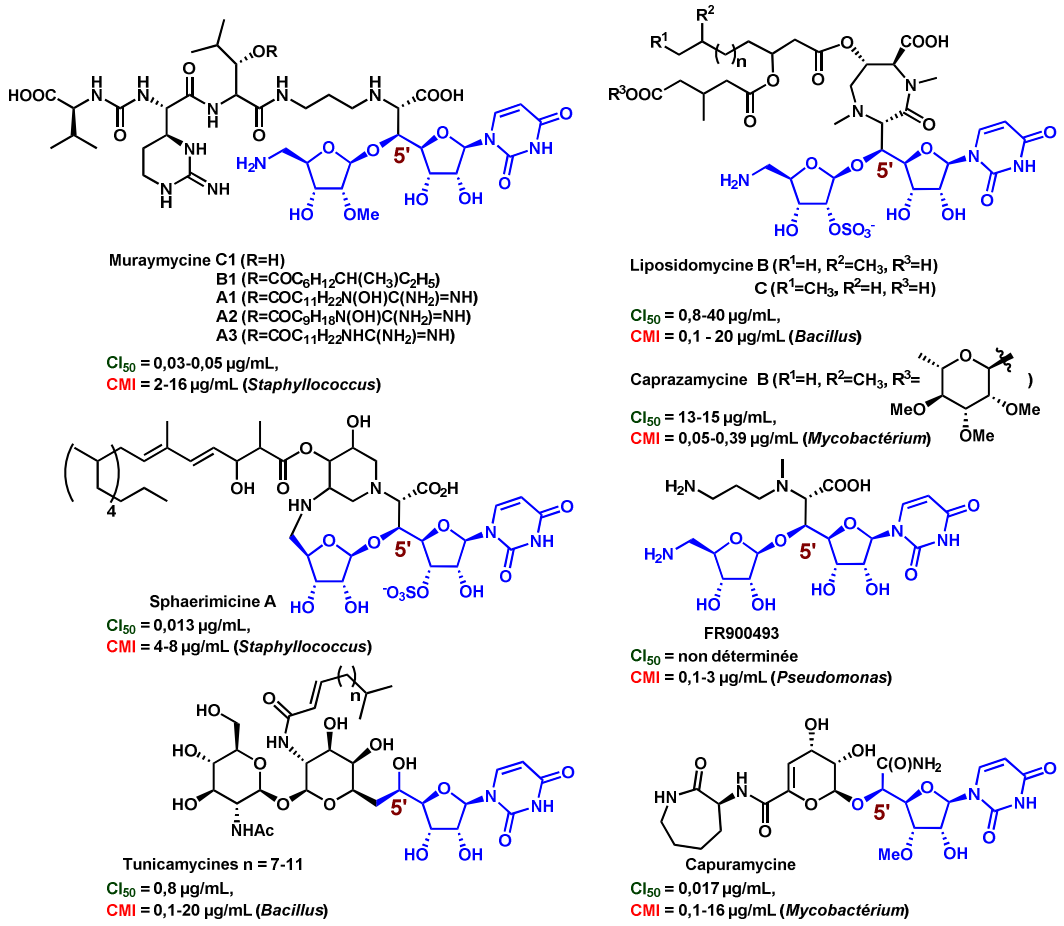


Figure 39 : Inhibiteurs naturels de MraY

Ils sont ainsi regroupés par famille et possèdent, pour la plupart, un squelette **aminoribosyluridine,** formé d'un aminoribose et de l'uridine. Les meilleurs d'entre eux inhibent fortement MraY (CI_{50} comprises entre la dizaine de ng/mL et la dizaine de µg/mL). Ils montrent des activités antibactériennes intéressantes (CMI de l'ordre du µg/mL pour les meilleurs) mais cette efficacité n'est généralement dirigée que contre quelques souches bactériennes, le plus souvent Gram (+)[127].

Parmi ces molécules, on trouve notamment **les muraymycines**[128], constituées du squelette aminoribosyluridine méthylé sur l'hydroxyle en position 2'' et substitué en position 5' par un peptide et diverses chaînes peptidiques.

---

[127] Dini, C. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, 5, 1221-1236.
[128] McDonald, L. A.; Barbieri, L. R.; Carter, G. T.; Lenoy, E.; Lotvin, J.; Petersen, P. J.; Siegel, M. M.; Singh, G.; Williamson, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10260–10261.

Les **liposidomycines**[129] et les **caprazamycines**[130] sont caractérisées par ce même squelette aminoribosyluridine sulfaté sur l'hydroxyle en position 2" et substitué en position 5' par un hétérocycle 1,4-diazépan-2-one. La fonction alcool présente sur ce cycle est estérifiée par différentes chaînes hydrophobes.

La **sphaerimicine A**, isolée très récemment[131] de plusieurs souches d'actinomycètes (champignons), présente une structure macrocyclique atypique dans laquelle l'amine de l'aminoribose est engagée dans un cycle à onze chaînons reliant la position 5" à la position 5' de son squelette. La fonction alcool présente sur ce cycle est estérifiée par une chaîne hydrophobe.

Le **FR900493** isolé en 1989[132] est un composé de structure plus simple par rapport aux autres inhibiteurs naturels. Il présente le même squelette aminoribosyluridine que ces derniers avec une substitution en position 5' moins complexe.

La structure des **capuramycines**[133] diffère de celle des premiers inhibiteurs par son uridine fonctionnalisée par un carboxamide et glycosylée par un motif dihydropyrane substitué par un caprolactame.

Les **tunicamycines**[134] sont constituées d'une partie uridine et d'un squelette disaccharidique comportant la *N*-acétylglucosamine. Ces inhibiteurs présentent une CI_{50} de 0,8 µg/mL mais sont peu sélectifs de cette enzyme. En effet, les tunicamycines sont également actives sur la transférase eucaryote GPT (cf page 49), ce qui les rend toxiques pour l'homme.

Ces inhibiteurs naturels sont très actifs sur l'enzyme purifiée, toutefois, leur polarité limite souvent leur activité antibactérienne sur les bactéries Gram (-). Leur structure complexe a inspiré la conception d'inhibiteurs synthétiques et plusieurs groupes se sont intéressés au développement de voies de synthèse originales dans l'objectif d'améliorer l'activité des molécules naturelles et/ou de les rendre plus accessibles. Nous allons maintenant récapituler les principales voies de synthèse décrites dans la littérature.

---

[129] Isono, K.; Uramoto, M.; Kusakabe, H.; Kimura, K.; Isaki, K.; Nelson, C. C.; McCloskey, J. A. *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1617–1621.
[130] Igarashi, M.; Nakagawa, N.; Doi, N.; Hattori, S.; Naganawa, H.; Hamada, M. *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 580–583.
[131] Funabashi, M.; Baba, S.; Takatsu, T.; Kizuka, M.; Ohata, Y.; Tanaka, M.; Nonaka, K.; Spork, A. P.; Ducho, C.; Chen, W.-C. L.; Van Lanen, S. G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2013**, *52*, 11607–11611.
[132] Ochi, K.; Ezaki, M.; Iwani, M.; Komori, T.; Kohsaka, M. *FR-900493 substance, a process for its production and a pharmaceutical composition containing the same.* EP0333177 (A2), September 20, 1989.
[133] Yamaguchi, H.; Sato, S.; Yoshida, S.; Takada, K.; Itoh, M.; Seto, H.; Otake, N. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1047–1053.
[134] Takatsuki, A. *Nippon Nōgeikagaku Kaishi* **1978**, *52*, R167–R177.

E) Inhibiteurs de MraY et approches synthétiques

1) Approches de Dini et coll.

Plusieurs familles d'inhibiteurs naturels de MraY ont en commun un squelette **aminoribosyluridine** substitué sur le carbone **5'** de l'uridine. La complexité du substituant en C**5'** varie selon les familles mais une étude réalisée par le groupe Aventis[135] a montré que la partie aminoribosyluridine était le pharmacophore commun à ces molécules (Figure 40).

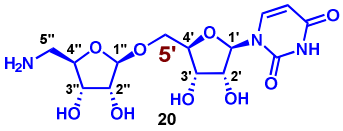


Figure 40 : Pharmacophore déterminé par Aventis[135]

La stratégie employée pour parvenir à la synthèse du squelette **20** repose sur une réaction de glycosylation β-sélective de l'uridine protégée **22** par le chlorure de ribosyle **21** (Schéma 21)[135].

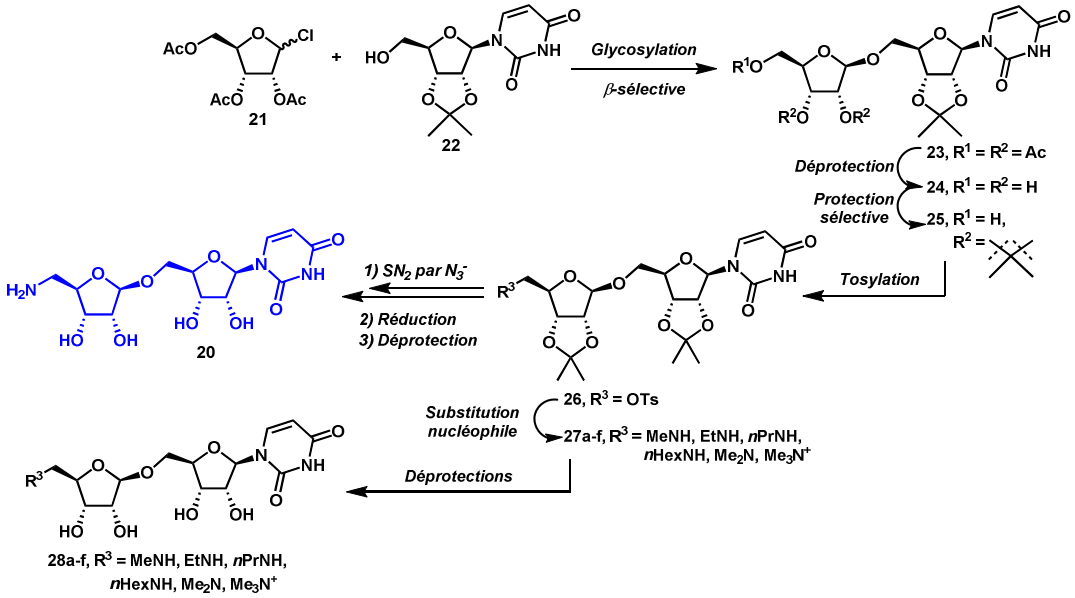


Schéma 21 : Synthèse du squelette aminoribosyluridine et fonctionnalisation de sa position 5'' par des amines d'après Dini et coll.[135]

Les groupements acétate présents sur le ribose du squelette aminoribosyluridine **23** sont ensuite déprotégés pour fournir le composé **24**, dont les fonctions alcool en position 2'' et 3'' sont sélectivement reprotégées sous forme diacétonide **25**. La fonction amine est par la suite introduite par une séquence de tosylation de l'alcool libre en position 5'' suivie de la substitution nucléophile du groupement tosylate du dérivé **26** par les ions azotures. Enfin, le squelette **20** est obtenu après réduction de l'azoture dans les conditions de Staudinger suivie d'hydrolyse acide des cétals.

Cette stratégie permet également de faire varier la substitution en position 5'' de l'aminoribosyluridine par réaction de substitution nucléophile du groupement tosylate de **26**

---

[135] Dini, C. ; Colette, P. ; Drochon, N. ; Guillot, J.C. ; Lemoine, G. ; Mauvais, P. ; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *10*, 1839-1843.

par diverses amines pour mener aux composés **27a-f**[136]. Les fonctions alcool secondaire sont ensuite déprotégées par hydrolyse acide des cétals pour conduire aux dérivés **28a-f**. Cette étude a démontré le caractère essentiel de l'amine en position 5".

L'introduction d'un substituant et l'influence de la configuration de l'atome de carbone en position **5'** sur l'activité biologique ont été ensuite étudiées.

La voie d'accès à ce nouveau squelette substitué en 5' (Schéma 22, composé **37**) repose également sur une réaction de glycosylation.

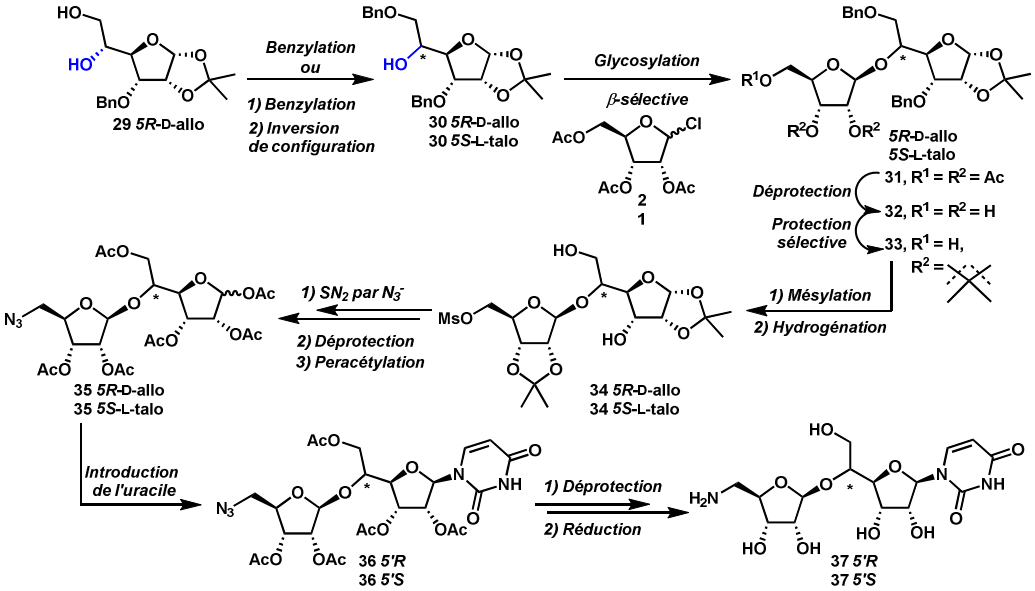


Schéma 22 : Introduction d'un groupement hydroxy-méthylène en position 5' du squelette aminoribosyluridine d'après Dini et coll.[135]

Ici, le chlorure de ribosyle **21** est opposé aux sucres **30** *5R* et **30** *5S* pour fournir les disaccharides **31.** Ces accepteurs de glycosyle sont obtenus à partir du même intermédiaire **29**[137], respectivement par benzylation, ou benzylation suivie d'inversion de configuration. Le centre asymétrique en position 5' est donc fixé dès le début et les synthèses des deux épimères en 5' de **37** sont effectuées en parallèle.

Les groupements acétate des disaccharides **31** sont ensuite déprotégés pour donner les alcools **32** correspondants. Puis, les hydroxyles en position 2" et 3" ainsi libérés sont reprotégés sélectivement en acétonides pour fournir le composé **33**. La fonction alcool en position 5" du ribose est ensuite activée sous forme de mésylate et les groupements benzylesont déprotégés par hydrogénolyse pour donner les mésylates **34**. Ces derniers sont substitués par les ions azotures, afin d'introduire une amine masquée en position 5", puis les fonctions alcool sont libérées par hydrolyse acide et peracétylées pour donner les composés **35**. La partie uracile est introduite par réaction de Vorbrüggen pour conduire aux composés 5'-hydroxyméthylène-azidoribosyluridine **36** protégés. Les groupements acétate sont ensuite

[136] Dini, C.; Drochon, N.; Feteanu, S.; Guillot, J. C.; Peixoto, C.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 529–531.
[137] Kishi, Y.; Fang, F.; Forsyth, C. J.; Scola, P. M.; Yoon, S.K. Patent WO 9317690, **1993**.

hydrolysés et l'azoture réduit dans les conditions de Staudinger pour conduire aux deux composés **37** épimères en position 5'.

Cette étude a permis de confirmer l'importance de la substitution et de la configuration du carbone 5'. En effet, le composé **37** *5'S* présente une activité 85 fois plus importante que son épimère *5'R*. Ce dernier est même moins actif que le composé non substitué **20** (Figure 41).

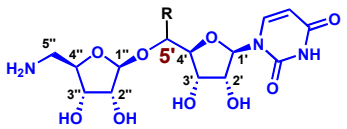


Figure 41 : Influence de la substitution et de la configuration du carbone 5' sur l'activité biologique d'après Dini et coll.[135]

D'autres études réalisées par les groupes de Dini[138] et Bugg[139] ont consisté en la désoxygénation des positions 2', 3', 2'' et 3''. Ainsi la désoxygénation en position 3' augmente l'activité des composés tandis que les molécules 3'' désoxy sont complètement inactives.

Ces conclusions en main, Dini et coll. ont ensuite fait varier la substitution des molécules en position 5' de configuration *S* et en série 3' désoxy. Ce nouveau squelette est obtenu selon une voie de synthèse différente (Schéma 23)[140].

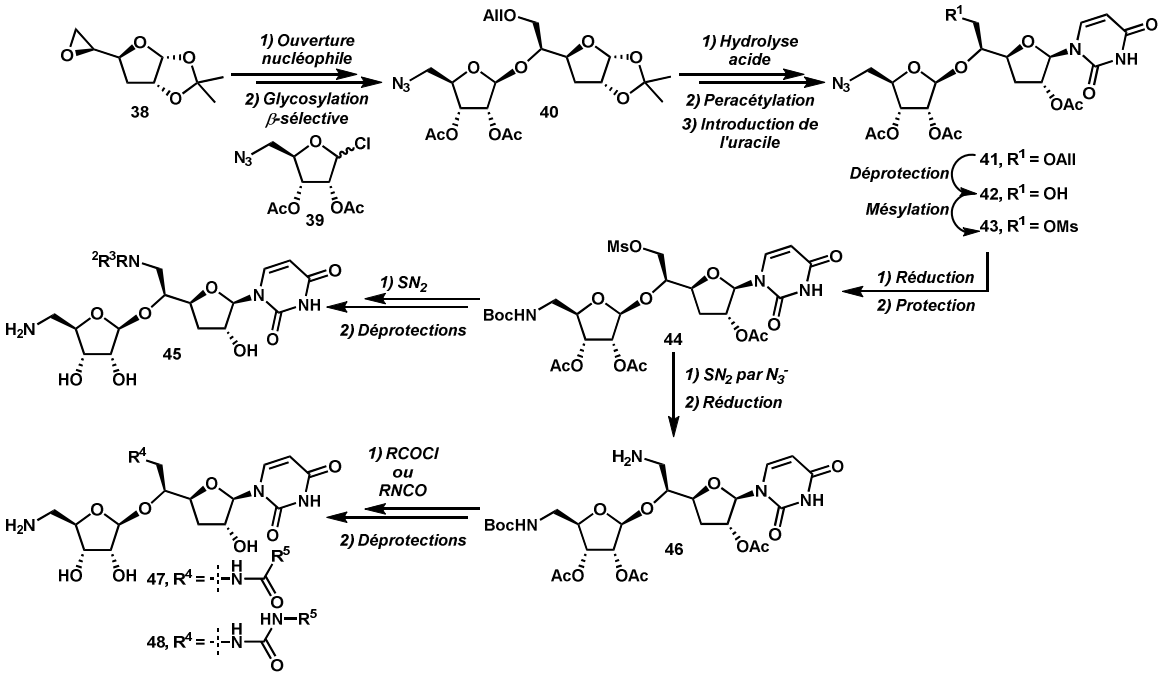


Schéma 23 : Synthèse d'une série désoxygénée en position 3' d'après Dini et coll.[140]

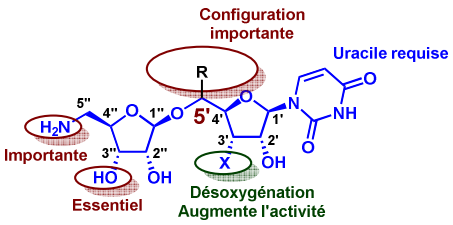
Lors de cette synthèse, l'époxyde diastéréoisomériquement pur **38**[141] est d'abord ouvert par l'alcool allylique et l'alcool secondaire résultant est glycosylé par le chlorure

---

[138] Dini, C.; Drochon, N.; Guillot, J. C.; Mauvais, P.; Walter, P.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 533–536.
[139] Xu, X.-H.; Trunkfield, A. E.; Bugg, T. D. H.; Qing, F.-L. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 157–161.
[140] Dini, C.; Didier-Laurent, S.; Drochon, N.; Feteanu, S.; Guillot, J. C.; Monti, F.; Uridat, E.; Zhang, J.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1209–1213.

d'azidoribosyle **39**[135] pour conduire au disaccharide **40**. Après déprotection du cétal et peracétylation des fonctions alcool ainsi libérées, l'uracile est introduit dans les conditions de Vorbrüggen pour mener au squelette 3'-désoxyazidoribosyluridine **41**. L'allyle protégeant le groupement 5'-hydroxyméthylène est clivé en alcool **42** et est, par la suite, activé sous forme de mésylate **43**. Après réduction du groupement azido et protection de l'amine résultante sous forme de carbamate de *tert*-butyle **44**, le mésylate est substitué par diverses amines pour conduire après déprotection, aux composés **45**.

Cette approche permet également de fonctionnaliser le composé **44** par des amides ou des urées : en substituant le mésylate par des ions azotures suivie de la réduction de l'azoture en amine **46** et de la condensation de cette dernière respectivement avec des chlorures d'acyle ou des isocyanates pour conduire respectivement aux amides **47** et aux urées **48**. Les résultats de l'évaluation biologique des composés ainsi qu'un résumé des conclusions de cette étude sont présentés ci-après (Figure 42).



R	X	CI_{50} (MraY) (µM)	CMI (µg/mL)
-H	OH	50	-
-CH_2OH (*5'R*)	OH	425	-
-CH_2OH (*5'S*)	OH	5	-
-CH_2OH (*5'S*)	H	5	-
-NH-$(CH_2)_{11}CH_3$ (*5'S*)	H	0,70	2,5 (*E. Coli*)
-NH(CO)-*p*-Br-Ph (*5'S*)	H	0,44	-
-NH(CO)-NH-*p*-Cy-Ph (*5'S*)	H	0,14	-

Figure 42 : Observations de Dini et coll.

Les auteurs ont montré que la configuration du carbone en **5'** est donc très importante pour l'activité de ces molécules. En outre, l'hydroxyle en 3'' ainsi que l'amine en position 5'' sont importants pour l'activité des composés. L'introduction de substituants sur la position 5' améliore encore d'avantage l'activité *in vitro* de ces composés. De plus, il a été montré que l'introduction de chaînes hydrophobes sur cette position permettait d'une part d'améliorer les CI_{50} des composés et d'autre part d'obtenir des activités sur bactéries Gram (+) et Gram (-). D'autres études réalisées par le groupe de Bugg ont consisté en la gem difluoration des positions 3' et 2''. Ces modifications diminuent l'activité des molécules.

De façon générale, ces voies de synthèse impliquent toutes des séquences de manipulation de groupements protecteurs pour veiller notamment au contrôle de la stéréochimie de la réaction de glycosylation.

D'autres approches ont été envisagées par notre équipe afin de concevoir des analogues du squelette aminoribosyluridine ou du cycle diazépanone retrouvé chez les liposidomycines ou caprazamycines.

---

[141] Ronco, G.; Tber, B.; Villa, P. J.; Ville, G. A. *Preparation of novel ribonucleoside compounds as antibiotics, antitumors,and antivirals*; WO 9206993, **1992**.

2) Approches envisagées au laboratoire

La synthèse d'analogues de structure simplifiée d'aminoribosyluridine[142,143] a été réalisée (Schéma 24).

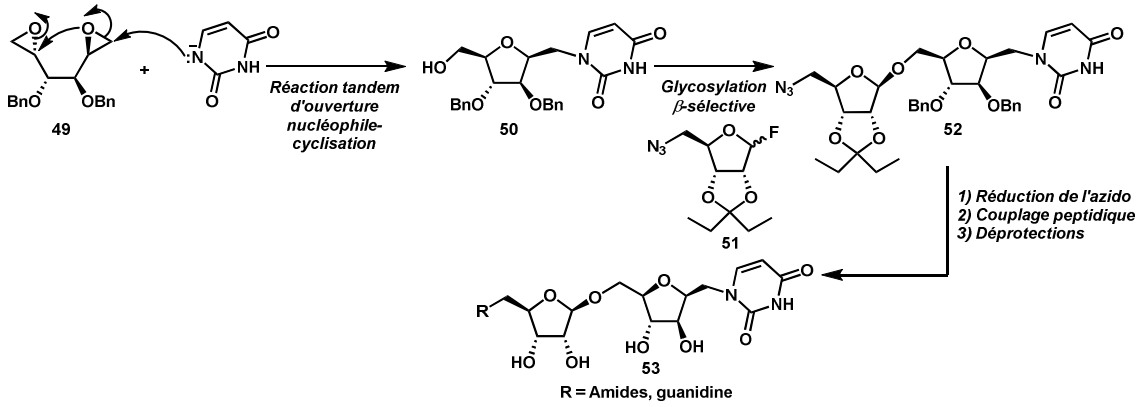


Schéma 24 : Approche envisagée au laboratoire visant à la synthèse d'analogues d'aminoribosyluridine[142, 143]

La synthèse de ces molécules repose sur une réaction tandem d'ouverture nucléophile du bis-époxyde **49** de symétrie C2 par la base conjuguée de l'uracile suivie d'une cyclisation. Le composé **50** ainsi formé subit ensuite une étape de glycosylation par l'azido-ribose fluoré **51**[150] conduisant au squelette désiré **52**. L'amine primaire obtenue après réduction du groupement azido permet le couplage peptique pour donner après déprotection les analogues **53**.

D'autres approches, envisagées au laboratoire, ont visé à la synthèse du répartiteur diazépanone des liposidomycines[144,145,146,147], structure énantiomériquement pure et dont tous les groupements fonctionnels sont bien différenciés et permettent d'accéder à des chimiothèques de composés.

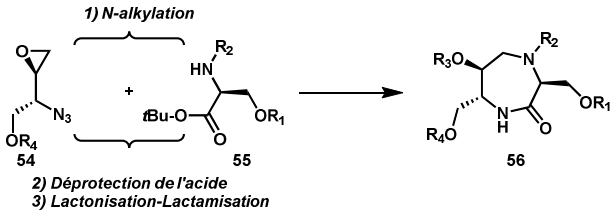


Schéma 25 : Synthèses de l'hétérocycle diazépanone envisagée au laboratoire d'après Le Merrer et coll.

Les étapes clefs de cette synthèse sont, d'une part, la formation d'une liaison carbone-azote par *N*-alkylation entre l'époxyde **54** et l'amine **55** et, d'autre part, la fermeture du cycle diazépanone *via* une séquence de lactonisation-lactamisation. Les molécules **56** obtenues,

---

[142] Clouet, A.; Gravier-Pelletier, C.; Al-Dabbag, B.; Bouhss, A.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 397–400.
[143] Lecerclé, D.; Clouet, A.; Al-Dabbagh, B.; Crouvoisier, M.; Bouhss, A.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4560–4569.
[144] Le Merrer, Y.; Gravier-Pelletier, C.; Gerrouache, M.; Depezay, J.-C. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 385–388.
[145] Mravljak, J.; Monasson, O.; Al-Dabbagh, B.; Crouvoisier, M.; Bouhss, A.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1582–1592.
[146] Gravier-Pelletier, C.; Ginisty, M.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 189–193.
[147] Monasson, O.; Ginisty, M.; Mravljak, J.; Bertho, G.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2320–2330.

hautement diversifiées, présentent des CI_{50} variant entre 100 µM et 2 mM sur l'enzyme MraY. Les études des relations structure-activité de ces molécules confirment les observations de Dini et coll. concernant l'importance du squelette aminoribosyluridine et de l'uracile.

3) Approches envisagées par Knapp et Kurosu

La première approche, envisagée par le groupe de Knapp[148], fixe la configuration du carbone en 5' dès le début de la synthèse en partant du diacétone glucose.

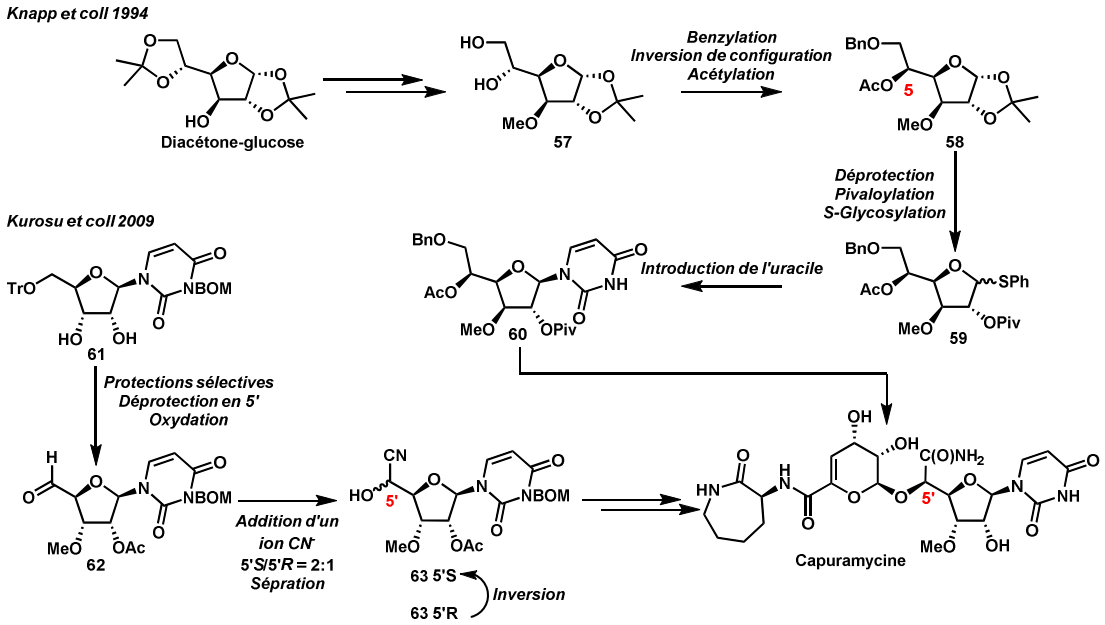


Schéma 26 : Synthèses de la capuramycine par Knapp et Kurosu

Ce dernier est tout d'abord méthylé puis déprotégé pour conduire au diol vicinal **57**. Suite à la benzylation sélective de l'alcool primaire et l'inversion de la configuration du carbone 5, l'hydroxyle en position 5 est acétylé pour donner **58**. Ce composé possède déjà la configuration de la capuramycine naturelle. Après déprotection du cétal, pivaloylation et *S*-glycosylation, le *S*-glycoside de phényle **59** dont la position anomérique est activée est préparé. L'uracile est ensuite introduit par réaction de *N*-glycosylation et le composé **60** est fonctionnalisé pour aboutir à la capuramycine. Cette voie nécessite un nombre d'étapes conséquent pour arriver au dérivé **60**.

Une approche plus concise a été envisagée par Kurosu[149] en partant directement de l'uridine protégé **61**. L'introduction de l'asymétrie en position 5' est réalisée par addition nucléophile d'un ion cyanure sur l'aldéhyde **62** pour conduire aux cyanhydrines **63** épimères en postion 5'. Cette addition s'effectue avec un rapport diastéréoisomérique modeste de 2/1 en faveur du composé 5'*S* dont la configuration correspond à celle de la capuramycine. Les deux diastéréoisomères sont séparables et le composé minoritaire 5'*R* peut être réutilisé après inversion de sa configuration par réaction de Mitsunobu. **63** est par la suite fonctionnalisé pour aboutir à la capuramycine. Ces deux synthèses mettent donc en jeu une méthode différente afin de fixer la configuration du carbone en 5'. Elles requièrent également des

[148] Knapp, S.; Nandan, S. R. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 281–283.
[149] (a) Wang, Y.; Siricilla, S.; Aleiwi, B. A.; Kurosu, M. *Chemistry* **2013**, *19*, 13847–13858. (b) Kurosu, M.; Li, K.; Crick, D. C. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2393–2396.

étapes de protection et déprotection pour parvenir à fonctionnaliser sélectivement les fonctions alcool de l'uridine. Matsuda et coll. ont envisagé une voie de synthèse minimisant ces étapes.

4) Approches envisagées par Matsuda et coll.

L'approche développée par Matsuda pour la synthèse d'inhibiteurs de MraY tels que le caprazol[150] ou le FR900493[151] met en jeu une réaction d'aminohydroxylation asymétrique de Sharpless[152] pour fixer la configuration du carbone 5' de l'uridine qui fournit le dérivé **65** à partir de l'ester méthylique α, β insaturé **64** (Schéma 27).

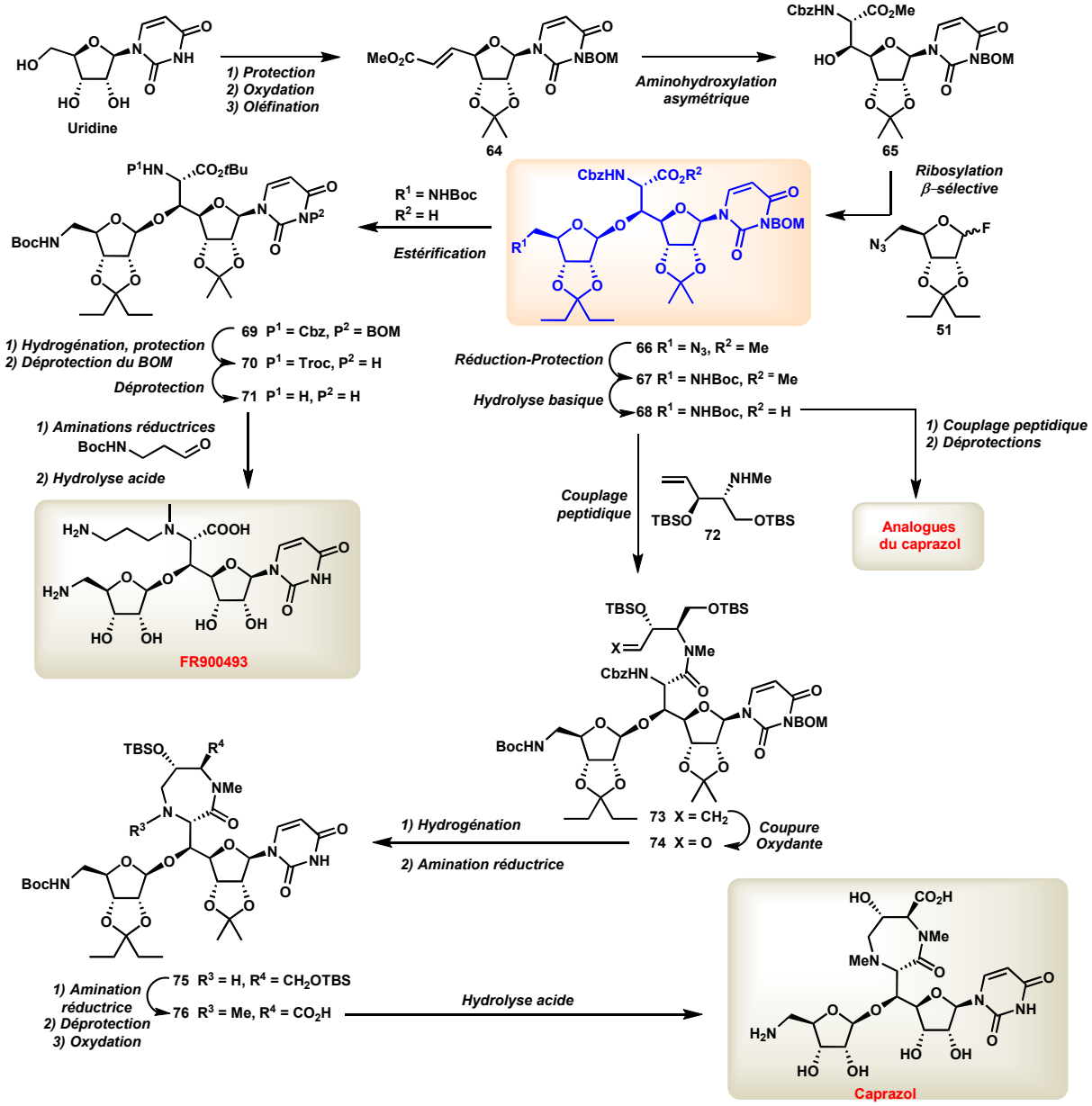


Schéma 27 : Approches envisagées par Matsuda et coll. pour la synthèse du FR900493 et du Caprazol [150,151, 152, 153]

---

[150] Hirano, S. ; Ichikawa, S. ; Matsuda, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1854-1856.
[151] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 2798–2804.
[152] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9936–9946.

Ce dernier est préparé par une séquence de protection de l'uridine, oxydation de sa fonction alcool primaire et oléfination de Wittig. L'accès au squelette **66** est ensuite effectué par une réaction de glycosylation par l'azido-ribose fluoré[152]. Les avantages de cette voie de synthèse sont multiples : elle est plus convergente, limite les réactions de protection-déprotection, et permet l'introduction de substituants variés sur la position 5' de l'uridine.

Le squelette **66** est un intermédiaire clé des synthèses de Matsuda et coll., permettant notamment d'accéder au caprazol, au FR900493 (inhibiteur naturel de MraY, Figure 39) ainsi qu'à divers analogues fonctionnalisés en position 5'. Le squelette **67** est obtenu après réduction du groupement azoture de **66** en amine puis protection de cette dernière sous forme de carbamate. Enfin, l'ester méthylique est hydrolysé pour conduire à l'acide **68**. Ce dernier est ensuite aménagé en fonction de la molécule cible à atteindre.

- **FR-900493**

La séquence pour parvenir à la synthèse du FR-900493 implique l'estérification de l'acide **68** sous forme de *tert*-butyle **69**. Le groupement Cbz est ensuite transformé en Troc et le groupement BOM est clivé pour conduire à **70**. L'amine **71**, libérée après déprotection du groupement Troc, est engagée dans deux réactions d'amination réductrice afin d'introduire la chaîne aminopropyle et le groupement méthyle. Le FR-900493 est obtenu après hydrolyse acide de tous les groupements protecteurs.

- **Caprazol**

Partant de l'intermédiaire acide **68**, la synthèse du caprazol, cœur des liposidomycines et des caprazamycines (Figure 39), met d'abord en jeu un couplage peptidique avec l'amino-alcool énantiopur **72**, protégé et fonctionnalisé, par un alcène terminal pour fournir **73**. Après coupure oxydante de la double liaison pour conduire à l'aldéhyde **74** et hydrogénation sélective du groupement Cbz, l'amine libérée forme l'hétérocycle diazépanone **75** par amination réductrice intramoléculaire. Le caprazol est obtenu après introduction d'un méthyle par amination réductrice sur l'amine secondaire libre, déprotection puis oxydation de la fonction alcool primaire en acide **76**, et hydrolyse acide des derniers groupements protecteurs.

- **Analogues du Caprazol**

Matsuda et coll. ont également utilisé l'intermédiaire **68** lors de la synthèse d'analogues du caprazol de type dicétopipérazine (Schéma 28)[153].

---

[153] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 428–436.

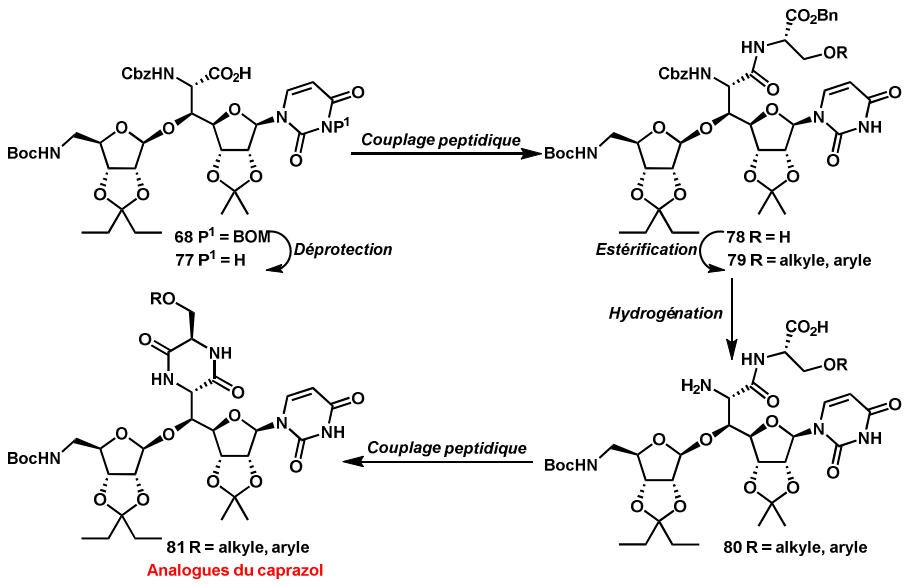
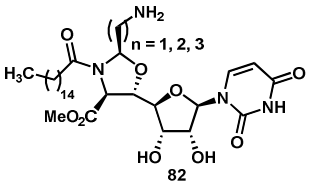


Schéma 28 : Synthèse d'analogue du caprazol d'après Matsuda et coll.

Après déprotection de l'imide de l'uracile pour donner le composé **77** celui-ci est couplé à un dérivé de la sérine dont l'acide est protégé sous forme d'ester de benzyle pour former l'amide **78**. L'alcool primaire est fonctionnalisé par diverse chaînes grasses afin de moduler la lipophilie des composés **79** qui sont déprotégés par hydrogénolyse pour conduire aux amino-acides **80**. Les dicétopipérazines **81** sont obtenues après cyclisation par couplage peptidique. Matsuda a également modulé la configuration de la sérine utilisée au début de la synthèse. La plupart des composés présentent des activités antibactériennes modestes (CMI comprises entre 25 et 100 µg/ml). Les composés possédant les chaînes hydrophobes (R = palmitoyle) sont toutefois plus actifs (CMI = 12.5 µg/ml). D'autres études concernant cette série ont également consisté à ouvrir le cycle diazépanone, enlever la partie uracile ou le ribose[154]. La partie uracile a été encore une fois démontrée comme étant indispensable pour maintenir l'activité de ces molécules. De plus, des analogues **82** de type oxazoline ont été également développés (Figure 43)[155].



n	CI_{50} (µM)	CMI (*S. aureus*) (µg/mL)
1	980	64
2	920	8
3	1200	8

Figure 43 : Exemples d'analogues du caprazol de type oxazoline d'après Matsuda et coll.[155]

Ainsi, les auteurs proposent que la chaîne aminoalkyle mime le ribose tandis que l'oxazoline prendrait la place du cycle diazépanone. En dépit d'une bonne activité antibactérienne, ces composés présentent de mauvaises activités sur enzyme purifiée. Le résultat confirme que le ribose est une partie indispensable pour l'activité enzymatique.

---

[154] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5123–5133.
[155] Ii, K.; Ichikawa, S.; Al-Dabbagh, B.; Bouhss, A.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3793–3813.

- **Muraymycines**

Selon cette même stratégie, Matsuda et coll. ont aussi décrit la synthèse d'analogues de muraymycines[156, 157]. La diversité structurale est introduite en fin de synthèse par une réaction multicomposants de Ugi[158] impliquant un aldéhyde, un acide carboxylique, l'ammoniac et l'isonitrile **87** (Schéma 29). Ce dernier est synthétisé par la séquence suivante : l'acide **77** est tout d'abord estérifié sous forme de *tert*-butyle **83** puis l'amine en position 6' est ensuite libérée par hydrogénation et engagée dans une réaction d'amination réductrice avec le *N*-2,2,2-trichloroéthoxycarbonyl-(Troc)-3-aminopropanal pour fournir l'amine **84**. Ce groupement est ensuite clivé pour fournir l'amine primaire **85** correspondante. Cette dernière est ensuite formylée puis le formamide résultant **86** est déshydraté en isonitrile **87**.

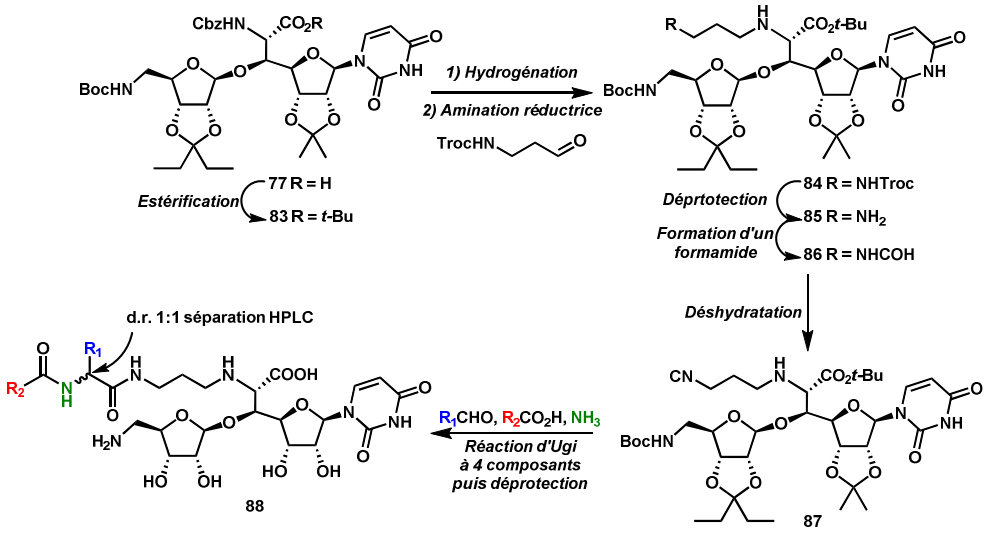


Schéma 29 : Réaction d'Ugi réalisée par Matsuda et coll.[157, 159]

Par cette stratégie, Matsuda et coll. ont synthétisé la muraymycine D2 ainsi que son épimère en position 13'. La réaction de Ugi n'est en effet pas stéréosélective et les deux épimères en alpha du groupement R^1 sont formés en proportion de 1:1. Une étape de chromatographie HPLC est nécessaire pour séparer ces composés. En outre, l'épimère de configuration *S* est légèrement plus actif sur l'enzyme MraY : $CI_{50}(S)$ = 0,01 µM, $CI_{50}(R)$ = 0,09 µM.

Toutefois, même si les composés **88** montrent des activités sub-micromolaires sur MraY, ils ne présentent aucune activité antibactérienne. L'introduction de chaînes aliphatiques sur la position R_1 améliore toutefois nettement les CMI de ces molécules (2 à 8 µg/mL) (Figure 44)[159].

---

[156] Tanino, T.; Al-Dabbagh, B.; Mengin-Lecreulx, D.; Bouhss, A.; Oyama, H.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8421–8439.
[157] Tanino, T.; Ichikawa, S.; Shiro, M.; Matsuda, A. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1366–1377.
[158] Dömling, A.; Ugi, I. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 3168–3210.
[159] Takeoka, Y.; Tanino, T.; Sekiguchi, M.; Yonezawa, S.; Sakagami, M.; Takahashi, F.; Togame, H.; Tanaka, Y.; Takemoto, H.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *ACS Med Chem Lett* **2014**, *5*, 556–560.

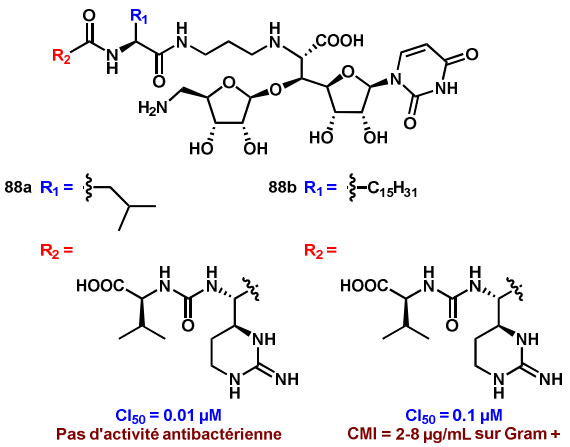


Figure 44 : Amélioration de l'activité par ajout d'une chaîne aliphatique[157, 159]

Par ailleurs, l'introduction de peptides plus simples en position R_2 a été également étudiée mais aucune relation structure-activité n'a été proposée par les auteurs[159]. De nombreuses stratégies d'accès vers le cycle diazépanone ont aussi été développées.

5) Approches de Shibasaki, Watanabe et coll.

Cette approche, mise au point lors d'une synthèse du caprazol, met jeu une réaction d'aldolisation entre l'isocyanoacétate **89** et l'aldéhyde **90** afin de contrôler la configuration du carbone 5' de l'uridine (Schéma 30)[160].

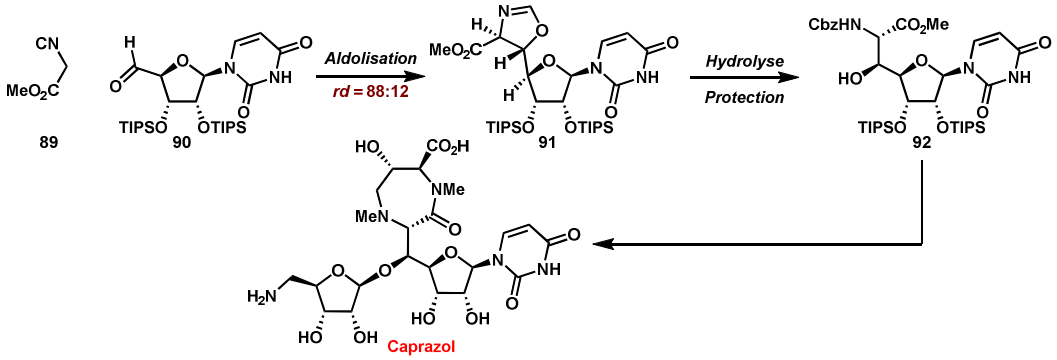


Schéma 30 : Synthèse du caprazol par Shibasaki, Watanabe et coll.

L'oxazoline résultante **91** est obtenue avec un rapport diastéréoisomérique de 88:12 puis est déprotégée pour fournir l'intermédiraire **92** qui conduit au caprazol par une stratégie de synthèse analogue à celle de Matsuda et coll.

---

[160] Gopinath, P.; Wang, L.; Abe, H.; Ravi, G.; Masuda, T.; Watanabe, T.; Shibasaki, M. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3364–3367.

6) Approches de Sarabia et Ducho

Ces approches ont visé la synthèse d'analogues de la partie uridinyldiazépanone (Figure 39). Le groupe de Sarabia et coll. a tout d'abord envisagé la réaction de Corey-Chaykovsky comme étape clé pour introduire l'asymétrie au niveau du carbone 5' de l'uridine[161, 162]. Cette réaction implique l'ylure de soufre **93**, fonctionnalisé par une indoline, afin de transformer l'aldéhyde protégé **94** en époxyde (Schéma 31).

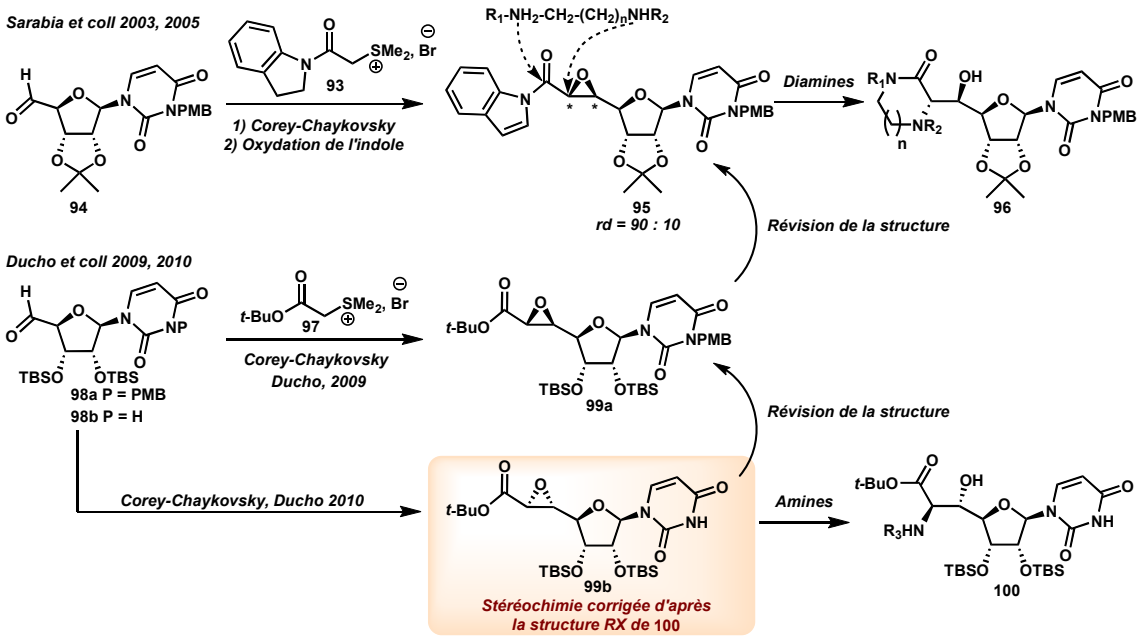


Schéma 31 : Approches envisagées par les groupes de Sarabia et de Ducho

La configuration des deux centres asymétriques de l'oxirane **95** a été attribuée par des études de RMN ainsi que des calculs théoriques[161]. Suite à l'oxydation de l'indoline en indole, l'époxyde **95** est ensuite couplé et ouvert avec différentes diamines pour former des cycles de taille variée comme la diazépanone **96** lorsque n =2.

Lors de la synthèse d'analogues des muraymycines, Ducho et coll. ont préparé l'époxyde **99a**[163] par réaction de Corey-Chaykovsky à partir de l'aldéhyde **98a** grâce à l'ylure de soufre **97** et ont attribué la stéréochimie des deux centres asymétriques formés d'après les travaux de Sarabia et coll.[161]. Plus récement, Ducho et coll. ont remis en cause cette stéréochimie lorsqu'ils ont effectué la synthèse des composés **100**[164] : la même stratégie a été appliquée à l'aldéhyde **98b**. La résolution de la structure aux rayons X d'un des composés **100** ainsi qu'une étude par corrélation chimique ont prouvé que les époxydes **99a-b** et **95** étaient en fait de configuration 5'*R*, 6'*S*.

---

[161] Sarabia, F.; Martín-Ortiz, L.; López-Herrera, F. J. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3927–3930.
[162] Sarabia, F.; Martín-Ortiz, L. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11850–11865.
[163] Spork, A. P.; Koppermann, S.; Ducho, C. *Synlett* **2009**, *15*, 2503-2507.
[164] Spork, P.A.; Koppermann; S.; Dittrich, B.; Herbst-Irmer, R.; Ducho, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 763-766.

Finalement, les deux époxydes diastéréoisomères ont été préparés par époxydation asymétrique de Sharpless (SAE) par le groupe de Sarabia et coll. (Schéma 32)[165].

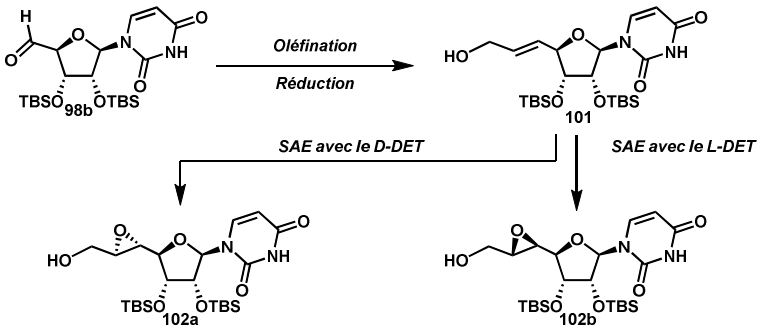


Schéma 32 : Synthèse des deux époxydes diastéréoisomères 102a-b par Sarabia et coll.

L'adéhyde **98b** est tout d'abord engagé dans une réaction de Wittig avec le carbéthoxyméthylènetriphénylphosphorane puis l'ester méthylique α, β insaturé résultant est réduit en alcool allylique **101**. Les deux époxydes diastéréoisomères **102a-b** sont obtenus après époxydation asymétrique avec l'un ou l'autre des tartrates chiraux de Sharpless (Schéma 32).

Les alcools primaires sont ensuites fonctionnalisés comme précédemment : par oxydation en acide, couplage peptidique et ouverture par diverses diamines pour aboutir au cycle diazépanone (Schéma 31).

Quelle que soit la stratégie utilisée, nous pouvons remarquer que la substitution et le contrôle de la configuration du carbone en position 5' sont des points clefs.

Après avoir présenté l'état de l'art concernant la transférase MraY et ses inhibiteurs, nautrels ou synthétiques, nous allons définir les objectifs des travaux de thèse.

[165] Sarabia, F.; Vivar-García, C.; García-Ruiz, C.; Martín-Ortiz, L.; Romero-Carrasco, A. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1328–1339.

III Objectifs

Les objectifs qui m'ont été confiés sont :

La mise au point d'une voie de synthèse permettant l'accès à des inhibiteurs et à des outils moléculaires pour l'étude de la transférase bactérienne MraY

En prenant en compte les informations concernant l'importance du squelette **aminoribosyluridine** et la configuration de son carbone **5'** pour l'activité biologique, l'objectif est de développer une voie de synthèse efficace à des dérivés d'aminoribosyluridine aisément fonctionnalisables en C5' (Figure 45). La diversité structurale sera introduite sur cette position *via* des espaceurs de structure triazole, obtenus par cycloaddition 1,3 dipolaire. Cette réaction présente l'avantage de s'effectuer le plus souvent avec de bons rendements et tolère une grande variété fonctionnelle. Les molécules cibles sont présentées ci-après (Figure 45).

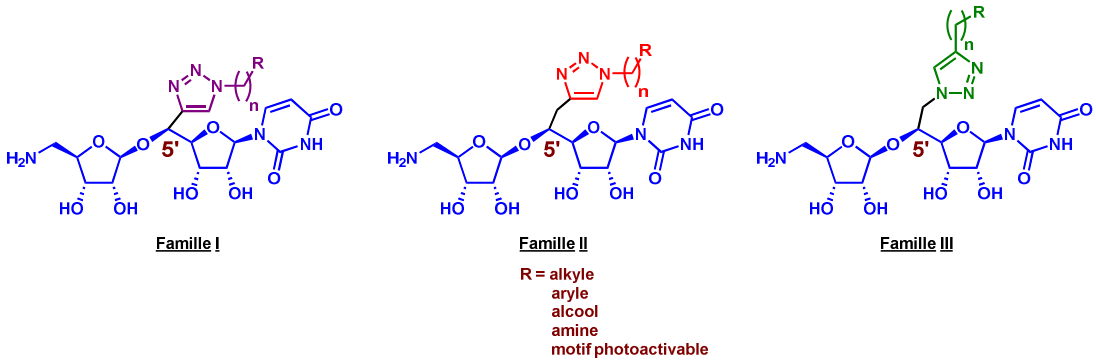


Figure 45 : Structures des molécules cibles

Les groupements R choisis sont de taille, complexité et polarité variées et permettront des études de relation structure-activité au sein des familles d'inhibiteurs préparées. En particulier, l'introduction de groupements photoactivables sera également réalisée dans l'objectif d'obtenir des sondes pour l'étude du site actif de MraY.

De plus, de manière à étudier l'influence éventuelle de la flexibilité des molécules visées sur l'activité biologique, l'espaceur triazole, sera soit directement introduit en position 5' du squelette aminoribosyluridine (famille I - chapitre 2), soit fixé en cette position par un groupement méthylène supplémentaire (familles II et III - chapitre 3).

L'activité biologique de ces molécules sera évaluée, sur la transférase MraY purifiée, par le Dr. A. Bouhss (Laboratoire des Enveloppes Bactériennes et Antibiotiques, UMR 8619, CNRS, Université Paris-Sud) et sur différentes souches bactériennes par le Dr Ana Amoroso (*Centre for Protein Engineering*, Université de Liège). Les résultats de ces tests seront analysés dans le chapitre 4.

La synthèse de dérivés d'aminoribosyluridine convenablement protégés, synthons clefs pour l'obtention de composés multivalents, dont la synthèse a été développée en collaboration avec le groupe du Dr S. Gouin (Université des sciences et techniques de Nantes)

sera présentée dans le chapitre 5. L'évaluation de l'activité biologique des inhibiteurs multivalents résultants sera aussi présentée dans ce chapitre. Enfin, nous détaillerons également un essai de photoactivation des sondes photoactivables que nous avons synthétisées, en collaboration avec le Dr A. Bouhss.

Chapitre 2

CHAPITRE 2 : Synthèse de nouveaux analogues d'inhibiteurs naturels de MraY : les dérivés 5'-triazole-aminoribosyluridine (famille I)

I Rétrosynthèse

La rétrosynthèse envisagée (Figure 46) pour accéder aux composés (I) repose sur une réaction de cyclo-addition 1,3 dipolaire mettant en jeu divers azotures et un alcyne vrai **A**, issu du couplage des intermédiaires **B** et **C** par glycosylation.

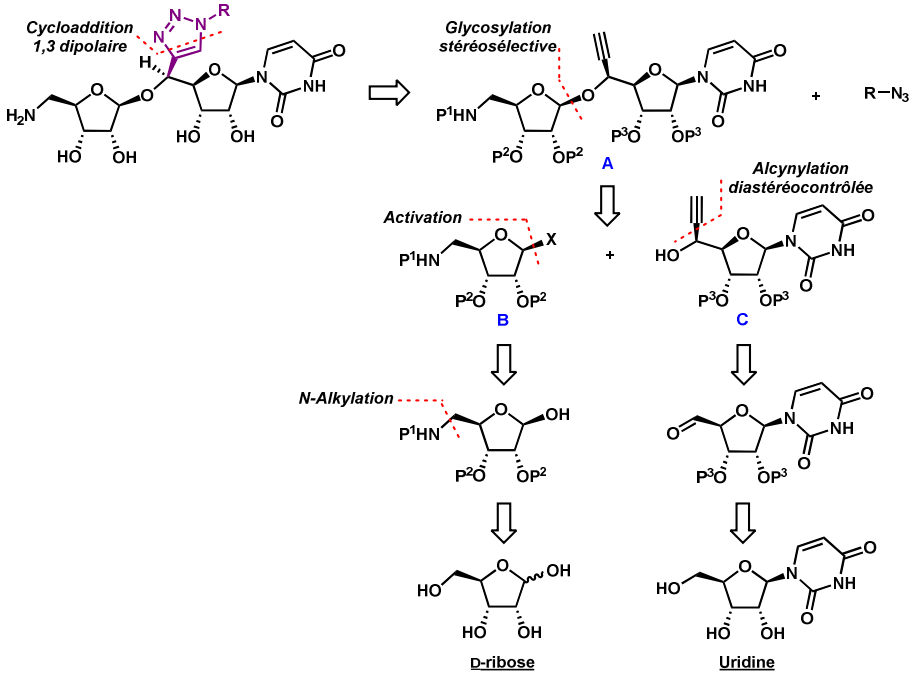


Figure 46 : Rétrosynthèse envisagée pour les molécules de la famille I

Ces deux synthons, convenablement protégés, résulteraient du D-ribose et de l'uridine, deux molécules disponibles. L'intermédiaire **B** serait obtenu par activation de la position anomérique d'un dérivé du D-ribose dont l'amine en position 5 serait introduite *via* une réaction de *N*-alkylation sur le D-ribose convenablement protégé. L'intermédiaire **C** serait synthétisé par addition diastéréocontrôlée d'un anion alcynure sur l'aldéhyde formé par oxydation de l'uridine dont les fonctions alcool secondaire auront été préalablement protégées.

Cette stratégie présente l'avantage d'apporter la diversité structurale en fin de synthèse grâce à des azotures de structure variés, disponibles dans le commerce ou facilement accessibles.

Nous allons examiner successivement la synthèse des intermédiaires clefs **B**, **C** puis **A**. Nous commencerons par exposer quelques généralités sur les donneurs de glycosyle justifiant la voie de synthèse retenue pour accéder à l'intermédiaire **B**.

II Généralités sur les donneurs de glycosyle et synthèse de l'intermédiaire B

A) Généralités sur les glycosides, méthodes de formation de liaisons glycosidiques

Les liaisons glycosidiques sont des liaisons covalentes entre la partie hémiacétal d'un sucre et un autre atome (C, N, O, S). Lorsque cet atome est substitué par un autre sucre on parle alors de C, N, O, ou S glycosides. Selon leur stabilité thermodynamique, les glycosides peuvent adopter plusieurs conformations majoritairement cycliques. Dans la nature, ce sont les cycles à 5 (furanosides) ou à 6 (pyranosides) qui sont les plus représentés. Le carbone impliqué dans la liaison glycosidique est appelé carbone anomérique. Selon sa stéréochimie, le préfixe α ou β précède alors le nom du sucre (Figure 47). De par l'information structurale qu'ils véhiculent, les sucres sont impliqués dans de nombreux processus biologiques.

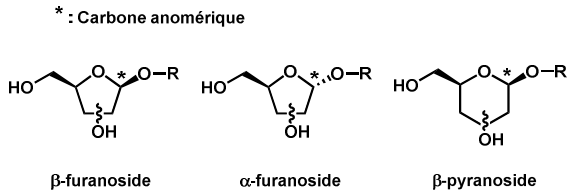


Figure 47 : Structures d'un β-furanoside, α-furanoside et β-pyranoside

Dans le cas qui nous intéresse, l'objectif est de former une liaison glycosidique entre un donneur de glycosyle **B** et un accepteur de glycosyle **C** pour fournir un β-furanoside d'alcynyluridinyle **A** (Figure 48).

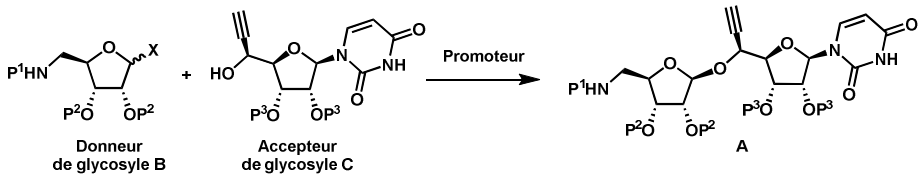


Figure 48 : Motif β-furanoside présent dans le squelette aminoribosyluridine d'intérêt

De nombreuses méthodes de formation de liaisons glycosidiques sont déjà décrites dans la littérature[166]. Cependant, quelle que soit la méthode de glycosylation, le principe reste le même : la liaison se forme entre un donneur de glycosyle électrophile et un accepteur de glycosyle nucléophile sous l'action d'un promoteur de glycosylation.

Bien que cela ne soit pas toujours le cas, le mécanisme de la réaction passe le plus souvent par la formation d'un ion oxocarbénium. L'accepteur de glycosyle (le nucléophile) s'additionne alors sur l'atome de carbone de l'oxocarbénium[167] (Figure 49).

---

[166] Jung, K.; Muller, M.; Schmidt, R. R. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4423-4442.
[167] Hanessian, S.; Lou, B. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4443–4464.

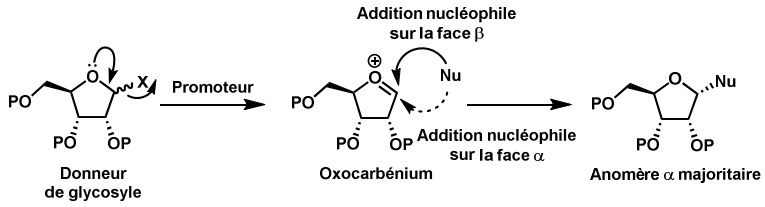


Figure 49 : Mécanisme général d'une réaction de glycosylation.

Du fait de l'effet anomère, le produit de stéréochimie α est très souvent majoritaire même si cet effet est moins important en série furanose qu'en série pyranose[168], notamment en raison de la plus grande flexibilité des cycles à 5 par rapport à celle des cycles à 6.

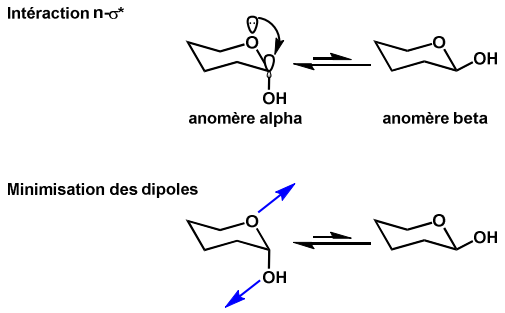


Figure 50 : Illustration de l'effet anomère

L'effet anomère s'explique par l'hyperconjugaison de l'orbitale non-liante de l'oxygène impliqué dans le cycle avec l'orbitale anti-liante $\sigma^*_{C\text{-}OH}$ ainsi que par la minimisation des moments dipolaires de l'anomère alpha par rapport au beta.

D'autre part, la stéréochimie de la réaction est influencée par le promoteur de glycosylation, le groupement activateur X de la position anomérique et les groupements protecteurs éventuellement présents sur les partenaires de la réaction, le choix du promoteur de glycosylation étant étroitement lié à celui du groupement activant la position anomérique.

Dans notre cas, les conditions réactionnelles devront être compatibles avec les fonctions présentes sur l'intermédiaire **C** et conduire à une bonne sélectivité en faveur de l'anomère β. En effet, l'alcool propargylique **C** contient des sites réactifs notamment vis-à-vis d'agents alkylants, d'acides forts, de radicaux ou de l'hydrogénation (Figure 51).

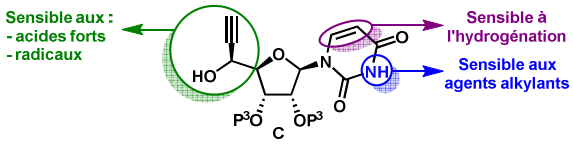


Figure 51 : Restrictions imposées par la stabilité chimique de C pour la réaction de glycosylation

Compte tenu de ces contraintes, et dans le but de choisir les conditions de glycosylations les plus appropriées, nous allons maintenant nous intéresser aux différents groupements activateurs de la position anomérique et aux promoteurs de glycosylations les plus courants, en se concentrant sur les dérivés du ribose.

---

[168] Lowary, T. L. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7*, 749-756.

1) Groupements activateurs de la position anomérique et promoteurs de la réaction de glycosylation

La méthode de glycosylation la plus ancienne est la **méthode de Fisher**[169] qui met en jeu l'hémiacétal libre du sucre en présence d'un alcool comme nucléophile et d'un acide comme catalyseur (Schéma 33). Cette méthode nécessite toutefois des conditions acides drastiques incompatibles avec la synthèse de molécules complexes.

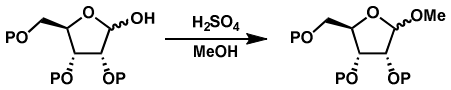


Schéma 33 : Méthode de glycosylation de Fisher

Des méthodes plus douces impliquant l'activation de la position anomérique du donneur de glycosyle et l'utilisation d'un promoteur ont donc été développées (Figure 52).

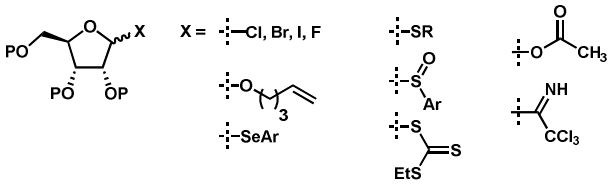


Figure 52 : Quelques groupements activateurs de la position anomérique

Les glycosides peuvent principalement être activés sous forme :

- **D'halogénures de glycosyle (Cl, Br, I, F)** : ce sont les premiers groupements utilisés pour activer la position anomérique des sucres. Ils ont été développés par Koenigs et Knorr[170], donnant ainsi leur nom à cette méthode de glycosylation. Les procédures utilisées pour leur synthèse sont souvent contraignantes et requièrent notamment l'utilisation de chlorure d'hydrogène gazeux, d'acide bromhydrique ou d'halogénures de triméthylsilyle. A l'exception des fluorures[171,172], les halogénures obtenus sont souvent assez peu stables[173]. De nombreuses conditions ont été développées pour promouvoir les réactions de glycosylation impliquant ces halogénures de ribosyle[174]. Parmi, celles-ci on peut notamment citer les sels d'argents (AgOTf, Ag_2O, $AgClO_4$...) ou les sels de mercure HgX_2 (X = Br, Cl, I). Des acides de Lewis tels que $BF_3 \cdot Et_2O$ ou des sels d'étain ($SnCl_4$, ou $Sn(OTf)_2$) sont également recensés[174]. En raison de l'instabilité des bromures et chlorures de glycosyle, ils ont été écartés.

- **De 4-penténylglycoside** (Figure 52)[175] : il s'agit d'un acétal mixte de l'alcool 4-pentylènique et son utilisation requiert la présence d'un électrophile ou d'un acide fort en quantité catalytique lors des réactions de glycosylation. La double liaison réagit

---

[169] Fisher, E.; Fisher, H. *Chem. Ber.* **1910**, *43*, 2521.
[170] Koenigs, W.; Knorr, E. *Chem. Ber.* **1901,** *34*, 957.
[171] Pour une revue sur les réactions impliquant ces espèces voir :Toshima, K. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 15-26.
[172] Mukaiyama, T.; Hashimoto, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **1983**, 935-938.
[173] Ginisty, N. Thèse, Université Paris Descartes, **2005**.
[174] Toshima, K.; Tatsuta, K. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503–1531.
[175] Fraser-Reid, B.; Merritt, J. R.; Handlon, A. L.; Andrews, C. W. *Pure & Appl. Chern.* **1993**, *65*, 779-786.

avec ce dernier pour former un carbocation, qui conduit après réarrangement à un oxonium. Ce dernier évolue ensuite vers l'oxocarbénium sur lequel s'additionne l'accepteur de glycosyle (Schéma 34).

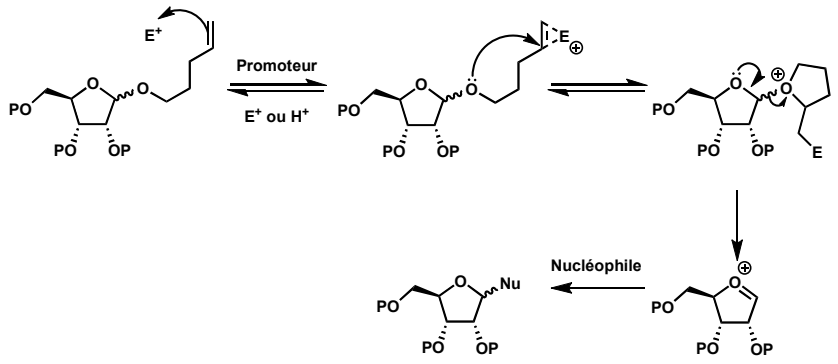


Schéma 34 : Mécanisme de glycosylation avec un groupement néopentyle

L'électrophile utilisé est souvent le *N*-iodo, le *N*-bromosuccinimide ou encore l'acide triflique.

Les réactions impliquant les 4-penténylglycoside sont souvent lentes[175]. Nous ne l'avons pas retenu.

- **De séléno**[176]**, thio**[177]**, sulfinylglycoside**[178] ou **xantate de glycosyle** (Figure 52)[179] : Toutes les réactions de glycosylation qui impliquent ces donneurs de glycosyle utilisent un agent alkylant ou un électrophile pour activer l'hétéroatome (sélénium ou soufre) présent sur la position anomérique et la rendre ainsi très électrophile. L'accepteur de glycosyle peut alors attaquer cette position après départ du groupement activant. Dans ces cas, l'oxocarbénium intermédiaire est formé par activation du groupe présent par un agent d'halogénation tel que le *N*-iodosuccinimide, par un acide tel que l'acide triflique ou encore par un agent alkylant (iodure de méthyle, triflate de méthyle). L'exemple du thioglycoside est donné ci-dessous (Schéma 35).

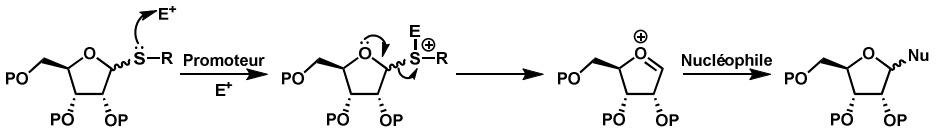


Schéma 35 : Mécanisme de glycosylation impliquant un thioglycoside

Ces conditions ne sont pas applicables à notre synthèse, les agents alkylants pouvant notamment réagir avec le cycle uracile de l'intermédiraire **C**, le modifiant de manière irréversible.

---

[176] Mehta, S.; Pinto, B. M. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3269–3276.
[177] Fügedi, P.; Garegg, P. J.; Lönn, H.; Norberg, T. *Glycoconjugate J.* **1987**, *4*, 97–108.
[178] Kahne, D.; Walker, S.; Cheng, Y.; Van Engen, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6881-6882.
[179] Marra, A.; Gauffeny, F.; Sinaÿ, P. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 5149–5160.

- **D'acétate de glycosyle** (Figure 52)[180]: ces derniers ont été développés par Helferish et coll. L'acide de Lewis utilisé pour promouvoir la réaction de glycosylation peut être le tétrachlorure d'étain, très toxique, le triflate de triméthylsilyle ou le chlorure de fer (Schéma 37)[181].

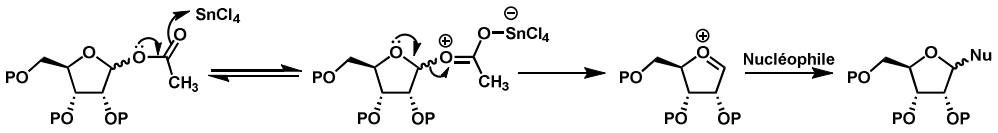


Schéma 36 : Glycosylation selon la méthode de Helferish et coll.

Une telle méthode présente l'avantage de pouvoir utiliser directement la grande variété de sucres peracétylés commerciaux. En outre, l'utilisation de donneurs de glycosyle peracétylés permet de bénéficier de l'assistance anchimérique de l'acétate en position 2 du sucre qui piège l'oxocarbénium intermédiaire pour conduire à un acétoxonium cyclique (Schéma 37).

La formation de l'acétoxonium contraint le nucléophile à attaquer en anti du cycle par un mécanisme SN_2. Cela induit une sélectivité totale, lors de l'addition nucléophile, en faveur d'une liaison glycosidique 1,2 trans.

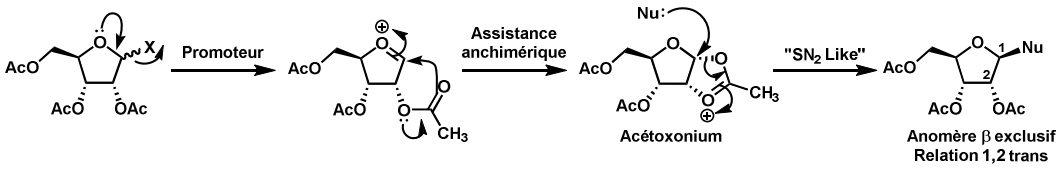


Schéma 37 : Assistance anchimérique observée avec les groupements 2-*O*-acyle

- **De trichloroacétimidate de glycosyle**[182] : leur utilisation présente de nombreux avantages comme la stabilité ou la possibilité d'introduction en fin de synthèse sur des molécules élaborées. De plus, les réactions de glycosylation dans lesquels ils sont impliqués utilisent des promoteurs tels que l'éthérate de trifluorure de bore, le dichlorure d'étain ou encore le triflate d'argent qui sont compatibles avec la réactivité de ***C***.

- **De diazéridine,**[183] **d'époxyde anomérique,**[184] **de glycal**[185] : ces groupements activateurs sont utilisés de façon plus marginale, notamment en raison de la difficulté à les introduire.

En prenant en compte les avantages et les inconvénients des différentes méthodes de glycosylation exposées, les donneurs de glycosyle compatibles avec les fonctions chimiques

---

[180] Lemieux, R. U.; Shyluk, N. P. *Can. J. Chem.* **1953**, *31*, 528.
[181] (a) Hanessian, S.; Banoub, J. *Carbohydr. Res.***1977**, *59*, 261, (b) Banoub, J.; Bundle, D. H. *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 2085, (c) Hanessian, S.; Banoub, J.;*Methods Carbohydr. Chem.* **1980**, *8*, 237-251.
[182] (a) Schmidt, R. R.; Michel, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 731–732, (b) Zhu, X. M.; Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1900-1934.
[183] Vasella, A. *Pure & Appl. Chem.*, **1991**, *63*, 507-518.
[184] Halcomb, R. L.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6661-6666.
[185] Lemieux, R. U.; Levine, S. *Can. J. Chem.* **1964**, *42*, 1473.

présentes sur l'intermédiaire **C** sont **le fluorure et le trichloroacétimidate de glycosyle** ou encore le **glycosyle peracétylé 103** (Figure 53).

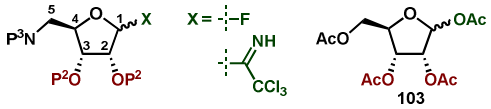


Figure 53 : Groupements retenus pour activer la position anomérique de B

Nous allons maintenant nous intéresser au choix des groupements protecteurs de l'intermédiaire **B**.

2) *Choix des groupements protecteurs et du groupe activateur en position anomérique*

Si l'utilisation du ribosyle peracétylé commercial présenterait l'avantage d'une sélectivité β totale lors de la réaction de glycosylation, elle nécessiterait des manipulations de groupements protecteurs non conventionnelles afin d'introduire l'amine en position 5 notamment.

En revanche, l'activation de la position anomérique sous forme de fluorure pourrait être effectuée sur un intermédiaire, dans lequel l'amine masquée serait déjà présente.

Matsuda et coll. ont déjà montré l'intérêt d'utiliser le fluorure comme groupement activateur de la position anomérique lors de la synthèse du dérivé **66** (cf chapitre I). De plus, ils ont également prouvé qu'augmenter l'encombrement stérique de la face α du ribose par un acétal très volumineux tel que l'isopentylidène permettait de promouvoir la glycosylation sur la face β en présence d'éthérate de trifluorure de bore. La sélectivité β obtenue est presque totale (β/α = 24/1) lorsque ce groupe protecteur est utilisé pour les fonctions alcool secondaire (Tableau 1).

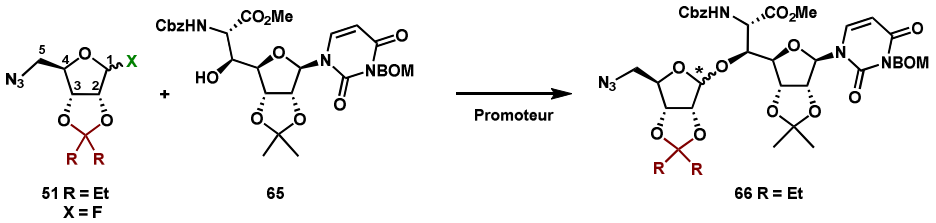


Tableau 1 : Conditions de glycosylation d'après Matsuda et coll.

Entrée	X	R	Promoteur	Rdt (%)	Ratio β/α
1	NH, CCl3	Me	TfOH	79	1,1/1
2	F	Me	$BF_3.Et_2O$	72	2,8/1
3	**F**	**Et**	**$BF_3.Et_2O$**	**80**	**24/1**

Pour ces raisons, nous avons privilégié le choix d'un fluorure en position anomérique et du groupement isopentylidène pour les fonctions alcool du diol en position 2,3 du ribose. Afin de ne pas ajouter d'étapes de déprotection supplémentaires en fin de synthèse, nous

avons préféré, dans un premier temps, utiliser exclusivement des groupements protecteurs acidolabiles. Nous avons donc tout d'abord choisi de protéger l'amine en position 5 sous forme de carbamate de tertio-butyle qui présente l'avantage d'être compatible avec la réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre. Cette dernière exclut en effet le choix du groupement azoture en position 5 (Figure 54).

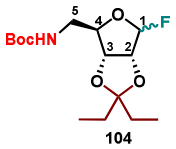


Figure 54 : Structure envisagée pour l'intermédiraire B

La partie suivante traitera des résultats obtenus concernant la synthèse de l'intermédiaire **B**.

B) Résultats : Synthèse du ribose fluoré B

1) Protection des fonctions alcools en position 2,3

Le ribose commercial a tout d'abord été protégé sous forme d'isopentylidène[186] en utilisant la 3-pentanone dans le diméthylformamide à température ambiante et en présence d'acide sulfurique comme catalyseur (Schéma 38).

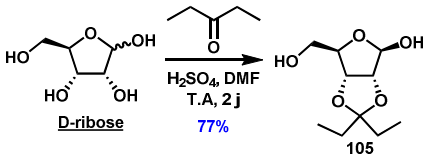


Schéma 38 : Protection des positions 2,3 du ribose

Dans ces conditions, l'isopentylidène **105** a été synthétisé avec un rendement de 77% ($\beta/\alpha > 9$). Bien qu'il ne soit pas nécessaire de séparer les deux anomères, l'anomère β, très majoritaire, peut facilement être isolé de l'anomère α. Dans la suite de la synthèse, nous ne représenterons que l'anomère β.

2) Introduction d'une fonction amine masquée en position 5

a) Amine protégée sous forme de carbamate de *tert*-butyle

L'introduction de l'amine sous forme de carbamate a été envisagée par la séquence réactionnelle suivante :

- activation de l'alcool en position 5 ;
- substitution de cet alcool activé par un ion azoture ;
- réduction de l'azoture et acylation de l'amine primaire résultante en carbamate de *tert*-butyle (Schéma 39).

[186] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1854-1856.

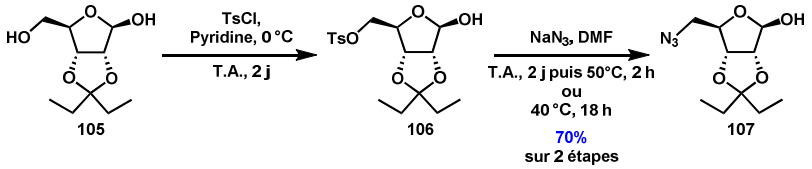


Schéma 39 : Activation de l'alcool en position 5 et substitution par l'azoture de sodium

L'alcool en position 5 a d'abord été activé sous forme de tosylate en présence de chlorure de tosyle dans la pyridine à température ambiante pendant deux jours. Le dérivé tosylé **106** a été obtenu et utilisé sans purification.

Le déplacement du tosylate par les ions azotures a ensuite été réalisé dans les conditions mise au point par Matsuda et coll.[150] : dans le DMF à température ambiante pendant deux jours. Cependant, dans nos mains, un chauffage à 50 °C pendant deux heures a été nécessaire pour achever la réaction et permettre l'obtention de **107** avec un rendement de 69% sur deux étapes. La durée de la réaction peut être abaissée à 18 h si le milieu est chauffé pendant cette durée à 40 °C. L'azoture **107** est alors obtenu avec un rendement comparable de 70% dans ces conditions.

La réduction de l'azoture en amine a été conduite dans les conditions de Staudinger, dans un mélange THF/eau (15/1), en présence de triphénylphosphine comme réducteur (Schéma 40).

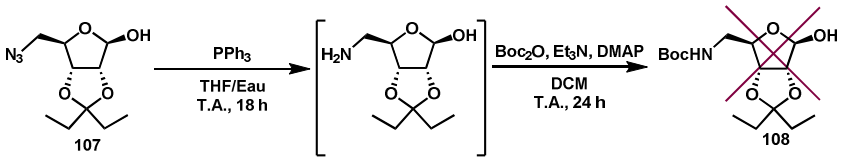


Schéma 40 : Protection de l'amine sous forme de carbamate

L'analyse par RMN du brut réactionnel ayant montré la disparition de l'azoture **107**, le mélange a ensuite été traité par le pyrocarbonate de *tert*-butyle, en présence de 2,4-diméthylaminopyridine comme catalyseur et de triéthylamine comme base, mais ces conditions ont conduit à un mélange complexe et n'ont pas permis d'isoler le produit souhaité **108**. Nous avons alors envisagé de changer le groupement protecteur de l'amine en position 5. Le phtalimide a été choisi car il est compatible avec les conditions de la cycloaddition 1,3-dipolaire et peut être aisément introduit notamment à partir d'un alcool activé.

b) Introduction de l'amine sous forme de phtalimide

Pour réaliser l'introduction de l'amine masquée sous forme de phtalimide, l'alcool de la position 5 du dérivé **105** a été activé sous forme de tosylate puis traité par le phtalimidure de potassium dans le DMF, à température ambiante (Schéma 41).

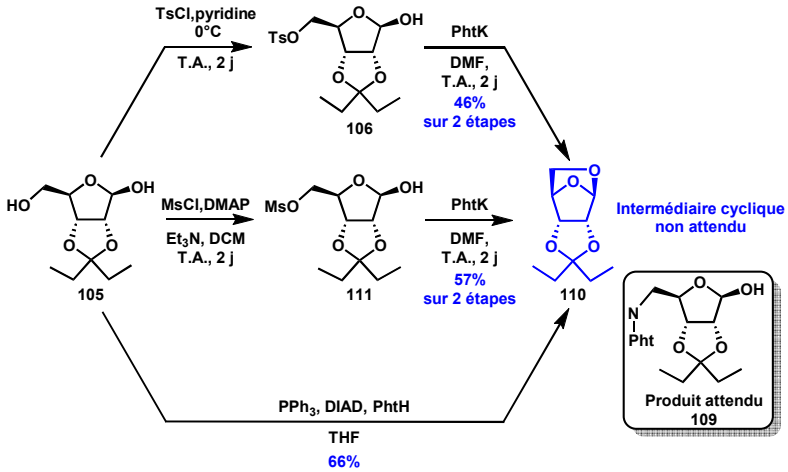


Schéma 41 : Tentatives d'introduction d'un groupement phtalimide en position 5

Ces conditions réactionnelles n'ont pas mené à la formation du composé attendu **109** mais ont exclusivement conduit au produit cyclique ponté **110**, obtenu avec un rendement de 46% à partir de **105**.

Par ailleurs :

- L'utilisation du dérivé mésylé **111** synthétisé à partir de l'isopentylidène **105** par action du chlorure de mésyle, en présence de triétylamine comme base et de diméthylaminopyridine comme catalyseur, dans le dichlorométhane suivi de la substitution du mésylate a conduit exclusivement à la formation du produit cyclique ponté **110** avec un rendement de 57% sur deux étapes;
- La réaction de Mitsunobu directement réalisée sur l'isopentylidène **105** en présence de triphénylphosphine, de phtalimide et d'*azo*-dicarboxylate de diisopropyle dans le tétrahydrofurane a abouti au même produit **110** avec un rendement de 66%.

La structure du composé **110** a été validée par l'examen des corrélations RMN proton-carbone courte (HSQC) et longue (HMBC) distance ainsi que par effet Overhauser nucléaire (nOe) entre les protons 1 et 4 (Figure 55).

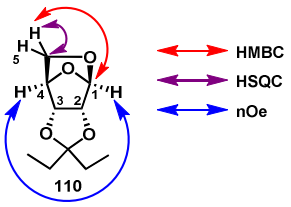


Figure 55 : Corrélations permettant la confirmation de la structure de X

Par ailleurs, le spectre de masse obtenu pour **110** est en accord avec la structure proposée.

La formation du cycle ponté **110**, qui n'est pas observée avec l'utilisation d'azoture de sodium sur le dérivé tosylé **106**, peut s'expliquer par la substitution nucléophile intramoléculaire de l'alcool activé en position 5 par le groupement hydroxyle de la position anomérique sous l'action d'une base (Figure 56).

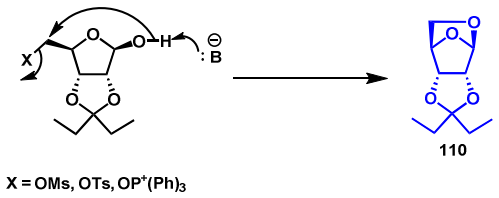


Figure 56 : Mécanisme proposé pour la formation de X

En effet, l'anion phtalimidure engendré lors de la réaction de Mitsunobu ou présent avec l'utilisation du phtalimidure de potassium est une base suffisamment forte (pKa PhtNH/PhtN$^-$= 8,3) pour réagir de la sorte. De plus, cet espèce est moins nucléophile que l'ion azoture a cause de la conjugaison du doublet libre de l'azote avec l'imide. Au contraire, l'ion azoture est une espèce moins basique (pKa HN_3/N_3^- = 4,3) et plus nucléophile. La cyclisation est également constatée lorsque le carbonate de potassium est utilisé directement comme base.

Pour éviter le comportement nucléophile de l'hydroxyle en position anomérique, celle-ci doit donc être protégée transitoirement.

3) Protection de la position anomérique

Parmi les groupements protecteurs de la position anomérique des sucres, les éthers sont les plus largement employés : ces derniers sont en effet faciles à introduire en début de synthèse dans les conditions de Fisher (cf paragraphe 2).

L'éther à utiliser est déterminant pour la suite de la synthèse, son introduction et sa déprotection devant s'effectuer dans des conditions compatibles avec les autres groupements présents sur la molécule, si possible en un minimum d'étapes, et être applicables sur une grande quantité de produit.

Parmi les éthers les plus utilisés on trouve notamment, les éthers de méthyle déprotégés en milieu acide fort, les éthers de benzyle clivés par hydrogénolyse ou les éthers d'allyle déprotégés en présence de métaux de transition.

Pour les raisons évoqués ci-dessus, l'éther d'allyle comme groupement protecteur transitoire de la position anomérique nous a semblé être le meilleur choix dans notre cas

La protection simultanée du diol en 2,3 sous forme d'isopentylidène et de la position anomérique sous forme d'éther d'allyle a été réalisée directement, en une seule étape, à partir du ribose dans un mélange (1/1) pentan-3-one/alcool allylique, en présence d'une quantité catalytique d'acide sulfurique, à 60°C pendant quatre heures, permettant d'isoler l'anomère β de l'alcool **112** avec un rendement de 77% (Schéma 42).

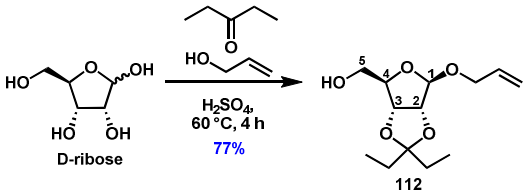


Schéma 42 : Protection du D-ribose en une seule étape

Ces réactions de cétalisation étant généralement soumises à un état d'équilibre, la réaction avance spontanément vers le composé thermodynamiquement le plus stable. Ainsi, seule la formation de l'anomère β est détectée. Outre le singulet à 5.13 ppm en RMN du proton caratéristique du proton anomérique, la configuration du composé **112** a également été confirmée par la présence d'un effet Overhauser nucléaire entre les protons 1 et 4 (NOESY).

4) Introduction de la fonction amine sur le dérivé protégé 112

Pour introduire l'amine masquée en position 5, la fonction alcool primaire de **112** a tout d'abord été activée sous forme de tosylate, puis le composé obtenu a été opposé au phtalimidure de potassium. Dans ces conditions, le composé **113** a été obtenu avec 64% de rendement sur deux étapes à partir de l'alcool **112** (Schéma 43).

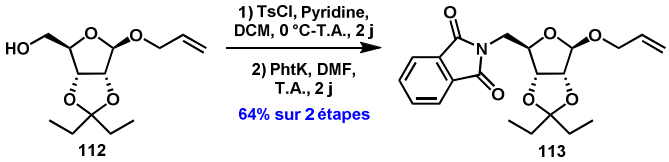


Schéma 43 : Introduction du phtalimide par substitution nucléophile sur le tosylate X

L'introduction de cette amine masquée en position 5 a également été réalisée en une étape dans les conditions de Mitsunobu à partir de l'isopentylidène **112** (Schéma 44).

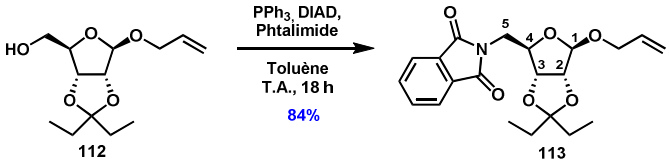


Schéma 44 : Introduction du phtalimide dans les conditions de Mistunobu

Cette réaction a permis d'accéder au composé **113** avec un rendement amélioré de 84%.

Pour permettre l'activation de la position anomérique sous forme de fluorure de glycosyle, l'éther d'allyle présent en position 1 a ensuite été déprotégé.

5) Déprotection de la position anomérique

Les éthers d'allyle sont généralement déprotégés dans des conditions relativement douces en présence d'un métal de transition, très souvent du palladium[187]. Ce métal permet la formation d'un complexe π-allylique de palladium qui, attaqué par un nucléophile, conduit à la libération de l'hydroxyle anomérique. Plusieurs conditions mettant en jeu divers dérivés du palladium ont été testées (Tableau 2).

[187] Vutukuri, D.R.; Bharathi, P.; Yu, Z.; Rajasekaran, K.; Tran, M.-H.; Thayumanavan, S. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1146-1149.

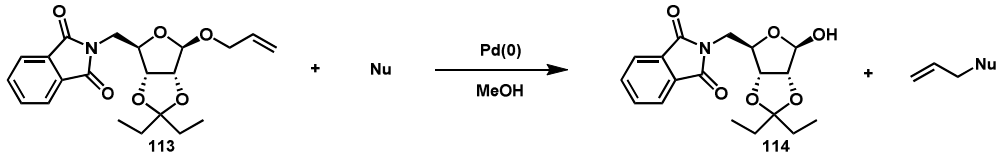


Tableau 2 : Tentatives de déprotection de l'éther d'allyle

Catalyseur (équiv.)	Température (°C)	Durée (h)	Additif (équiv.)	Résultat
$Pd(PPh_3)_4$ (0,01)	T.A.	18	K_2CO_3 (3)	Produit de départ
$Pd(PPh_3)_4$ (0,01)	Reflux	4	K_2CO_3 (3)	Dégradation
$PdCl_2(PPh_3)_2$ (0,5)	T.A.	18	CuCl (1,3)	Produit de départ
$PdCl_2(PPh_3)_2$ (0,5)	Reflux	18	CuCl (1,3)	Produit de départ
$Pd(PPh_3)_4$ (0,1)	T.A.	18	Dimédone (2)*	Produit de départ
$Pd(PPh_3)_4$ (0,1)	T.A.	18	DMBA (2)**	Produit de départ

*réaction effectuée dans le THF
**Acide diméthylbarbiturique

Lorsque le tétrakis(triphénylphosphine)palladium a été utilisé comme catalyseur en présence de trois équivalents de carbonate de potassium comme base, aucune réaction ne s'est produite à température ambiante et lorsque la réaction a été menée au reflux du méthanol, le milieu réactionnel s'est dégradé.

L'utilisation de palladium 0, généré *in situ* par réduction du complexe $PdCl_2(PPh_3)_2$ par du cuivre I[188] n'a pas permis la transformation du produit de départ, que cela soit à température ambiante ou au reflux du méthanol. Un autre essai a été effectué en présence de dimédone[189], nucléophile mou connu pour piéger les complexes π-allyliques, mais, là encore, seul le produit de départ a été retrouvé.

La dernière tentative employant un dérivé d'acide barbiturique[190] comme nucléophile plus mou que le méthanol a également conduit à ce résultat.

Une autre méthode met en jeu l'utilisation de nickel(II)[191], [192] en quantité catalytique (Schéma 45).

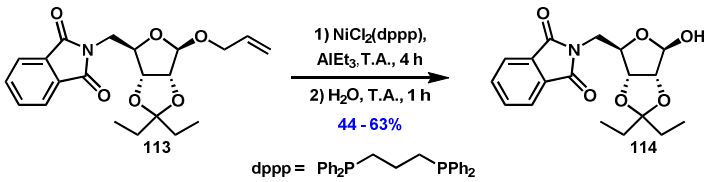


Schéma 45 : Déprotection au nickel en présence de phosphine

[188] Pichavant, L.; Guillermain, C.; Coqueret, X. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 2417-2421.
[189] Roush, W. R.; Sciotti, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7411-7419.
[190] Tsukamoto, H.; Suzuki, T.; Kondo, Y. *Synlett* **2007**, *2007*, 3131–3136.
[191] Taniguchi, T.; Ogasawara, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1136–1137.
[192] Taniguchi, T.; Ogasawara, K. *Chem. Commun.* **1998**, 1531-1532.

Ainsi le composé **113** a été placé en présence de dichlorure de nickel 1,3-bis-(diphenylphosphino)-propane et de triméthylaluminium à température ambiante pendant quatre heures puis le mélange a été hydrolysé à température ambiante pendant une heure. Dans ces conditions, le dérivé **114** a été isolé avec des rendements variant de 44 à 63% au cours de nos différents essais. Afin d'améliorer le rendement, une autre méthode de déprotection a été employée, utilisant l'osmium en quantité catalytique, en présence d'oxyde de *N*-méthylmorpholine et de periodate de sodium[193]. Dans ces conditions, le composé **114** subit tout d'abord une dihydroxylation de la double liaison puis une coupure oxydante du diol résultant. L'aldéhyde formé est en équilibre avec sa forme énol qui subit à son tour une dihydroxylation puis une coupure oxydante pour conduire à un formate qui est hydrolysé pour libérer la position anomérique.

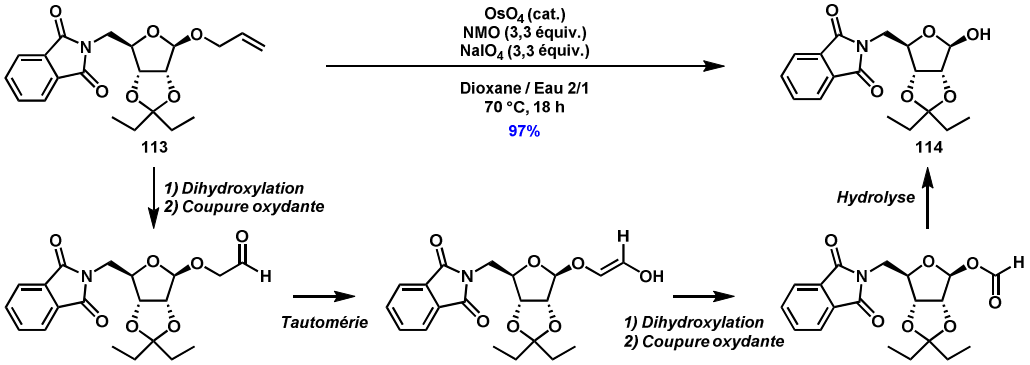


Schéma 46 : Déprotection par clivage oxydatif à l'osmium

L'éther d'allyle **113** a ainsi conduit au composé **114** avec un excellent rendement de 97%. Cette réaction a été effectuée avec succès jusqu'à une échelle de 5 grammes de produit.

Nous avons ensuite étudié l'activation de la position anomérique sous forme de fluorure.

6) *Fluoration de la position anomérique : accès à l'intermédiaire* B

L'activation de la position anomérique a été réalisée en présence de trifluorure de diéthylaminosulfure (DAST) dans le dichlorométhane à -30 °C pendant 15 minutes puis à température ambiante pendant 1 h 30.

Le DAST est un composé délivrant des ions fluorures nucléophiles, il est généralement utilisé pour transformer les alcools en fluoro-alcane ou les carbonyles en composé *gem*-difluoré.

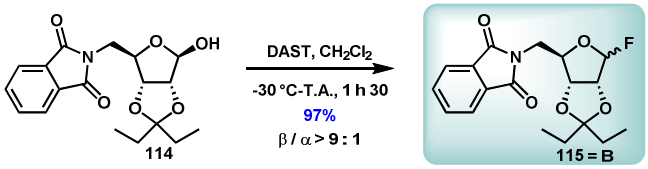


Schéma 47 : Synthèse de l'intermédiaire B

[193] Kitov, P.I.; Bundle, D.R. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2835-2838.

Dans ces conditions, le fluorure de glycosyle **115** (intermédiaire **B**) a été isolé avec un rendement quasi-quantitatif de 97% (β / α > 9).

Dans le cas présent, le passage à un ratio β/α différent de l'étape précédente indique une perte transitoire de la stéréochimie du carbone anomérique au cours de la réaction. Le mécanisme proposé pour la formation de **B** est le suivant.

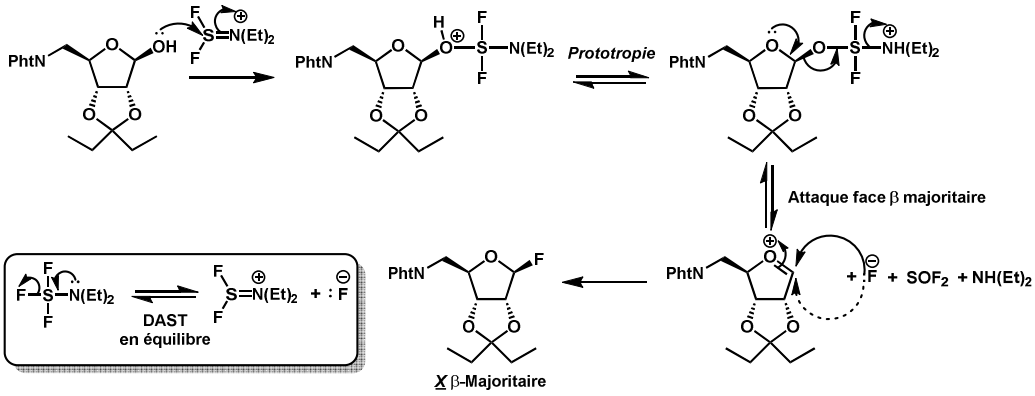


Figure 57 : Mécanisme proposé pour la formation de B

Après attaque nucléophile de l'hydroxyle anomérique sur l'atome de soufre de la forme ionique du DAST, il se forme un oxocarbénium. L'attaque ultérieure du fluorure libéré par le DAST sur la face la moins encombrée conduit à l'anomère β de façon majoritaire. La présence de l'atome de fluor sur la molécule est caractérisée par de grandes constantes de couplage $^{1}J_{H1\text{-}F}$ pouvant aller dans notre cas jusqu'à 63 Hertz (Figure 58).

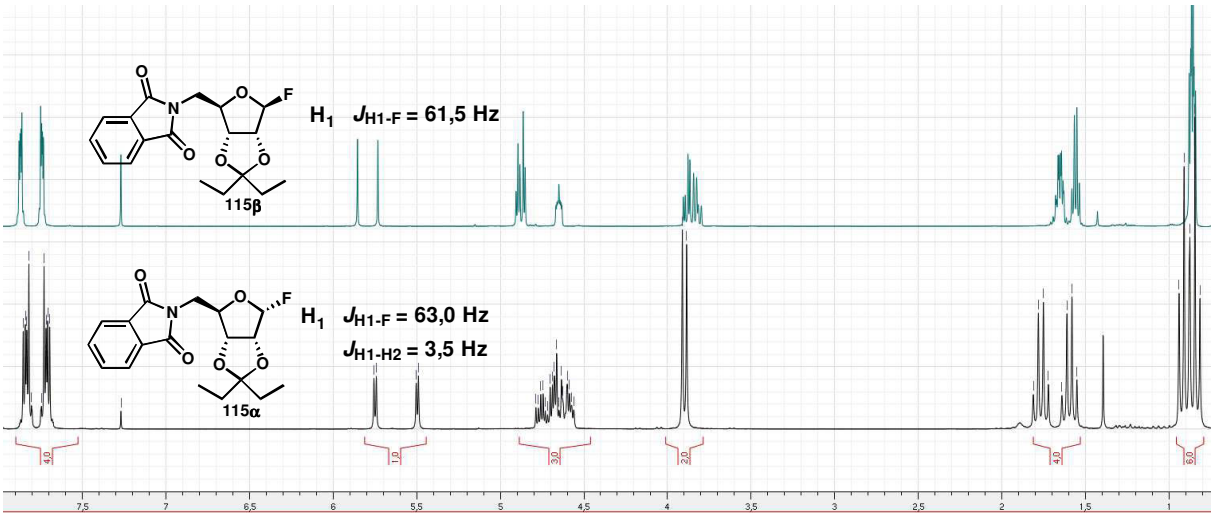


Figure 58 : Spectres RMN ^{1}H des fluorures de glycosyle 115β et 115α

La constante $^{3}J_{H_1\text{-}H_2}$ témoigne de la stéréochimie du cycle furanose. Ainsi, le composé **115α** présente une constante de couplage $^{3}J_{H_1\text{-}H_2}$ visible (3,5 Hz) tandis que l'anomère **115β** n'en possède pas.

Le synthon **B** a été ainsi préparé en quatre étapes partir du D-ribose commercial avec un bon rendement. Il a été montré que la synthèse pouvait être réalisée à l'échelle de dix grammes, fournissant une voie d'accès efficace à l'un des intermédiaires clé de la voie de synthèse proposée.

Cet intermédiaire en main, nous allons maintenant étudier la voie de synthèse du donneur de glycosyle **C** mettant en jeu l'alcynylation de l'aldéhyde provenant de l'uridine. Cette dernière ayant déjà été décrite par Vasella et coll., nous allons tout d'abord commencer par examiner son approche.

III Synthèse du dérivé 5'-éthynyl-Uracile C

A) Bibliographie : approche envisagée par Vasella et coll.

Dans le cadre d'études sur la synthèse d'analogues d'oligonucléotides, l'équipe de Vasella[194,195] a décrit l'addition d'alcynures de magnésium sur l'aldéhyde dérivé de l'uridine dont les fonctions alcool secondaire ont été préalablement protégées par un acétonide.

Divers alcynures ont été employés, notamment ceux des triméthylsilyl- et triéthylsilylacétylène (Schéma 48). Dans les deux cas, le diastéréoisomère **116a** de configuration (5'*R*) est obtenu majoritairement, mais avec un rapport diastéréoisomérique modeste de 2/1. En revanche, c'est seulement en utilisant le triéthylsilane comme groupe protecteur de l'acétylène que les auteurs sont parvenus, d'une part à séparer les deux diastéréoisomères **116a** et **116b** et d'autre part à transformer le diastéréoisomère minoritaire **116b** (5'*S*) en l'alcool **117a** par réaction de Mitsunobu.

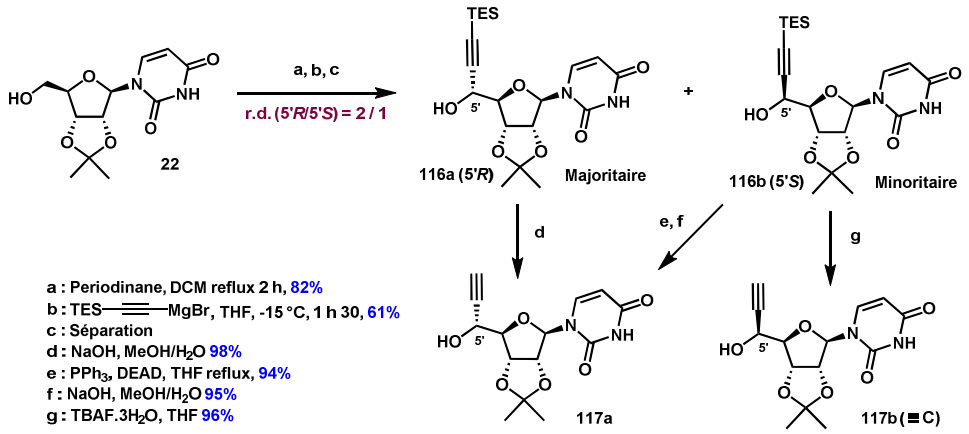


Schéma 48 : Approche de Vasella et coll.

Par ailleurs, les auteurs décrivent également l'inversion de configuration du composé 5'*R* en composé désiré 5'*S* avec un bon rendement. Ces configurations ont été déterminées par cristallographie aux rayons X (Figure 59).

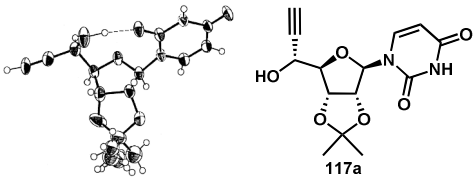


Figure 59 : Structure cristallographique de 117a (5'*R*) d'après Vasella et coll.

---

[194] Eppacher, S.; Solladié, N.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **2000**, *83*, 1311-1331.
[195] Zhang, X.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 2861–2917.

Il est à noter que, dans ce cas, le diastéréoisomère majoritaire **116a** (5'*R*) formé au cours de la réaction ne possède pas la configuration correspondant à celle de notre molécule cible **117b** (5'*S*).

La séquence d'oxydation-réduction des alcools propargyliques **116a-b** en cétone **118** a été également étudiée par l'équipe de Vasella et coll. (Schéma 49).

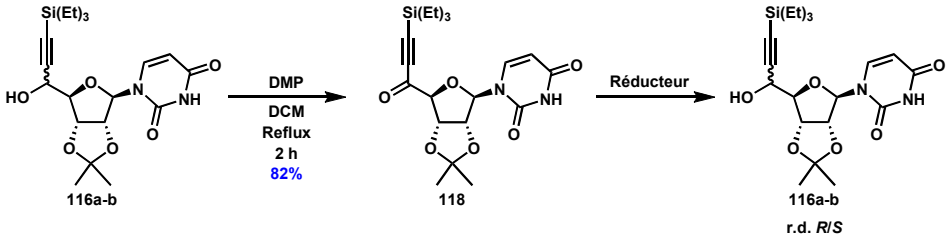


Schéma 49: Séquence d'oxydation-réduction des alcools 116a-b

Ces alcools sont d'abord oxydés en présence de periodinane de Dess-Martin (DMP) pour conduire à la cétone **118**.

Cette dernière a été ensuite réduite en utilisant comme réducteur le borohydrure de sodium, l'alpine-borane[196], ou le trihydrure de bore en présence d'oxazaborolidine de Corey[197] (CBS). Les résultats sont présentés ci-après (Tableau 3).

Tableau 3 : Réduction de la cétone 118

Entrée	Réducteur	r.d.[a] (*R*/*S*)
1	$NaBH_4$	
2	Alpine-Borane	< 2 : 1
3	BH_3-CBS	

[a] Déterminé par RMN du brut réactionnel

Quel que soit le réducteur utilisé, la diastéréosélectivité ne dépasse pas 2 : 1 en faveur du diastéréoisomère **116a** (5'*R*).

Grâce à cette stratégie Vasella et coll. ont synthétisé le diastéréoisomère **117a** (5'*R*) avec un rendement global de 38% sur trois étapes à partir de l'acétonide **22**. En revanche, le composé possédant la configuration souhaité **117b** (5'*S*) n'est obtenu avec cette voie de synthèse qu'avec un rendement global de 16% sur trois étapes à partir de l'acétonide **22**.

Ainsi, pour que cette voie de synthèse soit applicable à notre stratégie, nous avons donc cherché à l'optimiser. La partie suivante décrit les études que nous avons menées pour parvenir à une synthèse plus efficace de **C**.

[196] Midland, M. M.; Tramontano, A.; Kazubski, A.; Graham, R. S.; Tsai, D. J. S.; Cardin, D. B. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1371–1380.
[197] Corey, E. J.; Bakshi, R. K.; Shibata, S.; Chen, C. P.; Singh, V. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7925–7926.

B) Résultats : Application à la synthèse du dérivé 5'-*(S)*-éthynyl-uridine C

1) *Protection des fonctions alcool de l'uridine*

De manière à étudier l'influence des groupements protecteurs du diol en 2', 3' sur la réaction d'alcynylation, nous avons choisi de protéger ces positions en utilisant deux types de groupements protecteurs, faisant ainsi varier l'encombrement stérique de la molécule.

a) Sous forme d'acétonide **22**

Pour éviter la participation des fonctions alcool secondaire de l'uridine lors de la réaction de glycosylation elles ont été protégées sous forme d'acétonide (Schéma 50). Ce groupement protecteur cyclique encombre la face α de la molécule et peut permettre d'influencer la stéréosélectivité des réactions effectuées sur ce substrat.

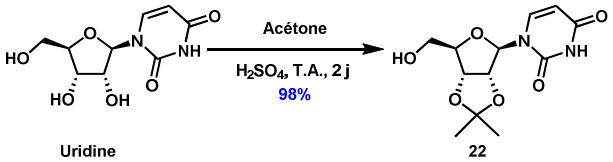


Schéma 50 : Protection de l'uridine sous forme d'acétonide 22

Ainsi, la protection de l'uridine commerciale a été effectuée dans l'acétone à température ambiante, en présence d'acide sulfurique comme catalyseur et a conduit au cétal **22** avec 98% de rendement.

b) Sous forme d'éther de *tert*-butyldiméthylsilyle **120**

Les alcools en positions 2', 3'ont également été protégées sous forme d'éther de silyle, groupement protecteur acyclique, qui permet de faire varier d'une autre manière l'encombrement de la face α de la molécule.

La réactivité des éthers de silyle dépend fortement de leur encombrement stérique. Nous nous sommes tournés vers l'éther de *tert*-butyldiméthylsilyle qui est suffisamment encombré pour être stable à la plupart des conditions devant être mises en jeu mais suffisamment réactif pour être formé à partir de deux alcools secondaires vicinaux.

La protection sélective des fonctions alcool secondaire de l'uridine nécessite deux étapes : la persilylation de l'uridine suivie la déprotection sélective de la fonction alcool primaire (Schéma 51).

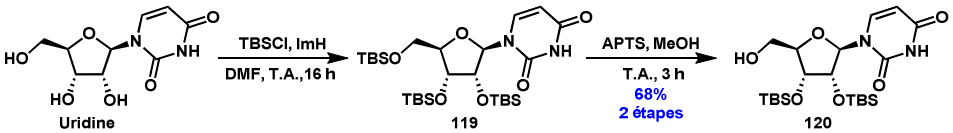


Schéma 51 : Séquence de préparation de l'alcool 120

Après persilylation des fonctions alcool de l'uridine en présence d'un excès de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle et d'imidazole comme base[198] pour conduire au dérivé

[198] Guerrini, A.; Varchi, G.; Battaglia, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6785–6795.

119, la fonction alcool primaire est libérée sélectivement en présence d'une quantité catalytique d'acide para-toluène sulfonique dans le méthanol[199]. De cette façon, l'alcool primaire **120** a été obtenu avec 68% de rendement sur deux étapes.

Les deux alcools **22** et **120** en main, leur oxydation a été étudiée de façon à introduire, par la suite, un groupement éthynyle en position 5'.

2) Oxydation des alcools 22 et 120 en aldéhyde

L'oxydation de l'alcool primaire **22** en aldéhyde a tout d'abord été envisagée dans les mêmes conditions que celles décrites par Vasella et coll.[194], en présence du periodinane de Dess-Martin (DMP)[200] comme oxydant. Toutefois, une procédure plus récente et plus efficace utilisée par Finney et coll.[201] rapporte la formation de ce même aldéhyde en présence d'acide iodoxybenzoïque (IBX) comme agent d'oxydation.

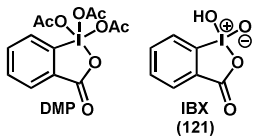


Figure 60 : Structure du DMP et de l'IBX

Il est à noter que l'IBX (**121**) offre des avantages par rapport au periodinane de Dess-Martin : Il est moins cher et plus facilement accessible que le DMP. Il est également beaucoup moins soluble que ce dernier dans les solvants organiques, ce qui permet son élimination par simple filtration à la fin de la réaction.

L'oxydation de l'alcool **22** a donc été éffectuée avec de l'IBX commercial à 45%. Cette tentative s'est révélée infructueuse car les stabilisants de l'IBX (acides benzoïque et isophtalique) ne peuvent être séparés de l'aldéhyde **122** en fin de réaction. En effet, cet aldéhyde se dégrade très rapidement sur gel de silice et ne peut donc pas être purifié. Par ailleurs, la présence de ces acides est incompatible avec le déroulement de la réaction suivante qui met en jeu un réactif organométallique.

L'IBX pur (**121**) a donc été synthétisé au laboratoire par oxydation de l'acide iodobenzoïque en présence d'oxone[202] (Schéma 52).

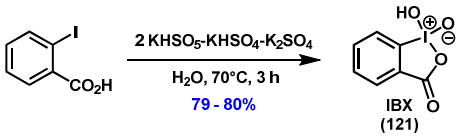


Schéma 52 : Synthèse de l'IBX réalisée durant ce travail

Cet IBX a été utilisé et l'aldéhyde **122**, bien qu'instable, a été obtenu quantitativement et très proprement (Schéma 53) après filtration sur célite et concentration sous pression réduite.

---

[199] Maturano, M.; Catana, D.-A.; Lavedan, P.; Tarrat, N.; Saffon, N.; Payrastre, C.; Escudier, J.-M. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 721–730.
[200] Dess, D. B.; Martin, J. C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155–4156.
[201] More, J.D. ; Finney, N.S. *Org. Lett.* **2002**, *4,* 3001-3003.
[202] Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538.

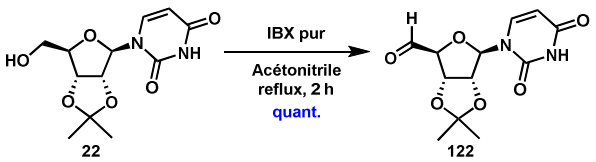


Schéma 53 : Oxydation de l'alcool 22 en aldéhyde 122 par l'IBX pur

L'analyse par RMN du produit brut a montré qu'il ne restait plus d'alcool **22** de départ et que l'aldéhyde était suffisamment pur pour être engagé dans l'étape d'alcynylation sans purification (Figure 61).

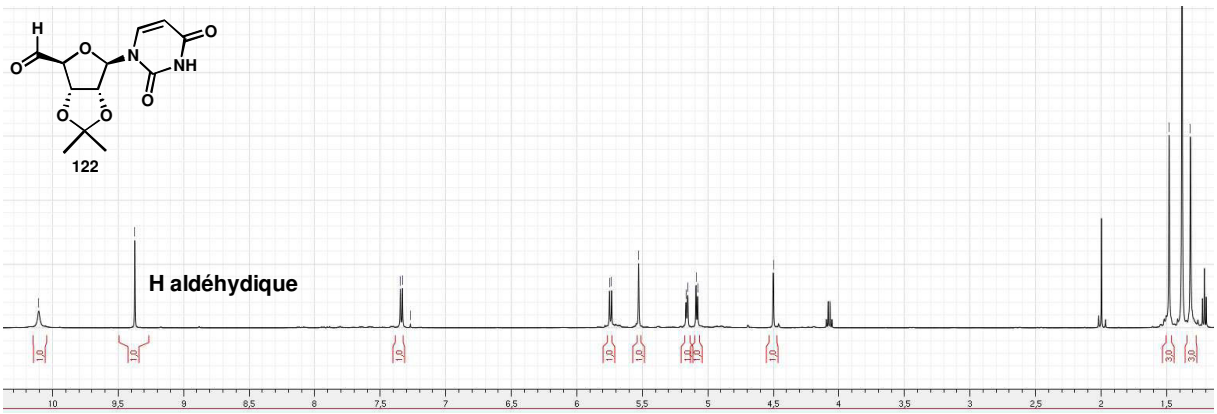


Figure 61 : Spectre RMN ^{1}H du brut réactionnel de l'aldéhyde 122

De façon analogue, l'oxydation de l'alcool **120** a été réalisée dans les mêmes conditions avec toutefois un temps de réaction plus court (Schéma 54).

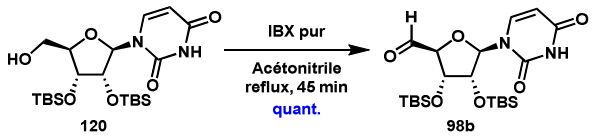


Schéma 54 : Oxydation de l'alcool 120 en aldéhyde 98b

En effet, lorsque le temps de réaction augmente, des produits de dégradations sont observés sur le spectre RMN ^{1}H du brut réactionnel (apparition de plusieurs signaux dans la zone aldéhydique et anomérique en RMN du proton, Figure 62).

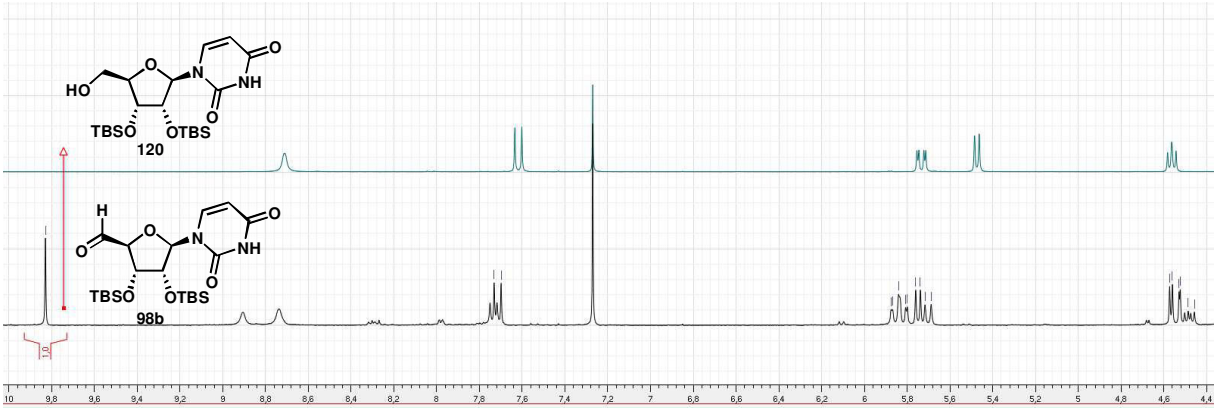


Figure 62 : Spectres RMN 1H de l'alcool 120 et du brut réactionnel de l'aldéhyde 98b à deux heures de réaction

La formation de l'hydrate de l'aldéhyde peut être une cause à l'apparition de ces signaux.

Ainsi, au bout de 45 minutes, l'aldéhyde **98b** est obtenu comme précédemment quantitativement et avec une pureté suffisante pour être engagé dans la réaction d'alcynylation suivante.

Ces deux aldéhydes en main, nous avons ensuite étudié la réaction d'alcynylation.

3) Alcynylation des aldéhydes 122 et 98b

a) Alcynylation de l'aldéhyde **122**

L'alcynylation de l'aldéhyde **122** a tout d'abord été reproduite dans les conditions rapportées par Vasella et coll. : par addition inverse d'une solution de l'aldéhyde **122** sur une solution de triéthylsilylacétylure de magnésium dans le THF à -15 °C (Schéma 55).

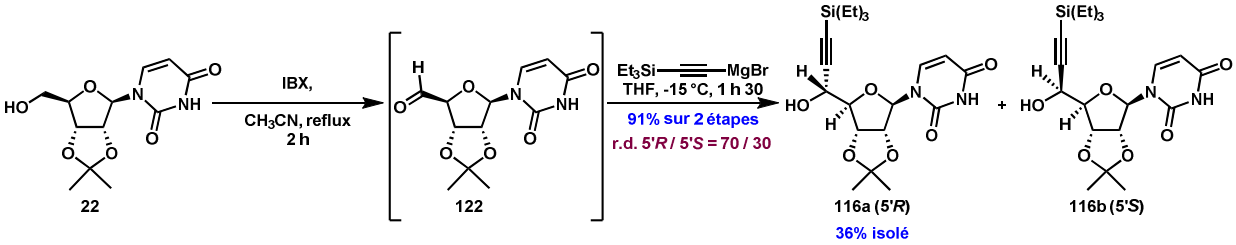


Schéma 55 : Synthèse des alcools propargyliques 116a (5'*R*) et 116b (5'*S*)

Dans notre cas, en utilisant ces conditions, les alcools diastéréoisomère **116a** (5'*R*) et **116b** (5'*S*) ont été obtenus avec un excellent rendement de 91% sur deux étapes, en partant de l'alcool **22** et avec un rapport diastéréoisomérique *R*/*S* de 70/30 comparable celui déjà décrit par Vasella et coll.[194].

Le diastéréoisomère majoritaire **116a** (5'*R*) a pu être isolé avec un rendement de 36% après une chromatographie sur gel de silice délicate. Toutefois, quelles que soient les tentatives, le diastéréoisomère minoritaire **116b** (5'*S*) désiré n'a pu être obtenu qu'en mélange avec le composé **116a** (5'*R*). La repurification de ce mélange a néanmoins permis d'obtenir d'avantage de composé **116a** (5'*R*).

Vasella et coll. ayant montré que la configuration de **116a** (5'*R*) pouvait être inversée en seulement deux étapes pour obtenir le composé désiré **117b** (5'*S*), deux solutions s'offrent à nous pour obtenir le diastéréoisomère 5'*S* de manière plus efficace :

- augmenter le rapport diastéréoisomérique de la réaction en faveur du diastéréoisomère **116a** (5'*R*), pour simplifier l'étape de chromatographie,
- inverser la sélectivité de la réaction de manière à obtenir majoritairement le composé **116b** (5'*S*).

Nous avons donc d'abord tenté d'améliorer le rapport diastéréoisomérique de la réaction d'alcynylation. Quelles que soient les conditions, de température, ou d'ordre

d'addition utilisées, elles n'améliorent pas le rapport diastéréoisomérique de la réaction par rapport aux conditions de référence.

En outre, l'utilisation d'espèces organozinciques comme le bis-(triméthylsilyléthynyl)-zinc ou l'addition d'acides de Lewis tel que le chlorure de cérium[203] n'augmente ni le rendement, ni le rapport diastéréoisomérique de la réaction. Le remplacement du réactif de Grignard par l'organolithien correspondant ou l'augmentation du nombre d'équivalents de l'espèce organométallique aboutissent, eux, à des mélanges complexes de produits parmi lesquels des produits d'additions 1,4 sur le cycle uracile. Le spectre de masse du produit est en accord avec cette hypothèse.

Dans tous les cas examinés, le rapport diastéréoisomérique de cette réaction ne dépasse pas 70/30 en faveur du diastéréoisomère de configuration 5'*R*. Cette diastéréosélectivité peut être expliquée par un modèle de Cram chélaté favorisant une attaque sur la face *Si* de l'aldéhyde. La formation de l'autre diastéréoisomère résulterait d'une attaque sur la face *Re*, face la moins encombrée en l'absence de chélation (Figure 63).

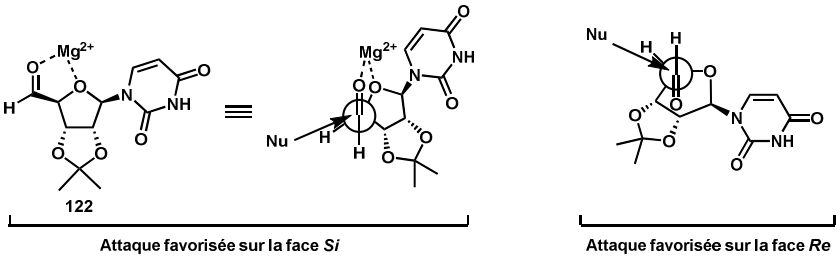


Figure 63 : Modèle expliquant la distéréosélectivité en faveur du composé 116a 5'R

Suite à ces observations, nous nous sommes alors intéressés à l'alcynylation de l'aldéhyde **98b** pour étudier l'effet des groupements protecteurs en position 2',3' sur cette réaction.

b) Alcynylation de l'aldéhyde **98b**

Dans un premier temps, la réaction d'alcynylation sur l'aldéhyde **98b** a été réalisée dans les mêmes conditions que pour l'aldéhyde **122** : en présence de triéthylsilylacétylure de magnésium, dans le tétrahydrofurane à – 15 °C (Schéma 56).

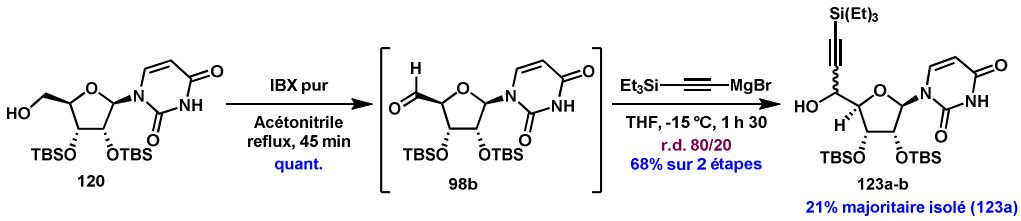


Schéma 56 : Alcynylation de l'aldéhyde 98b

Les alcools propargyliques **123a** et **123b** ont été obtenus avec un rendement combiné de 68% et un rapport diastéréoisomérique de 80/20 à partir de l'alcool primaire **120**. A

[203] Suzuki, M.; Mikura, Y.; Terashima, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 1531-1536.

nouveau, une étape délicate de chromatographie nous permet d'isoler le diastéréoisomère majoritaire **123a** formé au cours de la réaction avec 21% de rendement et, quel que soit l'éluant utilisé, le diastéréoisomère minoritaire **123b** a toujours été obtenu en mélange avec le composé **123a**. Ici encore, nos tentatives faisant varier la température ou l'ordre d'addition des réactifs n'a pas amélioré le rapport diastéréoisomérique en alcool **123**.

Disposant de l'alcool propargylique **116a** (5'*R*) pur, d'un mélange de **116a** (5'*R*) et **116b** (5'*S*), et de toutes les données relatives à leur configuration, une étude a alors été entreprise pour déterminer la configuration du diastéréoisomère majoritaire **123a**.

c) Attribution de la configuration de l'alcool propargylique 123a

Pour ce faire, nous avons procédé par corrélation chimique entre les composés **116a** (5'*R*) dont la structure a été établie sur la base de rayons X (cf paragraphe II-A) et **123a** en transformant ces deux molécules en un composé de structure commune pour pouvoir déterminer la configuration de **123a**.

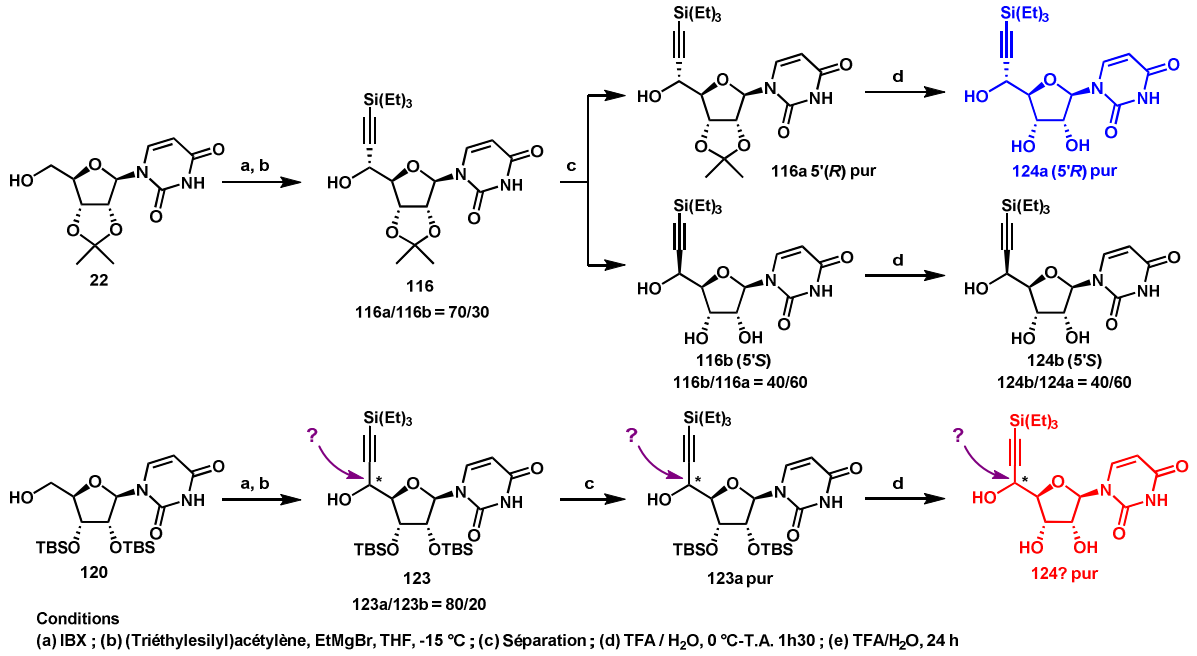
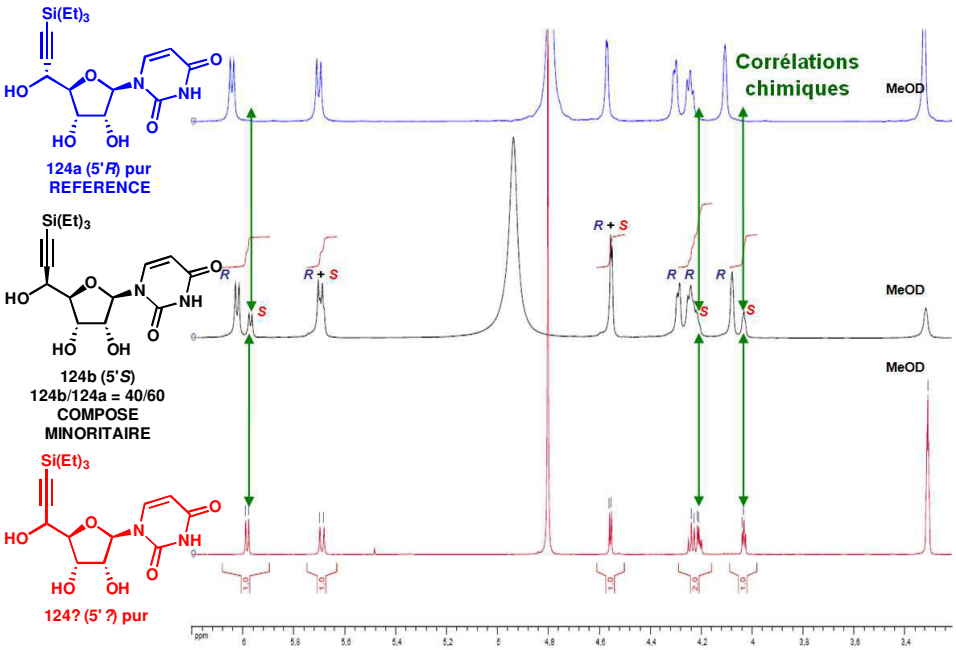


Schéma 57 : Corrélations chimiques entre les composés 124a, 124b, et 124?

Ainsi, suite à l'alcynylation des aldéhydes **122** et **98b**, obtenu respectivement à partir des alcools **22** et **120**, nous avons constitué trois lots : un lot contenant **116a** (5'*R*) pur, un lot contenant un mélange **116b** (5'*S*)/**116a** (5'*R*) = 40/60 (proportion aisément identifiée par RMN ^{1}H) et un lot contenant **123a** pur dont la configuration est à déterminer. Pour les deux premiers lots, les groupements protecteurs du diol en 2',3' des alcools propargyliques résultants ont été déprotégés par hydrolyse en présence d'un excès d'acide trifluoroacétique. Dans ces conditions, les acétonides **116a-b** sont déprotégés en 1 h 30 pour conduire aux triols **124a-b** tandis que l'éther de *tert*-butylediméthylesilyle **123a**, plus robuste, est hydrolysé en 24 h de réaction pour le dernier lot conduisant au composé **124?**. Les spectres RMN ^{1}H de ces lots sont présentés ci-après.



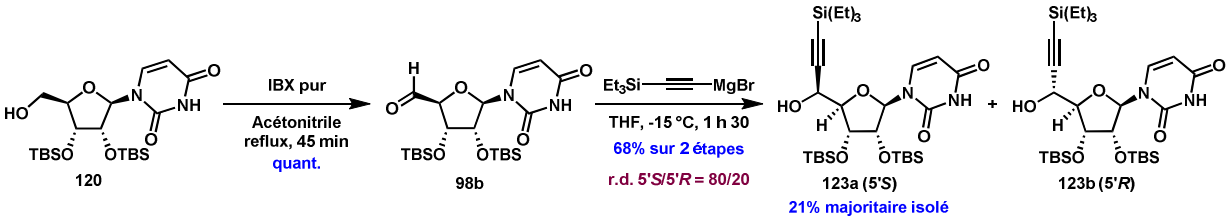
* Spectres RMN proton 500 MHz des composés : (1) **124a** (5'*R*) pur, (2) **124a** (5'*R*)/**124b** (5'*S*), (3) **124 ?** pur.
Le méthanol deutérié (MeOD) est utilisé pour la calibrations des déplacements chimiques.
Les corrélations des déplacements chimiques sont symbolisées par les flèches vertes.

Schéma 58 : Spectres RMN ^{1}H des composés 124a (5'*R*), 124b (5'*S*) et 124? pur

Ainsi, la comparaison des signaux caractéristiques des protons du composé **124a** (5'*R*) pur, du mélange **124a** (5'*R*)/**124b** (5'*S*) et de la molécule **124?** pure, nous a permis d'attribuer sans ambiguité, la configuration (5'*S*) pour ce composé.

Ce résultat est également étayé par mesure du pouvoir rotatoire de ces molécules (**124a** (5'*R*) $[\alpha]_D^{20}$ = - 34 (*c* 0.8 ; MeOH), **124b** (5'*S*) $[\alpha]_D^{20}$ = + 12 (*c* 0.9 ; MeOH)).

Ainsi la réaction de l'aldéhyde **98b** avec l'alcynure de magnésium utilisé donne le résultat suivant.



Nous avons montré que la stéréosélectivité observée lors de l'attaque de l'organomagnésien sur l'aldéhyde **98b** est l'inverse de celle observée pour l'attaque de l'aldéhyde **122**.

Cette stratégie nous donne donc un accès direct au diastéréoisomère de configuration (5'*S*). Cependant, cette voie donne un rendement global faible (14% sur quatre étapes à partir de l'uridine) ce qui nous a conduits à privilégier la voie précédente utilisant l'acétonide **116a** (5'*R*). Nous nous sommes donc intéressés à l'inversion de configuration du produit **116a** (5'*R*).

4) Inversion de configuration par réaction de Mitsunobu

La stratégie, rappelée ci-dessous, vise à inverser la configuration de l'alcool **116a** (5'*R*) par réaction de Mitsunobu, pour obtenir après déprotection l'intermédiaire **C**.

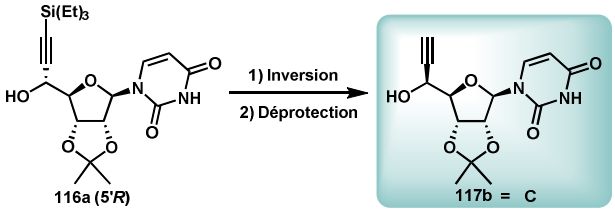


Figure 64 : Stratégie pour l'obtention de l'intermédiaire C

Bien qu'elle ait été initialement développée pour la chimie du phosphore[204], la réaction de Mitsunobu, découverte en 1967[205], a aujourd'hui de nombreuses applications en synthèse organique. Elle permet notamment l'inversion de configuration relative d'alcool[206]. Cette réaction met en jeu :

- une phosphine (généralement la triphénylphosphine) ;
- un azodicarboxylate d'alkyle (généralement de diéthyle (DEAD) ou de diisopropyle (DIAD)) ;
- un alcool ;
- un nucléophile protique.

Son mécanisme, décrit ci-après, fait d'abord intervenir l'attaque de la phosphine (PPh_3) sur l'azodicarboxylate d'alkyle choisi (a). De façon concomitante, le nucléophile protique (NuH) est déprotoné pour donner un anion nucléophile. Le phosphonium activé résultant est ensuite attaqué par l'alcool (b), formant un alcoxyphosphonium et la forme réduite de l'azodicarboxylate. Enfin, l'attaque de l'anion du nucléophile formé en (a) attaque le carbone porteur de l'alcoxyphosphonium (c) et entraine, de ce fait, une inversion de configuration relative de ce dernier.

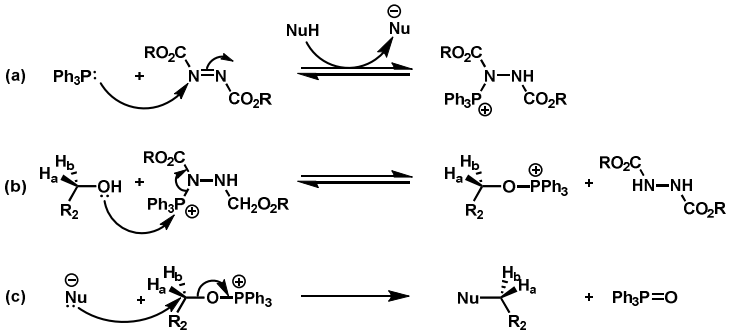


Figure 65 : Mécanisme de la réaction de Mitsunobu

La force motrice de cette réaction est la formation très exergonique de l'oxyde de triphényle phosphine ($Ph_3P(O)$) formé en fin de réaction.

---

[204] Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Mukaiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 935-939.
[205] Mitsunobu, O.; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 2380-2382.
[206] Pour une revue sur cette réaction voir : Swamy, K. C. K.; Kumar, N. N. B.; Balaraman, E.; Kumar, K. V. P. P. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2551–2651.

Lorsque cette méthodologie est appliquée aux nucléosides, en particulier à l'uridine, une réaction, décrite par Mitsunobu lui-même, a lieu : la formation de l'anhydro-base correspondante[207].

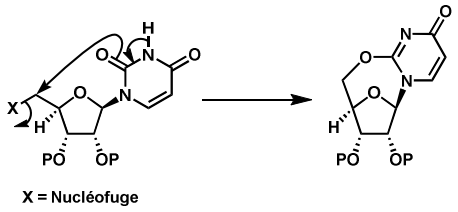


Figure 66 : Formation d'une 5'-anhydro-uridine

D'une manière générale, cette réactivité est observée lorsque la fonction imide du cycle uracile n'est pas protégée et que la position 5' est activée sous forme de nucléofuge.

Cette réaction, souvent considérée comme réaction secondaire, a été utilisée par Vasella pour la formation de **116a** (5'*R*) à partir de **116b** (5'*S*). De notre coté, nous avons utilisé cette méthode pour transformer **116a** (5'*R*) en **116b** (5'*S*). Ainsi, le composé **116a** (5'*R*) a été engagé dans une réaction de Mitsunobu en présence de triphénylphosphine et d'azodicarboxylate de diisopropyle au reflux du THF pendant cinq minutes. Dans notre cas, l'alcoxyphosphonium formé au cours de la réaction est piégé par une forme tautomère de l'uracile de l'uridine pour aboutir à l'intermédiaire cyclique **125**.

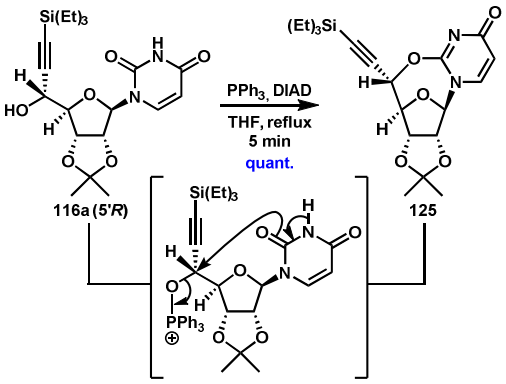


Schéma 59 : Synthèse de l'intermédiaire cyclique 125

Ce composé a été isolé de manière quantitative après chromatographie sur gel de silice.

La configuration du carbone 5' étant alors inversée, il ne reste plus qu'à ouvrir le cycle et déprotéger l'éther de silyle pour aboutir à l'intermédiaire **C**.

5) Ouverture du cycle : accès à l'alcool C

L'intermédiaire cyclique **125** a été ouvert dans les mêmes conditions que celles décrites par Vasella et coll. à partir du diastéréoisomère **116a** (5'*R*) : en présence de soude aqueuse dans le méthanol à température ambiante. Dans ces conditions, l'alcool propargylique

[207] Wada, M.; Mitsunobu, O. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1279–1282.

117b (5'*S*), dont l'alcyne a été déprotégé au cours de la réaction, a été obtenu avec un excellent rendement de 99% après purification par filtration à chaud (Schéma 60).

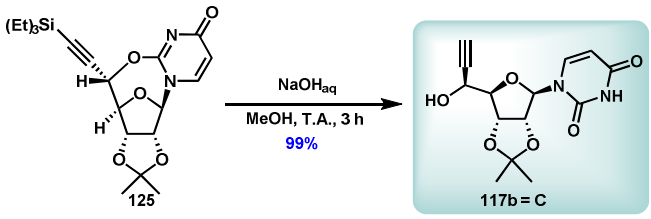


Schéma 60 : Accès à l'alcool 117b = C

Il est à noter que cette réaction a lieu avec rétention de configuration relative au niveau du carbone 5' car celui-ci n'est pas le siège de la réaction[208].

Intéressons nous au mécanisme d'ouverture par l'attaque de l'ion hydroxyde sur la base nucléique (Schéma 61).

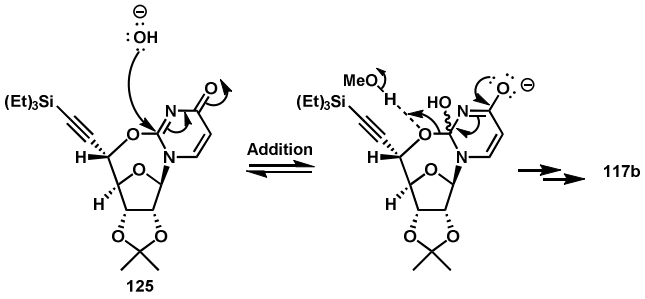


Schéma 61 : Mécanisme proposé pour la formation de 117b

Cette addition est suivie de l'élimination d'un alcoolate aidé dans son départ par catalyse acide générale du solvant (méthanol ou eau). La force motrice de la réaction est probablement la rupture de la tension du quadricycle de l'intermédiaire **125.**

Au cours de cette étude, nous avons donc montré qu'il était possible de faire varier la sélectivité de l'addition nucléophile d'un ion acétylure sur les aldéhydes **122** et **98b**.

En conclusion, bien que l'alcool propargylique **123a** de configuration d'intérêt (5'*S*) puisse être obtenu directement à partir de l'aldéhyde **98b** (14 % sur quatre étapes), nous avons préféré poursuivre la synthèse de **C** en partant de l'acétonide **22**.

L'ensemble de cette synthèse a été réalisé à l'échelle de 10 grammes d'uridine avec un rendement global de 35% sur 6 étapes amélioré par rapport à celui de Vasella et coll. (16 % sur 3 étapes), nous permettant d'obtenir un stock important d'intermédiaire **C**. Cet alcool en main, nous avons ensuite envisagé l'accès au squelette aminoribosyluridine **A** par glycosylation (Figure 67).

---

[208] Schwartz, H. M.; Maccoss, M.; Danyluk, S. S. *Magn. Reson. Chem.* **1985**, *23*, 885–894.

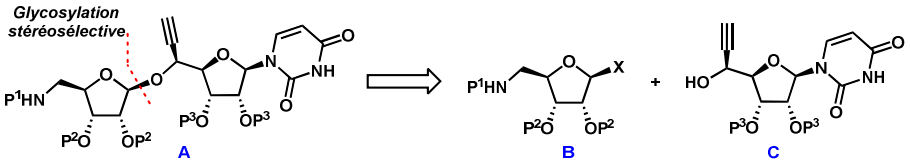


Figure 67 : Voie d'accès au squelette aminoribosyluridine d'intérêt

Cette réaction fait l'objet de la partie suivante.

IV Glycosylation β sélective : obtention du squelette phtalimidoribosyluridine A

Ayant les deux partenaires **115** et **117b** en main, la réaction de glycosylation a été effectuée en utilisant les conditions mises au point au laboratoire[209], en présence d'éthérate de trifluorure de bore et d'un excès de tamis moléculaire 4Å dans le dichlorométhane, après séchage minutieux des réactifs **115** et **117b** par entrainement azéotropique au toluène.

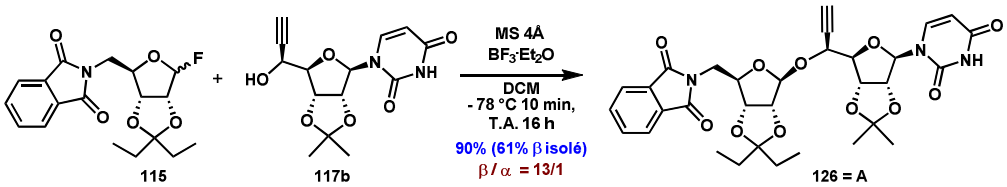


Schéma 62 : Réaction de glycosylation des deux intermédiaires

Dans ces conditions, l'alcyne phtalimidoribosyluridine protégé **126** (intermédiaire **A**) a été obtenu avec 90% de rendement sous forme d'un mélange d'anomères (β/α = 13/1). Une seconde purification a permis d'isoler l'anomère β avec 61% de rendement. Cette chromatographie délicate est plus efficace lors de l'emploi d'un mélange de solvant toluène/acétone comme éluant. Cette étape de glycosylation a été réalisée jusqu'à une échelle de 3 grammes d'alcyne **117b**.

La configuration du centre asymétrique est confirmée par la présence d'un singulet à 5,31 ppm en RMN du proton, caractéristique d'un anomère β et d'un effet Overhauser nucléaire (nOe) positif entre les protons $H_{1''}$ et $H_{4''}$ du squelette. Cette multiplicité, en accord avec l'équation de Karplus,[210] correspond à un angle dièdre de 90 ° entre les protons $H_{1''}$ et $H_{2''}$ témoignant bien d'une stéréochimie β pour le carbone anomérique

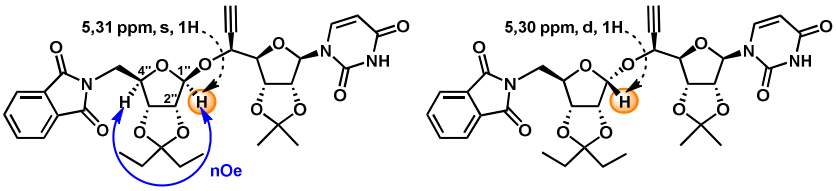


Figure 68 : Attribution de la stéréochimie de 126

L'anomère α possède quant à lui un doublet caractéristique à 5.30 ppm ($^3J_{H1''-H2''}$ = 2,0 Hz).

---

[209] Ginisty, M.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 142–150.
[210] Minch, M. J. *Concepts Magn. Reson.* **1994**, *6*, 41–56.

Une étude réalisée par Matsuda et coll. sur un composé analogue propose l'état de transition suivant pour expliquer l'excellente diastéréosélectivité observée lors de cette réaction de glycosylation (Figure 69)[150].

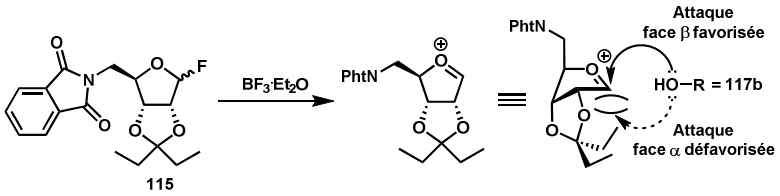


Figure 69 : Etat de transition proposé par Matsuda et coll. lors de la réaction de glysolyation[150]

L'attaque de l'alcool propargylique **117b** (R-OH) serait favorisée sur la face du carbocation la moins encombrée. Ici, le groupement isopentylidène volumineux défavoriserait l'attaque sur la face α et orienterait la sélectivité de la réaction en faveur de l'anomère β.

Nous nous sommes ensuite intéressés à la fonctionnalisation de ce squelette par réaction de chimie click pour obtenir les molécules de la famille I (Figure 70).

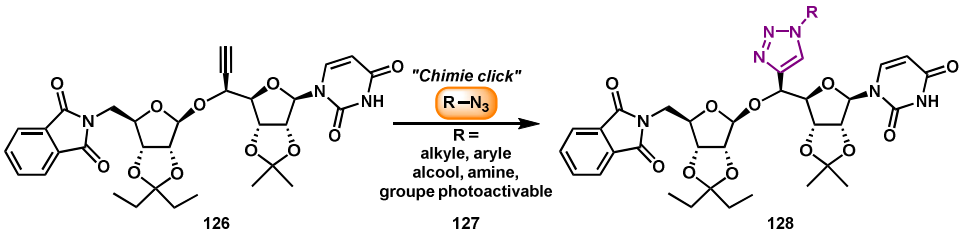


Figure 70 : Rappel de la stratégie envisagée pour la synthèse de cycle 1,4 triazole

La partie suivante traitera de la « chimie click », en particulier des conditions que nous avons choisies pour préparer les composés **128**, inhibiteurs de MraY à partir du squelette **126**. La synthèse des partenaires **127** de cette réaction sera aussi présentée.

V Chimie click : synthèse d'azotures et réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre.

A) La « chimie click »

1) Concept

La chimie « click » est un concept introduit par Sharpless en 2001[211], inspiré par les processus mis en œuvre par la nature pour former ou rompre des liaisons chimiques. D'une manière générale, la réaction « click » idéale est définie comme :

- ayant un bon rendement chimique ;
- stéréospécifique ;
- dotée d'une grande force motrice thermodynamique ;
- sans sous-produits ;
- économe en atome ;
- possédant une grande tolérance aux groupes fonctionnels ;
- aisément adaptable ;
- facile à mettre en œuvre.

Ces réactions doivent pouvoir être effectuées sans précautions opératoires particulières dans des solvants non-toxiques (idéalement l'eau) en partant de produits de départs aisément obtenus. En outre, les produits doivent pouvoir être isolés par des méthodes de purification non-chromatographiques et doivent être stables en conditions physiologiques.

Parmi les réactions remplissant ces critères, on peut notamment citer les réactions de Diels-Alder, les réactions d'addition de Michael, la dihydroxylation de double liaison, ainsi que les réactions d'ouvertures nucléophiles de petits cycles tendus, comme les époxydes par exemple.

Toutefois, l'exemple le plus représentatif et le plus populaire en matière de chimie click reste la cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen. Cette réaction illustre tellement bien ce concept que l'abus de langage est souvent fait en la désignant sous le nom de « réaction click ».

2) Cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen

Cette réaction met en jeu un dipôle 1,3 (ici un azoture) et un dipolarophile (ici un alcyne vrai). Elle a été découverte par Huisgen[212] en 1963 et est initiée par voie thermique. Dans ces conditions, deux cycles triazoles régioisomères (1,4 et 1,5) sont formés en proportions équivalentes (Figure 71, conditions (a)).

C'est en 2002 que Sharpless[213] et Meldal[214] ont conjointement découvert une variante de cette réaction catalysée au cuivre (I) conduisant exclusivement au triazole 1,4 (Figure 71,

---

[211] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 2004–2021.
[212] Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-632
[213] Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
[214] Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.

conditions (b)). Puis, en 2005 Sharpless en a décrit une version catalysée au ruthénium (II)[215] qui conduit, quant à elle, sélectivement au triazole 1,5 (Figure 71, conditions (c)).

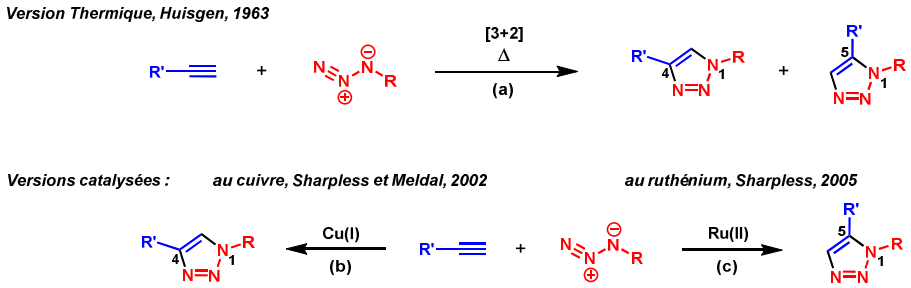


Figure 71 : La réaction de cycloaddition 1,3 dipolaire azoture-alcyne

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés à la synthèse de triazoles 1,4 par cycloaddition azoture-alcyne catalysée par cuivre (I). Cette stratégie devrait permettre d'accéder à de nombreux composés, à partir de synthons facilement accessibles, les azotures, et présenterait l'avantage d'introduire la diversité structurale lors des dernières étapes de la synthèse. Par ailleurs, nous avons choisi ce cycle car il est un isostère de liaison amide, fonction présente à cette postion dans certains inhibiteurs naturels de MraY comme les liposidomycines par exemple (Figure 39).

Le mécanisme proposé pour cette réaction catalysée n'a été prouvé que très récemment.

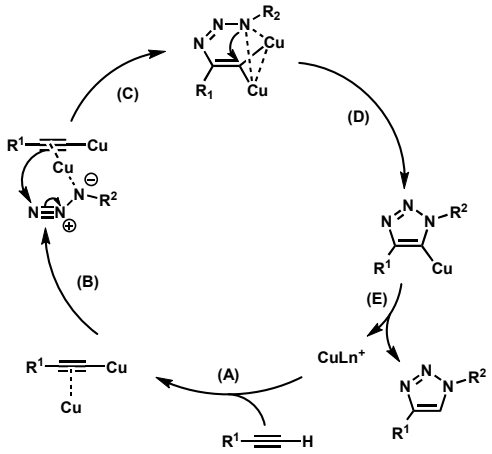


Schéma 63 : Mécanisme de la réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre d'après Fokin et coll.[213]

Après formation d'un acétylure de cuivre activé par coordination (A), le groupement azoture se complexe à un atome de cuivre (B) formant un complexe dinucléaire (C). Celui-ci se réarrange ensuite en triazole (D) puis le complexe catalytique de départ est régénéré et le produit de la réaction formé après protolyse (E).

Parmi les sources de cuivre (I) utilisées on trouve par exemple CuI, $CuOTfC_6H_6$, ou $[Cu(NCCH_3)_4][PF_6]$. Les deux derniers ont l'avantage d'être plus solubles dans les solvants organiques tels que le DMF ou l'acétonitrile[213]. Toutefois, l'utilisation de ces sels de cuivre

---

[215] (a) Zhang, L.; Chen, X. G.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Jia, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999 (b) Worel, B.; Malik, J.; Fokin, V. V. *Science* **2013**, *340*, 457-460.

nécessite de travailler en milieu désoxygéné pour éviter l'oxydation du cuivre. Pour se défaire de cette contrainte, Sharpless a découvert que le catalyseur au cuivre (I) pouvait être formé *in situ* à partir de sels de cuivre (II). Ces conditions classiques emploient notamment le sulfate de cuivre pentahydraté ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) comme source de cuivre et l'acide ascorbique ou l'ascorbate de sodium comme réducteur[213]. En outre, une base aminée peut également être utilisée pour prévenir l'oxydation du catalyseur tout en accélérant la vitesse de la réaction. La réaction peut être conduite dans l'eau mais les meilleurs résultats sont obtenus dans un mélange *t*-BuOH/H_2O.

Nous allons maintenant nous intéresser au choix et à la synthèse des azotures, partenaires de la réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre.

B) Préparation d'azotures : Choix et voies de synthèse

Les azotures organiques doivent être manipulés avec précautions, surtout lorsqu'ils sont de petite taille[216] en raison de leurs propriétés explosives. Toutefois, si l'équation suivante est vérifiée, les azotures considérés peuvent être manipulés et stockés purs sans risques particuliers (N_C, N_O et N_N correspondant respectivement au nombre total d'atomes de carbone, d'oxygène et d'azote contenus dans la molécule) :

$$(N_C + N_O) / N_N \geq 3$$

Afin de synthétiser les inhibiteurs de la famille I par cycloaddition 1,3 dipolaire catalysée au cuivre, divers azotures de structure, polarité et longueur variées ont été choisis (Figure 72).

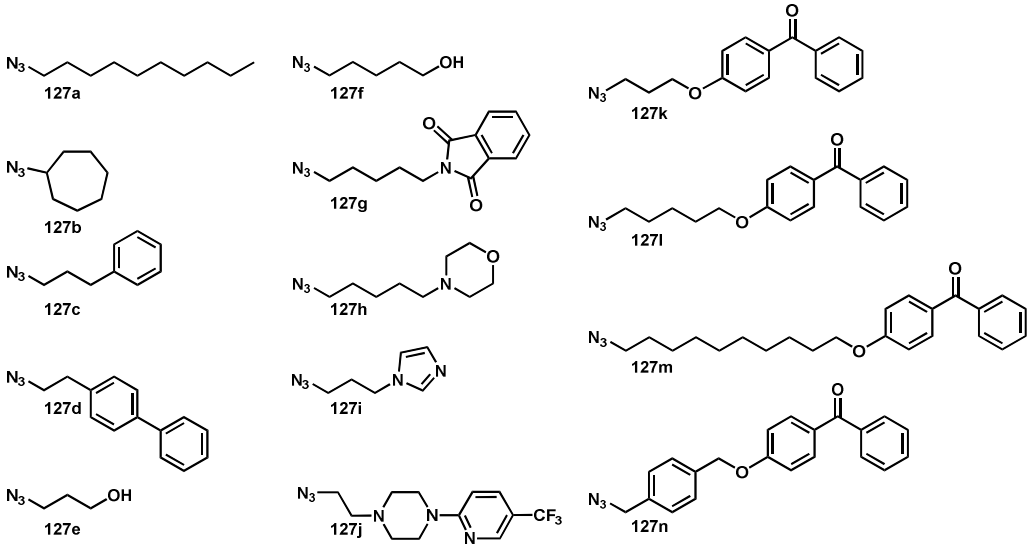


Figure 72 : Structures des azotures choisis

Ainsi, plusieurs azotures apolaires, aliphatiques ou aromatiques, linéaires ou cycliques, tels que **127a-d** ont été sélectionnés. De manière complémentaire, les azido-alcools **127e-f**, l'alkylphtalimide azoture **127g**, la morpholine **127h** et l'imidazole **127i** ont été choisis pour mimer les fragments aminés polaires présents dans cette position, chez les inhibiteurs de MraY. L'azido-pipérazine **127j**[217] disponible au laboratoire a également été utilisée.

---

[216] Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
[217] Le Corre, L.; Girard, A.-L.; Aubertin, J.; Radvanyi, F.; Benoist-Lasselin, C.; Jonquoy, A.; Mugniery, E.; Legeai-Mallet, L.; Busca, P.; Le Merrer, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2164-2173.

Dans l'objectif de synthétiser des sondes photoactivables pour la cartographie du site actif de MraY, nous avons voulu vérifier si les composés comportant un motif benzophénone inhibaient ou non cette enzyme. Pour ce faire, nous avons opté pour quatre azotures comprenant le motif benzophénone **127k-n** de longueur et rigidité variées. En effet, les inhibiteurs portant ce groupement photoactivable[218] pourraient être utilisés dans la détermination des interactions enzyme-inhibiteur, jusque-là encore inconnues. Cette stratégie sera développée ultérieurement.

Au préalable, examinons les différentes voies de synthèse possibles pour ces azotures :

Nous avons envisagé l'obtention de ces molécules par (Schéma 64) :

- subtitution nucléophile sur un dérivé bromé commercial ;
- subtitution nucléophile sur un alcool préalablement activé ;
- réaction de transfert de groupement diazo à partir d'une amine ;

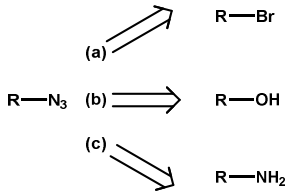


Schéma 64 : Voies d'accès aux azotures envisagées

Nous allons commencer par étudier la voie de synthèse la plus simple en partant de dérivés bromés commerciaux.

C) Synthèse d'azotures par substitution nucléophile sur un dérivé bromé

Les résultats concernant la synthèse d'azotures à partir de dérivés bromés sont présentés ci-dessous (Schéma 65).

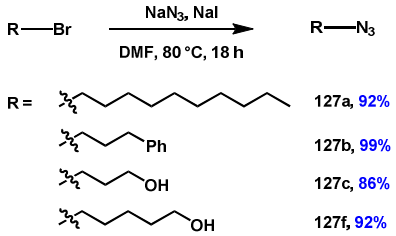


Schéma 65 : Synthèse d'azotures à partir de dérivés bromés

Après traitement des dérivés bromés commerciaux correspondants par l'azoture de sodium en présence d'iodure de sodium en quantité catalytique dans le DMF à 80°C pendant 18 h, les azotures **127a**, **127c**, **127e**, et **127f** ont été isolés avec des rendements compris entre 86 et 99%. L'iodure de sodium est ajouté de manière à effectuer l'échange brome-iode : sans la catalyse nucléophile qu'il exerce au cours de la réaction, celle-ci est beaucoup plus lente.

---

[218] Prestwich, G. D.; Dormanf, G.; Elliow, J. T.; Marecakl, D. M.; Chaudharyl, A. *Photochem. Photobiol.* **1997**, *65*, 222-234.

Par ailleurs le temps de réaction de 18 h n'est peut être pas nécessaire. Toutefois, ces azotures étant difficilement séparables des dérivés bromés de départ, les durées de réaction ont été volontairement allongées afin d'assurer la conversion totale du bromé de départ.

Intéressons-nous ensuite aux azotures obtenus par substitution nucléophiles sur les alcools activés.

D) Synthèse d'azotures par substitution nucléophile sur un alcool activé

Les azotures suivants (Figure 73) ont été synthétisés selon cette voie :

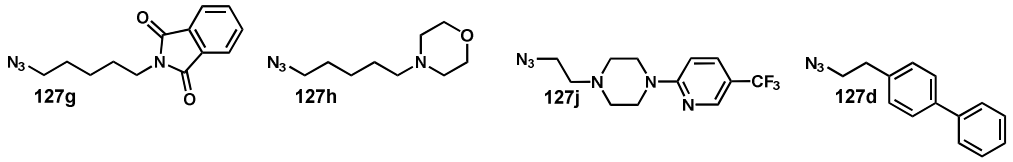


Figure 73 : Azotures préparés par substitutions d'un alcool activé

L'azido-pipérazine **127j** a été préparée par désymétrisation de l'éthylène glycol par Le Corre et coll.[217] et était disponible au laboratoire (Schéma 66).

Lors de cette synthèse, les deux fonctions alcool de l'éthylène glycol sont activées sous forme de mésylate puis ces derniers sont successivement substitués par l'azoture de sodium puis par une pipérazine monofonctionnalisée par un cycle hétéroaromatique.

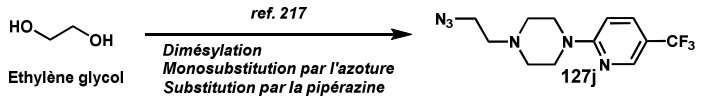


Schéma 66 : Synthèse de l'azoture 127j par Le Corre et coll.[217]

Les molécules **127g** et **127h** ont été préparées selon la même stratégie, à partir du pentane 1,5 diol (Schéma 67).

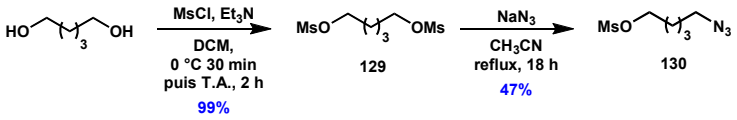


Schéma 67 : Synthèse de l'azido-mésylate 130 à partir du pentane 1,5 diol

De façon à tirer profit d'un intermédiaire commun au cours de cette synthèse, les deux fonctions alcool de cette molécule ont été activées sous forme de mésylate par action du chlorure de mésyle dans le dichlorométhane en présence de triéthylamine comme base. Le dimésylate **129** obtenu avec un rendement quasi quantitatif après chromatographie a été ensuite mono substitué par un ion azoture au reflux de l'acétonitrile. Ce solvant est utilisé ici pour minimiser l'apparition du sous-produit de di-substitution car l'azoture de sodium n'y est que peu soluble. Dans ces conditions, le composé **129** est désymétrisé pour conduire à l'azido-mésylate **130** avec un rendement isolé de 47%. En tenant compte du produit de départ retrouvé après la réaction, le rendement corrigé est de 60%.

Cet intermédiaire, aisément fonctionnalisable, a enfin été opposé à deux amines nucléophiles pour obtenir les azotures **127g** et **127h**.

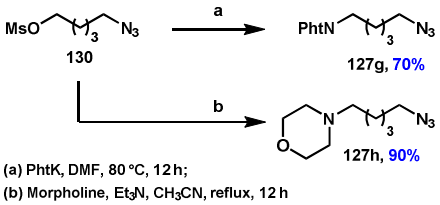


Schéma 68 : Préparation des azotures 127g et 127h

Ces molécules sont respectivement obtenues avec des rendements de 70 et 90%.

La synthèse de l'azoture **127d**, a été envisagée par substitution nucléophile du biphényl éthanol **131** préalablement activé. Cette molécule, peu disponible dans le commerce pourra être synthétisée à partir de l'acide *para*-bromophénylacétique commercial (Schéma 69).

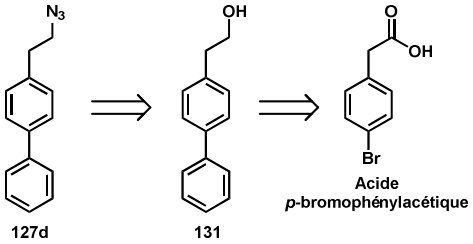


Schéma 69 : Stratégie pour l'obtention du biphényle 127d

Dans le but de réduire la fonction acide de l'acide *para*-bromophénylacétique en alcool, celui-ci a été tout d'abord estérifié selon la méthode de Fischer : en présence d'acide sulfurique dans le méthanol (Schéma 70). L'ester méthylique **132** résultant, obtenu avec 85% de rendement, a été ensuite réduit par l'hydrure de di-*iso*-butyaluminium dans le THF pour conduire à l'alcool **133** avec 83% de rendement[219].

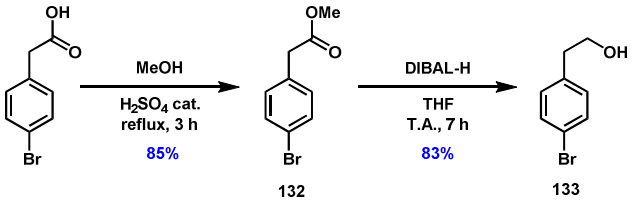


Schéma 70 : Préparation du para-bromo-phényléthanol 133

Le motif biphényle est alors installé par couplage de Suzuki[220] entre l'acide phényle boronique et le *para*-bromo-phényléthanol **133** en utilisant l'acétate de palladium comme catalyseur, le carbonate de potassium comme base dans un mélange éthanol/eau à 80°C pendant 18 heures (Schéma 71)[221]. Le biphényle **131** résultant a été obtenu avec un rendement de 83%.

---

[219]Revelant, G.; Dunand, S.; Hesse, S.; Kirsch, G. *Synthesis* **2011**, *2011*, 2935–2940.
[220] Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tet. Lett.* **1979**, *20*, 3437–3440.
[221] Del Zotto, A.; Amoroso, F.; Baratta, W.; Rigo, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 110–116.

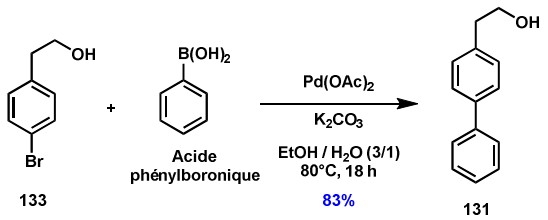


Schéma 71 : Synthèse du bi-phényléthanol 131 par couplage de Suzuki

L'alcool **131** a ensuite été engagé dans l'étape d'activation (Schéma 72) en présence de chlorure de tosyle dans la pyridine pour mener au tosylate **134** utilisé sans purification puis substitué par les ions azoture dans les mêmes conditions que précédemment pour conduire à l'azoture **127d** avec un rendement de 62% sur deux étapes.

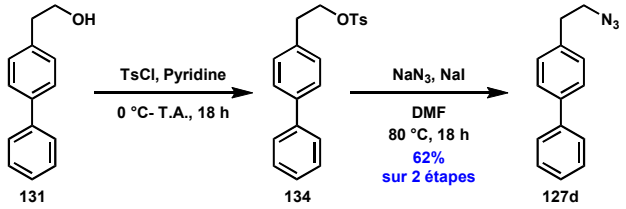


Schéma 72 : Synthèse de l'azoture 127d

Intéressons-nous ensuite aux azotures obtenus par réaction de transfert de groupement diazo.

E) Synthèse d'azotures par réaction de transfert de groupement diazo

La réaction de transfert de groupement diazo (Schéma 73) sur les amines est une excellente alternative pour la synthèse d'azotures lorsque les dérivés bromés correspondants ne sont pas commerciaux.

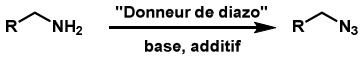


Schéma 73 : Réaction de transfert de groupement diazo

Par ailleurs, cette méthode permet la formation d'azotures secondaires là ou une réaction de substitution nucléophile sur le dérivé bromé correspondant peut conduire à la formation de produits d'élimination. Cette réaction requiert l'utilisation d'un « donneur de groupement diazo », généralement l'azidotrifluorométhanesulfonate[222a-b].

La synthèse de ce réactif fait intervenir l'addition de l'azoture de sodium sur l'anhydride triflique (Schéma 74).

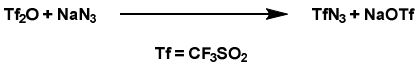


Schéma 74 : Synthèse de l'azidotrifluorométhanesulfonate d'après Cavender et coll.[222]

---

[222] (a) Cavender, C. J.; Shiner, V. J. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3567-3569. (b) Vasella, A.; Witzig, C.; Chiara, J.-L.; Martin-Lomas, M. *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 2073-2077.

La réaction de diazotransfert peut être catalysée par des métaux de transition comme le cuivre (II)[223] ou le zinc (II)[224] et s'effectue en présence de base. Plus récemment, l'utilisation d'un autre réactif donneur de groupement diazo a été rapportée : le chlorhydrate d'azoture d'imidazoyl-1sulfonyle[225] **135**. Ce réactif, moins dangereux que l'azido-trifluorométhanesulfonate, possède également les avantages d'être moins coûteux et de pouvoir être stocké sous forme solide. Par ailleurs, les réactions de transfert de groupement diazo utilisant ce réactif ne nécessitent pas de précautions opératoires particulières. Pour ces raisons, nous l'avons sélectionné.

Le chlorhydrate d'azoture d'imidazoyl-1sulfonyle a donc été préparé selon la méthode décrite par Goddard-Borger et coll.[225] (Schéma 75).

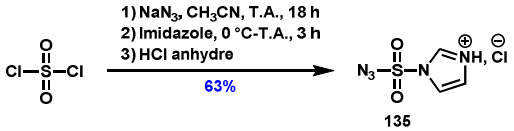


Schéma 75 : Préparation du réactif de diazotransfert

Le chlorure de sulfuryle subit la substitution successive de ses deux atomes de chlore, par l'ion azoture et l'imidazole. Le sel de chlorhydrate, formé par précipitation du produit dans l'acide chlorhydrique anhydre, est obtenu avec un rendement de 63%. Disposant du réactif **135**, plusieurs azotures ont été préparés à partir des amines correspondantes.

Ainsi, le traitement de la cycloheptylamine ou du 1-(3-aminopropyl)imidazole en présence du réactif **135**, de carbonate de potassium comme base et de sulfate de cuivre comme catalyseur, dans le méthanol, a permis l'obtention des azotures **127b** et **127i** avec des rendements respectifs de 80 et 65% (Schéma 76).

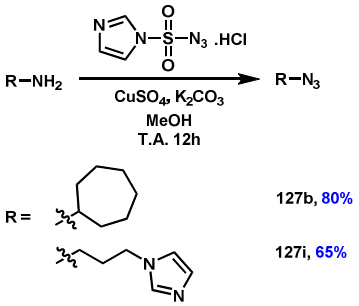


Schéma 76 : Synthèse des azotures 127b et 127i

Intéressons-nous ensuite à la synthèse des azotures possédant un motif benzophénone.

F) Synthèse d'azotures présentant un motif benzophénone

La voie de synthèse que nous avons choisie pour accéder aux azido-benzophénones **127k-n**, pourvues d'espaceurs variés, met d'abord en jeu l'introduction de la partie benzophénone sur un dérivé dibromé puis la substitution du deuxième atome de brome par les

---

[223] Alper, P. B.; Hung, S.-C.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6029-6032.
[224] Nyffeler, P. T.; Liang, C.-H.; Koeller, K. M.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10773–10778.
[225] Goddard-Borger, E. D.; Stick, R. V. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797–3800. Goddard-Borger, E. D.; Stick, R. V. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2514–2514.

ions azotures. La première étape a été effectuée sur les dibromopropane, dibromopentane, dibromodecane ainsi que le *para*-dibromoxylène par alkylation de l'anion de la 4-hydroxybenzophénone, généré en présence de carbonate de potassium dans le DMF (Schéma 77). Les alkylbenzophénones **136a-c** ont été préparées avec de bons rendements (72-80%). La *para*-bromo-xylyl-benzophénone **137** a été obtenue avec un rendement plus modeste de 44%.

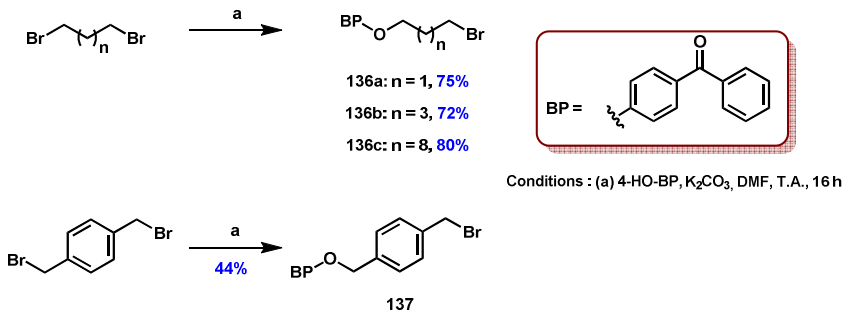


Schéma 77 : Synthèse des alkylesbenzophénones bromées 136a-c et 137

L'autre atome de brome présent sur les intermédiaires **136a-c** et **137** a été ensuite substitué en utilisant l'azoture de sodium en présence d'iodure de sodium dans le DMF à 80°C pendant une nuit (Schéma 78).

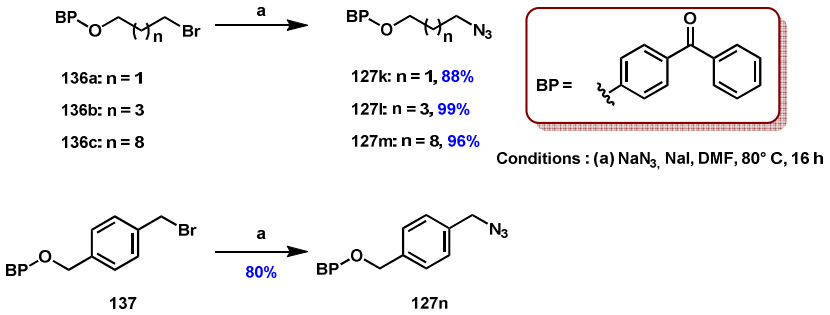


Schéma 78 : Synthèse des azido-benzophénones 127k-n

Les azotures correspondants ont été obtenus avec d'excellents rendements (80-99%) après chromatographie.

Ayant synthétisé les partenaires de la réaction de cycloaddition, nous allons maintenant présenter nos résultats concernant cette réaction.

G) Réaction de cycloaddition catalysée au cuivre

L'alcyne **126** préalablement synthétisé a été opposé aux azotures **127a-n** dans les conditions de cycloaddition catalysée au cuivre (I) (Schéma 79). Nous avons utilisé comme source de cuivre (I) le sulfate de cuivre réduit *in situ* par l'ascorbate de sodium. Ces choix ont déjà été explicités.

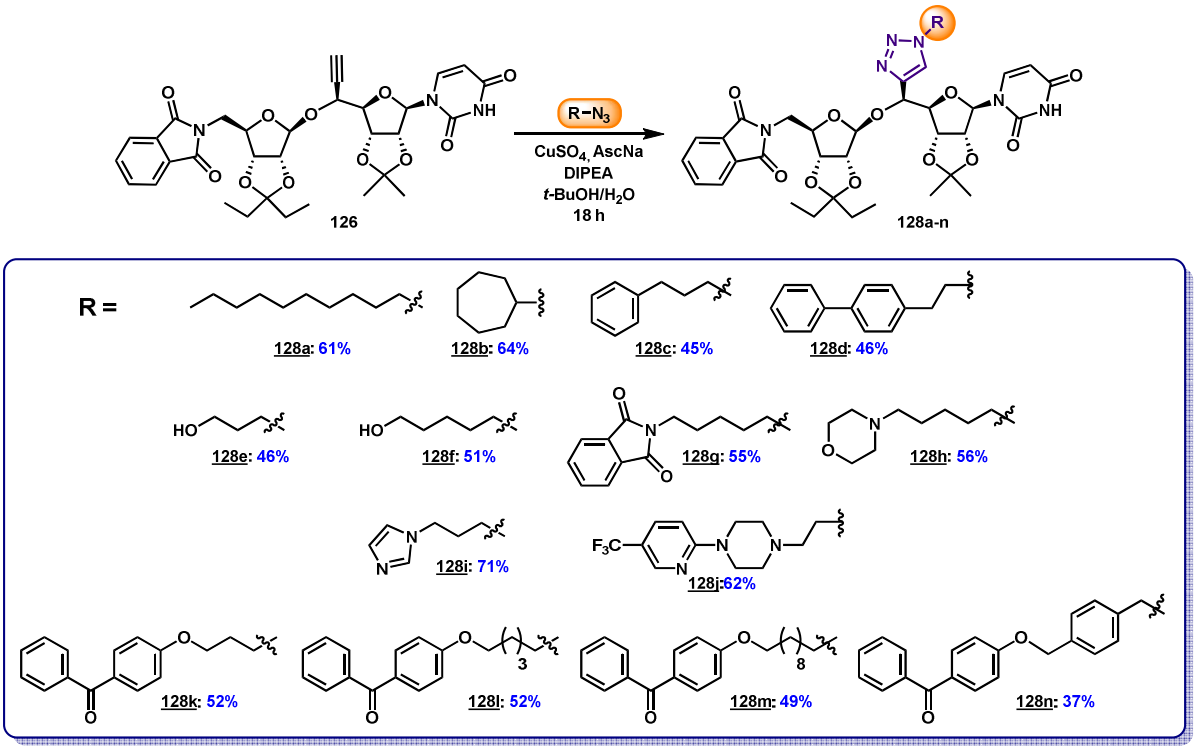


Schéma 79 : Synthèse des 1,4 triazoles d'intérêt

Ainsi, en présence de sulfate de cuivre, d'ascorbate de sodium et de diisopropyléthylamine dans un mélange eau/*tert*-butanol 2/1 à température ambiante pendant une nuit, les triazoles **128a-n** correspondants ont été isolés avec des rendements compris entre 37 et 71%. Bien que la conversion de l'alcyne soit totale, ces rendements n'ont pas pu être améliorés. Ces résultats peuvent être considérés comme modestes au regard de la définition de la chimie « click »[211] mais apparaissent très satisfaisants si l'on considère l'encombrement stérique autour de la fonction alcyne.

Disposant de ces quatorze triazoles, nous nous sommes ensuite intéressés à leur déprotection.

VI Etapes de déprotections

A) Déprotection de l'amine en position 5''

Afin d'effectuer la déprotection sélective de la fonction amine en position 5'' de l'aminoribosyluridine, les quatorze triazoles ont été traités dans le méthanol à température ambiante par un excès de méthylamine en solution dans l'éthanol[226].

Cette méthode est une alternative à l'utilisation de l'hydrazine. Contrairement à cette dernière, la méthylamine est moins toxique et évite la formation du sous-produit de déprotection dihydrophtalazinedione, contraignant à l'isoler du produit désiré (Schéma 80). Par ailleurs, l'utilisation de l'hydrazine pourrait conduire à la formation d'hydrazones aromatiques stables avec les composés possédant le motif benzophénone.

---

[226] Honcharenko, D. ; Varghese, O. P. ; Plashkevych, O. ; Barman, J. ; Chattopadhyaya J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 299-314.

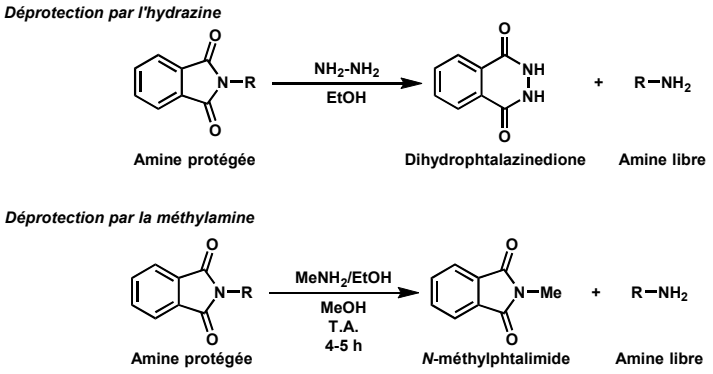


Schéma 80 : Comparaison entre la déprotection par l'hydrazine et la méthylamine

Dans le cas de l'utilisation de la méthylamine, il se forme un équivalent de *N*-méthylphtalimide au cours de la réaction, ce-sous produit est également délicat à séparer des produits d'intérêt mais une partie peut être précipité dans le dichlorométhane, simplifiant alors l'étape de chromatographie. Ainsi, les amines **138a-n** ont été obtenues avec des rendements compris entre 46 et 80% (Schéma 81).

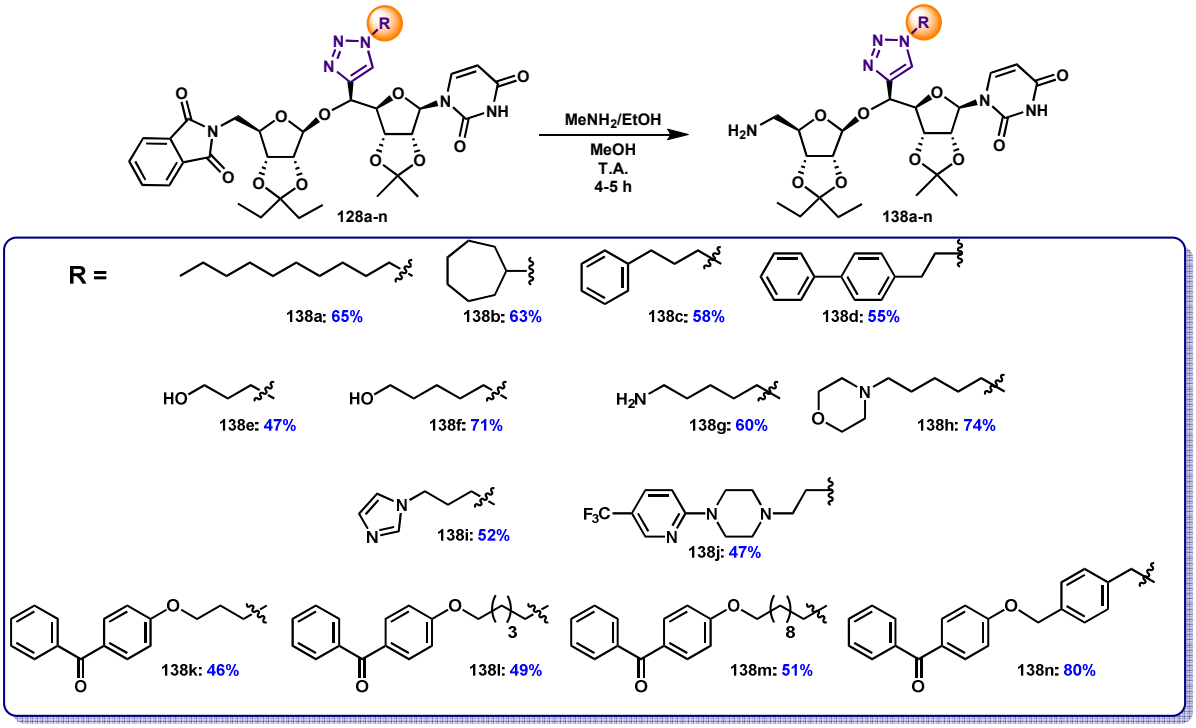


Schéma 81 : Déprotection de l'amine en position 5''

Les purifications par chromatographie sur gel de silice effectuées pour purifier les produits déprotégés nécessitent l'utilisation d'éluants très polaires (jusqu'à DCM/MeOH 90/10) en présence de triéthylamine pour désactiver la silice. Cette précaution est indispensable pour éviter la protonation de ces amines sur le gel de silice et permettre leur purification. Il est à noter que le deuxième groupement phtalimide présent sur le triazole **128g** est également converti en amine primaire au cours de la réaction.

Il reste enfin à déprotéger les cétals pour achever la synthèse de notre première série de molécules (famille I).

B) Déprotections des cétals et accès aux triazoles d'intérêt

Les cétals sont déprotégés par hydrolyse acide généralement en présence d'acide trifluoroacétique et d'un co-solvant organique pour mieux contrôler la réaction.

Afin de préserver l'intégrité de la liaison glycosidique, un premier essai de déprotection a été effectué en utilisant un mélange eau/THF/TFA (0.5/1/1) ce qui a conduit à l'hydrolyse sélective du groupement isopropylidène. Ce groupe protecteur moins encombré que l'isopentylidène est le premier à être hydrolysé. La concentration en acide trifluoroacétique a donc été augmentée en réalisant la réaction dans un mélange acide trifluoroacétique/eau 4/1 (Schéma 82).

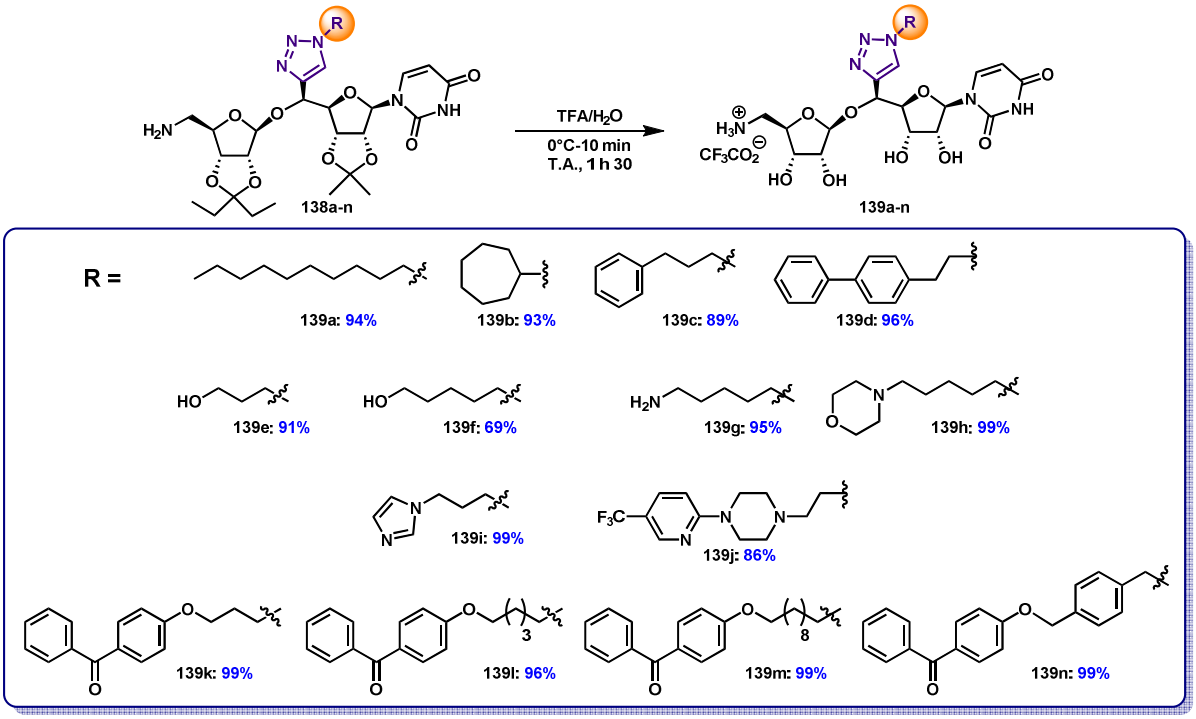


Schéma 82 : Synthèse des triazoles de la famille I

Les tétrols **139a-n** ont été isolés avec de bons rendements compris entre 69 et 99% après une heure et demie de réaction.

Les composés déprotégés correspondants ont été obtenus sous forme de mono ou di-sels de trifluoroacétate d'amonium après lyophilisation et recristallisation dans un solvant ou mélange de solvants approprié. L'analyse de la pureté HPLC des échantillons a montré qu'elle était, dans tous les cas, supérieure à 97% (Figure 74).

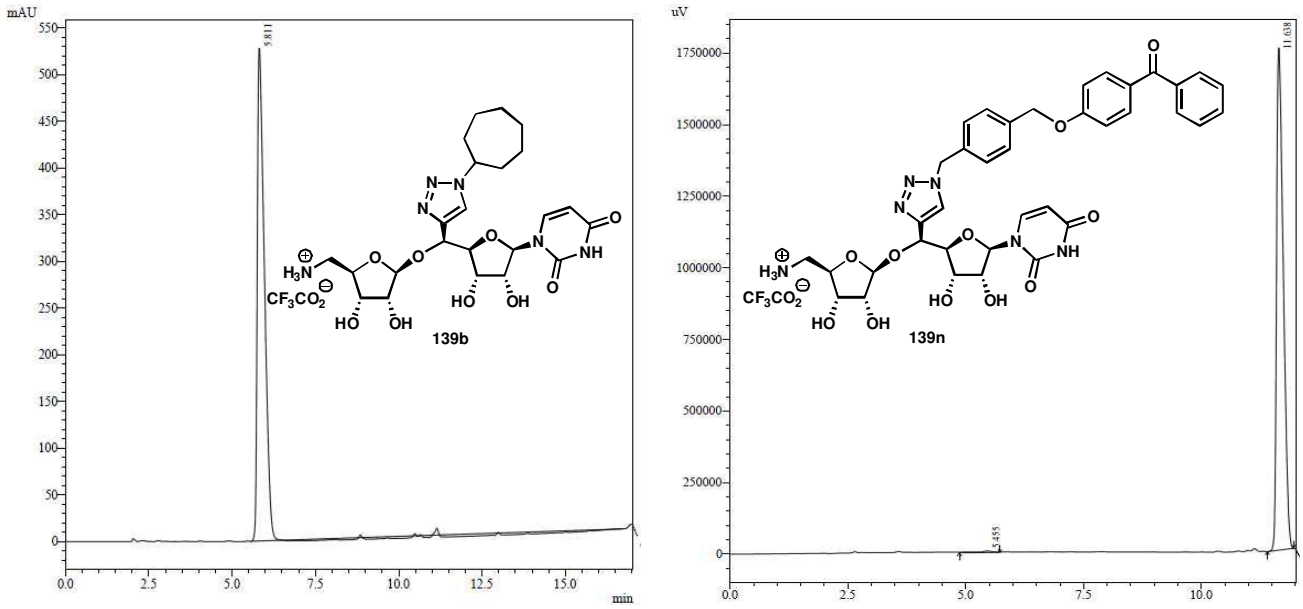


Figure 74 : Spectres HPLC des composés 139b et 139n (détection à 254 nm)

Les composés ont tous été testés comme inhibiteurs de MraY et comme agents antibactériens sur différentes souches de bactéries Gram (+) et Gram (-).

Par ailleurs, dans le but d'obtenir un point de comparaison pour l'évaluation de l'activité biologique de nos triazoles, la molécule **140** (Figure 75) possédant simplement une fonction alcyne en position 5' a été également préparée selon différentes voies.

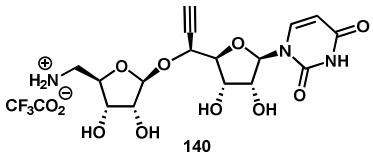


Figure 75 : Structure de 140

C) Synthèse du squelette 5'-éthynyl-aminoribosyluridine 140 déprotégé

De manière analogue aux triazoles que nous avons déjà préparés, le composé **140** a été obtenu par une séquence de clivage du groupement phtalimide en position 5''du dérivé **126** pour fournir l'amine **141** suivie de l'hydrolyse acide des groupements cétals (Schéma 83).

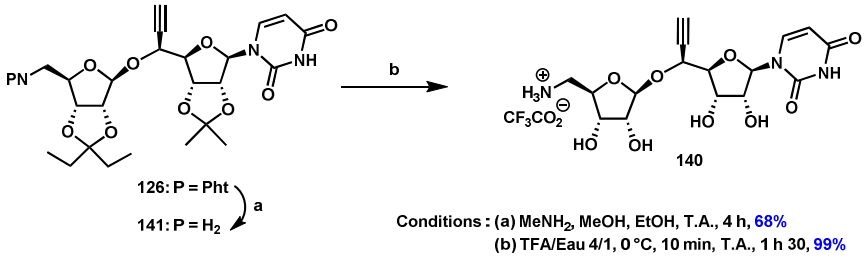


Schéma 83 : Synthèse de 140 par déprotection du composé 126

Les rendements sont bons et du même ordre de grandeur que ceux obtenus pour les triazoles **139a-n**.

Une voie de synthèse plus courte a été également envisagée par glycosylation de l'intermédiaire **117b** (5'*S*) par l'azido-fluoro ribose **51** suivie de la réduction de Staudinger du groupement azoture et de l'hydrolyse acide des groupements cétals (Figure 76).

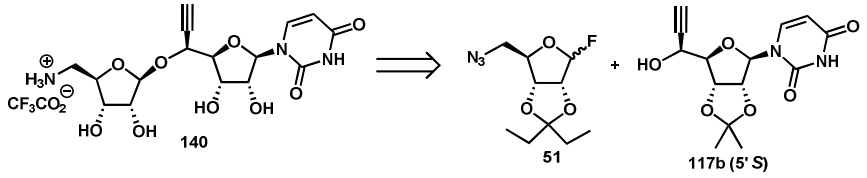


Figure 76 : Nouvelle voie de synthèse envisagée pour la synthèse de 140

L'azido-fluoro-ribose **51** a été obtenu dans les conditions décrites par Matsuda et coll.[150] par fluoration de la position anomérique de l'hémiacétal **105** déjà en notre possession avec un rendement de 76% (Schéma 84).

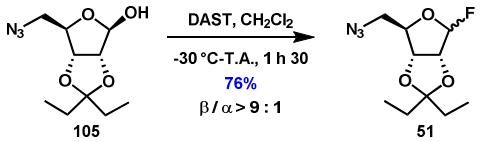


Schéma 84 : Synthèse de l'azido-fluororibose 51

La glycosylation de **51** ainsi que la réduction de son groupement azoture ont été ensuite réalisées (Schéma 85).

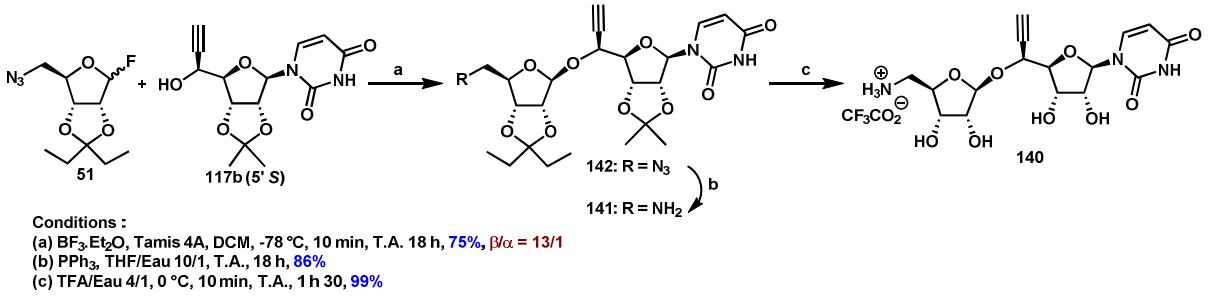


Schéma 85 : Synthèse de 140 àpartir de l'azido-fluororibose 51

L'azidoalcyne **142** a été obtenu avec 75% de rendement et un rapport β/α = 13/1. Toutefois, la purification des deux anomères, très délicate, a seulement permis d'isoler l'anomère β majoritaire avec 45% de rendement.

La réduction de Staudinger du groupement azoture de **142** a ensuite été réalisée en présence de triphénylphosphine dans un mélange THF/eau pour conduire à l'amine correspondante **141**. L'hydrolyse acide des cétals dans les mêmes conditions que précédemment a fourni le composé final **140**. De plus, le squelette aminoribosyluridine non-substitué **20** a également été synthétisé selon la même stratégie et était disponible au laboratoire (Figure 77).

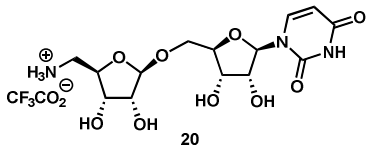


Figure 77 : Rappel de la structure de 20

Ces composés en main, nous allons par la suite étudier évaluer leur activité biologique (chapitre 4).

VII Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons décrit la synthèse de quatorze molécules de la famille I de structure aminoribosyluridine substituées en position 5' par différents triazoles 1,4 **139a-n** directement greffés sur ce scaffold. Le squelette 5'-éthynylaminoribosyluridine **126**, précurseur de ces triazoles, a été synthétisé par réaction de glycosylation β sélective entre deux intermédiaires **115** et **117b** préparés respectivement à partir du ribose et de l'uridine (Figure 78). En outre, l'alcyne **126** a été complétement déprotégé en composé **140** qui servira de point de comparaison pour l'évaluation de l'activité biologique de tous ces composés sur la transférase bactérienne MraY.

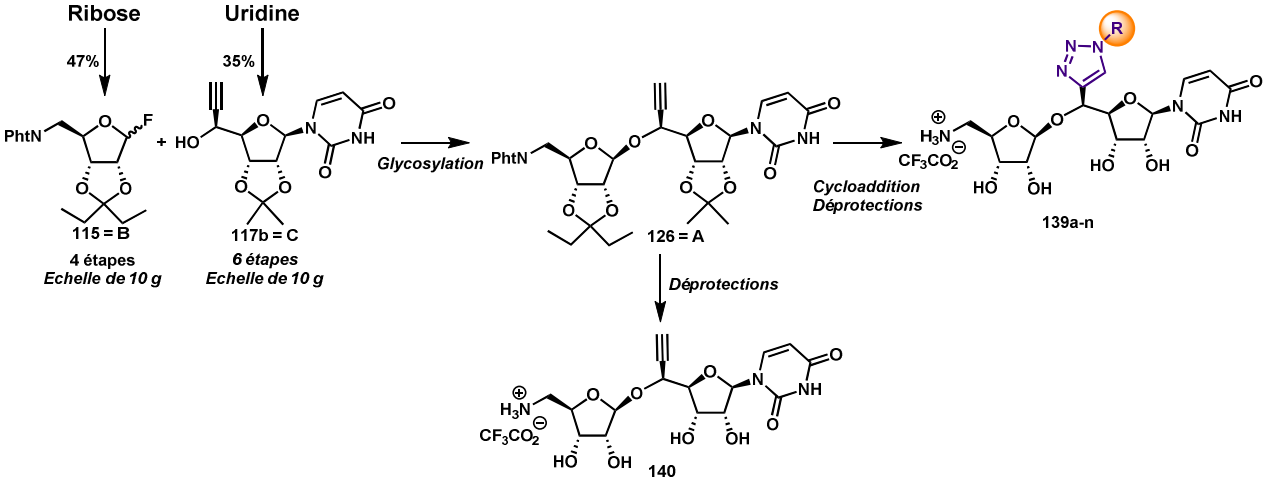


Figure 78 : Récapitulatif du chapitre 2

Cette synthèse a mis en jeu un total de dix étapes et s'effectue avec des rendements globaux compris entre 7 et 17%.

L'évaluation de l'activité biologique des composés **139a-n** sera étudiée dans le chapitre suivant.

L'ensemble des résultats obtenus concernant cette voie synthèse a donné lieu à une publication au *Journal of Organic Chemistry* en 2013[227].

Nous allons maintenant présenter la synthèse des familles II et III qui fait l'objet du chapitre suivant.

[227] Fer, M. J.; Olatunji, S.; Bouhss, A.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10088–10105.

Chapitre 3

CHAPITRE 3 : Synthèse des familles II et III

I Introduction et rétrosynthèse

A) Introduction

De façon complémentaire aux premiers travaux réalisés, nous nous sommes ensuite intéressés à la synthèse des inhibiteurs des familles II et III afin d'étudier l'influence de la flexibilité accrue de ces composés, par rapport aux précédents, sur l'activité biologique.

En effet, l'introduction d'un groupement méthylène supplémentaire en position 5', entre le squelette aminoribosyluridine et le triazole, permet d'augmenter les degrés de liberté au sein de ces molécules. Il rend également les dérivés correspondant plus hydrophobes (Figure 79).

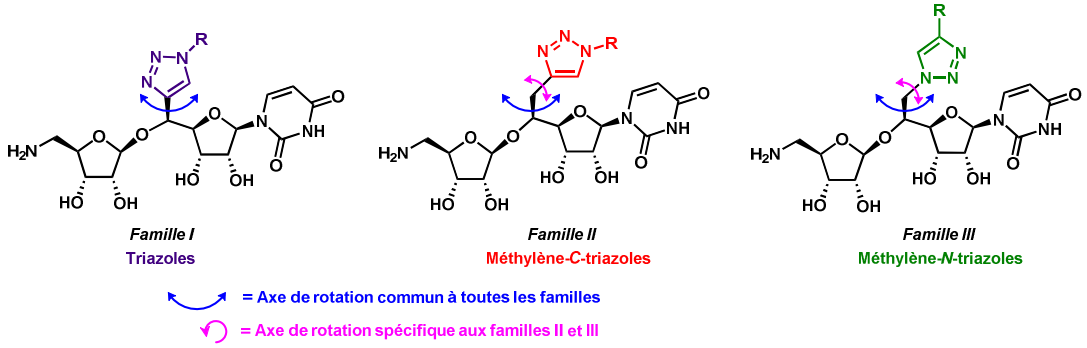


Figure 79 : Rappel des structures des familles d'inhibiteurs I, II et III et comparaison de leurs degrés de liberté

Ainsi, en faisant varier la flexibilité et en augmentant le nombre de conformations de ces molécules, nous espérons favoriser leur interaction avec l'enzyme. Par ailleurs, la présence de ce groupement méthylène supplémentaire nous donne également l'opportunité de modifier le sens d'introduction du triazole sur le squelette.

Le triazole pourrait, en effet, être connecté au squelette aminoribosyluridine, soit par son pole carboné, soit par son pole azoté. Nous nommerons ainsi la famille II, les **méthylène-*C*-triazoles** et la famille III, les **méthylène-*N*-triazoles**. En outre, l'introduction de ce méthylène supplémentaire nous permet d'envisager une toute nouvelle stratégie de synthèse.

B) Rétrosynthèse

La rétrosynthèse envisagée pour accéder aux molécules des familles II et III est la suivante (Figure 80) :

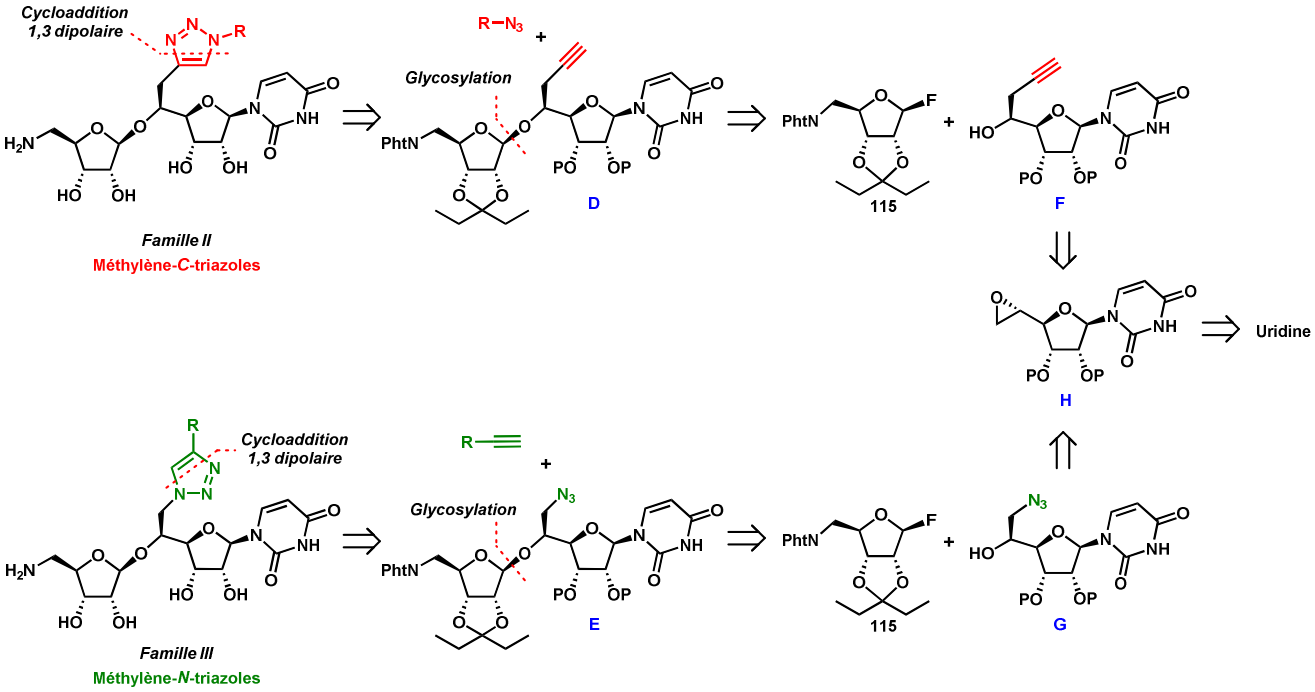


Figure 80 : Rétrosynthèse envisagée pour les molécules des familles II et III

Les méthylène-C-triazoles et les méthylène-N-triazoles d'intérêt seraient obtenus par cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre entre les squelettes aminoribosyluridine **D** et **E**, portant respectivement en position 5' un groupe méthylène-alcyne ou un groupe méthylène-azoture, et les partenaires de réactions complémentaires (soit un azoture, soit un alcyne vrai). Ces squelettes seraient préparés par réaction de glycosylation β-sélective entre l'alcool homopropargylique **F** ou l'azido alcool **G** et le fluoro-phtalimido-ribose **X**, déjà en notre possession. Les molécules **F** et **G** résulteraient de l'ouverture nucléophile régiosélective du même 5',6'-époxynucléoside **H** dérivé de l'uridine, par un ion acétylure ou un ion azoture.

Les conditions de cycloaddition et de glycosylation étant maintenant bien connues sur notre première série de molécules, les nouveaux enjeux de cette synthèse seront donc, d'une part, le contrôle de la stéréochimie du carbone 5' de l'uridine lors de la formation de l'époxyde **H** et, d'autre part, son ouverture régiosélective par les ions acétylures ou azotures. Rappelons également que la configuration de ce centre en 5' est cruciale pour l'activité biologique de ces molécules[127].

Afin de déterminer la voie la plus efficace pour parvenir à l'intermédiaire **H**, nous allons présenter différentes stratégies décrites dans la littérature pour la synthèse de 5',6'-époxynucleosides en nous concentrant sur ceux dérivant de l'uridine.

II Synthèse de la 5',6'-époxyuridine H

A) Stratégies de synthèse du dérivé 5',6'-époxyuridine H

Nous avons envisagé différentes voies de synthèse de l'époxyde primaire **H**. Celles-ci sont présentées ci-dessous :

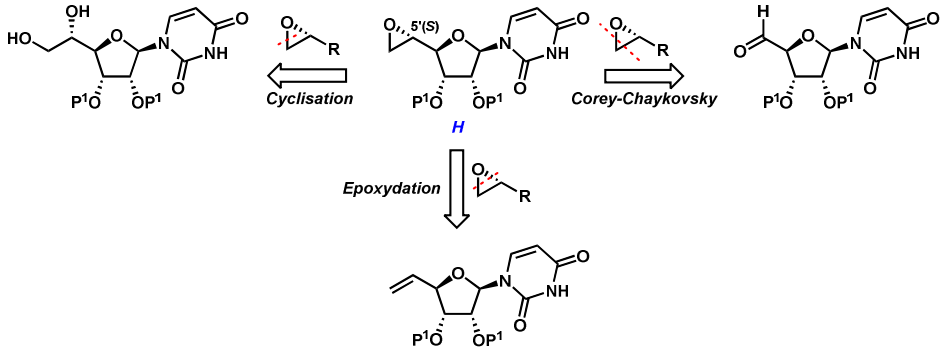


Figure 81 : Voies d'accès à l'époxyde H

Ainsi, il pourrait être obtenu, par cyclisation à partir du diol correspondant, par époxydation directe de l'alcène ou par réaction de Corey-Chaykovsky sur l'aldéhyde correspondant.

Dans toutes les routes évoquées, la principale difficulté est le contrôle de la configuration du centre asymétrique formé en position 5'. Nous allons d'abord rappeler les différentes méthodes utilisées dans la littérature pour parvenir à la synthèse de 5',6'-époxynucléoside en commençant par la cyclisation à partir du diol correspondant. Nous nous concentrerons en particulier sur l'uridine ou son homologue 2'-désoxy : la thymidine.

B) Synthèse d'une 5',6'-époxyuridine protégée, par fermeture de cycle, à partir du diol 1,2 correspondant

Ce diol a déjà été préparé soit à partir du "pool chiral", soit par dihydroxylation directe de l'alcène correspondant. Etudions à présent ces deux méthodes.

1) Synthèse du diol à partir du "pool chiral"

Un moyen de contourner la difficulté liée au contrôle de la configuration en position 5' est de débuter la synthèse en partant d'une molécule contenant déjà l'information chirale en cette position. Un tel exemple, rapporté par Hospital et coll. décrit la préparation de l'époxyuridine dans le cadre d'une étude dédiée à la synthèse d'analogues de nucléosides (Figure 82) [228].

[228] Hospital, A.; Meurillon, M.; Peyrottes, S.; Périgaud, C. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4778–4781 et références citées.

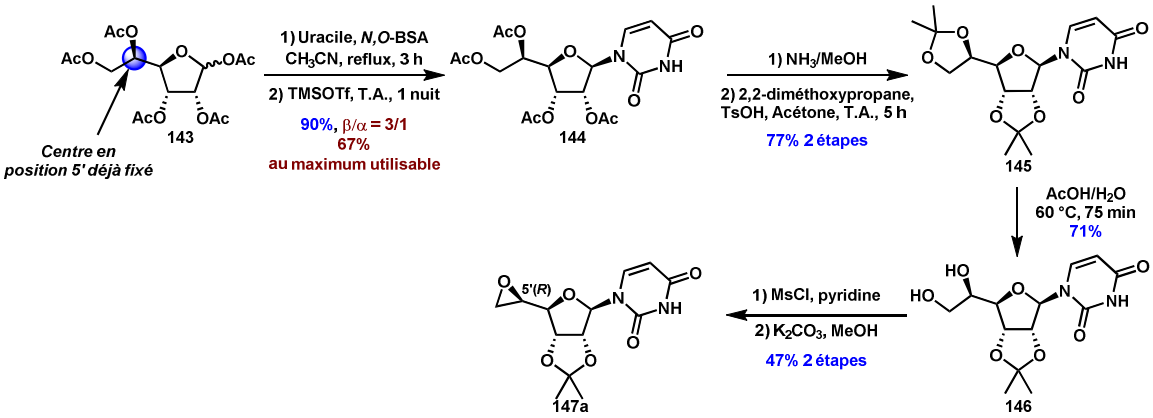


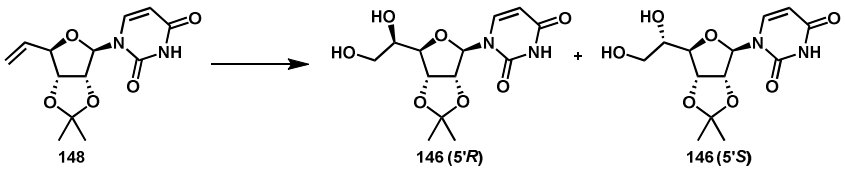
Figure 82 : Synthèse du 5'(*R*),6'-époxyuridine 147 selon Hospital et coll.[228]

Ainsi, cette synthèse a pour point de départ le D-allofuranose peracétylé **143**. Ce dernier peut être préparé en deux étapes à partir du diacétone-glucose[229]. La base nucléique est introduite dans les conditions de Vorbrüggen[230] pour conduire à un mélange d'anomères **144** inséparables (β/α= 3/1). Les acétates sont ensuite hydrolysés puis les alcools ainsi libérés sont reprotégés sous forme d'acétonides **145**. C'est seulement à cette étape que les deux anomères sont séparables mais les auteurs ne précisent pas le rendement isolé de chaque espèce. L'acétonide en position 5',6', moins encombré, est ensuite hydrolysé sélectivement en présence d'acide acétique aqueux pour fournir le diol vicinal **146** puis l'alcool primaire est activé sous forme de mésylate qui est substitué par l'alcool secondaire pour former l'époxyde **147**. Cette synthèse met en jeu sept étapes avec un rendement global de 17% à partir du sucre peracétylé **143** (11% sur neuf étapes à partir du diacétone glucose). En raison du nombre conséquent d'étapes, nous n'avons pas retenu cette voie de synthèse.

Toutefois, d'une manière plus directe, le diol **146** a également été synthétisé par dihydroxylation.

2) Synthèse du diol 146 par dihydroxylation

Le groupe de Guillerm a décrit la dihydroxylation de l'alcène **148** dans diverses conditions[231]. Les résultats sont présentés ci-après.



Conditions	Ratio *R*/*S*		
OsO_4/Morpholine	2	/	1
AD-mix α	98	/	2
AD-mix β	1	/	1

Schéma 86 : Dihydroxylation de l'alcène 148 par le groupe de Guillerm[231]

[229] Guillerm, G.; Muzard, M.; Glapski, C.; Pilard, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5803–5807.
[230] Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K.; Bennua, B. *Chem. Ber. Recl.* **1981**, *114*, 1234.
[231] Evina, C. M.; Guillerm, G. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 163–166.

Lorsque la dihydroxylation est réalisée selon la procédure d'Upjohn, en présence de tétroxyde d'osmium en quantité catalytique et d'oxyde de *N*-méthylmorpholine comme co-oxydant, le rapport diastéréoisomérique est de 2 : 1 en faveur du diastéréoisomère 146 (5'*R)*. En utilisant les conditions de dihydroxylation de Sharpless en présence d'AD-mix α, une excellente diastéréosélectivité de 98 : 2 est observée en faveur du diol 146 (5'R). A l'inverse, l'utilisation d'AD-mix β n'a pas permis aux auteurs de préparer le diol 5'S de façon majoritaire. La configuration 5'S étant souhaitée dans notre cas, nous n'avons donc pas retenu cette méthode.

L'alternative la plus directe est de former l'époxyde terminal **H** par réaction de Corey-Chaykovsky.

C) Synthèse de 5',6'-époxyuridine par réaction de Corey-Chaykovsky à partir d'un aldéhyde

Cette réaction, découverte en 1962[232a-c], a aujourd'hui de nombreuses applications en synthèse. Elle permet notamment la formation d'époxydes à partir d'aldéhydes ou de cétones par réaction de ces derniers avec des ylures de soufre (Figure 83). Historiquement, ce sont les ylures du triméthylsulfonium et du triméthylsulfoxonium qui ont été employés les premiers pour cette réaction.

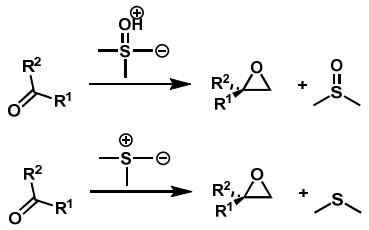


Figure 83 : Réaction de Corey-Chaykovsky[232]

Les bases généralement employées pour générer l'ylure de soufre peuvent être l'hydrure de sodium ou la soude[233]. Plus récemment, les bases de type phosphazène ont aussi été utilisées, permettant une version catalytique de cette réaction[234].

Les groupes de Ducho et Sarabia ont notamment étudié cette réaction en vue d'introduire un époxyde en position 5',6' de l'uridine (Cf Chapitre 1, Schéma 31). Ducho et coll. ont attribué la stéréochimie de l'époxyde **99b** par détermination de structure aux rayons X et ont conclu que celui-ci était de configuration 5'*R*,6'*S* (Schéma 87).

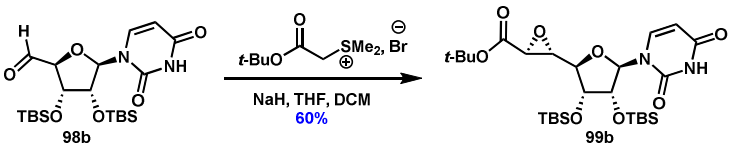


Schéma 87 : Rappel de l'approche envisagée par le groupe de Ducho

---

[232] (a)Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 866–867. (b) Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3782–3783. (c) Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353.
[233] Gololobov, Y. G.; Nesmeyanov, A. N.; Lysenko, V. P.; Boldeskul, I. E. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 2609–2651.
[234] Piccinini, A.; Kavanagh, S. A.; Connon, P. B.; Connon, S. J. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 608–611.

De manière intéressante, l'époxyde résultant n'est obtenu que sous la forme du diastéréoisomère de configuration d'intérêt. Cette voie étant la plus directe pour arriver à l'époxyde **H** nous avons d'abord commencé par la tenter.

D) Résultats : application à la synthèse du dérivé 5'*(S)*,6'-époxyuridine C

1) Réaction de Corey-Chaykovsky sur les aldéhydes 22 et 149

Nous avons donc placé l'aldéhyde **22** précédemment préparé, dans les conditions de Corey-Chaykovsky (Schéma 88).

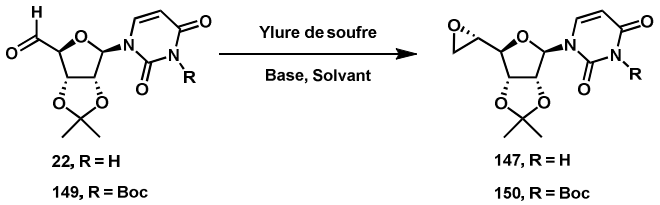


Schéma 88 : Tentatives de réaction de Corey-Chaykovsky sur les aldéhydes 22 et 149

L'aldéhyde **22** a été opposé aux ylures de soufre engendrés à partir d'iodure de triméthylsulfonium en présence des bases classiquement utilisées lors des réactions de Corey-Chaykovsky. Nous avons utilisé un excès de base pour tenir compte du proton acide du cycle uracile de l'uridine. Toutefois, quelles que soient les conditions utilisées, nous avons observé la dégradation du produit de départ avec la formation concomitante de nombreux sous-produits. Nous avons alors opté pour une méthode plus douce, générant l'ylure de soufre in *situ* à partir du tétrahydrothiophène et du triflate de méthyle en présence de phosphazène de tertiobutyle comme base[234]. Encore une fois, la dégradation des produits de départ a été observée. L'excès de base pouvant être responsable de cette dégradation nous nous en sommes affranchis en utilisant le composé **149**, disponible au laboratoire et dont le cycle uracile a été protégé par un groupement carbamate de *tertio*-butyle avant la formation de l'époxyde **150**. Cette approche s'est également révélée sans succès.

Nous avons alors décidé de changer de voie de synthèse, en utilisant l'oxydation de l'alcène correspondant. Cette approche a déjà été décrite sur l'uridine avec la réaction d'époxydation asymétrique de Sharpless.

E) Synthèse de 5',6'-époxyuridine par époxydation

1) Epoxydation asymétrique de Sharpless

L'époxydation asymétrique de Sharpless (SAE pour *Sharpless Asymetric Epoxidation)*[235] est une puissante méthode de transformation des alcools allyliques en époxyde qui lui a valu le prix Nobel de chimie en 2001. Cette réaction met en jeu un catalyseur au titane en présence de L ou D-diéthyltartrate (DET) pour induire la chiralité.

Dans le cadre d'une étude sur la synthèse de l'hétérocycle diazépanone des caprazamycines, Sarabia et coll.[165] ont utilisé la SAE pour introduire un époxyde sur l'uridine en position 5',6' (Figure 84).

---

[235] Katsuki, T.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5974–5976.

Après introduction d'une double liaison par réaction de Wittig avec le carbéthoxyméthylène triphénylphosphorane puis réduction de l'ester en alcool, celle-ci est époxydée en présence de l'un ou l'autre des catalyseurs chiraux de Sharpless.

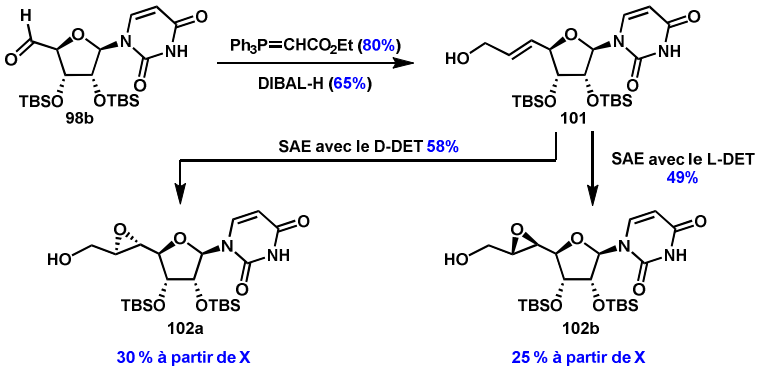


Figure 84 : Synthèse d'une 5',6'-époxyuridine par Sarabia et coll.[165]

Les époxydes **102a** et **102b** sont obtenus avec des rendements respectifs de 30 et 25% à partir de l'aldéhyde **98b** et une diastéréosélectivité totale ne dépendant que du catalyseur chiral utilisé. Toutefois, l'époxyde résultant possédant deux pôles secondaires, l'ouverture de ce dernier risquerait de poser un problème de régiosélectivité. En revanche, l'époxydation d'une double liaison terminale conduirait à un époxyde présentant un pôle primaire et peut être une alternative intéressante.

2) Epoxydation sans ligands chiraux

Au moment où nous avons débuté ce projet, aucune synthèse ne décrivait l'époxydation directe d'une double liaison terminale en position 5' sur l'uridine. Toutefois, un exemple analogue était décrit sur la thymidine[236,237] par les groupes de Middleton et Nielsen. Les auteurs rapportent la synthèse du 5',6'-époxyde correspondant (Schéma 89).

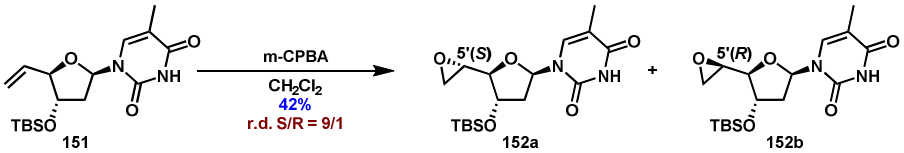


Schéma 89 : Synthèse d'une 5',6'-époxythymidine par les groupes de Middleton et Nielsen

Ainsi, l'utilisation de *m*CPBA permet la synthèse du dérivé 5'S de façon majoritaire avec un rapport diastéréoisomérique 5'S/5'R compris entre 9/1 et 10/1, suivant la publication. En revanche, aucun rendement isolé en époxyde majoritaire n'a été précisé par les auteurs. Cette voie donnant majoritairement l'époxyde de la configuration souhaitée, elle est donc potentiellement très intéressante pour la synthèse de l'époxyde **H**. Nous nous sommes donc intéressés à la synthèse d'alcènes terminaux afin de réaliser par la suite l'époxydation de la double liaison.

---

[236] Wang, G.; Middleton, P. J. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 2739-2742.
[237] Christensen, M. S.; Madsen, C. M.; Nielsen, P. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1586–1594.

2) Synthèse des l'alcènes 148 et 153

La voie la plus directe pour préparer ces alcènes est la réaction de Wittig sur les aldéhydes correspondants. Disposant des aldéhydes **122** et **98b** dérivés de l'uridine et dont le diol en 2',3' est protégé sous forme d'acétonide ou d'éther de *tert*-butyldiméthylsilyle (cf chapitre II), nous les avons engagés dans une réaction de Wittig.

a) Alcène protégé sous forme d'acétonide **148**

Ainsi, l'aldéhyde **122** préparé par oxydation à l'IBX a été placé dans les conditions de la réaction de Wittig mises au point au laboratoire par Ngan TRAN[238], ATER 2011-2012, en présence de l'ylure du bormure de méthyltriphénylphosphonium engendré par le tertiobutylate de potassium sublimé (Schéma 90).

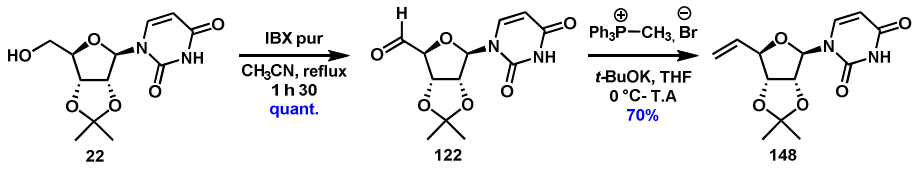


Schéma 90 : Synthèse de l'alcène 148

Dans ces conditions, l'alcène **148** a été obtenu avec un rendement de 70%.

b) Alcène protégé sous forme d'éther de *tert*-butyldiméthylesilyle **153**

Disposant de l'alcool **120** en grande quantité (cf chapitre II), nous avons donc choisi de préparer l'alcène **153** protégé sous forme d'éther de *tert*-butyldiméthylsilyle par la même séquence de réactions que celle utilisée pour la préparation de l'alcène **148** (Schéma 91).

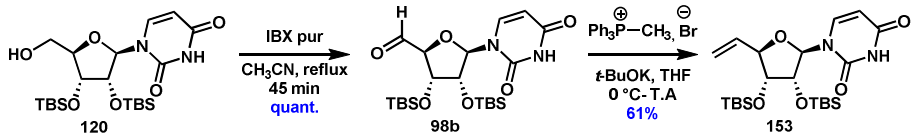


Schéma 91 : Synthèse de l'alcène 153

Ainsi, après oxydation de l'alcool **120** en aldéhyde, (cf chapitre II) ce dernier à été placé en présence d'un excès de méthylènetriphénylphosphorane dans le THF à 0°C puis à température ambiante pendant 16 heures. Dans ces conditions, l'alcène **153** a été obtenu avec un rendement de 61% à partir de l'alcool **120**. Cette réaction a été réalisée à l'échelle de 13 grammes d'alcool.

Ces deux alcènes en main, nous avons ensuite préparé les époxydes correspondants.

3) Epoxydation de l'alcène 148

Parmi les méthodes d'époxydation, seulement quelques exemples décrits dans la littérature rapportent la formation d'époxydes primaires avec de bons rendements. Ainsi, les méthodes employant les peracides ou le diméthyldioxirane comme agents d'époxydation sont

[238] Ngan Tran, ATER, Jean-Phillipe PORCHER, Rapport de stage de M2 Université Paris Descartes, 2011-2012.

les plus souvent rencontrées[239]. Nous avons commencé par l'utilisation de peracides (Tableau 4).

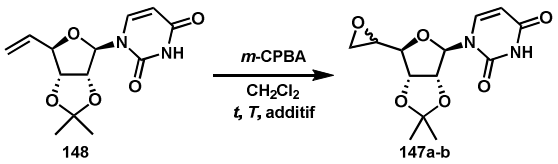


Tableau 4 : Optimisation de l'époxydation de l'alcène 148

Entrée	*t* (h)	*T* (°C)	*m*CPBA (équiv.)	Additif	Ratio **Epoxyde/Alcène**	Rdt (%)	r.d.
1	72	23	3	$NaHCO_3$	<10/90	n.d.	n.d.
2	72	35	3	$NaHCO_3$	<10/90	n.d.	n.d.
3	48	23	3	-	100/0	52	67/33

La réaction a tout d'abord été effectuée en présence d'acide *méta*-chloro-perbenzoïque (*m*CPBA) et d'hydrogénocarbonate de sodium pour neutraliser l'acide benzoïque formé (entrées 1-2). Dans ces conditions, la conversion n'est pas complète, même après trois jours de réaction. En revanche, la même réaction, conduite sans base, a permis d'obtenir les époxydes **147a-b** avec un rendement de 52% et un rapport diastéréoisomérique de 67/33 après 48 heures de réaction.

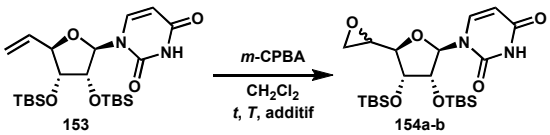
En outre, nous ne sommes pas parvenus à séparer les deux époxydes diastéréoisomères formés par chromatographies sur gel de silice quels que soient les éluants utilisés. La configuration du diastéréoisomère majoritaire n'a donc pas pu être attribuée à ce stade de la synthèse.

Nous nous sommes alors intéressés à l'époxydation de l'alcène **153**

4) Epoxydation de l'alcène 153

a) Optimisation

Nous avons tout d'abord réalisé cette oxydation par le *m*-CPBA en excès (3 équivalents), dans le dichlorométhane, en présence d'hydrogénocarbonate de sodium (Tableau 5, **entrée 1**). Après 72 heures à 30 °C, la réaction est restée incomplète et a résulté en un mélange de diastéréoisomères au niveau du carbone C5' en proportion 75/25.



[239] S. D. Burke, R. L. Danheiser, *Oxidizing and Reducing Agents*, Handbook of Reagents for Organic Synthesis.

Tableau 5 : Optimisation de l'époxydation de l'alcène 153

Entrée	*t* (h)	*T* (°C)	*m*CPBA (équiv.)	Solvant	Additif	Ratio[a] **Epoxyde/Alcène**	Ratio[a] **154a/154b**	Rdt **154a** (%)
1	72	30	3	CH_2Cl_2	$NaHCO_3$	86/14	75/25	23
2	72	30	3	CH_2Cl_2	-	91/9	75/25	32
3	24	62	3	$CHCl_3$	-	100/0	75/25	28
4	72	30	4	CH_2Cl_2	-	> 98/2	75/25	36
5	**16**	**30**	**5**	**CH_2Cl_2**	**-**	**100/0**	**75/25**	**70**
6	128	0	5	CH_2Cl_2	-	63/37	75/25	n.d.[b]

[a] Déterminé par RMN ^{1}H du brut réactionnel [b] Non déterminé

Le diastéréoisomère majoritaire **154a** a cette fois pu être isolé par chromatographie sur gel de silice avec seulement 23% de rendement car lorsqu'il reste de l'alcène **153** de départ, il est très difficile de séparer ces deux produits.

En absence de base, la conversion a été significativement augmentée permettant d'isoler **154a** avec 32% de rendement (**entrée 2**).

De façon à réduire la durée de la réaction, celle-ci a été réalisée au reflux du chloroforme. Cependant, dans ces conditions, même si la conversion a été complète en 24 heures, le rendement isolé en époxyde majoritaire **154a** n'a pas été augmenté (**entrée 3**).

L'utilisation de quatre équivalents de *m*CPBA (**entrée 4**) a également permis une conversion totale de l'alcène **153** mais seulement au bout de trois jours de réaction à 30 °C. Ainsi **154a** a été isolé avec un rendement de 36% qui s'explique par la formation de plusieurs sous-produits dont la structure n'a pas été identifiée.

Lorsque cette réaction a été menée en présence de cinq équivalents de *m*CPBA (**entrée 5**) la conversion a été complète en seulement 16 heures et l'époxyde majoritaire **154a** a été isolé avec un bon rendement de 70%. Le diastéréoisomère minoritaire **154b** a également été isolé et caractérisé. Toutefois, seul un échantillon analytique a été obtenu car nous avons pu observer qu'il se dégradait au contact de la silice.

Enfin, la réaction a été conduite à 0 °C mais, même après sept jours de réaction, la conversion n'a pas été complète et le rapport diastéréoisomérique est resté inchangé (**entrée 6**). L'emploi d'autres solvants tels que l'acétonitrile ou le toluène ainsi que l'utilisation d'autres oxydants tel que le diméthyldioxirane (DMDO) ou l'eau oxygéné n'ont pas permis d'améliorer ces résultats.

L'époxyde majoritaire **154a** pur en notre possession, nous avons ensuite tenté d'en élucider la configuration en position 5'.

b) Détermination de la configuration absolue du carbone 5'

154a a été cristallisé dans l'éthanol sous la forme de fines aiguilles. La sélection du monocristal et les études de diffraction des rayons X effectuées en collaboration avec le Pr. Thierry Prangé (Laboratoire de Cristallographie et RMN Biologiques, Université Paris-Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UMR 8015 CNRS) nous ont permis d'attribuer de façon certaine la configuration *S* au carbone C-5' de l'époxyde majoritaire **154a** (Figure 85).

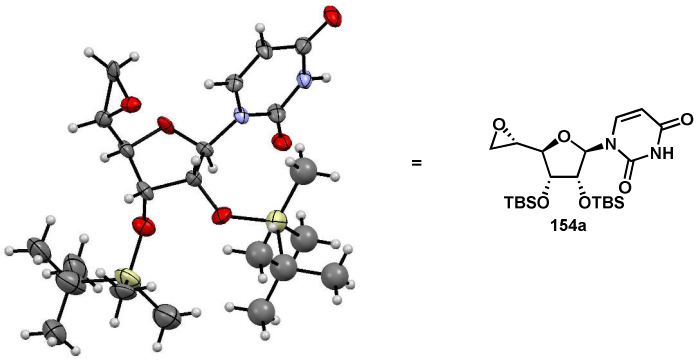


Figure 85 : Attribution de la configuration de l'époxyde 154a

La stéréochimie observée pour **154a** est en accord avec l'approche du m-CPBA majoritairement sur la face Si de la double liaison. En effet, en considérant la conformation de l'alcène **153** dans laquelle les contraintes allyliques 1,3 sont minimisées (Figure 86), l'éther silylé en position 3' encombrerait la face *Re* de l'alcène et favoriserait l'addition électrophile du mCPBA sur la face *Si*.

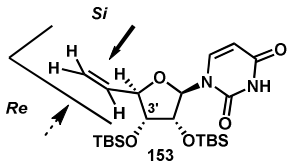


Figure 86 : Conformation de l'alcène 153 dans laquelle les contraintes allyliques 1,3 sont minimisées

La configuration de **154a**, correspondant à celle retrouvée dans les inhibiteurs naturels de MraY (liposidomycines, caprazamycines et muraymycines, chapitre I), autorise donc l'utilisation de cette voie de synthèse pour accéder aux nouvelles familles d'inhibiteurs II et III.

A ce stade de la synthèse, nous avons pu également assigner la configuration du diastéréoisomère majoritaire formé lors de l'époxydation de l'alcène **148** par corrélation chimique : Après ouverture nucléophile régiosélective des époxydes **147a-b** et **154a** et hydrolyse acide des groupements protecteurs nous avons pu conclure que l'oxirane majoritaire **147a** possédait la même configuration en position 5' que l'époxyde **154a**.

Nous nous sommes ensuite intéressés à étudier la réactivité de cet époxyde vis-à-vis de différents nucléophiles.

F) Ouverture de l'époxyde 154a : synthèses des intermédiaires F et G

De manière à synthétiser les accepteurs de glycosyle **F** et **G**, intermédiaires clefs pour l'obtention des molécules **D** et **E**, nous avons étudié la réactivité de l'époxyde **154a** vis-à-vis des ions acétylures et azotures.

Par ailleurs, de façon à exploiter la réactivité de l'époxyde **154a**, d'autres nucléophiles tels que des halogénures, amines, thiols ou alcoolates ont également été employés (Schéma 92).

Ainsi, les réactions d'ouverture de l'époxyde **154a** en présence d'amines primaires ou aromatiques ont été réalisées dans des conditions douces par simple chauffage à 40 °C dans le méthanol[240] pour donner les β-amino alcools **155a-c** correspondant avec des rendements compris entre 68 et 71%.

L'ouverture de l'époxyde **154a** par une amine secondaire comme la morpholine a mené au produit **155d** avec 76% de rendement.

Les dérivés d'acides aminés, tels que les esters méthyliques de l'alanine et de la sérine ont également été introduits selon cette même procédure. Dans ces conditions, les *N*-alkylaminoacides correspondants **156a** et **156b** ont été préparés avec des rendements respectifs de 73% et 69%. Cependant, dans le cas de la sérine, une légère épimérisation au niveau du carbone α (85:15 *rd*) a été observée (Schéma 92 **conditions a**).

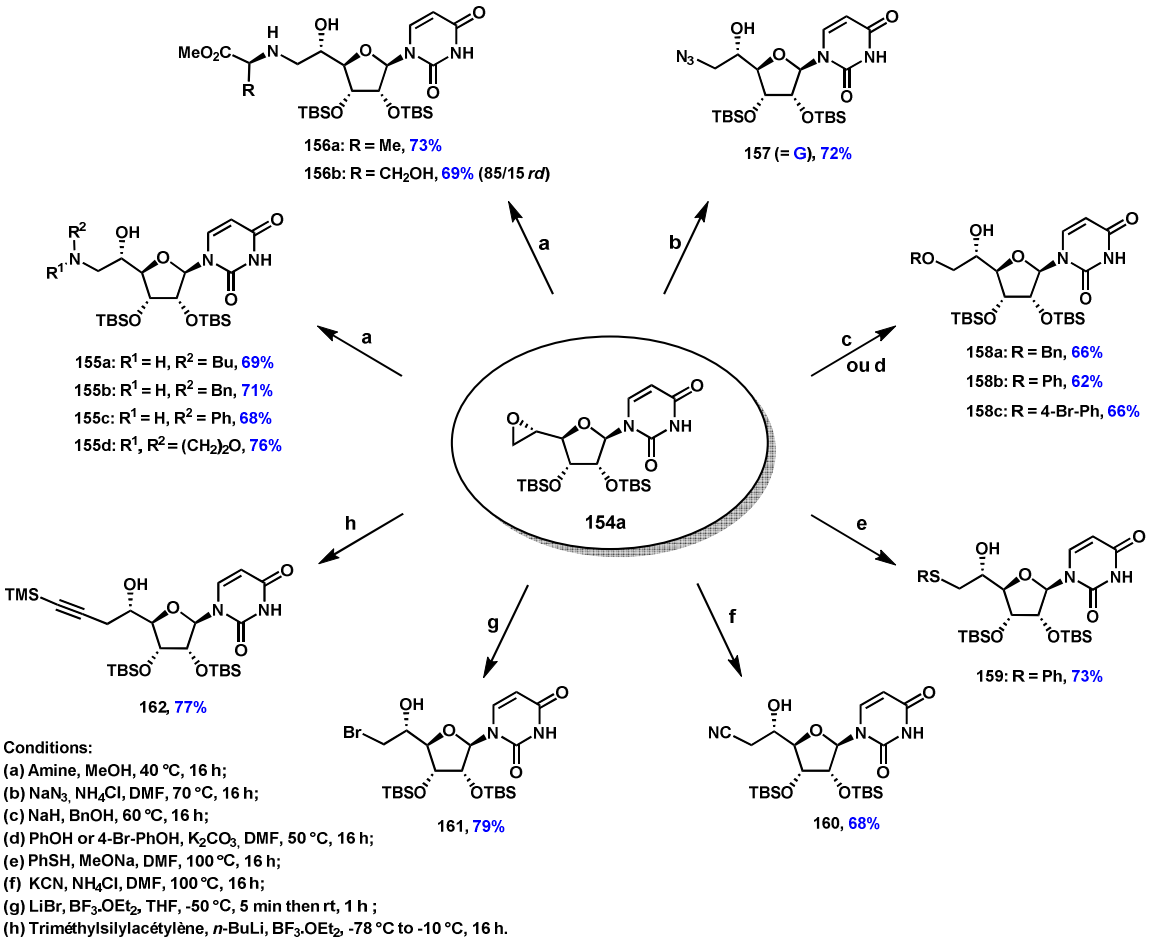


Schéma 92 : Ouvertures de l'époxyde H par divers nucléophiles

[240] Guillarme, S.; Nguyen, T.X.M.; Saluzzo, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1450-1454.

L'intermédiaire clé **157** (**= G**) a été préparé par ouverture de l'époxyde **154a** par les ions azotures en présence de chlorure d'ammonium[241] avec 72% de rendement (Schéma 92 **conditions b**).

L'ouverture par l'alcoolate de benzyle engendré par action de l'hydrure de sodium sur l'alcool benzylique dans le DMF à 60 °C a mené au produit **158a** avec 66% de rendement (Schéma 92 **conditions c**).

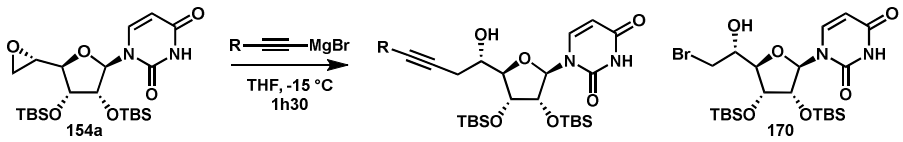
Les nucléophiles plus mous tels que le phénolate ou le bromophénolate de potassium peuvent également être introduits par chauffage de l'époxyde et du phénol correspondant dans le DMF en présence de carbonate de potassium[242] pour conduire aux produits **158b** avec 62% de rendement ou **158c** avec 66% de rendement (Schéma 92 **conditions d**).

Le thiophénolate de sodium engendré par action du méthanolate de sodium sur le thiophénol[243], a permis l'ouverture de l'époxyde **154a** à 100 °C dans le DMF pour fournir le thioéther **159** avec 73% de rendement (Schéma 92 **conditions e**).

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'introduction de nucléophiles carbonés sur l'époxyde **154a**.

Dans ce but, l'époxyde **154a** a été ouvert en présence de cyanure de potassium et de chlorure d'ammonium[244] pour donner le β-cyano alcool **160** avec 68% de rendement (Schéma 92 **conditions f**).

La synthèse de l'intermédiaire **F** a été envisagée par ouverture de l'époxyde **154a** par des ions acétylures. Les premiers essais mettant en jeu des réactifs de Grignard tels que les bromures de ((triméthylsilyl)éthynyl)- et ((triéthylsilyl)éthynyl)-magnésium ont conduit exclusivement au bromo-alcool **170** avec des rendements respectifs de 67% et 74% résultant de l'ouverture de l'époxyde **154a** par les ions bromures (Schéma 93).



R =		Rdt (%)
-Si(Me)$_3$	0	67
-Si(Et)$_3$	0	74

Schéma 93: Réaction observée lors de l'ouverture de l'époxyde H par deux acétylures de magnésium

D'une manière plus directe, le composé **170** a été également synthétisé avec 79% de rendement par ouverture nucléophile de l'époxyde **154a** par le bromure de lithium en présence d'éthérate de trifluorure de bore dans le THF[245] (Schéma 92 **conditions g**).

Le groupement alcyne a finalement été introduit avec succès en utilisant le triméthylsilylacétylure de lithium en présence de $BF_3.Et_2O$. Dans ces conditions, l'alcool

---

[241] (a) Guthrie, R. D.; Murphy, D. *J. Chem. Soc.*, **1963**, 5288-5294. (b) Matsuda, K.; Tsuchiya, T.; Torii, T.; Umezawa, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, *59*, 1397-1401.
[242] Zuccarello, G.; Bouzide, A.; Kvarnström, I.; Niklasson, G.; Svensson, S.C.T.; Brisander, M.; Danielsson, H.; Nillroth, U.; Karlén, A.; Hallberg, A.; Classon, B.; Samüelsson, B. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4898-4906.
[243] Das, I.; Pathak, T.; Suresh, C.G. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8047-8054.
[244] Paz, N.V.; Santana, A.G.; Francisco, C.G.; Suárez, E., González, C.C. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3388-3391.
[245] Rigolet, S.; McCort, I.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8129-8132.

homopropargylique **162**, intermédiaire pour la synthèse de **D** a été obtenu avec 77% de rendement (Schéma 92 **conditions h**).

Cette réaction bénéficie donc d'une grande tolérance fonctionnelle et, dans tous les cas, une régiosélectivité totale a été observée en faveur de l'ouverture sur le pôle de l'époxyde **154a** le moins encombré. De plus, la protection transitoire de l'uracile n'est pas nécessaire puisque dans les conditions réactionnelles utilisées, nous n'avons pas observé d'ouverture nucléophile intramoléculaire du cycle uracile sur l'époxyde **154a** (Figure 66).

Pour achever la synthèse des accepteurs de glycosyle **D** et **E** il ne reste qu'à déprotéger l'alcool homopropargylique **162**.

G) Déprotection de l'alcool homopropargylique 162

La déprotection de ce dernier a été effectuée en utilisant un excès de carbonate de potassium dans le méthanol à température ambiante pendant 2h30.

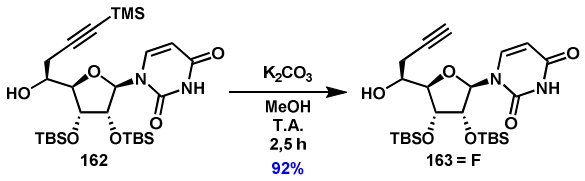


Schéma 94 : Synthèse de l'intermédiaire 163 = F

Dans ces conditions, l'intermédiaire **163** (=**F**) a été isolé avec 92% de rendement.

Les deux synthons clé **163** (=**F**) et **157** (=**G**) en main, nous nous sommes ensuite intéressés à leur glycosylation par le fluororibose **115**.

III Glycosylation des alcools 163 et 157

163 et **157** ont été respectivement opposés au fluororibose **115** déjà synthétisé (page 85), dans les même conditions que nous avons précédemment décrites : en présence d'éthérate de trifluorure de bore et de tamis moléculaire pour s'assurer d'un milieu parfaitement anhydre.

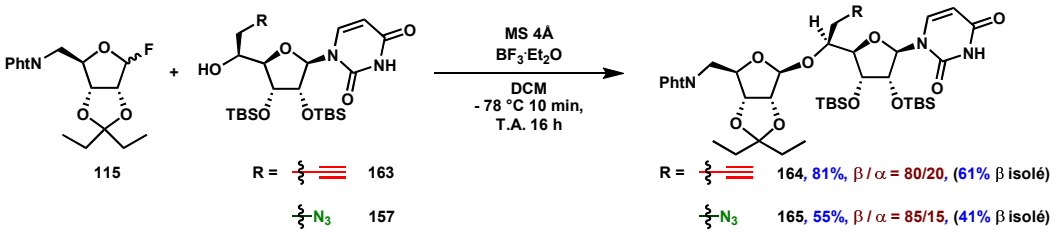


Schéma 95 : Synthèse des composés 164 et 165

Les squelettes d'intérêt **164** (=**D**) et **165** (= **E**) ont été obtenus avec des rendements respectifs de 81% et 55%. Les anomères β majoritaires ont été isolés après une délicate purification par chromatographie sur gel de silice avec 61% et 41% de rendement. Il est à noter que les groupements protecteurs silylés des fonctions alcools en position 2' et 3' influencent la diastéréosélectivité de la réaction de glycosylation. En effet, le rapport diastéréoisomérique de cette réaction est plus modeste (β/α ≅ 80/20) que lorsque ce groupement est un acétonide (β/α = 13/1, cf chapitre II). Disposant de ces deux glycosides,

nous nous sommes intéressés à la synthèse des partenaires choisis pour leur réaction de cycloaddition.

IV Préparation des partenaires pour les réactions de cycloaddition

A) Choix des partenaires de cycloaddition

La stratégie pour l'obtention des familles II et III met en jeu une cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre.

Dès lors, différents azotures de taille, polarité et longueur variées ont été choisis afin de réaliser la réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre avec l'alcyne **164**. De manière complémentaire, les alcynes vrais de structure identique ou proche des précédents ont été sélectionnés pour effectuer cette même réaction avec l'azoture **165**.

A cette étape du projet, nous avions obtenus certains résultats concernant l'activité inhibitrice des composés de la famille I vis-à-vis de MraY. Cela nous a conduits à nous intéresser aux partenaires suivants (Figure 87).

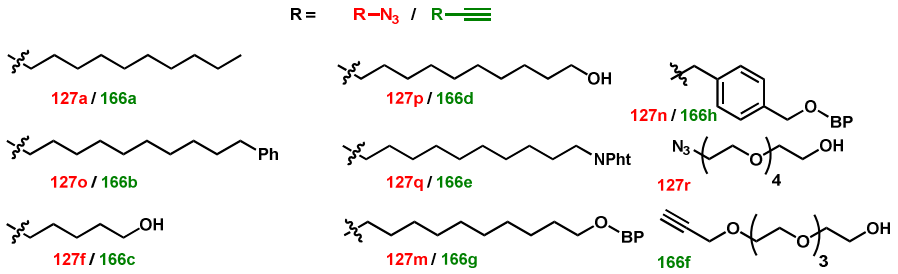


Figure 87 : Structures des azotures et des alcynes choisis pour la réaction de cycloaddition azoture-alcyne

De façon à augmenter l'hydrophobie des inhibiteurs, l'azido-phényl-décane **127o** et l'alcyne vrai correspondant **166b** ont été sélectionnés. Pour permettre l'établissement de liaisons hydrogènes, en conservant cette longueur de chaîne, nous avons également opté pour les alcools **127p/166d** et les phtalimides **127q/166e**. Les deux benzophénones présentes dans la famille I **127m** et **127n** ainsi que les alcynes correspondant **166g** et **166h** ont également fait partie de cette étude. Enfin les polyéthylènes glycol commerciaux **127r** et **166f** ont été utilisés afin d'augmenter la solubilité des composés en milieu aqueux tout en gardant une longueur de chaîne comparable aux autres. Nous allons maintenant nous intéresser à la synthèse des nouveaux azotures **127o**, **127p** et **127q**.

B) Synthèse de nouveaux azotures

Disposant déjà des azotures **127a**, **127f**, **127m** et **127n**, les azotures **127o**, **127p** et **127q** ont été préparés selon les méthodes que nous avons précédemment utilisées : par substitution nucléophile directe sur le dérivé bromé commercial, dans le cas de l'azoture **127p**, ou en utilisant un alcool activé pour les azotures **127o** et **127q**.

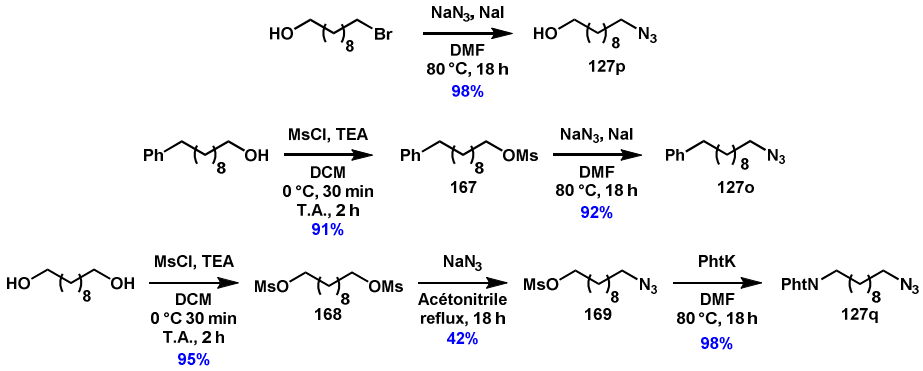


Schéma 96 : Synthèse des azotures 127o, 127p et 127q

Ainsi, l'azido-alcool **127p** a été obtenu avec 98% de rendement après traitement du bromo-décanol commercial par l'azoture de sodium en présence d'iodure de sodium dans le DMF à 80 °C pendant 18 h. La mésylation du phényldécanol et du décan-1,10-diol a été réalisée en utilisant le chlorure de mésyle et la triéthylamine et nous a permis d'obtenir le mésylate **167** et le dimésylate **168** avec respectivement 91 et 95% de rendement. La substitution du mésylate de par les ions azotures, effectuée dans les mêmes conditions que pour l'azoture **127p**, a fourni l'azido-phényldécane **127o** avec 92% de rendement.

Enfin, le 1-azido-10-phtalimido-décane **127q** a été synthétisé par la substitution successive des deux groupements mésylates de **168** : la première par l'azoture de sodium a fourni l'azido mésylate **169** avec 42% de rendement et la seconde par le phtalimidure de potassium a donné l'azidophtalimide **127q** avec 98% de rendement. Nous disposons maintenant de tous les azotures nécessaires pour effectuer la réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre (Figure 88).

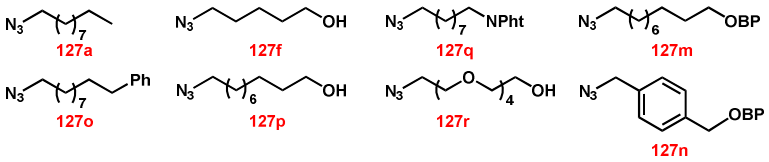


Figure 88 : Azotures synthétisés pour la réaction de cycloaddition, partenaires de réaction du composé 164

Intéressons nous à présent à la synthèse des alcynes vrais, partenaires de la réaction de cycloaddition avec le squelette **165**.

C) Synthèse des alcynes complémentaires

1) Stratégie de synthèse

De manière à comparer l'influence du lien triazole présent dans les familles II et III sur l'inhibition de MraY et en vue de préparer les triazoles de la famille III, nous avons envisagé la synthèse d'alcynes vrais, de structure identique ou proche de celles des azotures **127a-r** (Figure 89).

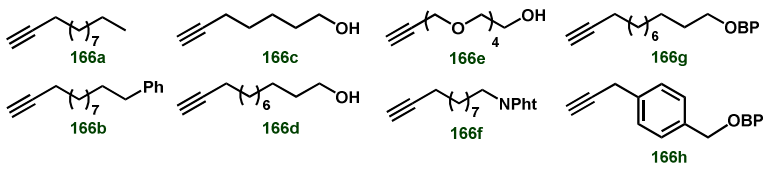


Figure 89 : Alcynes terminaux envisagés pour la réaction de cycloaddition avec le squelette 165

Parmi les partenaires sélectionnés, **166a** et **166e** ont été achetés et utilisés sans purification. Les alcynes **166b**, **166c**, **166d**, **166f**, **166g** et **166h** pourraient être préparés selon une stratégie de synthèse analogue (Schéma 97).

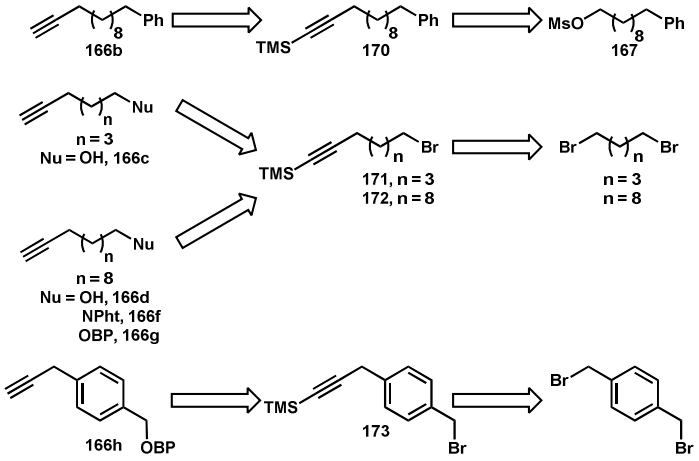


Schéma 97 : Rétrosynthèse envisagée pour les alcynes vrais choisis

L'alcyne **166b** serait préparé par substitution nucléophile du mésylate **167** déjà en notre possession par un ion alcynure convenablement protégé suivi de la déprotection de la triple liaison de l'intermédiaire **170**. Les composés **166c**, **166d**, **166f** et **166g** pourraient être obtenus par substitution nucléophile de l'atome de brome de **171** et **172** par le nucléophile approprié. Ces dérivés résulteraient de la substitution nucléophile d'un atome de brome du dibromoalcane correspondant par un ion alcynure. L'alcyne **166h** pourrait être préparé selon cette même stratégie à partir du *para*-dibromo-xylène.

Nous allons maintenant présenter les résultats concernant la synthèse de ces alcynes vrais.

2) Synthèse des alcynes vrais

Disposant déjà du mésylate **167** ce dernier a été opposé à un excès triméthylsilylacétylure de lithium en présence d'une quantité équivalente d'hexaméthylphosphoramide (HMPA) afin d'obtenir l'alcyne **170**. Dans ces conditions, le mésylate **167** n'a pas réagi (Schéma 98 conditions b). Le déplacement de ce dernier par les ions bromures dans les conditions de Finkelstein, en présence de bromure de lithium au reflux de l'acétone, a conduit au dérivé bromé **174** avec un rendement de 96% (Schéma 98 conditions a). L'alcyne **166b** a été obtenu par substitution nucléophile de l'atome de brome de **173** par le triméthylsilylacétylure de lithium en présence de HMPA (conditions b) suivi de la déprotection du groupement triméthylsilyle de **170** par les ions fluorures (conditions c) avec un rendement 65% sur deux étapes à partir du dérivé bromé **174**.

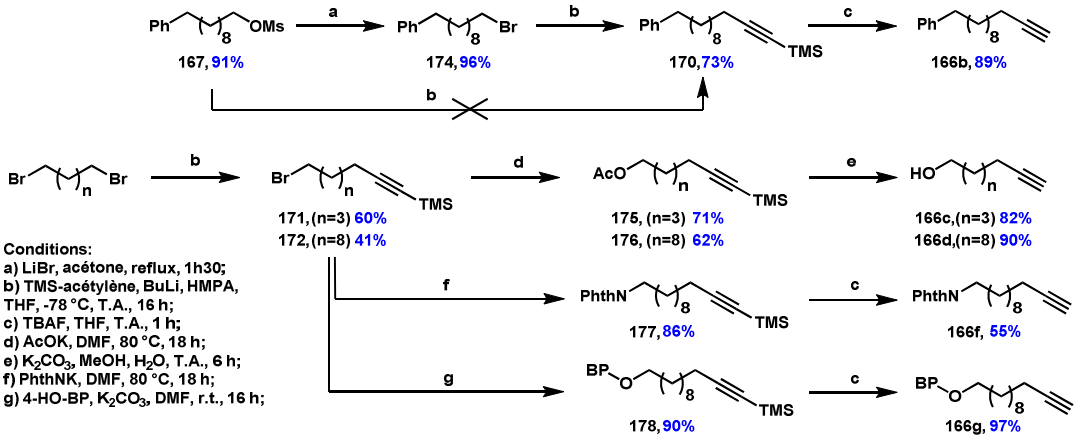


Schéma 98 : Synthèse des alcynes 166b, 166c, 166d, 166e et 166g

Les alcynes **166c**, **166d**, **166f** ont **166g** ont été obtenus à partir des dibromoalcanes correspondants par substitution nucléophile d'un de leurs atomes de brome par le triméthylsilylacétylure de lithium fournissant les bromoalcynes protégés **171** et **172** avec des rendements respectifs de 60 et 41%. Puis le second atome de brome a été substitué par l'acétate de potassium, dans le DMF à 80 °C, pendant 16 heures, pour fournir les esters **175** avec 71% de rendement et **176** avec 62% de rendement. Ces derniers ont ensuite été saponifiés par une solution aqueuse de carbonate de potassium dans le méthanol à température ambiante pendant 6 h pour conduire aux alcynes **166c** et **166d** avec 82 et 90% de rendement. Le phtalimido-alcyne **177** et la benzophénone **178** ont été obtenus par substitution nucléophile de l'atome de brome de **172** respectivement par le phtalimidure de potassium ou l'anion de la 4-hydroxy-benzophénone généré en présence de carbonate de potassium, suivie de la déprotection du groupement TMS des composés par le fluorure de tétrabutylamonium (TBAF). **166f** et **166g** ont été obtenus avec des rendements respectifs de 47 et 87% sur deux étapes.

La même stratégie a été appliquée pour la synthèse de l'alcyne **166h**. Afin de préparer le bromo-alcyne **173**, le *para*-dibromoxylène a été placé en présence d'acétylure de lithium et de HMPA. Toutefois, ces conditions ne nous ont pas permis d'obtenir le produit **173** et ont conduit à un milieu réactionnel inchangé ou dégradé.

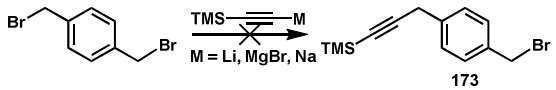


Schéma 99 : Tentative de synthèse du bromoalcyne 173

Le remplacement de l'organolithium par le réactif de grignard ou l'organosodique correspondant ont également conduit à ces résultats. Une autre route impliquant la *para*-bromo-xylyl-benzophénone **137** déjà en notre possession a été entreprise.

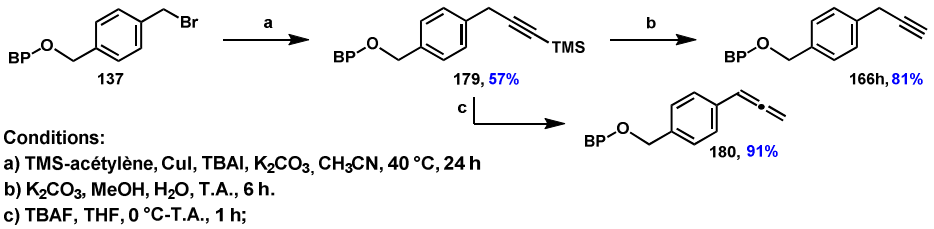


Schéma 100 : Synthèse de l'alcyne 166h et de l'allène 180

Ainsi, l'alcyne **179** a été synthétisé à partir du bromé **137** par couplage cuprocatalysé[246] avec le triméthylsilylacétylène en présence de carbonate de potassium comme base et d'iodure de tétrabutylammonium comme agent de transfert de phase dans l'acétonitrile à 40 °C pendant 24 heures. L'alcyne protégé **179** correspondant est obtenu avec 57% de rendement. La déprotection du groupement TMS est ensuite réalisée en présence de carbonate de potassium dans le méthanol, conduisant à l'alcyne vrai **166h** avec un rendement de 97%. Il est à noter que cette méthode est compatible avec la cétone libre de la benzophénone. En outre, la déprotection au TBAF de l'alcyne **179** a mené exclusivement à la formation de l'allène **180** avec 91% de rendement. La structure de ce dernier a été confirmée par analyse RMN ^{1}H et ^{13}C (protons alléniques à 6,18 ppm et carbone central de l'allène à 210 ppm).

Nous avons ainsi à notre disposition tous les partenaires des réactions de cycloaddition azoture-alcyne impliquant les intermédiaires alcynes et azoture **164** et **165**. Nous allons maintenant examiner la mise en place de ces espaceurs *C*- et *N*-triazoles en nous intéressant aux réactions de cycloaddition correspondantes.

[246] A. D. Katherine, C. A. Ryan, Jeremy E. Wulff *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3997–4000.

V Réactions de cycloaddition impliquant l'alcyne 164 et l'azoture 165

Les composés **164** et **165** ont été engagés dans la réaction de cycloaadition avec leurs partenaires complémentaires, en présence de sulfate de cuivre réduit *in situ* par l'ascorbate de sodium et de base de Hünig (DIPEA), dans un mélange *tert*-butanol/eau (Schéma 101).

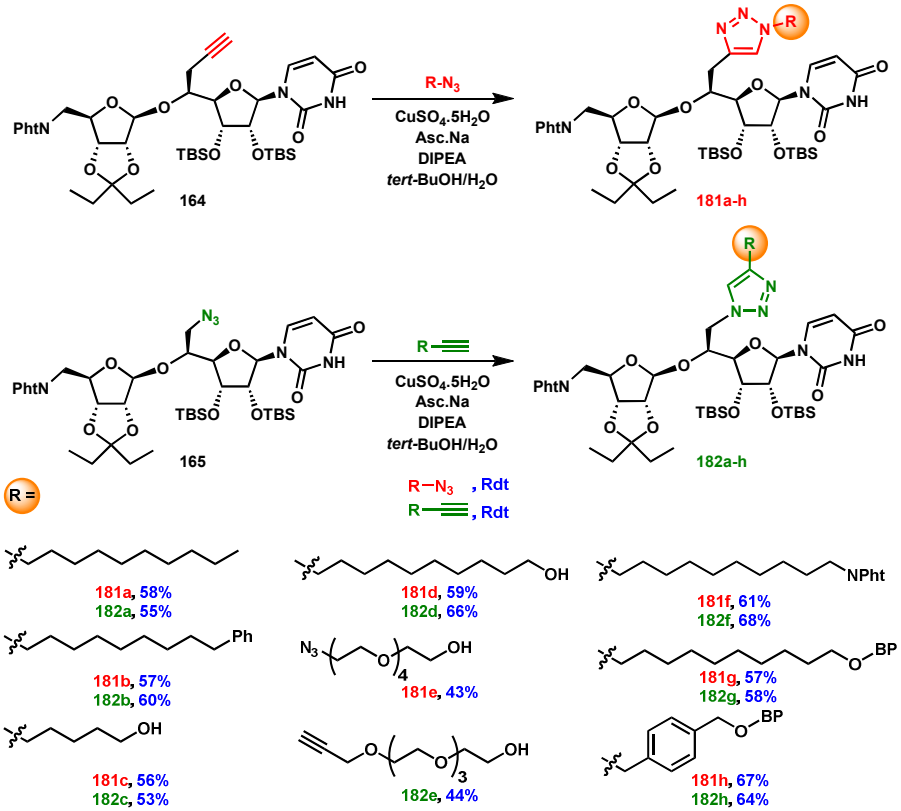


Schéma 101 : Obtention des triazoles 181 et 182a-h

Les 16 triazoles correspondants ont été obtenus avec des rendements variant de 43 à 68%. Concernant les triazoles **181e** et **182e**, un excès de phtalimidoribosyluridine-complémentaire est nécessaire pour s'assurer de la conversion complète des partenaires polyéthylène glycol, ces derniers étant inséparables des triazoles correspondants. Ces triazoles en main, nous allons ensuite nous intéresser aux étapes de déprotections.

VI Déprotections et obtention des inhibiteurs des familles II et III

En raison des difficultés de purification liées à la grande polarité des produits de la famille I (cf chapitre II), nous avons changé de stratégie quant aux déprotections finales pour accéder aux composés des familles II et III (Schéma 102). Les triazoles **181a-h** et **182a-h** ont été déprotégés et purifiés par HPLC semi-préparative après libération de l'amine en position 5'' par la méthylamine et hydrolyse acide des groupements protecteurs.

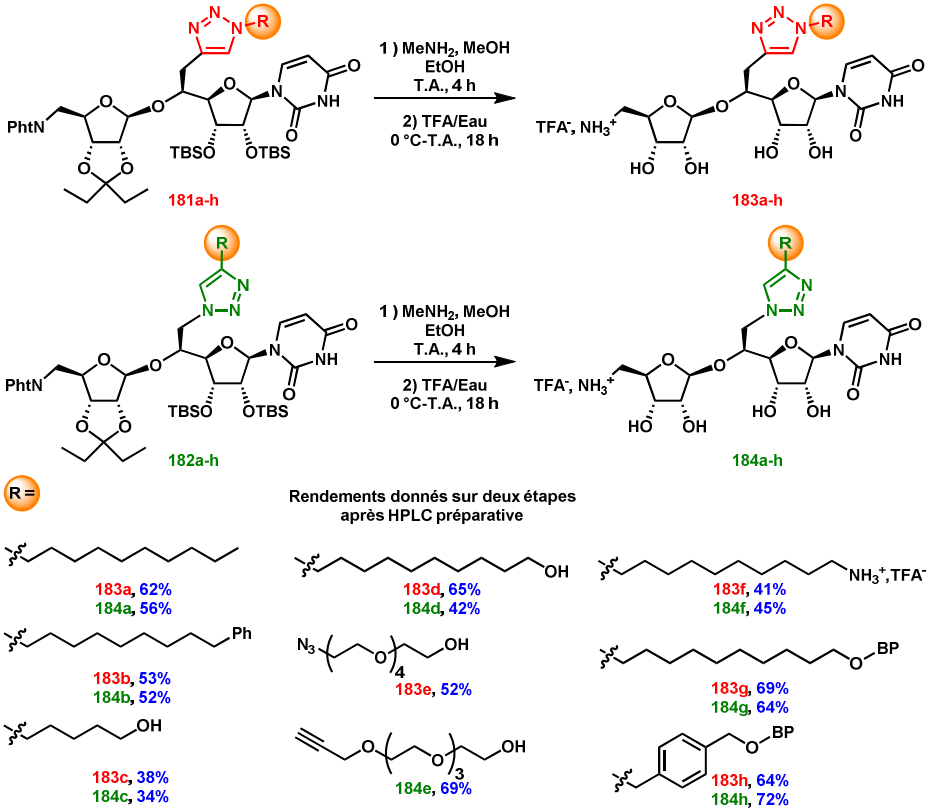


Schéma 102 : Obtentions des familles II et III

Dans chaque cas, nous avons pu vérifier que la conversion réactionnelle était complète car aucune trace de produit de départ n'a été observée sur les spectres HPLC. De façon avantageuse, la liaison glycosidique est stable dans ces conditions.

Les intermédiaires **164** et **165** ont également été déprotégés pour avoir à notre disposition les composés non-substitués par un triazole et pouvoir comparer leur activité biologique à celle des triazoles des familles II et III (Schéma 103).

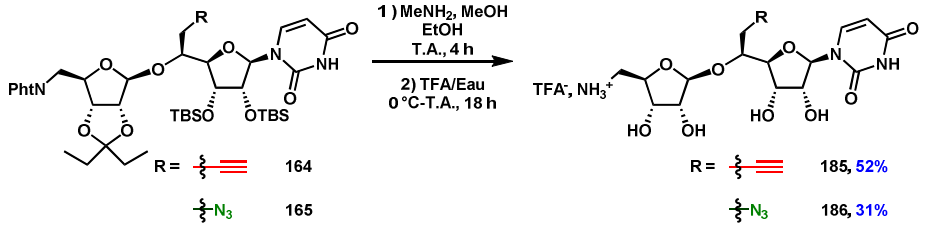


Schéma 103 : Déprotection des intermédiaires 164 et 165

Ainsi, les tétrols **185** et **186** ont été synthétisés avec 52% et 31% de rendement. Dans le cas de l'azoture **186**, le rendement modeste est expliqué par la présence de nombreux sous-produits sur le profil HPLC du brut réactionnel.

VII Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons préparé 16 inhibiteurs de structure aminoribosyluridine substitués en position 5' par différents méthylène triazoles 1,4 **183a-h** et **184a-h** (familles II et III) (Schéma 104).

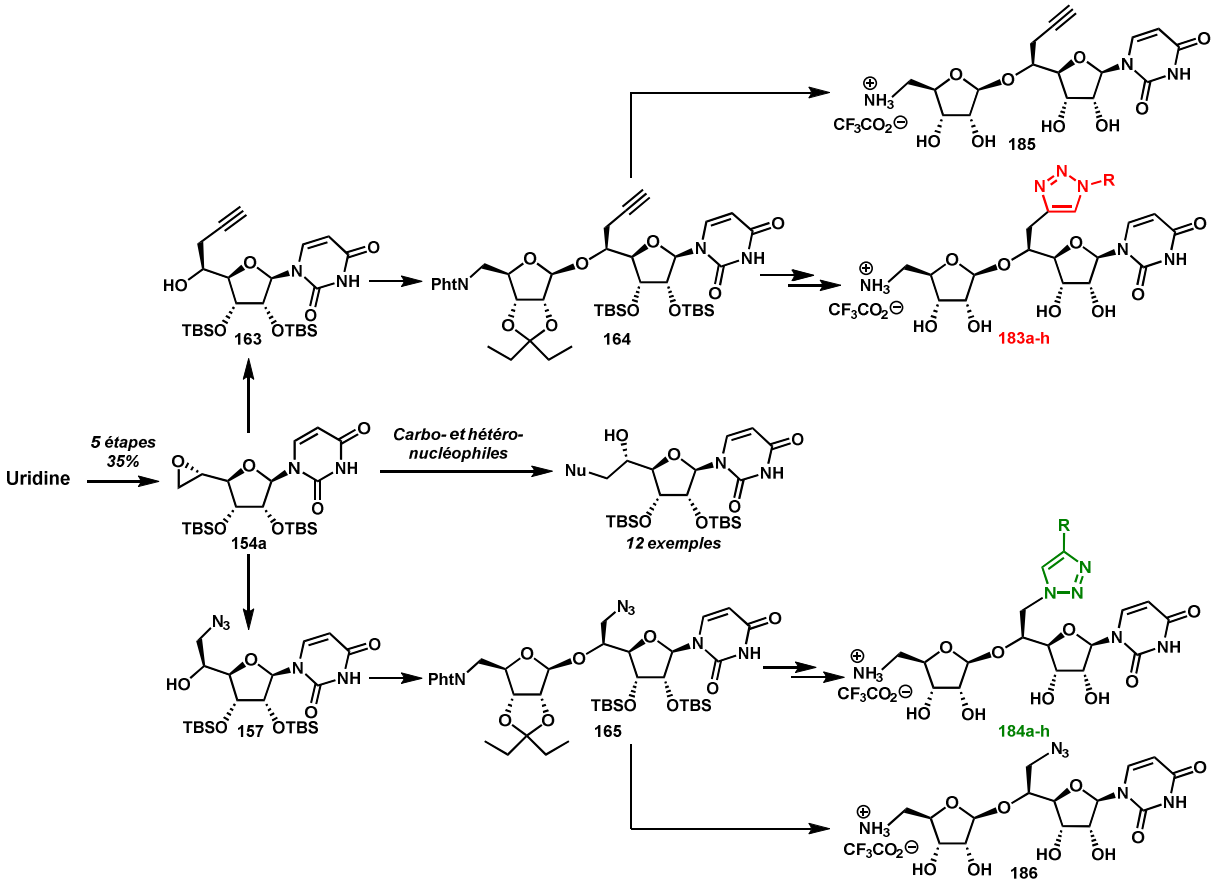


Schéma 104 : Récapitulatif du chapitre 3

L'époxyde **154a**, synthon clef de cette voie, a été préparé avec un rendement global de 35% sur cinq étapes à partir de l'uridine à l'échelle de 10 g et sa configuration en position 5' a été attribuée par détermination de structure aux rayons X. Il a été ouvert par 12 hétéro- et carbo-nucléophiles, avec de bons rendements et de manière régiosélective, fournissant un accès efficace aux dérivés de type uridine-5'-substitués. La réaction d'ouverture nucléophile de l'époxyde **154a** a également permis la synthèse des accepteurs de glycosyle **163** et **157**, dérivés indispensables pour la préparation des phtalimidoribosyluridines **164** et **165**. Ces derniers ont été obtenus et engagés dans une réaction de cycloaddition pour fournir après déprotection les triazoles des familles II et III. Par ailleurs, **164** et **165** ont également été déprotégés. Les composés **185** et **186** serviront de point de comparaison pour l'évaluation de l'activité biologique des familles II et III. L'accès aux dérivés uridine-5'-substitués a donné lieu à une publication dans la revue *The Journal of Organic Chemistry* en 2014[247].

L'évaluation de l'activité biologique des familles I, II, et III sera étudiée dans le chapitre suivant.

---

[247] Fer, M. J.; Doan, P.; Prangé, T.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7758–7765.

Chapitre 4

CHAPITRE 4 : Evaluation de l'activité biologique, comparaison entre les différentes séries et études de modélisation moléculaire

L'activité des composés synthétisés a été évaluée sur la transférase bactérienne MraY par le Dr. A. Bouhss au Laboratoire des Enveloppes Bactériennes et Antibiotiques (UMR 8619 –CNRS – Université Paris-Sud). Ce laboratoire, avec lequel l'équipe collabore depuis plusieurs années (projet européen « EUR-INTAFAR », *Inhibition of New Targets for Fighting Antibiotic Resistance*), est spécialisé dans l'étude des enzymes de la biosynthèse du peptidoglycane bactérien et a, en particulier, exprimé et purifié la transférase bactérienne MraY de différentes souches, Gram (+) et Gram (-), et mis au point un test d'activité enzymatique *in vitro* sur l'enzyme[248].

I Principe du test

Le test repose sur la mesure de la quantité de lipide I radioactif formé lorsque la réaction enzymatique est effectuée en présence du substrat UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide, marqué au ^{14}C sur le pentapeptide :

- sans inhibiteur (témoin),
- ou en présence d'un inhibiteur incubé à une concentration connue.

Le principe du test est illustré ci-après :

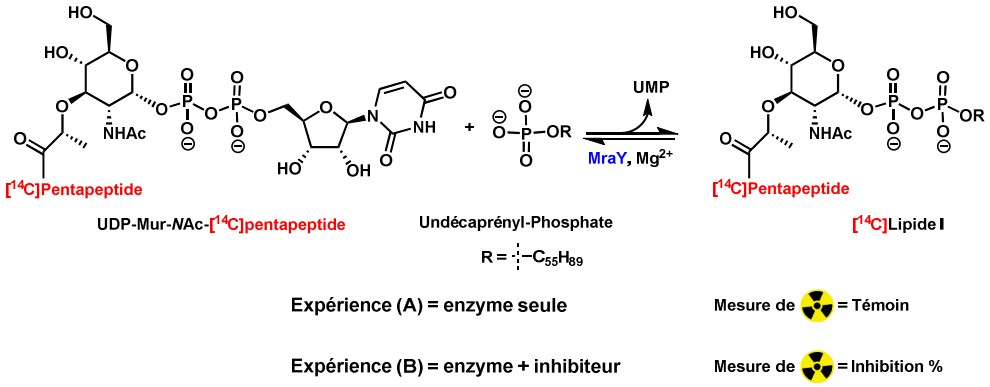


Figure 90 : Principe du test de l'activité enzymatique de MraY

Ainsi, dans une première expérience témoin (A), l'enzyme est incubée avec son subtrat radioactif puis, à la fin de la réaction, le lipide I est séparé du substrat marqué au carbone 14 par chromatographie sur couche mince, la radioactivité est localisée et quantifiée pour fournir une valeur témoin de référence.

Cette expérience est ensuite répétée (B) en présence d'un de nos inhibiteurs potentiels, incubé à une concentration connue.

---

[248] Bouhss, A.; Crouvoisier, M.; Blanot, D.; Mengin-Lecreulx, D. *J.Biol. Chem.* **2004**, *279*, 29974–29980.

Si cette molécule inhibe l'enzyme, la quantité de radioactivité mesurée en (B) sera plus faible qu'en (A). Le rapport de ces deux valeurs fournit le pourcentage d'inhibition à la concentration testée de l'inhibiteur. La CI_{50}, concentration d'inhibiteur qui diminue de moitié l'activité enzymatique, est déterminée en effectuant le test d'activité pour une série de concentrations d'inhibiteur. D'un point de vue expérimental, les conditions du test sont les suivantes : le test est toujours réalisé dans un volume total de 10 µL contenant un tampon Tris-HCl à 100 mM et pH 7,5, du $MgCl_2$, à 40 mM, de l'undécaprénylphosphate à 1.1 mM, du NaCl à 250 nM, de l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide-[^{14}C]-pentapeptide à 0,25 mM (337 Bq) et de la *N*-lauroyl sarcosine à 8.4 mM. La réaction enzymatique est initiée par ajout de l'enzyme puis le mélange est incubé à 37°C pendant 30 min dans un thermomixer (Eppendorf). La réaction est arrêtée par chauffage à 100°C pendant 1 min.

L'activité biologique des inhibiteurs synthétisés a également été évaluée *in cellulo* sur bactéries Gram (+) et Gram (-) et certaines souches pathogènes par le Dr A. Amoroso dans l'équipe du Pr Bernard Joris au Centre d'Ingénierie des Protéines de Liège. Le test[249] est effectué sur des microplaques de 200 µL en solubilisant les composés dans le DMSO juste avant leur utilisation. Les inoculats sont préparés après resuspension des colonies après 18 h de culture. Les témoins de limpidité (1.10^8 UFC.mL^{-1}) sont préparés avec des solutions salines de chlorure de sodium (NaCl 0.085%) diluée 200 fois avec du milieu de Mueller Hinton (MBH pour *Mueller Hinton Broth*). La CMI est déterminée lorsqu'aucun trouble de la limpidité n'est constaté.

II Evaluation de l'activité inhibitrice des familles I à III sur MraY

Les inhibiteurs des familles I à III ont été testés *in vitro* sur l'enzyme MraY purifiée. A titre de comparaison, l'activité des composés de référence **140**, **20**, **185** et **186** a aussi été évaluée dans les mêmes conditions (Figure 91).

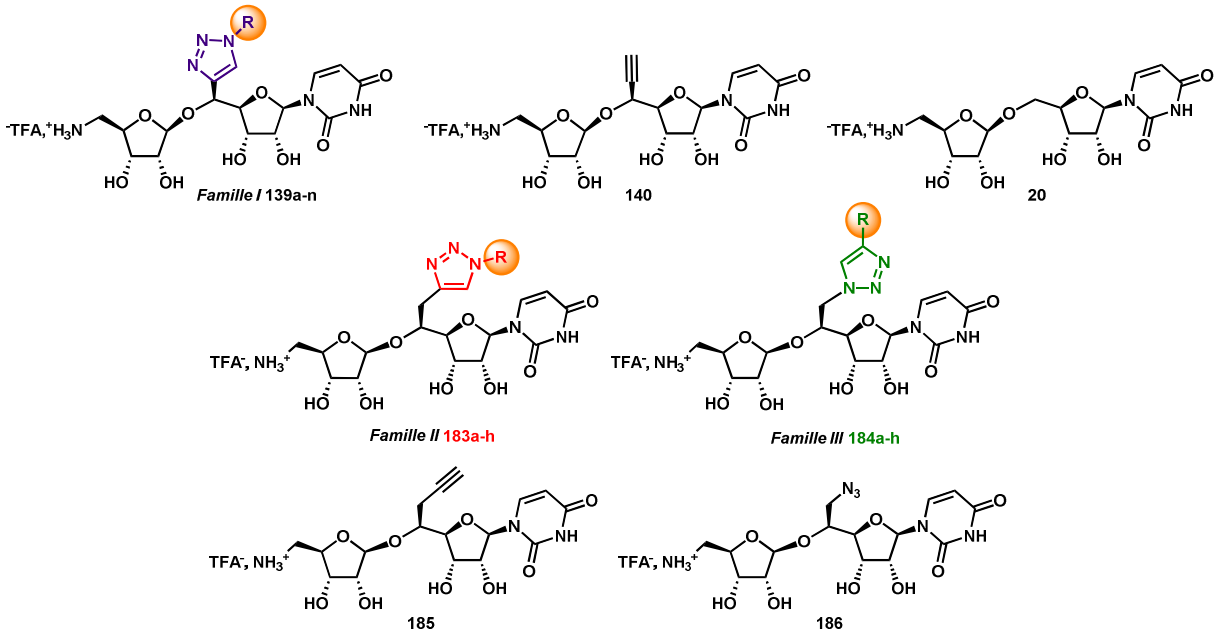


Figure 91 : Composés testés *in vitro* sur MraY putifiée

[249] European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, *Clin. Microbiol., Infect.* **2003**, *9*, ix – xv.

Les résultats concernant l'activité des molécules de la famille I sont présentés dans le tableau ci-contre (Tableau 6).

Tableau 6 : CI_{50} des inhibiteurs de la famille I sur l'enzyme MraY purifiée

Composé	R	CI_{50} (µM)
140	-	100
20	-	100
139a		140
139b		>1000
139c		250
139d		400
139e	OH	>1000
139f	OH	>1000
139g	NH_2	>1000
139h	N O	150
139i	N N	>1000
139j	N N N CF_3	>1000
139k	O O	100
139l	3 O O	100
139m	8 O O	125
139n	O O	50

Le pourcentage d'inhibition des quinze molécules synthéétisées a été mesuré à une concentration de 100 µM sur MraY purifiée de *Bacillus subtilis*. La détermination de la CI_{50} des molécules les plus actives a permis de montrer que les meilleurs inhibiteurs étaient ceux possédant une chaîne benzophénone ou une chaîne alkyle (Figure 92).

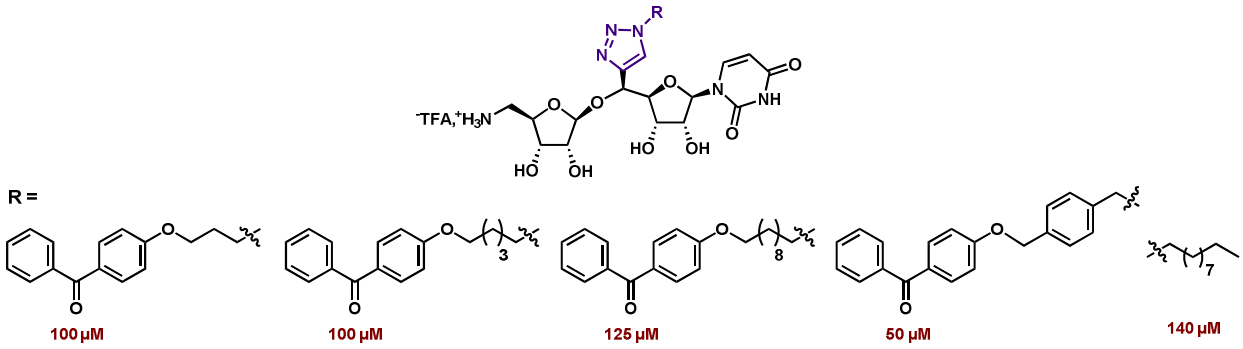


Figure 92 : CI_{50} des composés les plus actifs au sein de la famille I

Néanmoins, on constate que l'activité des composés (comprise entre 50 et 150 µM) est relativement faible par rapport aux inhibiteurs de Matsuda et coll., par exemple. Toutefois ces résultats doivent être nuancés.

En effet, il a été montré par notre collaborateur que les inhibiteurs synthétisés sont compétitifs du substrat nucléotidique de l'enzyme (Figure 93) : Avec ou sans inhibiteur, la cinétique de l'enzyme atteint la même vitesse maximale (Vm). En revanche, la constante de Michaelis Km* du substrat nucléotidique pour l'enzyme est plus élevée en présence d'inhibiteur qu'en absence de ce dernier. Cette perte d'affinité de l'enzyme pour ce substrat atteste d'une compétition entre l'inhibiteur et le substrat.

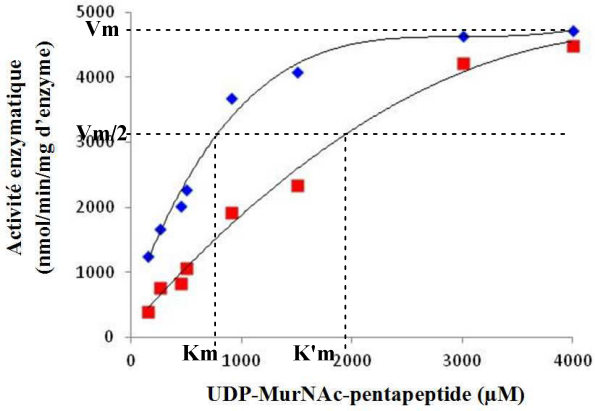


Figure 93 : Activité enzymatique de MraY purifiée en fonction de la concentration en substrat sans inhibiteur (bleu) ou en présence du composé 139k à 100 µM (rouge)

De plus, l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide possédant une Km d'environ 1 mM, les molécules synthétisées sont donc bien plus affines pour l'enzyme que celui-ci.

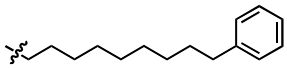
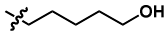
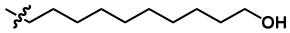
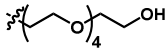
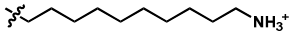
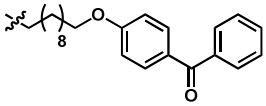
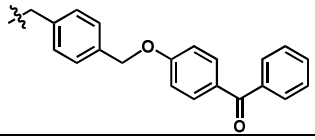
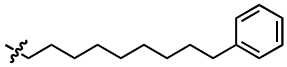
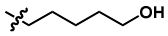
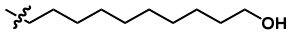
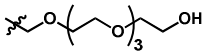
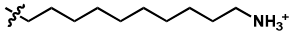
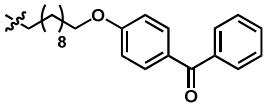
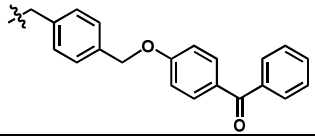
Par ailleurs, une tendance générale se dégage de ce profil d'inhibition : les molécules qui portent en bout de chaîne une fonction alcool ou amine sont peu actives de même qu'il apparait au contraire que les molécules qui présentent une chaine hydrophobe suffisamment longue sont plus actives. Ces résultats pourraient être expliqués par la structure cristallographique de MraY publiée en 2013 (cf chapitre I), qui présente un long tunnel hydrophobe à proximité du site actif de l'enzyme et qui pourrait accueillir ces substituants.

Intéressons-nous à présent aux résultats concernant les familles II et III.

* Concentration en substrat pour laquelle la vitesse de l'enzyme atteint la moitié de la vitesse maximale.

L'activité inhibitrice des composés des familles II et III a également été évaluée sur l'enzyme MraY purifiée. Les résultats sont présentés ci-dessous. A titre de comparaison, les composés de référence **185** et **186** ont aussi été testés dans les mêmes conditions (Tableau 7).

Tableau 7 : Activité inhibitrice des composés des familles II et III

Composé	Famille	R	CI_{50} (µM)	Comparaison entre les deux familles
185	-	-	150	
186	-	-	>1000	
183a	II		15	+
183b			20	+
183c			400	=
183d			40	+
183e			750	-
183f			200	=
183g			25	=
183h			20	+
184a	III		35	-
184b			30	-
184c			400	=
184d			75	-
184e			450	+
184f			250	=
184g			25	=
184h			100	-

On constate que l'activité inhibitrice des composés des familles II et III sur la transférase MraY est dans l'ensemble meilleure que celle de la famille I. La comparaison des CI_{50} obtenues pour les familles II et III montre une préférence pour les composés de structure méthylène *C*-triazoles (famille II) par rapport aux composés de structure méthylène *N* triazoles (famille III).

Les molécules qui possèdent les chaînes alkyles les plus longues sont plus actives que leurs homologues inférieurs : **183d** et **184d** sont des composés plus actifs que **183c** et **184c** respectivement. Pour une longueur de chaîne identique suffisamment longue, les inhibiteurs qui présentent une fonction alcool primaire en bout de chaîne sont plus efficaces que ceux portant une amine primaire dans cette même position. Ainsi, les molécules **183d** et **184d** inhibent plus fortement l'enzyme MraY que **183f** et **184f** respectivement. L'inhibition assez limitée des inhibiteurs **183e** et **184e**, qui comportent une chaîne polyéthylèneglycol, confirme la préférence pour une chaîne hydrophobe pouvant interagir avec le canal hydrophobe situé à proximité du site actif et mis en évidence dans la structure cristallographique de MraY.

Les activités observées confirment la préférence pour une chaîne hydrophobe et indique une tolérance pour des groupements assez volumineux si l'on se réfère à l'activité du composé **183h** (CI_{50} = 20 µM).

Afin de vérifier cette hypothèse et de proposer des modes d'interaction de nos inhibiteurs avec l'enzyme, des expériences de modélisation ont été réalisées par les Drs. Pietrancosta et Le Corre (UMR 8601 CNRS).

IV Etudes préliminaires de modélisation moléculaire

La structure aux rayons X de MraY décrite par Chung et coll. (code pdb : 4J72) est faiblement résolue (3,3 A). Cependant, cette première structure nous a permis de débuter des études préliminaires de modélisation moléculaire.

Ce travail a débuté par le « nettoyage » de la protéine et la détermination du site actif autour de l'ion Mg^{2+} présent dans la structure.

Les composés dont l'activité inhibitrice a été évaluée ont été dockés (25 conformères par composé ont été générés) à l'intérieur de ce site de liaison. Ces dockings ont été réalisés sur les logiciels Discovery Studio® en utilisant le protocole Cdocker®[250].

Environ 5200 poses ont été analysées et ont permis de mettre en évidence deux modes de fixation privilégiés : dans le premier (mode A), une partie de l'inhibiteur se fixe à l'intérieur du sillon hydrophobe identifié par Chung et coll. alors que, dans le second (mode B), l'ensemble de l'inhibiteur reste à la surface de la protéine, bloquant ainsi l'accès à ce sillon.

Le mode d'inhibition compétitif des composés est en accord avec ces deux possibilités car l'ion Mg^{2+}, indispensable à la réaction, est parfaitement chélaté par l'inhibiteur dans les deux cas, ne permettant donc pas de sélectionner l'un ou l'autre de ces deux positionnements.

Afin de déterminer si ces deux modes de liaison sont réellement envisageables expérimentalement, nous avons classé les composés en trois groupes selon leur activité :

- 1 « Actifs » ($CI_{50} < 25$ µM) ;
- 2 « Intermédiaires » (25 µM $< CI_{50} <$ 250 µM) ;
- 3 « Inactifs » ($CI_{50} > 250$ µM).

L'objectif était de voir s'il était possible de corréler l'activité des composés « actifs » et « inactifs » à un mode d'interaction privilégié au sein du site actif de MraY. De manière intéressante, la quasi-totalité des composés « inactifs » n'interagissent pas avec le sillon

[250] Wu, G.; Robertson, D. H.; Brooks, C. L.; Vieth, M. *J Comput Chem* **2003**, *24*, 1549–1562.

hydrophobe et restent à la surface de MraY (mode B). En revanche, l'analyse des poses des composés « actifs » montre qu'ils se positionnent selon le mode de fixation A, l'interaction avec la leucine 191, résidu hydrophobe situé à l'entrée du sillon, étant commune à tous les composés « actifs ».

Nous nous sommes donc plus particulièrement intéressés au mode de liaison impliquant le sillon hydrophobe (mode A). De manière surprenante, deux clusters de positionnement ressortent de manière récurrente (Figure 94) : soit la chaine hydrophobe de l'inhibiteur remplit le sillon (Figure 94-a, mode Aa), soit c'est la partie uracile qui occupe cette cavité (Figure 94-b, mode Ab).

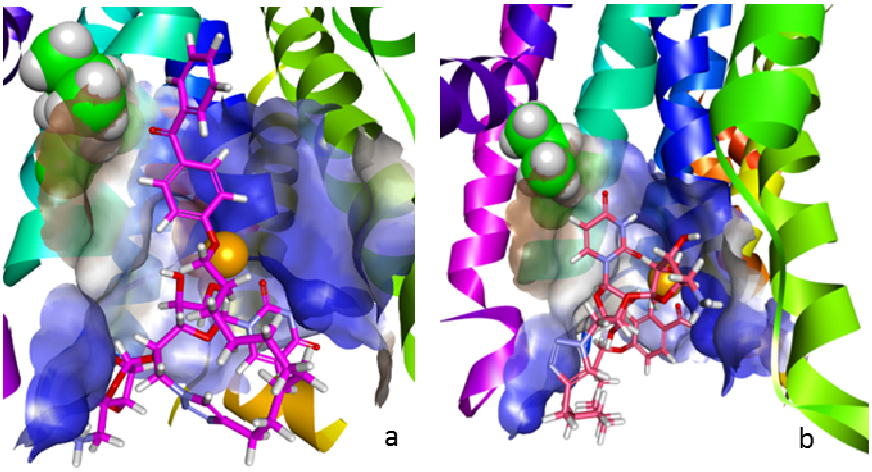


Figure 94 : Docking du composé 184h dans le sillon hydrophobe de MraY, par la chaine hydrophobe benzophénone (a) ou par l'uracile (b)

Des études de docking similaires réalisées avec le substrat nucléotidique de MraY montrent qu'il se positionnerait préférentiellement selon le mode Ab, l'uracile étant intégré au sillon hydrophobe. Dans cette conformation, le groupement phosphate P2 de l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide, siège de la réaction enzymatique, chélate l'ion Mg^{2+} (Figure 95) ce qui positionnerait le substrat nucléotidique à proximité du sillon hydrophobe qui pourrait accueillir, selon Chung et coll., l'undécaprénylphosphate, second substrat de MraY.

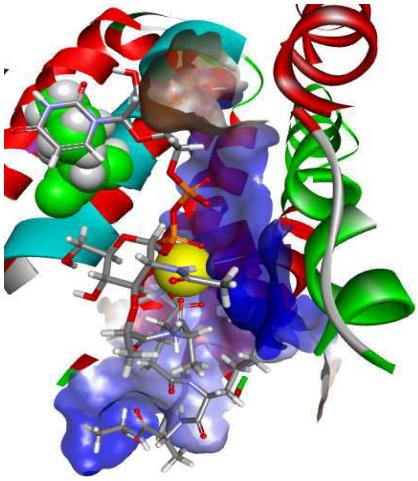


Figure 95 : Docking de l'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide au site actif de MraY

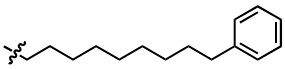
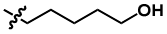
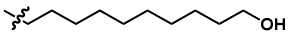
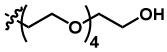
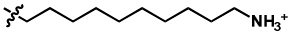
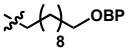
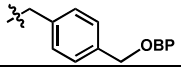
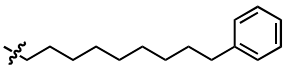
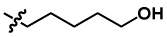
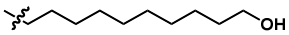
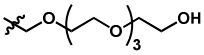
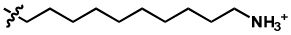
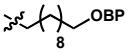
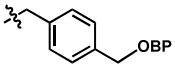
Compte tenu de ces résultats encourageants, les études de modélisation vont être poursuivies pour, d'une part, améliorer l'activité biologique de nos meilleurs composés et, d'autre part, pour identifier des bioisostères du squelette aminoribosyluridine.

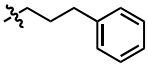
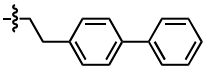
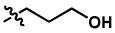
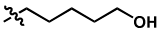
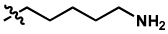
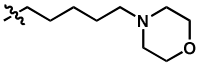
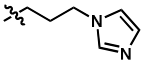
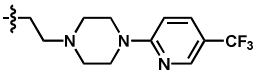
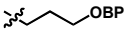
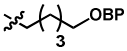
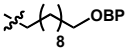
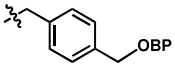
Pour compléter l'évaluation biologique des composés synthétisés, leur activité antibactérienne a été étudiée sur différentes souches de bactéries Gram (+) et Gram (-). Ces tests ont été effectués en collaboration avec l'équipe du Pr. Bernard Joris (*Centre for protein Engineering*, Université de Liège) par le Dr. Ana Amoroso.

V Evaluation de l'activité antibactérienne des inhibiteurs des familles I, II et III

Les activités antibactériennes de tous les inhibiteurs synthétisés (familles I à III) ont été évaluées sur différentes souches de bactéries Gram (+) et Gram (-) selon le protocole présenté précédemment.

Tableau 8 : Activité antibactérienne des 3 familles d'inhibiteurs

			CMI (µg/mL)					
			Gram -			Gram +		
Composé	Famille	R	*Escherichia coli* ATCC 8730	*Citrobacter freundii* ATCC 8090	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923	*Staphylococcus aureus MRSA* ATCC 43300	*Enterococcus faecium* ATCC 19434
185	ref	ref	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
186	ref	ref	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
183a	II		> 128	> 128	> 128	128	64	> 128
183b			> 128	> 128	> 128	32	16	64
183c			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
183d			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
183e			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
183f			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
183g			> 128	> 128	> 128	> 128	>128	> 128
183h			> 128	> 128	> 128	64	32	> 128
184a	III		> 128	> 128	128	16	64	> 128
184b			> 128	> 128	64	64	16	32
184c			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
184d			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
184e			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
184f			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
184g			> 128	> 128	> 128	16	8	128
184h			> 32	> 32	> 32	>32	>32	>32

Composé	Famille	R	CMI (µg/mL)					
			Gram -			Gram +		
			Escherichia coli ATCC 8730	*Citrobacter freundii* ATCC 8090	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923	*Staphylococcus aureus MRSA* ATCC 43300	*Enterococcus faecium* ATCC 19434
140	ref	ref	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139a	I		> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139b			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139c			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139d			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139e			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139f			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139g			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139h			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139i			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139j			> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32
139k			> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
139l			> 128	> 128	> 128	> 128	64	> 128
139m			> 128	> 128	> 128	8	8	> 128
139n			> 128	> 128	> 128	> 128	32	> 128

Les résultats montrent qu'aucune des molécules synthétisées ne présente d'activité sur les bactéries Gram (-) étudiées. Ceci peut être justifié par la présence de la membrane externe, spécifique aux bactéries Gram (-), qui ne pourrait être franchie par nos inhibiteurs, les empêchant ainsi d'atteindre leur cible. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce manque d'activité : la forte hydrophilie de ces composés due à la nature du squelette aminoribosyluridine et la taille de ces molécules qui doit limiter leur diffusion à travers les membranes bactériennes.

Concernant les bactéries Gram (+), sept molécules hydrophobes ont montré de l'activité. Ainsi les composés **183b**, **184a**, **184b** présentant respectivement un groupement décanyle ou 10-phényle-décane possèdent des CMI encourageantes (16 µg/mL < CMI < 32

µg/mL). Les benzophénones **183g**, **183h**, **184g** et **184** ont été démontrées comme les composés les plus actifs (8 µg/mL < MIC < 32 µg/mL). La benzophénone **139m** présente notamment une CMI de 8 µg/mL sur la souche *Staphylococcus aureus MRSA* ATCC 43300, résistante à la méthiciline.

Ces activités sont par ailleurs en bonne corrélation avec les CI_{50} observées sur MraY. On peut donc supposer que les activités observées sont donc bien dues à l'interaction des composés avec MraY présente dans les bactéries.

VI Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons analysé les résultats concernant l'évaluation biologique des 33 inhibiteurs synthétisés. Parmi ces composés, les molécules de la famille II sont plus actives que celles de la famille III, respectivement plus efficaces que celles de la famille I (Figure 96).

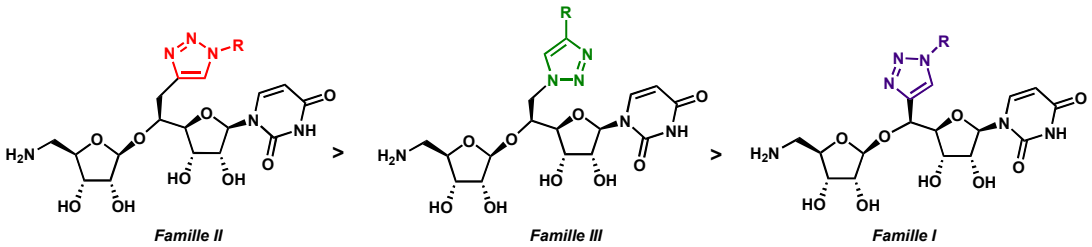


Figure 96 : Classement des familles par ordre décroissant d'activité

Les composés possédant la CI_{50} la plus faible sont ceux présentant un motif benzophénone. Par ailleurs, les molécules possédant une chaîne hydrophobe suffisamment longue sont également plus actives que leurs homologues inférieurs. Il serait intéressant de connaitre la longueur idéale de cette chaîne grâce à des expériences de modélisation moléculaire ou de co-cristallisation de nos inhibiteurs avec l'enzyme.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces composés n'ont révélé aucune activité sur les bactéries Gram (-) probablement à cause de la présence d'une membrane externe supplémentaire par rapport aux bactéries Gram (+). En revanche les molécules présentant un motif benzophénone sont actives sur les bactéries Gram (+) et une bonne corrélation est constatée entre les activités *in vitro* et *in cellulo* des molécules synthétisées.

Chapitre 5

CHAPITRE 5 : Inhibiteurs multivalents et sondes photoactivables

Dans l'objectif de valoriser le synthon éthynylaminoribosyluridine **140** (Figure 97) nous avons débuté une collaboration avec l'équipe du Dr Sébastien Gouin dans le but de fixer ce composé sur une plateforme polyfonctionnalisée permettant d'accéder à des composés multivalents de taille et complexité variées.

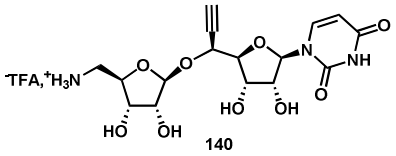


Figure 97 : Rappel de la structure de 140

Ainsi, l'effet éventuel de la multivalence sur l'activité inhibitrice de ces composés a été étudié. Nous avons également évalué un inhibiteur comportant un groupe benzophénone comme sonde photoactivable dans l'objectif d'obtenir un adduit covalent entre cette sonde et un aminoacide du site actif de MraY. La synthèse d'un réactif permettant de greffer ce motif photoactivable au substrat a également été réalisée. Ces aspects de mes travaux font l'objet du chapitre 5.

I La multivalence : généralités et plateformes typiques

Les clusters multivalents permettent la présentation de plusieurs inhibiteurs à la protéine ciblée et l'effet attendu est d'augmenter de façon significative l'inhibition avec des inhibiteurs multivalents par rapport à leurs analogues monovalents.

A) Concept de multivalence et effet « cluster » des sucres

Nous avons déjà vu que les glycosides présentaient une complexité structurale (cf chapitre II) leur permettant de véhiculer l'information au cours des nombreux processus biologiques dans lesquels ils sont impliqués[251]. On peut par exemple les retrouver dans l'organisme sous forme de bioconjugués dans les glycoprotéines, protéoglycanes, glycolipides, ou dans leur forme non conjuguée de polysaccharides[252].

Ils sont notamment mis en jeu dans la médiation d'interactions protéine-protéine. Toutefois, dans l'ensemble et de façon surprenante, la constante d'affinité d'un sucre pour sa protéine complémentaire est généralement assez faible (de l'ordre du µM)[253] par rapport aux interactions protéine-ARN par exemple (de l'ordre du nM)[254].

La nature a en partie contourné ce problème de faible affinité en tirant avantage du phénomène de multivalence. Un exemple représentatif ayant inspiré les premières études sur

---

[251] Albersheim, P.; Valent, B. S. *J Cell Biol* **1978**, *78*, 627–643.
[252] *Essentials of Glycobiology*; Varki, A.; Cummings, R. D.; Esko, J. D.; Freeze, H. H.; Stanley, P.; Bertozzi, C. R.; Hart, G. W.; Etzler, M. E., Eds.; 2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor (NY), 2009.
[253] Lee, R. T.; Lee, Y. C. *Glycoconj. J.* **2000**, *17*, 543–551.
[254] Kuwahara, M.; Obika, S. *Artif DNA PNA XNA* **2013**, *4*, 39–48.

ce phénomène est celui des lectines[253]. Ces protéines, classées en différents groupes selon leur structure, présentent à leur surface plusieurs sites de liaison aux sucres. Ainsi, la C-lectine du groupe III est impliquée dans l'immunité et peut posséder jusqu'à 18 sites de fixation pour le mannose. Pour cette raison, cette protéine appartient à la classe des MBP (*Mannose Binding Protein*)[255]. Chaque site de fixation au sucre possède une constante d'affinité faible, de l'ordre de 1 mM. Néanmoins, l'affinité de la C-lectine III pour la BSA (albumine bovine sérique), protéine pouvant présenter à sa surface plus de 24 mannoses est de 30 nM[253]. En effet, de par la présentation simultanée de multiples ligands, l'affinité entre ces deux protéines est fortement augmentée de six ordres de grandeur par rapport au simple mannose.

Ce gain d'affinité impressionnant dû à la multivalence est appelé effet « cluster » des sucres. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer ce phénomène. Compain et coll. ont notamment recensé très récemment les modes de fixations possibles de molécules multivalentes[256] sur une glycosidase. Ces composés sont généralement constitués d'une plateforme centrale fonctionnalisée par des espaceurs présentant un ou plusieurs sucres (Figure 98). Les mécanismes de fixation de ces molécules sont exposés ci-dessous.

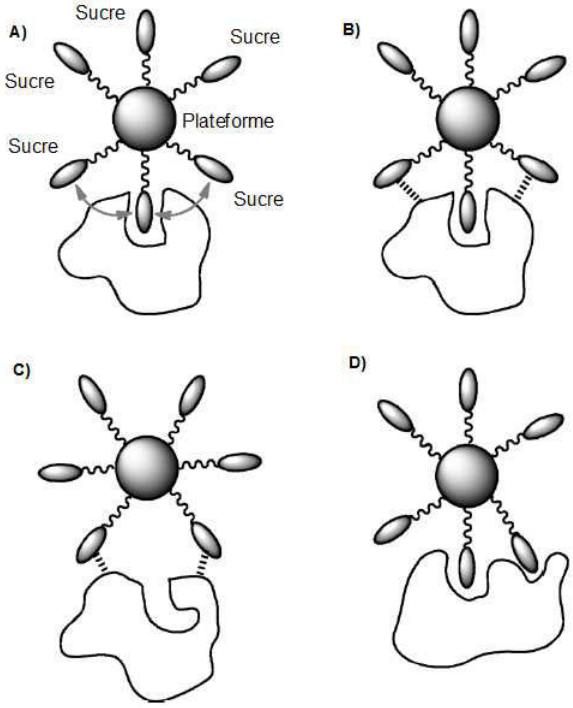


Figure 98 : Modes de fixation possibles pour une plateforme multivalente d'après Compain et Bodlenner[256]

Lorsque l'interaction entre le sucre et la cible est réversible, elle est généralement de faible affinité ce qui rend le processus d'association/dissociation rapide. Le gain d'affinité peut être expliqué par un phénomène de reliaison statistique (Figure 98 A), un autre sucre se trouvant alors suffisamment proche spatialement pour se lier à nouveau à la cible.

Un autre mode de fixation favorable implique, en plus des interactions au site de liaison du sucre, des liaisons non-spécifiques avec des domaines de la cible (Figure 98 B).

---

[255] Hoppe, H. J.; Reid, K. B. *Protein Sci.* **1994**, *3*, 1143–1158.
[256] Compain, P.; Bodlenner, A. *ChemBiochem* **2014**, *15*, 1239–1251.

Dans le cas des glycosidases, qui possèdent un site actif profond, l'augmentation de l'inhibition peut également être causée par encombrement stérique du site actif. Le sucre multivalent peut en effet se fixer sur l'enzyme grâce à des interactions non spécifiques en dehors du site actif qui n'est alors plus accessible au substrat de l'enzyme (Figure 98 C). Enfin, la présence de plusieurs sites de fixation au sucre donne lieu au gain d'affinité le plus fort par effet chélate (Figure 98 D).

Nous allons maintenant donner quelques exemples de plateformes utilisées dans la littérature.

B) Plateformes typiques

Plusieurs plateformes ont été utilisées dans la littérature pour la synthèse de molécules multivalentes. En fonction de la structure qu'elles adoptent, elles peuvent être classées en dimères, clusters, dendrimères, polymères et nanoémulsions (Figure 99)[257].

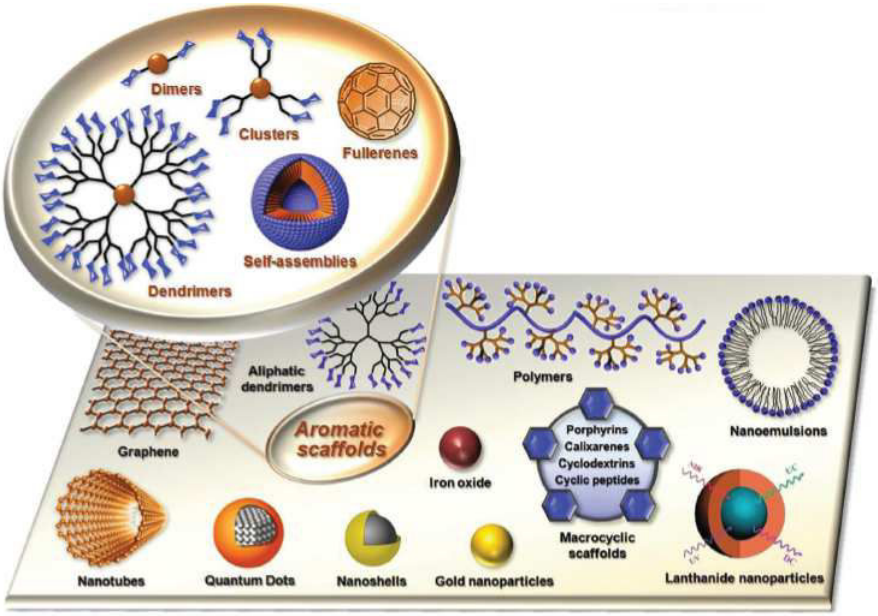


Figure 99 : Les dénominations classiques des composés multivalents d'après Chabre et Roy[257]

Concernant la nature chimique de la plateforme, divers cœurs ont été utilisés tels que des squelettes aromatiques, aliphatiques ou macrocycliques, des nanotubes de carbone, des particules de fer, d'or ou de lanthanides, des nanosphères ou encore le graphène.

Un choix judicieux de la plateforme permet de faire varier les paramètres physico-chimiques de la molécule multivalente finale telle que sa solubilité par exemple. En outre, la plateforme permet également d'offrir une orientation spatiale particulière aux différents sucres. Cette présentation dans l'espace est importante pour la reconnaissance d'une molécule par sa cible.

Dans le cadre de cette thèse, l'occasion nous a été donnée d'effectuer la synthèse d'inhibiteurs multivalents de MraY en collaboration avec l'équipe du Dr. Sébastien Gouin

---

[257] Chabre, Y. M.; Roy, R. *Chem Soc Rev* **2013**, *42*, 4657–4708.

(Université des Sciences et Techniques de Nantes-CEISAM UMR 6230 CNRS). Cette équipe possède le savoir-faire nécessaire dans le domaine de la synthèse de composés multivalents. Elle a notamment synthétisé les premiers inhibiteurs multivalents de glycosidases (Figure 100)[258]. La stratégie employée dans ces travaux consistait à fixer un inhibiteur de glycosidases connu (la désoxynojirimycine, DNJ), *via* un espaceur, à un polyéthylène glycol.

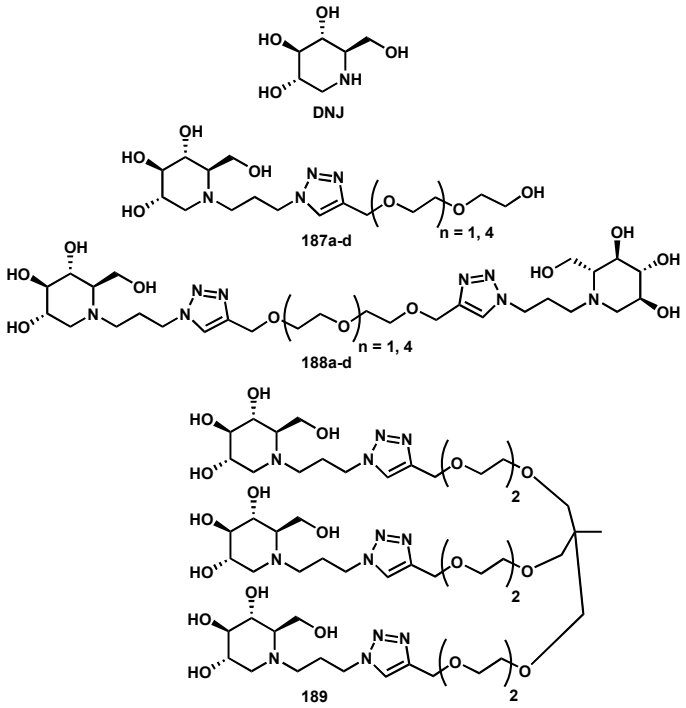


Figure 100 : Structures de la DNJ et des premiers inhibiteurs de glycosidases multivalents préparés par Gouin et coll.

Ainsi, les dérivés **187a-d**, **188a-d** et **189** respectivement mono, di et trivalents ont été obtenu par réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre à partir de la désoxynojirimycine modifiée par un groupement azido-propyle et divers polyéthylène glycols (PEG) fonctionnalisés par un ou plusieurs alcynes vrais (Schéma 105).

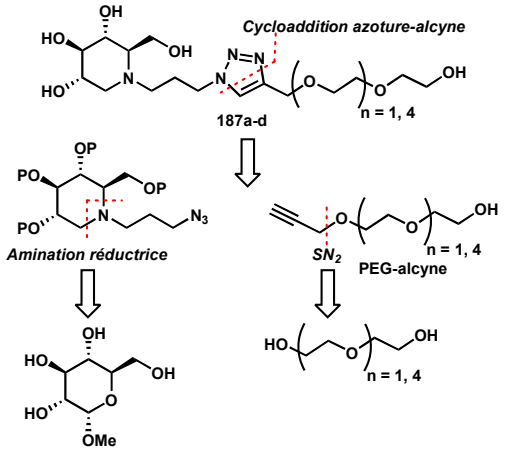


Schéma 105 : Rétrosynthèse pour les composés 187a-d

L'avantage de cette voie de synthèse est qu'elle permet d'obtenir les composés d'intérêt en peu d'étapes à partir de produits commerciaux peu onéreux. Par ailleurs, l'étape

[258] Diot, J.; García-Moreno, M. I.; Gouin, S. G.; Ortiz Mellet, C.; Haupt, K.; Kovensky, J. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 357–363.

d'amination réductrice, utilisée pour la mise en place de l'azidopropyle, permet aisément de faire varier la longueur de la chaîne présente sur la DNJ. Enfin, le coeur polyéthylène glycol (PEG) a été choisi afin d'assurer d'une bonne solubilité des molécules en milieu aqueux.

De la même manière, nous avons souhaité examiner l'effet de multivalence sur les inhibiteurs de MraY que nous avons synthétisés.

II Structure, rétrosynthèse et synthèse des composés multivalents

Dans un premier temps, le composé **140** (Figure 97) présentant un alcyne vrai nécessaire à la réaction de cycloaddition a été choisi pour faire partie de cette étude. L'utilisation de ce composé offre l'avantage de ne pas rajouter d'étapes de déprotection supplémentaires. Ce dérivé en main, nous avons cherché à obtenir les composés multivalents correspondants par cycloaddition (Figure 101).

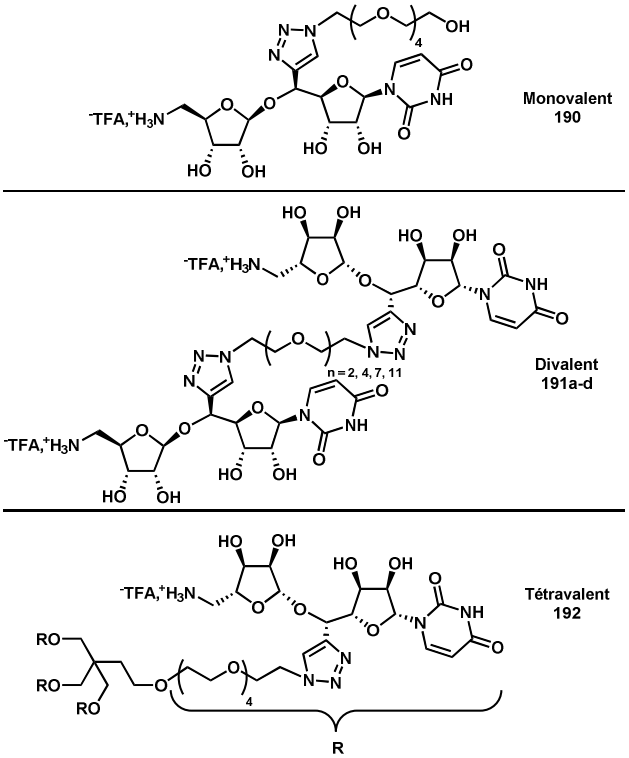


Figure 101 : Structures des molécules envisagées comme inhibiteurs multivalents de MraY

Divers PEGs ont ainsi été choisis pour faire varier à la fois la longueur de chaîne et la valence des composés.

Ces molécules résulteraient de la cycloaddition 1,3 dipolaire azoture alcyne catalysée par le cuivre entre l'alcyne **140** et les PEGs complémentaires fonctionnalisés par un groupement azoture.

Les PEGs ont été choisis comme cœurs pour la plateforme multivalente car ils sont connus pour augmenter la solubilité des molécules en milieu aqueux. Dans notre cas, les différents azotures nécessaires pour les réactions de cycloaddition ont été synthétisés dans l'équipe du Dr Sébastien Gouin par Yoan Brissonet et Sami Brument à partir de polyéthylène glycols commerciaux (Figure 102).

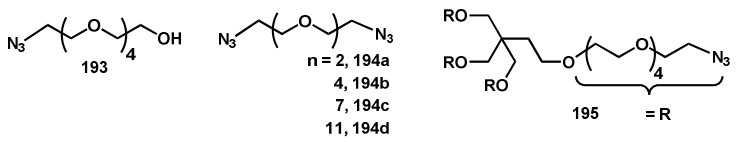


Figure 102 : Azotures préparés par l'équipe du Dr Gouin

Nous avons fourni l'alcyne **140** complémentaire pour qu'ils réalisent les réactions de cycloaddition. La première d'entre elle a été réalisée directement entre l'alcyne totalement déprotégé **140** et l'azoture **193** (Schéma 106).

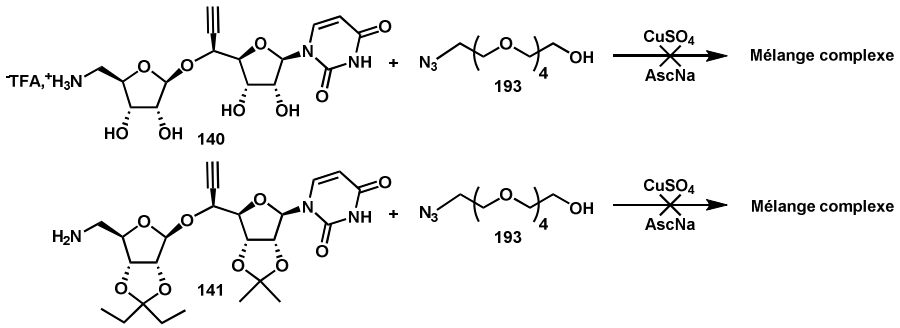


Schéma 106 : Tentative de synthèse de 190

Dans les conditions classiques de cycloaddition, la réaction a résulté en un mélange complexe. Le composé **140** possédant plusieurs sites basiques de Lewis, susceptibles de chélater le catalyseur au cuivre, nous avons choisi de fournir également l'amine **141** dont les fonctions alcool sont protégées sous forme de cétals. Cependant, avec ce composé, le même résultat est obtenu : une dégradation du milieu réactionnel est observée.

La fonction amine primaire pouvant également jouer le rôle de base de Lewis, nous avons alors décidé de la protéger sous forme de carbamate de *tert*-butyle. Ce groupement présente l'avantage de pouvoir être déprotégé en même temps que les cétals et donc de ne pas rajouter d'étape de déprotection supplémentaire (Schéma 107).

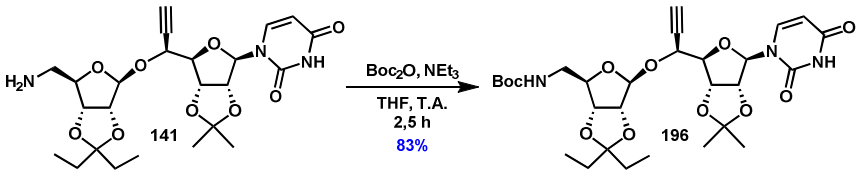


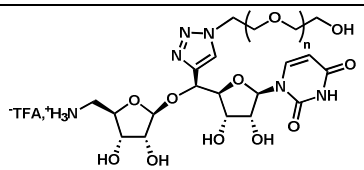
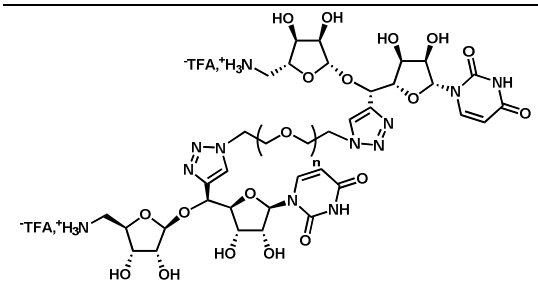
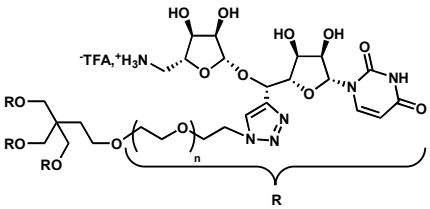
Schéma 107 : Synthèse du composé 196

Le composé **141** a alors été traité par le carbamate de *tert*-butyle en présence de triéthylamine comme base dans le THF pendant 2 h 30. Le carbamate **196** correspondant a été obtenu dans ces conditions avec 83% de rendement. Ce dernier a été également fourni à l'équipe du Dr Sébastien Gouin pour réaliser les réactions de cycloaddition. Avec ce composé, les triazoles **190**, **191a-d** et **192** ont été synthétisés avec succès et leur activité biologique a été évaluée après déprotection par hydrolyse acide des différents groupements protecteurs.

III Evaluation biologique

L'évaluation de l'activité biologique des composés multivalents a été réalisée par l'équipe du Dr. Ahmed Bouhss sur MraY et par le Dr. Ana Amoroso sur différentes bactéries Gram (+) et Gram (-). Les résultats sont présentés ci-dessous (Tableau 9).

Tableau 9 : Pourcentage d'inhibition des composés multivalents à 100 µM sur MraY purifiée

Structure	n	Composé	Inhibition (%)
	4	**190**	59
	2	**191a**	8
	4	**191b**	10
	7	**191c**	0
	11	**191d**	40
	4	**192**	14

D'une manière générale, les composés multivalents se sont révélés moins actifs que les composés monovalents correspondants. Parmi les molécules testées, le composé monovalent **190** présente une CI_{50} de l'ordre de 200 µM sur l'enzyme purifiée. L'augmentation de la valence n'augmente pas l'activité des composés. Une hypothèse pour justifier une meilleure activité du composé monovalent **190** par rapport aux multivalents serait que ces derniers n'entrent pas dans le site actif de l'enzyme à cause d'un encombrement stérique trop important dû à la longueur insuffisante du lien fixant les différents sucres, ne permettant pas à la molécule une flexibilité suffisante pour effectuer une reliaison statistique sur l'enzyme (cf paragraphe II). Il pourrait donc être intéressant de comparer l'effet de la multivalence avec des composés portant un lien plus long.

En outre, aucun des composés n'a montré d'activité sur les bactéries, probablement à cause de leur trop grande hydrophilie qui ne leur permet pas de diffuser à travers la membrane.

Nous allons maintenant présenter les résultats préliminaires concernant la synthèse de sondes photoactivables pour la caractérisation du site actif de MraY.

IV Sondes photoactivables : Intérêts, principe et résultats préliminaires

A) Intérêt

A l'heure actuelle, nous ne disposons pas d'information concernant les interactions de nos inhibiteurs avec le site actif de MraY qui permette de rationaliser les activités obtenues même si des tendances se dégagent au sein de l'étude de la relation structure-activité. Toutefois, les expériences de modélisation moléculaire menées entre nos inhibiteurs et l'enzyme ont montré des résultats encourageants nous permettant de proposer que les molécules fonctionnalisées par une chaîne hydrophobe intéragiraient avec le canal hydrophobe de l'enzyme. Cette hypothèse étant en bonne corrélation avec les activités observées, plusieurs possibilités s'offrent à nous dans le but de confirmer ces données :

- des expériences de co-cristallisation de nos inhibiteurs avec l'enzyme ;
- l'utilisation de nos inhibiteurs comme sondes pour déterminer les interactions mises en jeu au site actif de MraY.

Cette deuxième possibilité a été envisagée au cours de ce travail de thèse grâce aux inhibiteurs présentant une benzophénone, motif photoactivable utilisé comme sonde moléculaire. Après avoir donné le principe du fonctionnement des sondes couramment employées dans la littérature, nous présenterons nos résultats préliminaires concernant quelques expériences de photo-activation.

B) Principe et sondes photoactivables utilisées

Quel que soit le groupement utilisé comme sonde photoactivable, le principe de fonctionnement est toujours le même : suite à l'irradiation de la sonde à une longueur d'onde dépendante de la molécule utilisée il se forme une espèce réactive capable de se lier de manière covalente à un acide aminé de la protéine sondée (Schéma 108).

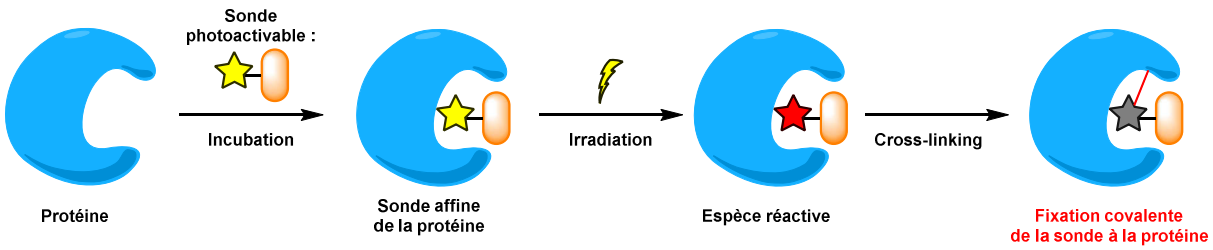


Schéma 108 : Principe de fonctionnement d'une sonde moléculaire photoactivable

De manière à éviter toute fixation aléatoire de l'espèce réactive à la protéine étudiée, la sonde doit être sélective de celle-ci et donc posséder une bonne affinité pour cette dernière.
L'acide aminé fixé peut ensuite être identifié par cristallographie ou spectrométrie de masse.
Plusieurs sondes ont été décrites dans la littérature[259] afin de réaliser ces études (Tableau 10).

[259] Peng, T.; Yuan, X.; Hang, H. C. *Curr Opin Chem Biol* **2014**, *21C*, 144–153.

Tableau 10 : Groupes photoactivables les plus utilisés

Groupement photoactivable	Espèce réactive	Sous produit observé	Activation
Azotures d'aryle	Nitrènes	Cétènes d'imine	Irradiation à 250 nm
Diazirines	Carbènes	Composés Diazo	Irradiation à 300-380 nm
Benzophénone	Bi-radical cétyle	Aucun	Irradiation à 350-365 nm

Ainsi, les azotures d'aryle, les diazirines ou la benzophénone sont les groupements photoactivables les plus utilisés. Ils sont tous, stables, biocompatibles, et possèdent une grande réactivité une fois activés[260, 261 ,262]. Ces groupes présentent les avantages et les inconvénients suivants :

- les azotures sont des groupes de petite taille leur permettant de s'insérer facilement dans le site actif d'une enzyme, cependant, leur longueur d'onde d'activation haute en énergie (250 nm), est susceptible de causer des dommages à la protéine. Par ailleurs, les nitrènes réactifs formés lors de leur activation sont connus pour se réarranger facilement en cétène d'imine.[263] La formation de ces composés ne réagissant qu'avec les nucléophiles tel que l'eau réduirait l'efficacité de la photoactivation ;

- les diazirines sont activées à des longueurs d'onde de plus faible énergie (300-380 nm) et les carbènes formés sont plus réactifs que les nitrènes correspondant[264]. Néanmoins, la formation d'un sous-produit de type diazo, moins réactif est souvent constatée[265]. Cette dernière rend le processus de photoactivation moins efficace.

- la benzophénone est un groupe plus volumineux, pouvant parfois poser un problème d'encombrement stérique pour entrer au site actif de l'enzyme. Toutefois, Il peut être activé à des longueurs d'onde faible en énergie et son activation ne génère aucun sous-produit. En outre le bi-radical cétyle généré lors de l'irradiation lumineuse est moins réactif que les

[260] Tanaka, Y.; Bond, M. R.; Kohler, J. J. *Mol Biosyst* **2008**, *4*, 473–480.
[261] Brunner, J. *Annu. Rev. Biochem.* **1993**, *62*, 483–514.
[262] Xia, Y.; Peng, L. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 7880–7929.
[263] Schrock, A. K.; Schuster, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5228–5234.
[264] Das, J. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 4405–4417.
[265] Brunner, J.; Senn, H.; Richards, F. M. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 3313–3318.

nitrènes et les carbènes mais présente l'avantage de pouvoir réagir sélectivement sur les liaisons C-H d'acide aminé, même en présence d'eau[266].

Nous avons donc retenu ce dernier groupement comme groupement photoactivable pour nos molécules. Rappelons maintenant la structure des sondes déjà synthétisées.

C) Sondes photoactivables synthétisées et préparation d'un linker

La structure des sondes photoactivables déjà synthétisées au laboratoire (cf chapitre II et III) est rappelée ci-dessous (Figure 103). Il a été montré que ces huit sondes possédent une bonne affinité pour MraY (10 µM < CI_{50} < 200 µM), nécessaire pour effectuer les essais de photoactivation.

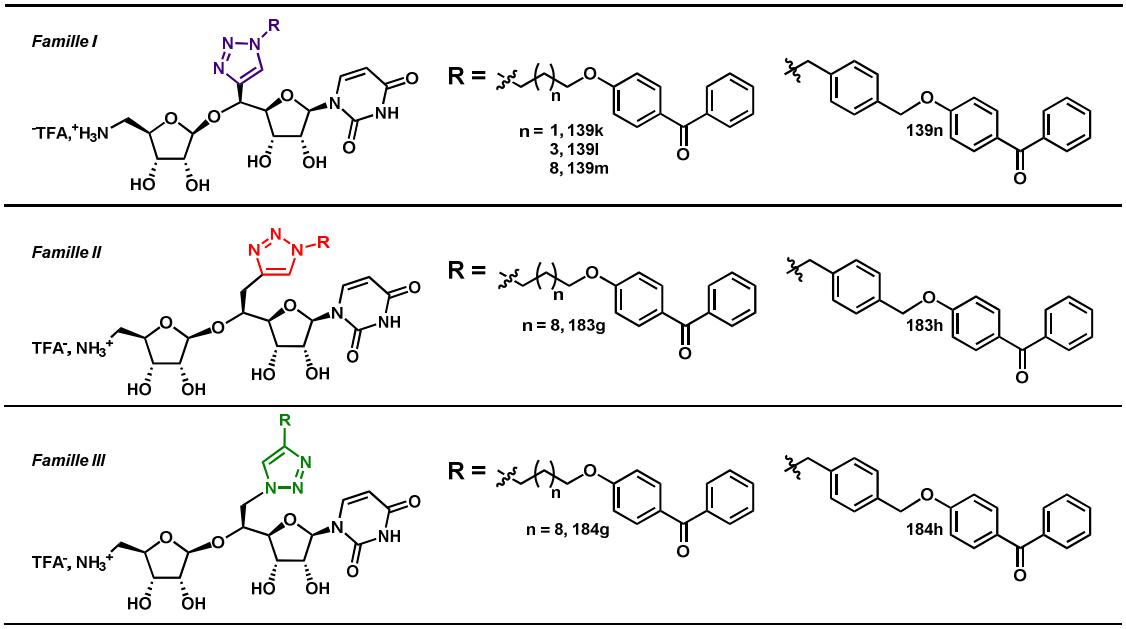


Figure 103 : Rappel des sondes photoactivables synthétisées

De façon complémentaire, nous avons également étudié la fonctionnalisation du substrat naturel de MraY (L'UDP-Mur*N*Ac-pentapeptide) par une benzophénone **197** (Schéma 109). L'objectif a été de fournir à nos collaborateurs biochimistes un synthon permettant la fonctionnalisation de la chaine latérale du pentapeptide du substrat par un motif benzophénone, introduit sur un espaceur portant un chlorure de sulfonyle en bout de chaine.

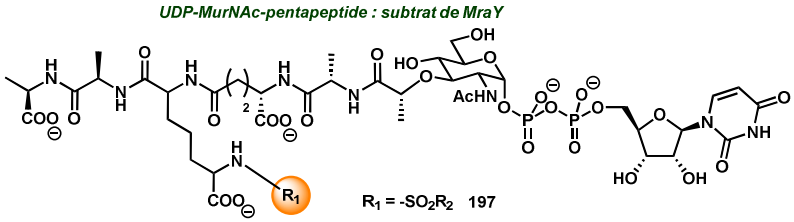


Schéma 109 : Structure su substrat de MraY modifié par réaction avec un chlorure de sulfonyle 197

[266] Dormán, G.; Prestwich, G. D. *Biochemistry* **1994**, *33*, 5661–5673.

Nous avons donc effectué la synthèse d'un linker comportant ce groupe photoactivable et un chlorure de sulfonyle.

Cette molécule peut être obtenue en deux étapes à partir de la propane sultone commerciale. L'introduction de la fonction sulfonyle sur la 4-hydroxy-benzophénone a été éffectuée en présence de propane sultone et de soude aqueuse comme base[267] et conduit au sel de sodium **198** avec 42% de rendement (Schéma 110).

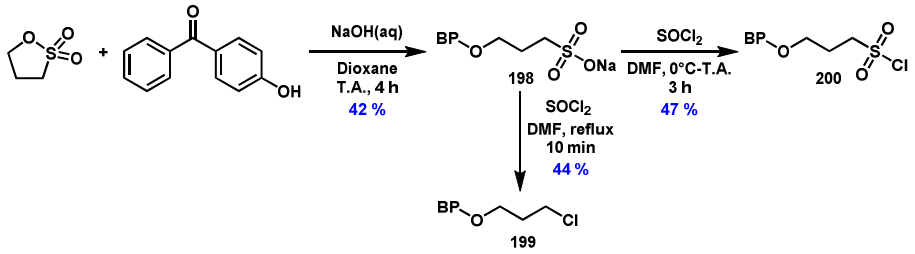


Schéma 110 : Introduction de la fonction sulfone sur la benzophénone

La transformation de ce dernier en chlorure de sulfonyle a ensuite été tentée en utilisant le chlorure de thionyle au reflux du DMF pendant dix minutes. Dans ces conditions trop drastiques, seul le composé chloré **199** a été obtenu avec 44% de rendement. La réaction réalisée à température ambiante jusqu'à conversion complète du sel de sodium de départ pendant trois heures nous a permis d'obtenir le chlorure de sulfonyle **200** avec 47% de rendement après chromatographie sur gel de silice. Ce rendement modeste est dû à la dégradation du chlorure de sulfonyle sur la silice.

Ce chlorure de sulfonyle a ensuite été greffé sur le substrat naturel de MraY par l'équipe du Dr. Ahmed Bouhss (Figure 104).

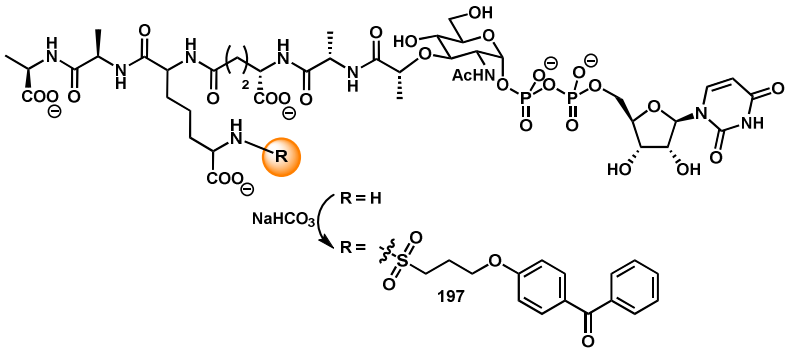


Figure 104 : Structure du substrat de MraY modifié par une benzophénone X

Les études de photoactivation sur ces sondes sont actuellement en cours. Le principe est exposé ci-après (Schéma 111).

[267] Zhang, T.; Fan, H.; Zhou, J.; Liu, G.; Feng, G.; Jin, Q. *Macromolecules* **2006**, *39*, 7839–7843.

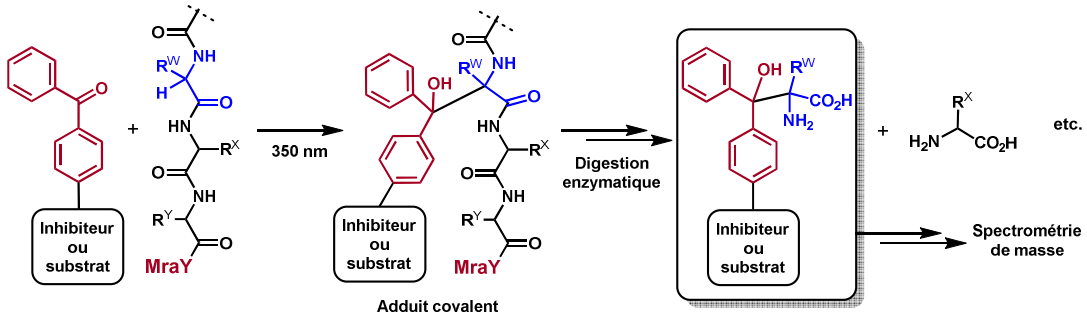


Schéma 111 : Principe du test utilisé lors de l'utilisation de nos sondes photoactivables

Une fois incubé avec l'enzyme MraY, la molécule présentant une benzophénone est irradiée à 350 nm. Dans ces conditions, le bi-radical cétyle généré (cf A) est capable de s'insérer dans n'importe quelle liaison C-H d'acide aminé proche dans l'espace, formant ainsi de manière irréversible un adduit covalent avec MraY. Après digestion enzymatique et analyse des fragments par spéctrométrie de masse, l'acide aminé en question pourra être identifié par comparaison avec la séquence de MraY. Nous déterminerons ainsi quelles étaient les interactions entre nos molécules et le site actif de l'enzyme.

Un premier résultat encourageant a été obtenu avec l'inhibiteur **139m** qui, incubé à 350 nm pendant sept minutes avec l'enzyme MraY, a conduit à une perte totale de l'activité enzymatique, ce qui est en accord avec le résultat attendu. Toutefois, les premières analyses par spectrométrie de masse n'ont pas permis d'observer l'adduit covalent attendu. Cependant, les premières études ont pour l'instant été réalisées avant digestion trypsique, rendant plus difficile les analyses.

Les travaux sont actuellement poursuivis par le Dr Ahmed Bouhss à la fois sur le substrat et sur un inhibiteur photoactivables.

V Conclusion

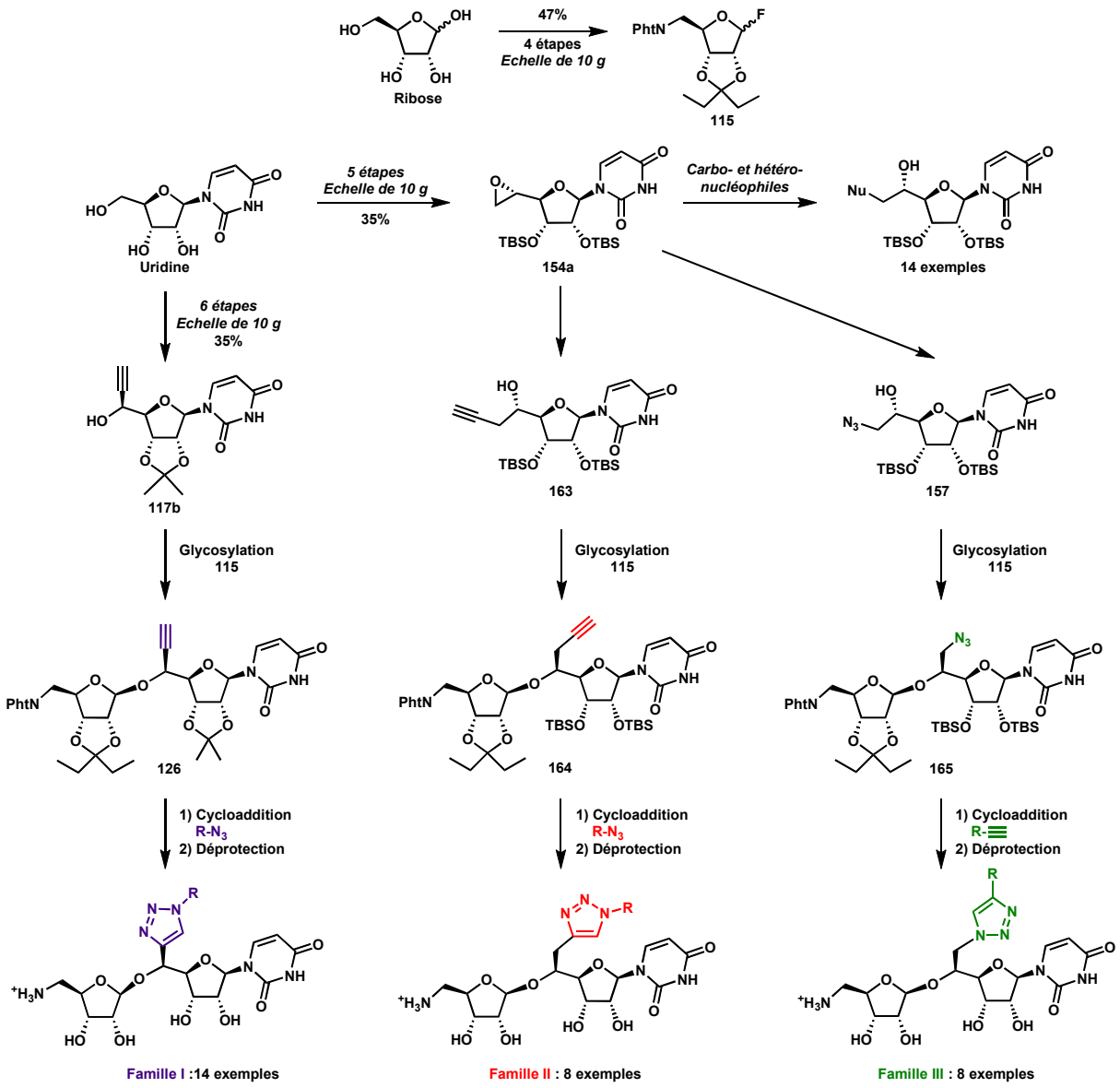
Au cours de ce chapitre, nous avons tenté d'étendre les potentialités de l'alcyne **140** grâce la synthèse de composés multivalents en collaboration avec l'équipe du Dr Sébastien Gouin. Nous avons également testé une molécule présentant un groupement benzophénone comme sondes photoactivables pour la caractérisation du site actif de MraY en partenariat avec l'équipe du Dr Ahmed Bouhss.

Les premiers inhibiteurs multivalents ont révélé des activités modestes sur MraY purifiée (CI_{50} de 200 µM pour le composé **190**). Toutefois, ce résultat pourrait être amélioré en faisant varier la longueur et la structure chimique du lien multivalent.

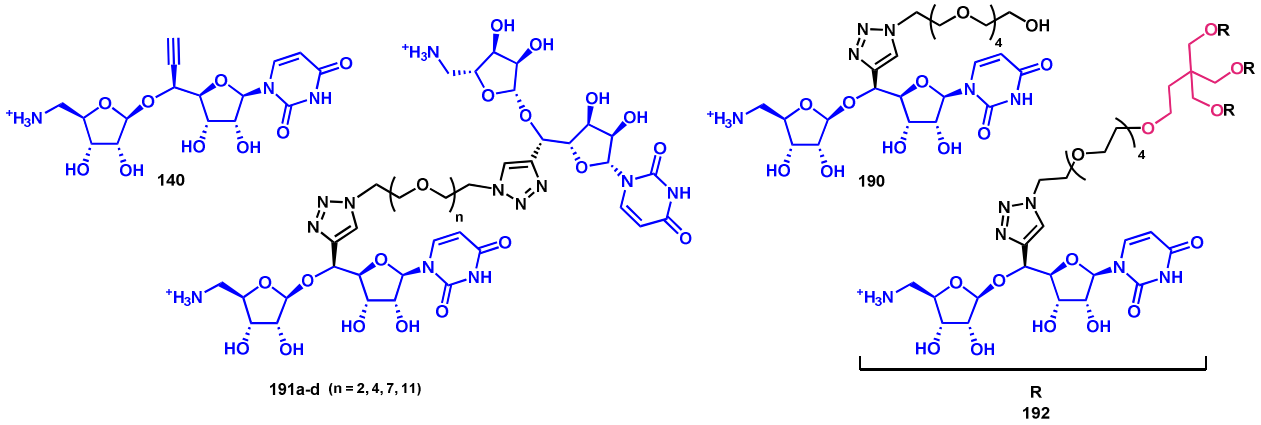
En outre, nous avons également préparé un linker photoactivable qui a été greffé sur le substrat naturel de MraY. L'utilisation de ce dernier ainsi que des huit inhibiteurs présentant une benzophénone en tant que sondes photoactivables est actuellement à l'étude.

Conclusion

Inhibiteurs et sondes photoactivables



Composés multivalents



CONCLUSION GENERALE

Dans le contexte général de la résistance bactérienne aux antibiotiques, nous nous sommes intéressés, d'une part au développement de nouveaux inhibiteurs ciblant la transférase MraY, et d'autre part à la mise au point d'outils moléculaires, pour contribuer à une meilleure connaissance de cette enzyme, qui réalise une étape essentielle de la biosynthèse du peptidoglycane bactérien.

Trois familles d'inhibiteurs, de structure originale, ont été synthétisés à partir d'uridine et de ribose commerciaux. Ces composés ont en commun un squelette aminoribosyl uridine, structure présente dans de nombreux antibiotiques nucléosidiques, inhibiteurs naturels de MraY de structure complexe et dont les activités anti-bactériennes sont souvent limitées.

Les molécules synthétisées diffèrent par leur substitution en position 5', la diversité structurale étant efficacement apportée lors de la dernière étape clef de la synthèse par une réaction de cycloaddition azide – alcyne catalysée au cuivre (I).

La synthèse de 14 inhibiteurs triazole (Famille I) a été effectuée via l'intermédiaire clef **126** qui résulte de la glycosylation hautement diastéréosélective entre l'alcool propargylique **117b** et le donneur de ribosyle **115** dont la synthèse a été réalisée en quatre étapes, avec 47% de rendement à partir du ribose.

De façon complémentaire, et pour évaluer l'influence d'une augmentation de la flexibilité sur l'activité biologique, un groupement méthylène a été introduit entre le squelette aminoribosyl uridine et l'espaceur triazole, fixé soit par son pôle carboné (Famille II) soit par son pôle azoté (Famille III).

La synthèse des 16 inhibiteurs correspondants a été réalisée à partir de la 5',6'-époxyuridine **154a**, dont une synthèse efficace a été mise au point en cinq étapes avec 35% de rendement à partir de l'uridine. La stéréochimie en 5' de cet intermédiaire clef, commun à la synthèse des familles II et III, a été attribuée sans ambigüité par une étude de diffraction aux rayons X (Collaboration Pr T. Prangé, UMR8015, Université Paris Descartes). Son ouverture totalement régiosélective par des carbo- et hétéro- nucléophiles variés a conduit à la synthèse de 16 dérivés de l'uridine substitués en position 5'. En particulier, l'alcool homopropargylique **163** et l'azidoalcool **157** ont respectivement conduit aux inhibiteurs des familles II et III par une séquence glycosylation β-sélective et cycloaddition avec les azides et alcynes complémentaires.

L'activité biologique de tous les inhibiteurs synthétisés a été évaluée *in vitro* sur l'enzyme MraY purifiée, par le Dr Ahmed Bouhss (UMR8619, Université Paris Sud) et *in cellulo* sur différentes souches de bactéries Gram (+) et Gram (-) par le Dr Ana Amoroso (*Centre for Protein Engineering*, Université de Liège). Les composés de la famille I se sont révélés peu actifs sur la transférase MraY, à l'exception des inhibiteurs portant un motif benzophénone, dont les CI_{50} varient entre 50 et 125 µM, ou une chaine hydrophobe, autour de 150 µM. En revanche, tous les composés des familles II et III sont inhibiteurs de l'activité enzymatique MraY (CI_{50} de 15 à 40 µM pour les meilleurs d'entre eux), soulignant

l'amélioration apportée par l'augmentation de la flexibilité des molécules des familles II et III par rapport à celles de la famille I. Par ailleurs, une légère supériorité des inhibiteurs de la famille II a été observée par rapport à ceux de la famille III, montrant une influence du positionnement du cycle triazole au sein du site actif de l'enzyme, ces inhibiteurs étant compétitifs vis-à-vis du substrat nucléotidique de MraY. De plus, parmi les 33 molécules synthétisées, sept d'entre elles ont présenté une activité antibactérienne encourageante (CMI de 8 à 32 µg/mL) sur plusieurs souches de bactéries Gram (+), dont une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la méthiciline.

Une étude de modélisation moléculaire a été initiée permettant d'identifier, pour les meilleurs inhibiteurs, deux modes de fixation possibles au sein du site actif de MraY.

Les inhibiteurs portant un motif benzophénone sont actuellement utilisés dans des expériences de photoactivation destinées à la cartographie du site actif de MraY.

Enfin, différents inhibiteurs ont été préparés en collaboration avec le Dr Sébastien Gouin (UMR 6230 CNRS Université de Nantes) afin d'étudier l'effet de la multivalence sur l'activité biologique de l'alcyne **140**. Toutefois, les premiers résultats obtenus n'ont pas montré d'amélioration de l'activité des composés multivalents par rapport au composé monovalent correspondant.

L'ensemble de ces travaux a déjà donné lieu à :

- deux publications :

Fer, M. J.; Olatunji, S.; Bouhss, A.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10088–10105.

Fer, M. J.; Doan, P.; Prangé, T.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7758–7765.

- cinq communications orales dont un prix de la meilleure communication orale :

CO1. 51ème Semaine d'Etude de Chimie Organique (SECO 51), Port Leucate, May 18th-23rd, **2014** *5'-Substituted-uridine derivatives as MraY inhibitors* Fer, M; Calvet-Vitale, S; Gravier-Pelletier, C. (**prix de la meilleure communication orale**).

CO2. Journées de l'EDMTCI, Paris, April 29th-30th, **2014** *Nouveaux dérivés d'aminoribosyl uridine comme inhibiteurs de la translocase bactérienne MraY* Fer, M; Calvet-Vitale, S; Gravier-Pelletier, C.

CO3. 17 ème journée de la Montagne ste-Geneviève, Paris, June 5th, **2013** *Synthèse et évaluation biologique d'aminoglycosides fonctionnalisés de structure originale : vers de nouveaux inhibiteurs de MraY* Fer, M; Doan, P; Calvet-Vitale, S; Gravier-Pelletier, C.

CO4. EUR-INTAFAR meeting Utrecht 2012, November 26th-27th, **2012** *Triazole-based analogs of muraymycins as new inhibitors of the bacterial transferase MraY* Fer, M; Calvet-Vitale, S; Gravier-Pelletier, C.

CO5. EUR-INTAFAR meeting Paris 2012, January 18th-19th, **2012** *New inhibitors and chemical tools for MraY study* Fer, M; Calvet-Vitale, S; Gravier-Pelletier, C.

- 12 communications par affiche

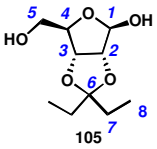
Un mémoire relatif à la synthèse et l'évaluation biologique des inhibiteurs des familles II et III sera prochainement soumis à publication.

Partie Expérimentale

PARTIE EXPERIMENTALE

General Experimental Methods: When needed, reactions were carried out under an argon atmosphere. They were monitored by thin-layer chromatography with precoated silica on aluminium foil (Merck KGaA). Flash chromatography was performed with silica gel 60 (Merck 40-63 µm); the solvent systems were given v/v. Spectroscopic ^{1}H and ^{13}C NMR, MS and/or analytical data were obtained using chromatographically homogeneous samples. ^{1}H NMR (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) spectra were recorded in $CDCl_3$ unless indicated on a Bruker Avance II spectrometer. Chemical shifts (δ) are reported in ppm and coupling constants are given in Hz. For each compound detailed peak assignments have been made according to COSY, HSQC and HMBC experiments. For clarity, the numbering of molecules is indicated on a scheme and the nomenclature is not necessarly corresponding to the IUPAC name. For the description of diastereoisomeric mixture, major compound is described with "*" whereas minor compound is noted "°". Optical rotations were measured with sodium (589 nm) or mercury (365 nm) lamp at 20 °C on a Perkin Elmer polarimeter. Melting points were measured on a hot bench. IR spectra were recorded on a FT-IR spectrophotometer and the wavelengths are reported in cm^{-1}. Low resolution mass spectra (LRMS) were recorded with an ion trap mass analyzer under electrospray ionization (ESI) in positive ionization mode detection or atmospheric pressure chemical ionization (APCI) on a LCQ Advantage Finnigan spectrometer. High resolution mass sprectra (HRMS) were recorded with a TOF mass analyzer under electrospray ionization (ESI) in positive ionization mode detection, atmospheric pressure chemical ionization or atmospheric pressure photoionization (APPI). For MraY activity, the radioactive spots were located and quantified with a radioactivity scanner (model Multi-Tracemaster LB285).

2,3-*O*-Isopentylidene-β-D-ribofuranose 105.

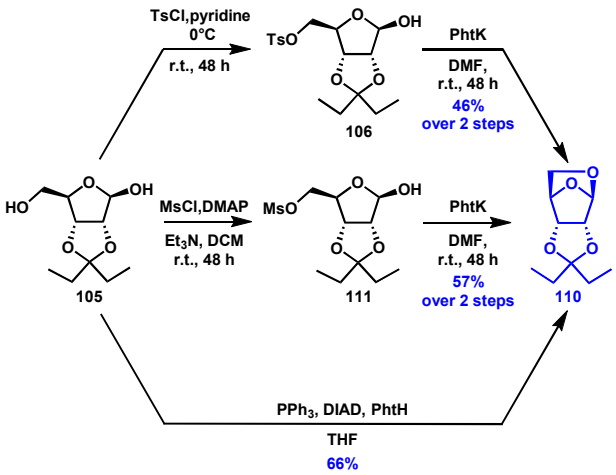


105

To a suspension of D-ribose (10.0 g, 66.6 mmol, 1 equiv) in DMF (100 mL) was added 3-pentanone (350 mL, 3.31 mol, 49.6 equiv) and concentrated sulfuric acid (3 mL, 56.1 mmol, 0.74 equiv). The suspension was vigorously stirred at r.t. for 2 days and the medium was neutralized by ammoniac bubbling and concentrated *in vacuo*. After addition of water (200 mL), the residue was extracted with EtOAc (5 × 200mL). The combined organic layers were

dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting pale yellow oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4) to give the protected ribose **105** as as a colorless oil (11.2 g, 77% yield): R_f 0.21 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); IR (film) 3469*br*, 2942*w*, 1464*w*, 1097*s*, 925*s*; ^{1}H NMR δ 5.44 (s, 1H, H_1), 4.86 (d, 1H J_{H3-H2} = 6.0 Hz, H_3), 4.61 (d, 1H, J_{H2-H3} = 6.0 Hz, H_2), 4.42 (tl, J_{H4-H5} = 3.0 Hz, 1H, H_4), 3.73-3.79 (m, 2H, H_5), 2.70-3.20 (sl, 2H, OH), 1.71 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 1.59 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, $H_{7'}$), 0.93 (t, 3H, J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 0.86 (t, 3H, J_{H8-H7} = 7.5 Hz, $H_{8'}$). Other spectral data were in agreement with literature[150].

5-Anhydro-2,3-*O*-isopentylidene-β-D-ribofuranose 110.



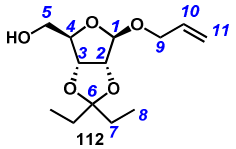
***Via* the tosylate 106 by nucleophilic substitution:** at 0 °C, to a solution of compound **105** (2.36 g, 10.8 mmol, 1 equiv) in pyridine (100 mL), was added recrystallized tosyl chloride (3.16 g, 16.6 mmol, 1.53 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 48 h and diluted in EtOAc (120 mL). The resulting solution was transferred into a separatory funnel and washed with a 1M HCl aqueous solution. The organic layer was washed with brine (2 × 100 mL) and water (100 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to furnish the crude tosylate **3** as a pale yellow oil (2.89 g, 72% yield). To a solution of crude tosylate **106** (257 mg, 0.69 mmol, 1 equiv), in DMF (20 mL), was added in one portion potassium phthalimide (249 mg, 1.34 mmol, 2 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 48 h and the reaction was quenched at 0 °C by addition of a saturated aqueous solution of NH_4Cl (30 mL). The mixture was extracted with DCM (4 × 30 mL) and the combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (DCM to DCM/Acetone 95/5) to afford tricyclic compound **110** as a colorless oil (138 mg, 64% yield, 46% from **105**). R_f 0.73 (DCM/Acetone 97/3); $[\alpha]_D$ - 51 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2976*s*,

2940*m*, 1350*m*, 1073*s*; ^{1}H NMR δ 5.43 (s, 1H, H_1), 4.69 (d, 1H, J_{H4-H5a} = 4.0 Hz, H_4), 4.31 (d, 1H, J_{H2-H3} = 5.5 Hz, H_2), 4.26 (d, 1H, J_{H3-H2} = 5.5 Hz, H_3), 3.39 (dd, 1H, $J_{H5a-H5b}$ = 7.0 Hz, J_{H5a-H4} = 4.0 Hz, H_{5a}), 3.27 (d, 1H, $J_{H5b-H5a}$ = 7.0 Hz, H_{5b}), 1.69 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 1.54 (q, 2H, $J_{H7'-H8'}$ = 7.5 Hz, $H_{7'}$), 0.91 (t, 3H, J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 0.86 (t, 3H, $J_{H8'-H7'}$ = 7.5 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 116.5 (C_6), 99.9 (C_1), 81.7 (C_3), 79.6 (C_2), 77.8 (C_4), 63.0 (C_5), 29.5 (C_7), 29.0 ($C_{7'}$), 8.5 (C_8), 7.8 ($C_{8'}$); HRMS APCI Calcd for $C_{10}H_{17}O_4^+$ $(M + H)^+$ 201.1127, found 201.1123.

***Via* the mesylate 111 by nucleophilic substitution:** to a solution of compound **105** (350 mg, 1.6 mmol, 1 equiv) in DCM (6 mL), were successively added DMAP (10 mg, 0.08 mmol, 1 equiv), triethylamine (337 µL, 2.41 mmol, 1.5 equiv) and MsCl dropwise (190 µL, 2.41 mmol, 1.5 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 48 h. After addition of EtOAc (30 mL), the mixture was washed with a 1M HCl aqueous solution (2 × 30 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 30 mL). The combined organic layers were then washed with brine (50 mL) and water (50 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude mesylate **2** as a pale yellow oil (470 mg, 99% yield). To a solution of crude mesylate **111** (470 mg, 1.6 mmol, 1 equiv) in DMF (6 mL) was added in one portion potassium phthalimide (592 mg, 3.2 mmol, 2 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 48 h and then poured into Et_2O (15 mL). After addition of a saturated aqueous solution of NH_4Cl (15 mL), the aqueous phase was extracted with Et_2O (20 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (DCM/Acetone 99/1) to give tricyclic compound **110** as a colorless oil (181 mg, 57% yield from **105**).

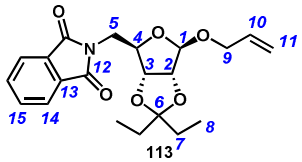
***Via* compound 105 by Mitsunobu reaction**: to a solution of compound **105** (350 mg, 1.6 mmol, 1 equiv), phthalimide (259 mg, 1.76 mmol, 1.1 equiv) and triphenylphosphine (839 mg, 3.2 mmol, 2 equiv) in anhydrous toluene (9 mL), diisopropylazodicarboxylate (DIAD) was added dropwise (630 µL, 3.2 mmol, 2 equiv). The resulting yellow solution was stirred at r.t. for 16 h and concentrated *in vacuo*. The crude oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 9/1, then 3/7) to give tricyclic compound **110** as a colorless oil (210 mg, 66%).

1-*O*-Allyl-2,3-*O*-isopentylidene-β-D-ribofuranose 112.



To a suspension of D-ribose (10.0 g, 66.6 mmol, 1 equiv) in 3-pentanone (40 mL, 377 mmol, 5.7 equiv) was added allyl alcohol (45 mL, 662 mmol, 9.9 equiv) and concentrated sulfuric acid (0.7 mL, 13 mmol, 0.2 equiv). The suspension was vigorously stirred at 60 °C for 4 h. The resulting pale yellow solution was cooled down to r.t., neutralized by a dropwise addition of Et_3N (1.88 mL, 13 mmol, 0.2 equiv) and concentrated *in vacuo*. After addition of water (200 mL), the residue was extracted with EtOAc (5 × 200mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting pale yellow oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 8/2) to give protected ribose **112** as the single β stereoisomer and as a colorless oil (10.33 g, 60% yield): R_f 0.34 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); $[\alpha]_D$ - 73 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3469*br*, 2942*w*, 1464*w*, 1097*s*, 925*s*; ^{1}H NMR δ 5.91 (dddd, 1H, $J_{H10\text{-}H11'}$ = 17.0 Hz, $J_{H10\text{-}H11}$ = 10.0 Hz, $J_{H10\text{-}H9a}$ = 6.0 Hz, $J_{H10\text{-}H9b}$ = 6.0 Hz, H_{10}), 5.32 (dd, 1H, $J_{H11'\text{-}H10}$ = 17.0 Hz, $J_{H11'\text{-}H11}$ = 1.5 Hz, $H_{11'}$), 5.24 (br d, 1H, $J_{H11\text{-}H10}$ = 10.0 Hz, H_{11}), 5.13 (s, 1H, H_1), 4.86 (d, 1H, $J_{H3\text{-}H2}$ = 6.0 Hz, H_3), 4.65 (d, 1H, $J_{H2\text{-}H3}$ = 6.0 Hz, H_2), 4.45 (dd, 1H, $J_{H4\text{-}H5b}$ = 3.5 Hz, $J_{H4\text{-}H5a}$ = 2.5 Hz, H_4), 4.24 (dd, 1H, $J_{H9a\text{-}H9b}$ = 12.5 Hz, $J_{H9a\text{-}H10}$ = 6.0 Hz, H_{9a}), 4.07 (dd, 1H, $J_{H9b\text{-}H9a}$ = 12.5 Hz, $J_{H9b\text{-}H10}$ = 6.0 Hz, H_{9b}), 3.70 (br d, 1H, $J_{H5a\text{-}H5b}$ = 12.0 Hz, H_{5a}), 3.63 (ddd, 1H, $J_{H5b\text{-}H5a}$ = 12.0 Hz, $J_{H5b\text{-}OH}$ = 9.0 Hz, $J_{H5b\text{-}H4}$ = 3.5 Hz, H_{5b}), 3.19 (br d, 1H, $J_{OH\text{-}5b}$ = 9.0 Hz, OH), 1.71 (q, 2H, $J_{H7\text{-}H8}$ = 7.0 Hz, H_7), 1.59 (q, 2H, $J_{H7'\text{-}H8'}$ = 7.0 Hz, $H_{7'}$), 0.93 (t, 3H, $J_{H8\text{-}H7}$ = 7.0 Hz, H_8), 0.88 (t, 3H, $J_{H8'\text{-}H7'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 133.3 (C_{10}), 118.5 (C_{11}), 116.7 (C_6), 108.3 (C_1), 88.9 (C_4), 86.5 (C_2), 82.0 (C_3), 69.2 (C_9), 64.3 (C_5), 29.5, 29.0 (C_7, $C_{7'}$), 8.6, 7.6 (C_8, $C_{8'}$); HRMS APCI Calcd for $C_{13}H_{23}O_5^+$ $(M + H)^+$ 259.1545, found 259.1545.

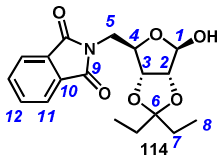
1-*O*-Allyl-5-deoxy-2,3-*O*-isopentylidene-5-phthalimido-β-D-ribofuranose 113.



To a solution of **112** (9.27 g, 35.9 mmol, 1 equiv), triphenylphosphine (18.8 g, 71.8 mmol, 2 equiv) and phthalimide (6.34 g, 43.1 mmol, 2 equiv), in anhydrous toluene (203 mL), DIAD was added dropwise (15.4 mL, 71.8 mmol, 2 equiv). The reaction mixture was stirred at r.t. for 18 h and concentrated *in vacuo*. The residue (55 g) was purified by flash chromatography

(Cyclohexane/ EtOAc 9/1 then 8/2) to give compound **113** as a colorless oil (11.64 g, 84% yield): R_f 0.44 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); $[\alpha]_D$ - 60 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2975*w*, 1774*m*, 1716*s*, 1395*s*, 1034*s*, 926*m*; ^{1}H NMR δ 7.87-7.83 (m, 2H, H_{14}), 7.72-7.70 (m, 2H, H_{15}), 5.91 (dddd, 1H, $J_{H10-H11'}$ = 17.0 Hz, $J_{H10-H11}$ = 10.0 Hz, $J_{H10-H9b}$ = 6.5 Hz, $J_{H10-H9a}$ = 5.0 Hz, H_{10}), 5.31 (dd, 1H, $J_{H11'-H10}$ = 17.0 Hz, $J_{H11'-H11}$ = 1.5 Hz, $H_{11'}$), 5.19 (br d, 1H, $J_{H11-H10}$ = 10.0 Hz, H_{11}), 5.14 (s, 1H, H_1), 4.82 (d, 1H, J_{H3-H2} = 6.5 Hz, H_3), 4.75 (d, 1H, J_{H2-H3} = 6.5 Hz, H_2), 4.48 (dd, 1H, J_{H4-H5a} = 9.0 Hz, J_{H4-H5b} = 6.0 Hz, H_4), 4.27 (dd, 1H, $J_{H9a-H9b}$ = 13.0 Hz, $J_{H9a-H10}$ = 5.0 Hz, H_{9a}), 3.98 (dd, 1H, $J_{H9b-H9a}$ = 13.0 Hz, $J_{H9b-H10}$ = 6.5 Hz, H_{9b}), 3.89 (dd, 1H, $J_{H5a-H5b}$ = 14.0 Hz, J_{H5a-H4} = 9.0 Hz, H_{5a}), 3.83 (dd, 1H, $J_{H5b-H5a}$ = 14.0 Hz, J_{H5b-H4} = 6.0 Hz, H_{5b}), 1.65 (q, 2H, J_{H7-H8} = 8.0 Hz, H_7), 1.55 (q, 2H, $J_{H7'-H8'}$ = 8.0 Hz, $H_{7'}$), 0.87 (t, 3H, J_{H8-H7} = 8.0 Hz, H_8), 0.84 (t, 3H, $J_{H8'-H7'}$ = 8.0 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 168.4 (C_{12}), 134.3 (C_{15}), 133.9 (C_{10}), 132.2 (C_{13}), 123.6 (C_{14}), 117.6 (C_{11}), 116.9 (C_6), 107.9 (C_1), 86.0 (C_2), 84.8 (C_4), 82.9 (C_3), 68.6 (C_9), 41.3 (C_5), 29.7, 29.1 (C_7, $C_{7'}$), 8.5, 7.5 (C_8, $C_{8'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{21}H_{25}NaNO_6^+$ $(M + Na)^+$ 410.1580, found 410.1581.

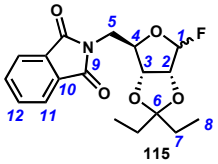
5-Deoxy-2,3-*O*-isopentylidene-5-phthalimido-β-D-ribofuranose 114.



To a solution of **113** (5.62 g, 14.5 mmol, 1 equiv), in a 2/1 dioxan/water mixture (100 mL), were successively added the *N*-methyl-morpholine-*N*-oxide in one portion (7.90 g, 47.9 mmol, 3.3 equiv) and an osmium tetraoxide solution in *tert*-BuOH dropwise (2.5 % w/v, 0.084 M, 985 µL, cat.). Sodium periodate was then added in one portion (10.1 g, 47.9 mmol, 3.3 eq). The reaction mixture was stirred at 70 °C for 18 h and concentrated *in vacuo*. The aqueous phase was extracted with DCM (4 × 250 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 8/2 then 7/3) to give compound **114** as a colorless oil (4.97 g, 97% yield): R_f 0.34, (Cyclohexane/EtOAc 7/3); $[\alpha]_D$ - 32 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3421*br*, 2974*w*, 2941*w*, 1773*m*, 1710*s,* 1396*s*, 1082*s*, 926*s*; ^{1}H NMR δ 7.88-7.84 (m, 2H, H_{11}), 7.74-7.71 (m, 2H, H_{12}), 5.44 (s, 1H, H_1), 4.82 (d, 1H, J_{H3-H2} = 6.0 Hz, H_3), 4.76 (d, 1H, J_{H2-H3} = 6.0 Hz, H_2), 4.51 (dd, 1H, J_{H4-H5a} = 9.0 Hz, J_{H4-H5b} = 6.5 Hz, H_4), 3.86 (dd, 1H, $J_{H5a-H5b}$ = 14.0 Hz, J_{H5a-H4} = 9.0 Hz, H_{5a}), 3.83 (dd, 1H, $J_{H5b-H5a}$ = 14.0 Hz, J_{H5b-H4} = 6.5 Hz, H_{5b}), 2.37-2.12 (br s, 1H, OH), 1.67-1.60 (m, 2H, H_7), 1.53 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 0.86 (t, 3H, J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 0.83 (t, 3H, J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8); ^{13}C NMR δ 168.1 (C_9), 134.1 (C_{12}), 131.9

(C_{10}), 123.5 (C_{11}), 117.0 (C_6), 104.3 (C_1), 85.9 (C_2), 84.7 (C_4), 82.7 (C_3), 40.7 (C_5), 29.5, 29.0 (C_7), 8.3, 7.3 (C_8); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{18}H_{22}NO_6^+$ $(M + H)^+$ 348.1461, found 348.1462.

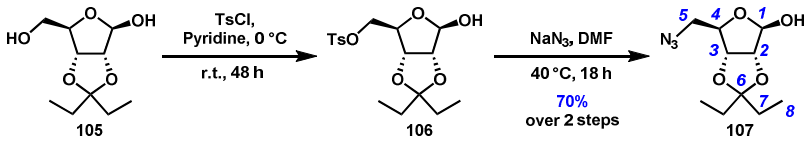
1,5-Dideoxy-1-fluoro-2,3-*O*-isopentylidene-5-phthalimido-D-ribofuranose 115.



At -30 °C, to a solution of compound **114** (4.94 g, 14.2 mmol, 1 equiv) in DCM (173 mL), DAST was added dropwise (2.8 mL, 21.2 mmol, 1.5 eq). The resulting yellow solution was stirred at -30 °C for 30 min then at r.t. for 1 h. The reaction was quenched by addition of a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ (160 mL) and the aqueous phase was extracted with DCM (4 × 200 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 9/1) to give compound **115** as a β/α mixture (β/α > 9) and as a colorless oil (4.82g, 97%). Compounds **115α** and **115β** were isolated and fully characterized: **115β**: R_f 0.44 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); $[\alpha]_D$ + 12 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2973*w*, 1773*w*, 1712*s*, 1401*m*, 1130*m,* 724*m*; ^{1}H NMR δ 7.87-7.84 (m, 2H, H_{11}), 7.75-7.72 (m, 2H, H_{12}), 5.80 (d, 1H, J_{H1-F} = 61.5 Hz, H_1), 4.90 (dd, 1H, J_{H2-H3} = 6.0 Hz, J_{H2-F} = 5.5 Hz, H_2), 4.86 (d, 1H, J_{H3-H2} = 6.0 Hz, H_3), 4.64 (ddd, 1H, J_{H4-H5b} = 9.0 Hz, J_{H4-H5a} = 6.0 Hz, J_{H4-F} = 3.0 Hz, H_4), 3.88 (dd, 1H, $J_{H5a-H5b}$ = 14.0 Hz, J_{H5a-H4} = 6.0 Hz, H_{5a}), 3.81 (dd, 1H, $J_{H5b-H5a}$ = 14.0 Hz, J_{H5b-H4} = 9.0 Hz, H_{5b}), 1.65 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 1.56 (q, 2H, $J_{H7'-H8'}$ = 7.5 Hz, $H_{7'}$), 0.89 (t, 3H, J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 0.87 (t, 3H, $J_{H8'-H7'}$ = 7.5 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 168.2 (C_9), 134.4 (C_{12}), 133.7 (C_{10}), 123.7 (C_{11}), 117.6 (C_6), 115.5 (d, J_{C1-F} = 221 Hz, C_1), 86.3 (C_4), 85.6 (d, J_{C2-F} = 41.5 Hz, C_2), 82.7 (C_3), 40.6 (C_5), 29.6, 27.1 (C_7, $C_{7'}$), 8.5, 7.5 (C_8, $C_{8'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{18}H_{20}NO_5FNa^+$ $(M + Na)^+$ 372.1223, found 372.1229. **115α**: R_f 0.26 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); $[\alpha]_D$ + 23 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2976*w*, 1715*s*, 1394*m*, 1105*m,* 714*m*; ^{1}H NMR δ 7.87-7.84 (m, 2H, H_{11}), 7.75-7.72 (m, 2H, H_{12}), 5.64 (dd, 1H, J_{H1-F} = 63.0 Hz, J_{H1-H2} = 3.5 Hz, H_1), 4.75 (ddd, 1H, J_{H2-F} = 14.5 Hz, J_{H2-H3} = 7.5 Hz, J_{H2-H1} = 3.5 Hz, H_2), 4.68 (dd, 1H, J_{H3-H2} = 7.5 Hz, J_{H3-H4} = 4.0 Hz, H_3), 4.62 (dt, 1H, J_{H4-H5a} = 7.0 Hz, J_{H4-H5b} = 7.0 Hz, J_{H4-H3} = 4.0 Hz, H_4), 3.93 (d, 2H, J_{H5a-H4} = J_{H5b-H4} = 7.0 Hz, H_5), 1.80 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 1.62 (q, 2H, $J_{H7'-H8'}$ = 7.5 Hz, $H_{7'}$), 0.94 (t, 3H, J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 0.88 (t, 3H, $J_{H8'-H7'}$ = 7.5 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 168.2 (C_9), 134.4 (C_{12}), 133.7 (C_{10}), 123.7 (C_{11}), 121.5 (C_6), 108.0 (d, J_{C1-F} = 235 Hz, C_1), 81.5 (C_4), 81.3 (d, J_{C2-F} = 79,5 Hz, C_2), 81.1 (C_3), 39.9 (C_5), 29.9 (C_7), 29.4 ($C_{7'}$),

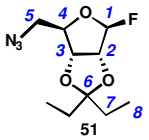
8.5 (C_8), 8.3 $C_{8'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{18}H_{20}NO_5FNa^+$ $(M + Na)^+$ 372.1223, found 372.1219.

5-Azido-5-deoxy-2,3-*O*-isopentylidene-β-D-ribofuranose 107.



At 0°C, tosyl chloride (8.16 g, 42.8 mmol, 1.53 equiv) was added to a solution of protected ribose **105** (6.17 g, 28.0 mmol, 1 equiv) in pyridine (280 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. for 2 days and then diluted with EtOAc (360 mL). After washing by an aqueous solution of HCl (2 × 390 mL) and brine (450 mL), the organic layer was dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The crude tosylated ribose **106** was obtained as a pale red oil (9.13 g) and used without any further purification. Data for **106**: ^{1}H NMR (250 MHz) δ 7.81 (d, 2H, $J_{H9\text{-}H10}$ = 8.5 Hz, H_9), 7.39 (d, 2H $J_{H10\text{-}H9}$ = 8.5 Hz, H_{10}), 5.38-5.45 (s, 1H, H_1), 4.52-4.67 (m, 2H, H_2 et H_3), 4.30-4.42 (m, 1H, H_4), 4.02-4.13 (m, 2H, H_5), 2.45 (s, 3H, H_{11}), 1.48-1.75 (m, 4H, H_7), 0.78-0.98 (m, 6H, H_8). To a solution of the crude tosylated ribose **106** (9.13 g, 25 mmol, 1 equiv), in dry DMF (250 mL), was added sodium azide (3.25 g, 50 mmol, 2 equiv). The mixture was stirred at 40 °C for 18 h and the reaction mixture was diluted in EtOAc (750 mL) and washed with brine (2 × 750 mL). The organic layer was dried (Na_2SO_4) and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 8/2) of the resulting oil afforded the azido ribose **107** as a colorless oil (4.88 g, 80% yield, 70% over 2 steps): R_f 0.32 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); ^{1}H NMR δ 5.48 (s, 1H, H_1), 4.64 (s, 2H, H_2 et H_3), 4.35 (dd, 1H $J_{H4\text{-}H5}$= 6.0 Hz, H_4), 3.49-3.67 (m, 1H, H_{5a}), 3.32-3.48 (m, 1H, H_{5b}), 3.00-3.23 (brs, 1H, OH) 1.50-1.76 (m, 4H, H_7), 0.82-0.98 (m, 6H, H_8). Other spectral data were in agreement with literature[150].

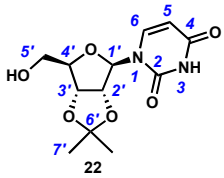
5-Azido-1,5-dideoxy-1-fluoro-2,3-*O*-isopentylidene-β-D-ribofuranose 51.



At -30 °C, to a solution of azido ribose **107** (8.62 g, 35.4 mmol, 1 equiv) in DCM (340 mL), DAST was added dropwise (6.96 mL, 53.1 mmol, 1.5 eq). The resulting yellow solution was stirred at -30 °C for 30 min then at r.t. for 1 h. The reaction was quenched by the addition of a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ (100 mL) and the aqueous phase was extracted with

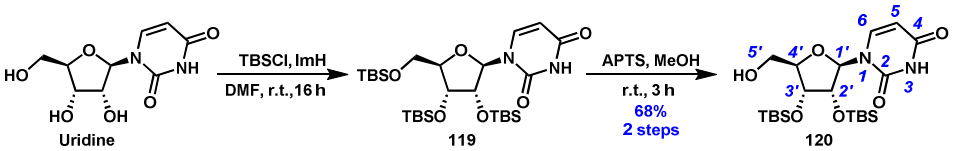
DCM (4 × 200 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 9/1) to give compound **51** as a β/α mixture (β/α > 9) and as a colorless oil (6.6 g, 76%). Pure compound **51β** was isolated and characterized: ^{1}H NMR δ 5.81 (d, 1H J_{H1-F} = 61.0 Hz, H_1), 4.79 (dd, 1H, J_{H3-H2} = 6.0, J_{H3-H4} = 6.0 Hz, H_3), 4.67 (d, 1H, J_{H2-H3} = 6.0 Hz, H_2), 4.42-4.54 (m, 1H, H_4), 3.49 (dd, 1H, $J_{H5a-H5b}$ = 13.0 Hz, J_{H5a-H4} = 8.0 Hz, H_{5a}), 3.22 (dd, 1H, $J_{H5b-H5a}$ = 13.0 Hz, J_{H5b-H4} = 7.0 Hz, H_{5b}), 1.69 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 1.58 (q, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, $H_{7'}$), 0.82-0.95 (m, 6H, H_8). Other spectral data were in agreement with literature[150].

2',3'-*O*-Isopropylidene-uridine 22.



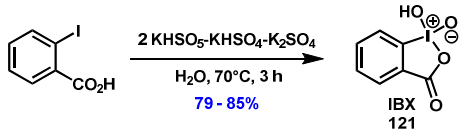
To a suspension of uridine (10.0 g, 40.0 mmol, 1 equiv) in acetone (400 mL, 1.98 mmol, 49.6 equiv) was added concentrated sulfuric acid (3 mL, 59 mmol, 1.47 equiv). The suspension was vigorously stirred at r.t. for 2 days and the medium was neutralized by the addition of triethylamine (8 mL, 59 mmol, 1.47 equiv) and concentrated *in vacuo*. The resulting pale yellow oil was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 95/5) to give protected uridine **22** as a white foam (11.2 g, 98% yield): R_f 0.27 (DCM/MeOH 95/5); $[\alpha]_D$ - 18 (*c* 1.0 ; CH_3OH); ^{1}H NMR δ 8.30 (s, 1H, NH), 7.35 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.73 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.57 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.04 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.96 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 5.04 (ddd, 1H, $J_{H4'-H5'b}$ = 3.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $J_{H4'-H5'a}$ = 2.0 Hz, $H_{4'}$), 3.93 (ddd, 1H, $J_{H5'a-H5'b}$ = 12.0 Hz, $J_{H5'a-OH}$ = 3.5 Hz, $J_{H5'a-H4'}$ = 2.0 Hz, $H_{5'a}$), 3.81 (ddd, 1H, $J_{H5'b-H5'a}$ = 12.0 Hz, $J_{H5'b-OH}$ = 7.0 Hz, $J_{H5'b-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'b}$), 2.61 (dd, 1H, $J_{OH-H5'b}$ = 7.0 Hz, $J_{OH-H5'a}$ = 3.5 Hz, OH), 1.58 (s, 3H, $H_{7'a}$), 1.36 (s, 3H, $H_{7'b}$); ^{13}C NMR δ 162.7 (C_4), 150.3 (C_2), 142.9 (C_6), 114.7 ($C_{6'}$), 102.9 (C_5), 96.3 ($C_{1'}$), 87.0 ($C_{4'}$), 83.7 ($C_{2'}$), 80.4 ($C_{3'}$), 62.9 ($C_{5'}$), 27.4, 25.4 ($C_{7'}$).

2',3'-Di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 120.



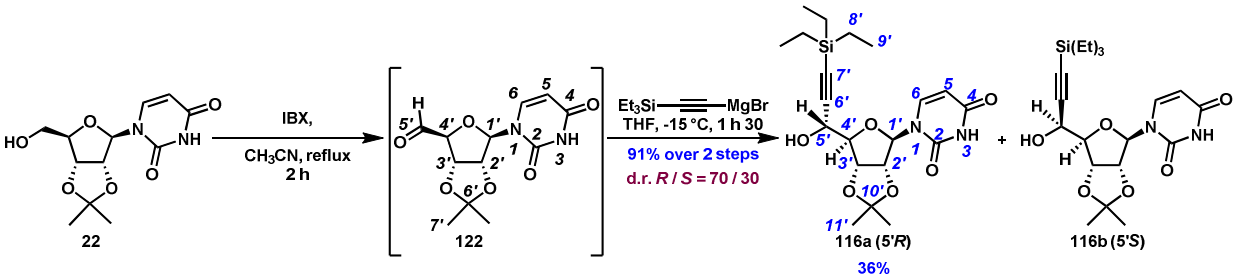
To a solution of uridine (5.0 g, 20.4 mmol, 1 equiv) in DMF (170 mL) was added imidazole (9.55 g, 143 mmol, 7 equiv) and *tert*-butyldimethylsilyl chloride (15.37 g, 102 mmol, 5 équiv.). The mixture was stirred at r.t. for 16 h and the reaction was quenched at 0 °C by the addition of water (100 mL) and extracted with Et_2O (3 × 170 mL). The organic layer was dried (Na_2SO_4) and concentrated *in vacuo*. The resulting gummy silylated uracile residue **119** was used without any further purification. The crude silylated uracile **119** was dissolved in methanol (120 mL) and *p*-toluenesulfonic acid was added (380 mg, 2 mmol, 0.1 equiv). The solution was stirred at r.t. for 3 h and the reaction was quenched by slow addition of a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$. After the removal of volatiles *in vacuo*, the aqueous phase was extracted with EtOAc (4 × 150 mL). The combined organic layers were washed with brine (2 × 100 mL) and water (100 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 7/3) of the residue afforded **120** as a white solid (6.5 g 68% yield over 2 steps): R_f 0.48 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 226-227 °C; $[\alpha]_D$ - 224 (*c* 1.0, $CHCl_3$);^{1}H NMR δ 9.79 (s, 1H, NH), 7.73 (br d, 1H, J_{H6-H5}= 8.0 Hz, H_6), 5.72 (br d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.53 (br d, 1H, $J_{H1'-H2'}$= 5.0 Hz, $H_{1'}$), 4.48 (dd, 1H, $J_{H2'-H1'}$= 5.0 Hz; $J_{H2'-H3'}$ = 4.5 Hz, $H_{2'}$), 4.16 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$= $J_{H3'-H4'}$= 4.5Hz, $H_{3'}$), 4.07 (sl, 1H, $H_{4'}$), 3.94 (dd, 1H, $J_{H5'a-H5'b}$ = 12.0 Hz; $J_{H5'a-H4'}$ = 1.5 Hz, $H_{5'a}$), 3.73 (dd, $J_{H5'a-H5'b}$ = 12.6 Hz; $J_{H5b'-H4'}$ = 2.0 Hz, $H_{5'b}$), 3.20 (sl, 1H, OH), 0.89 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.86 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.07 (s, 6H, C$\underline{H}_3$), 0.05 (s, 3H, C$\underline{H}_3$), 0.03 (s, 3H, C$\underline{H}_3$); ^{13}C NMR δ 164.0 (C_2), 150.6 (C_4), 142.9 (C_6), 102.2 (C_5), 93.4 ($C_{1'}$), 85.9 ($C_{4'}$), 74.1 ($C_{3'}$), 71.6 ($C_{2'}$), 61.4 ($C_{5'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), -4.3, -4.4, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}H_3$)$_2$).

2-Iodoxybenzoic acid: IBX, 121.



To a suspension of oxone® (90 g, 0.293 mol, 2.9 equiv) in water (325 mL), was added iodobenzoic acid (25 g, 0.10 mol, 1 equiv). The mixture was stirred at 70 °C for 3 h and then cooled to 0 °C for 1 h 30, and filtered on a Büchner funel. The cake was washed with water (3 × 100 mL) and acetone (3 × 100 mL). The resulting white fine powder was dried *in vacuo* and used without any further purification. All spectral data were in agreement with literature[202].

2',3'-*O*-Isopropylidene-5'-(triethylsilylethynyl)-uridine 116.

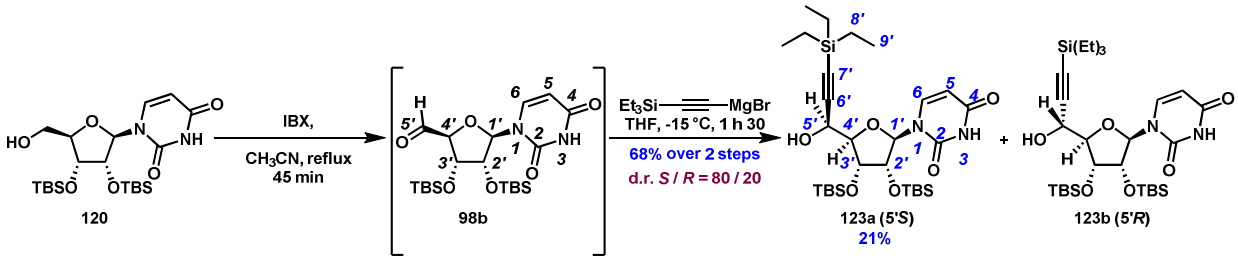


To a suspension of alcohol **22** (4.63 g, 16.3 mmol, 1 equiv.), in acetonitrile (286 mL) was added IBX (13.0 g, 48.9 mmol, 3.0 equiv). The mixture was refluxed for 2 h, cooled to r.t. and filtered on a celite pad. The solid was washed with EtOAc and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude aldehyde (4.60 g, quantitative yield) was dried by co-evaporation with toluene and used without further purification. At 0 °C, under Ar, to a solution of triethylsilylacetylene (5.60 g, 39.9 mmol, 2.45 equiv), in THF (80 mL) was added dropwise a solution of ethylmagnesium bromide (3M in Et_2O, 13.3 mL, 39.9 mmol, 2.45 equiv.). The solution was stirred at 0 °C for 10 min and then at r.t. for 1 h. The crude aldehyde **122** was dissolved in THF (80 mL), transferred into a dropping funnel and slowly added to the solution of the Grignard reagent cooled at -15 °C. The mixture was stirred at -15 °C for 1 h 30 and then the reaction was quenched by addition of a saturated aqueous solution of NH_4Cl (70 mL) and THF was removed *in vacuo*. The aqueous phase was extracted with EtOAc (6 × 70 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude foam was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 7/3 to 6/4) and the alcohol **116** was obtained as a white foam (6.34 g, 91% yield over 2 steps). The major diastereoisomer **116a** has been isolated with 36% yield, Data for **116a**: R_f = 0.23 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 168°C; $[\alpha]_D$ - 69 (*c* 0.8, $CHCl_3$); IR (film) 3205*br*, 2880*w*,

1685*s*, 1459*m*, 1382*m,* 1087*s,* 727*s*; ^{1}H NMR δ 9.16 (s, 1H, NH), 7.55 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.73 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.02 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 2.0 Hz, $H_{3'}$), 4.88 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.5 Hz, $H_{2'}$), 4.65 (dd, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 3.0 Hz, $J_{H5'-OH'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.35 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 3.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 2.0 Hz, $H_{4'}$), 3.45 (d, 1H, $J_{OH-H5'}$ = 3.5 Hz, OH), 1.59 (s, 3H, $H_{11'a}$), 1.36 (s, 3H, $H_{11'b}$), 0.99 (t, 9H, $J_{H9'-H8'}$ = 8.0 Hz, $H_{9'}$), 0.62 (q, 6H, $J_{H8'-H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 163.3 (C_4), 150.5 (C_2), 142.1 (C_6), 114.6 ($C_{10'}$), 103.3 ($C_{6'}$), 102.8 (C_5), 94.6 ($C_{1'}$), 90.4 ($C_{7'}$), 87.6 ($C_{4'}$), 83.2 ($C_{2'}$), 80.5 ($C_{3'}$), 63.3 ($C_{5'}$), 27.5, 25.4 ($C_{11'}$), 7.5 ($C_{9'}$), 4.1 ($C_{8'}$). Other spectral data were in agreement with literature[194].

116b: ^{1}H NMR δ 9.11 (s, 1H, NH), 7.53 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.71-5.69 (m, 2H, H_5 et $H_{1'}$), 4.95-4.91 (m, 2H, $H_{2'}$ et $H_{3'}$), 4.65 (dl, 1H, $J_{H5'-OH}$ = 4.0 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 2.0 Hz, $H_{5'}$), 4.31 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 2.0 Hz, $H_{4'}$), 3.12 (sl, 1H, OH), 1.58 (s, 3H, H_{11}), 1.35 (s, 3H, $H_{11'}$), 0.99 (t, 9H, $J_{H9'-H8'}$ = 8.0 Hz, $H_{9'}$), 0.62 (q, 6H, $J_{H8'-H9'}$ = 8.0 Hz $H_{8'}$); 163.5 (C_4), 150.3 (C_2), 142.5 (C_6), 114.6 ($C_{10'}$), 104.0 ($C_{6'}$), 102.4 (C_5), 95.5 ($C_{1'}$), 89.9 ($C_{7'}$), 88.7 ($C_{4'}$), 84.2 ($C_{2'}$), 81.3 ($C_{3'}$), 63.5 ($C_{5'}$), 27.3, 25.4 (C_{11} et $C_{11'}$), 7.6 ($C_{9'}$), 4.4 ($C_{8'}$).

2',3'-Di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-5'-(triethylsilylethynyl)-uridine 123.

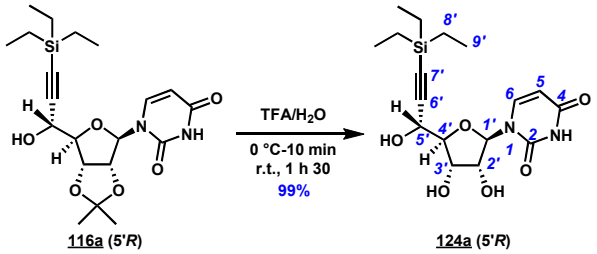


To a solution of alcohol **120** (1.5 g, 3.17 mmol, 1 equiv.), in acetonitrile (50 mL) was added IBX (2.5 g, 9.03 mmol, 2.85 equiv). The mixture was refluxed for 45 min, cooled to r.t. and filtered on a celite pad. The solid was washed with EtOAc and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude aldehyde (1.5 g, quantitative yield) was dried by co-evaporation with toluene and used without further purification. At 0 °C, under Ar, to a solution of triethylsilylacetylene (1.16 g, 8.24 mmol, 2.6 equiv), in THF (16 mL) was added dropwise a solution of ethylmagnesium bromide (3M in Et_2O, 2.8 mL, 8.24 mmol, 2.6 equiv.). The solution was stirred at 0 °C for 10 min and then at r.t. for 1 h. The crude aldehyde **98b** was dissolved in THF (16 mL), transferred into a dropping funnel and slowly added to the solution of the Grignard reagent at -15 °C. The mixture was stirred at -15 °C for 1 h 30 and then the reaction was quenched by addition of a saturated aqueous solution of NH_4Cl (40 mL) and THF was removed *in vacuo*. The aqueous phase was extracted with EtOAc (6 × 40 mL) and

the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude foam was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 7/3) and the alcohol **123** was obtained as a white foam (1.29 g, 68% yield over 2 steps). The major diastereoisomer **123a** has been isolated with 21% yield, Data for **123a**: R_f = 0.36 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); IR (film) 3201*br*, 2870*w*, 1670*s*, 1460*m*, 1362*m,* 1081*s,* 723*s*; ^{1}H NMR δ 9.83 (s, 1H, NH), 7.60 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.73 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 1.5 Hz, H_5), 5.61 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 4.62 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.54 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 6.0 Hz, $H_{2'}$), 4.17 (dd, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 5.0 Hz, $J_{H5'\text{-}OH'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{4'}$), 3.50-3.45 (m, 1H, OH), 0.99 (t, 9H, $J_{H9'\text{-}H8'}$ = 8.0 Hz, $H_{9'}$), 0.89 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$),), 0.86 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$),), 0.62 (q, 6H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{8'}$), 0.07 (s, 6H, C$\underline{H}_3$), 0.05 (s, 3H, C$\underline{H}_3$), 0.03 (s, 3H, C$\underline{H}_3$).

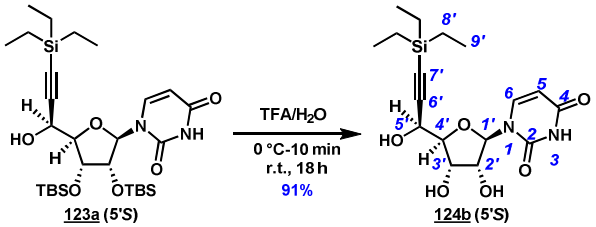
123b (caracteristic signals) : ^{1}HNMR δ 9.68 (s, 1H, NH), 7.63 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 4.30-4.26 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.10-4.09 (m, 1H, $H_{2'}$).

5'(*R*)-(triethylsilylethynyl)-uridine 124a.



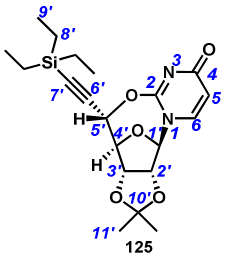
At 0 °C, to a suspension of alcohol **116a** (113 mg, 0.27 mmol, 1 equiv.), in water (1 mL), TFA was added dropwise (4 mL). The mixture was stirred at 0 °C for 10 min and then at r.t. for 1 h 30. The mixture was then concentrated to dryness and the residue was purified by flash chromatography (EtOAc) to furnish the triol **124a** as a white foam (103 mg, 99% yield): R_f = 0.12 (EtOAc); mp 167-169 °C; $[\alpha]_D$ - 34 (*c* 0.8, MeOH); IR (film) 3199*br*, 2830*w*, 1665*s*, 1461*m*, 1352*m,* 1080*s,* 756*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.98 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 6.02 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 7.0 Hz, $H_{1'}$), 5.68 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 4.57-4.55 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.29 (d, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{3'}$), 4.23 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 7.0 Hz, $H_{2'}$), 4.11-4.09 (m, 1H, $H_{4'}$), 1.01 (t, 9H, $J_{H9'\text{-}H8'}$ = 8.0 Hz, $H_{9'}$), 0.60 (q, 6H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 165.9 (C_4), 152.6 (C_2), 142.5 (C_6), 103.1 ($C_{6'}$), 102.8 (C_5), 89.3 ($C_{1'}$), 89.5 ($C_{7'}$), 88.9 ($C_{4'}$), 75.6 ($C_{2'}$), 71.9 ($C_{3'}$), 63.9 ($C_{5'}$), 7.8 ($C_{9'}$), 5.1 ($C_{8'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{17}H_{27}N_2O_6Si^+$ (M + H)$^+$ 383.1633, found 383.1632.

5'(*S*)-(triethylsilylethynyl)-uridine 124b.



At 0 °C, to a suspension of alcohol **123a** (68 mg, 0.11 mmol, 1 equiv.), in water (650 µL), TFA was added dropwise (1.65 mL). The mixture was stirred at 0 °C for 10 min and then at r.t. for 18 h. The mixture was then concentrated to dryness and the residue was purified by flash chromatography (EtOAc) to furnish the triol **124b** as a white foam (38 mg, 91% yield): R_f = 0.12 (EtOAc); mp 132-135 °C; $[\alpha]_D$ + 12 (*c* 0.9, MeOH); IR (film) 3201*br*, 2842*w*, 1667*s*, 1452*m*, 1356*m,* 1080*s,* 820*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.98 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.98 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 5.68 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 4.55 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 3.0 Hz $H_{5'}$), 4.25 (t, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 6.0 Hz, $H_{2'}$), 4.20 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 4.05 (t, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 3.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 1.01 (t, 9H, $J_{H9'-H8'}$ = 8.0 Hz, $H_{9'}$), 0.63 (q, 6H, $J_{H8'-H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 166.2 (C_4), 152.7 (C_2), 142.6 (C_6), 107.5 ($C_{6'}$), 103.0 (C_5), 89.8 ($C_{1'}$), 88.6 ($C_{7'}$), 88.4 ($C_{4'}$), 75.7 ($C_{2'}$), 71.9 ($C_{3'}$), 63.4 ($C_{5'}$), 7.8 ($C_{9'}$), 5.3 ($C_{8'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{17}H_{27}N_2O_6Si^+$ $(M + H)^+$ 383.1633, found 383.1634.

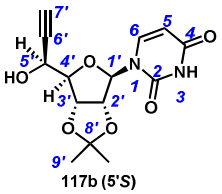
2,5'-Anhydro-5'(*S*)-2',3'-*O*-isopropylidene-uridine 125.



To a solution of **116a** (348 mg, 0.82 mmol, 1 equiv) and triphenylphosphine (236 mg, 0.90 mmol, 1.1 equiv) in THF (17 mL), DIAD was added dropwise (180 µL, 0.90 mmol, 1.1 equiv). The reaction mixture was refluxed for 5 min and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 1/2 then 1/3) to give compound **125** as a white solid (330 mg, quantitative yield): R_f 0.23 (EtOAc); m.p. 146 °C $[\alpha]_D$ + 137 (*c* 1.3 ; $CHCl_3$); IR (film) 2956*s*, 2933*s*, 2870*m*, 2850*w*, 1644*s,* 950*w*; ^{1}H NMR 7.30 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 6.12 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.38 (s, 1H, $H_{1'}$), 5.16 (s, 1H, $H_{5'}$), 4.97 (d, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.90 (d, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.66 (s, 1H, $H_{4'}$), 1.52 (s, 3H, H_{11}), 1.32 (s, 3H, $H_{11'}$), 0.90 (t, 9H, $J_{H9'-H8'}$ = 7.5 Hz, $H_{9'}$), 0.52 (q, 6H, $J_{H8'-H9'}$ = 7.5 Hz $H_{8'}$);

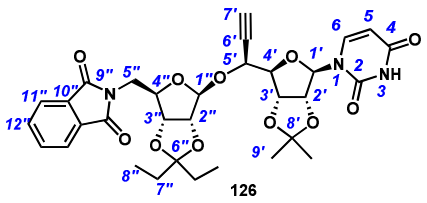
^{13}C NMR δ 170.9 (C_4), 154.9 (C_2), 141.2 (C_6), 113.9 ($C_{10'}$), 110.9 (C_5), 99.1 ($C_{1'}$), 97.5 ($C_{6'}$), 95.1 ($C_{7'}$), 87.4 ($C_{4'}$), 85.4 ($C_{2'}$), 82.2 ($C_{3'}$), 74.5 ($C_{5'}$), 26.3, 24.7 ($C_{11'}$), 7.5 ($C_{9'}$), 4.1 ($C_{8'}$). Other spectral data were in agreement with literature[194].

5'(*S*)-(Ethynyl)-2',3'-*O*-isopropylidene-uridine 117b.



To a solution of anhydro-uridine **125** (1.16 g, 2.87 mmol, 1 equiv) in methanol (30 mL) was added sodium hydroxide (1.5 M, 19 mL, 28 mmol, 10 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 3 h and the medium was neutralized by the addition of a saturated aqueous solution of NH_4Cl, and volatiles were removed *in vacuo*. The resulting aqueous phase was extracted with EtOAc (5 × 60 mL) and the combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting pale white solid was washed with hot cyclohexane and the resulting white fine powder was filtered out to give alkyne **117b** (920 mg, 98% yield): R_f 0.36 (Cyclohexane/EtOAc 1/3); m.p. 180 °C; IR (film) 3384*br*, 3305*w*, 3020*w*, 1700*s*, 1454*m*, 1184*w*; $[\alpha]_D$ + 2 (*c* 0.2 ; $CHCl_3$); ^{1}H NMR (CD_3CN) δ 9.01 (s, 1H, NH), 7.58 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 5.78 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.62 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, H_5), 4.91 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 4.84 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.53 (ddd, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H7'}$ = 2.5 Hz, $J_{H5'\text{-}OH'}$ = 6.0 Hz, $H_{5'}$), 4.35 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 3.93 (d, 1H, $J_{OH\text{-}H5'}$ = 6.0 Hz, OH), 2.76 (d, 1H, $J_{H7'\text{-}H5'}$ = 2.5 Hz, $H_{7'}$), 1.52 (s, 3H, $H_{9'a}$), 1.32 (s, 3H, $H_{9'b}$); ^{13}C NMR δ 164.1 (C_4), 151.5 (C_2), 143.2 (C_6), 114.8 ($C_{8'}$), 102.8 (C_5), 94.4 ($C_{1'}$), 89.6 ($C_{4'}$), 84.9 ($C_{2'}$), 82.9 ($C_{6'}$), 82.9 ($C_{6'}$), 82.0 ($C_{3'}$), 75.4 ($C_{7'}$), 63.3 ($C_{5'}$), 27.5, 25.4 ($C_{9'}$). Other spectral data were in agreement with literature[194].

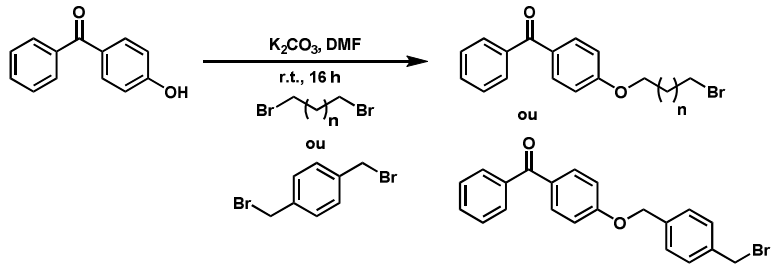
1'',5''-Dideoxy-2'',3''-*O*-isopentylidene-5''-phthalimido-1''-[2',3'-*O*-isopropylidene-5'(S)-ethynyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 126.



The propargylic alcohol **117b** (1.1 g, 3.1 mmol, 1 equiv) and the fluoride **115** (1.62 g, 4.65 mmol, 1.5 equiv) were dried together by coevaporation with toluene (3 × 10 mL) and

dissolved in DCM (86 mL). The flask was flushed with argon and molecular sieves 4 Å (11 g) was added in one portion. The suspension was vigorously stirred at r.t. for 1 h then cooled to -78 °C. At -78 °C, $BF_3 \cdot Et_2O$ (535 µL, 4.65 mmol, 1.5 equiv) was dropwise added and the reaction mixture was stirred at this temperature for 10 min and then at r.t. for 18 h. The suspension was then diluted in DCM (80 mL) and the reaction was quenched by addition of a saturated aqueous $NaHCO_3$ solution (50 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (6 × 150 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting white foam was purified by flash chromatography (Toluene/Acetone 85/15) to give alkyne **126** as a β/α mixture (β/α = 13/1) as a white foam (1.79 g, 90% combined yield). The β anomer was isolated as a white foam (69% yield): R_f 0.30, Toluene/Acetone 75/25); m.p. 135-137 °C; $[\alpha]_D$ - 43 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3421*br*, 2974*w*, 2941*w*, 1773*m*, 1710*s,* 1396*s*, 1082*s*, 926*s*; ^{1}H NMR δ 8.82 (s, 1H, NH), 7.87-7.85 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.74-7.73 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.40 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.80 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.74 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 1.5 Hz, $H_{1'}$), 5.30 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.92-4.99 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{3'}$), 4.81 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.67 (dd, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $J_{H5'-H7'}$ = 2.0 Hz, $H_{5'}$), 4.47 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 10.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.5 Hz, $H_{4''}$), 4.34 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 2.5 Hz, $H_{4'}$), 3.96 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.90 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.60 (d, 1H, $J_{H7'-H5'}$ = 2.0 Hz, $H_{7'}$), 1.65-1.61 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.59 (s, 3H, $H_{9'}$), 1.52 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.39 (s, 3H, $H_{9'}$), 0.85 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.3 ($C_{9''}$), 162.9 (C_4), 150.1 (C_2), 142.1 (C_6), 134.3 ($C_{12''}$), 132.1 ($C_{10''}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.2 ($C_{6''}$), 114.7 ($C_{8'}$), 109.4 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 94.8 ($C_{1'}$), 88.6 ($C_{4'}$), 85.9 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.2 ($C_{2'}$), 82.6 ($C_{3''}$), 81.5 ($C_{3'}$), 79.7 ($C_{6'}$), 76.5 ($C_{7'}$), 68.6 ($C_{5'}$), 40.7 ($C_{5''}$), 29.6, 28.9 ($C_{7''}$), 27.2, 25.4 ($C_{9'}$), 8.4, 7.4 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^-$ Calcd for $C_{32}H_{34}N_3O_{11}^-$ $(M - H)^-$ 636.2193, found 636.2204.

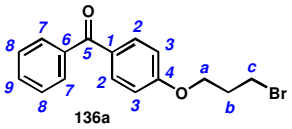
General procedure for 4-hydroxy-benzophenone monoalkylation.



To a solution of 4-hydroxy-benzophenone in DMF (0.1 M), was added dibromide derivative (2.46 equiv) and potassium carbonate (5 equiv). The solution was stirred at r.t. for 16 h and

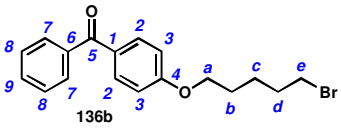
then diluted in Et_2O (150 mL) and water (150 mL). The aqueous phase was extracted with Et_2O (2 × 150 mL) and the combined organic layers were washed with brine (2 × 150 mL) and water (2 × 150 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography to give the corresponding building block.

4-*O*-(3-Bromo-propyl)-benzophenone 136a.



Compound **136a** was synthesized according to the general procedure for 4-hydroxy-benzophenone monoalkylation from 4-hydroxy-benzophenone (1.0 g, 5.0 mmol, 1 equiv) and 1,3-dibromopropane (2.5 g, 12.4 mmol, 2.46 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 2/1 to 1/1) afforded **136a** as a colorless oil (1.2 g, 75% yield): R_f 0.40 (Cyclohexane/DCM 1/1); IR (film) 3061*w*, 2928*s*, 1600*s*, 1250*s*; ^{1}H NMR δ 7.83 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 9.0 Hz, H_2), 7.76 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.56 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.47 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.97 (d, 2H, J_{H3-H2} = 9.0 Hz, H_3), 4.19 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 5.5 Hz, H_a), 3.61 (t, 2H, J_{Hc-Hb} = 6.5 Hz, H_c), 2.35 (tt, 2H, J_{Hb-Hc} = 6.5 Hz, J_{Hb-Ha} = 5.5 Hz, H_b); ^{13}C NMR δ 195.6 (C_5), 162.4 (C_4), 138.4 (C_6), 132.7 (C_2), 132.6 (C_9), 130.1 (C_1), 129.8 (C_7), 128.3 (C_8), 114.2 (C_3), 55.7 (C_a), 32.3 (C_c), 29.8 (C_b); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 319 ($M^{79}Br + H)^+$ (100%), 321 ($M^{81}Br + H)^+$ (100%); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{16}H_{16}BrO_2^+$ $(M + H)^+$ 319.0334, found 319.0324.

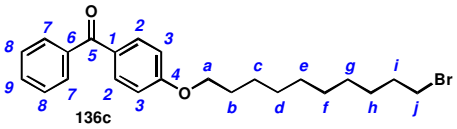
4-*O*-(5-Bromo-pentyl)-benzophenone 136b.



Compound **136b** was synthesized according to the general procedure for 4-hydroxy-benzophenone monoalkylation from 4-hydroxy-benzophenone (1.1 g, 5.05 mmol, 1 equiv) and 1,5-dibromopentane (2.9 g, 12.4 mmol, 2.46 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 1/1 to 1/3) afforded **136b** as a colorless oil (1.3 g, 72% yield): R_f 0.49 (Cyclohexane/DCM 1/2); IR (film) 2943*w,* 1650*s*, 1699*s*, 1255*s*; ^{1}H NMR δ 7.83 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 9.0 Hz, H_2), 7.76 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.57 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.95 (d, 2H, J_{H3-H2} = 9.0 Hz, H_3), 4.06 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 6.5 Hz, H_a), 3.46 (t, 2H, J_{He-Hd}= 7.0 Hz, H_e), 1.96 (tt, 2H, J_{Hd-Hc} = 7.5 Hz, J_{Hd-He}= 7.0 Hz, H_d), 1.86 (tt, 2H, J_{Hb-Hc} = 7.5 Hz, J_{Hb-Ha} = 6.5 Hz, H_b), 1.69-1.63 (m, 2H, H_c); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_5), 162.8 (C_4), 138.5 (C_6), 132.7 (C_2), 132.0 (C_9), 130.3 (C_1), 129.9 (C_7), 128.4 (C_8), 114.2 (C_3), 68.1

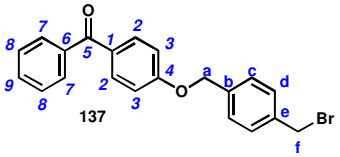
(C_a), 33.6 (C_e), 32.6 (C_d), 28.5 (C_b), 24.9 (C_c); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 347 ($M^{79}Br + H)^+$ (100%), 349 ($M^{81}Br + H)^+$ (100%); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{18}H_{20}BrO_2^+$ $(M + H)^+$ 347.0647, found 347.0651.

4-*O*-(10-Bromo-decanyl)-benzophenone 136c.



Compound **136c** was synthesized according to the general procedure for 4-hydroxy-benzophenone monoalkylation from 4-hydroxy-benzophenone (1.0 g, 5.05 mmol, 1 equiv) and 1,10-dibromodecane (3.72 g, 12.4 mmol, 2.46 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 2/1 to 1/2) afforded **136c** as a white solid (1.70 g, 80% yield): R_f 0.33 Cyclohexane/DCM 1/1); m.p. 58-60 °C; IR (film) 2919*m,* 2850*m*, 1638*s*, 1254*s*; ^{1}H NMR δ 7.83 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 9.0 Hz, H_2), 7.77 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.57 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.96 (d, 2H, J_{H3-H2} = 9.0 Hz, H_3), 4.05 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 6.5 Hz, H_a), 3.42 (t, 2H, J_{Hj-Hi} = 7.0 Hz, H_j), 1.89-1.84 (m, 2H, H_i) , 1.61 (tt, 2H, J_{Hb-Hc} = 8.0 Hz, J_{Hb-Ha} = 6.5 Hz, H_b), 1.51-1.41 (m, 4H, H_c, H_h), 1.39-1.30 (m, 8H, H_d, H_e, H_f, H_g); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_5), 163.1 (C_4), 138.6 (C_6), 132.8 (C_2), 132.0 (C_9), 130.2 (C_1), 129.9 (C_7), 128.4 (C_8), 114.2 (C_3), 68.5 (C_a), 34.2 (C_j), 33.0 (C_i), 29.7, 29.6, 29.5, 29.3 (C_b, C_d, C_e, C_f), 28.9 (C_g), 28.4 (C_h), 26.2 (C_c); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 417 ($M^{79}Br + H)^+$ (100%), 419 ($M^{81}Br + H)^+$ (100%); HRMS Calcd for $C_{23}H_{29}BrO_2^+$ $(M + H)^+$ 417.1429, found 417.1434.

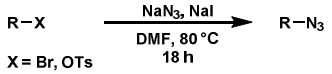
α-Bromo-α'-(4-*O*-benzophenone)-*p*-xylene 137.



Compound **137** was synthesized according to the general procedure for 4-hydroxy-benzophenone monoalkylation from 4-hydroxy-benzophenone (1.0 g, 5.05 mmol, 1 equiv) and α,α'-dibromo-*p*-xylene (3.27 g, 12.4 mmol, 2.46 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 1/1 to 1/2) afforded **137** as a white solid (845 mg, 44% yield): R_f 0.16 (Cyclohexane/DCM 1/1); m.p. 122-124 °C; IR (film) 3062*w*, 2862*m*, 1641*s*, 1602*s*, 1250*s*; ^{1}H NMR δ 7.84 (d, 2H, J_{H2-H3} = 8.5 Hz, H_2), 7.77 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.58 (t, 1H, J_{H9-H8} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = 7.5 Hz, H_8), 7.46-7.42 (m, 4H, H_c, H_d), 7.04 (d, 2H, J_{H3-H2} = 8.5 Hz, H_3), 5.16 (s, 2H, H_a), 4.52 (s, 2H, H_f); ^{13}C NMR δ 195.6 (C_5), 162.4 (C_4),

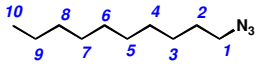
138.5 (C_6), 138.0 (C_e), 136.8 (C_b), 132.7 (C_2), 132.1 (C_9), 130.8 (C_1), 129.9 (C_7), 129.6 (C_d), 128.4 (C_8), 128.0 (C_c), 114.6 (C_3), 69.9 (C_a), 33.1 (C_f); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 381 ($M^{79}Br + H)^+$ (100%), 383 ($M^{81}Br + H)^+$ (100%); HRMS Calcd for $C_{21}H_{18}BrO_2^+$ $(M + H)^+$ 381.0490, found 381.0476.

General procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution.



Caution: The use of azide coumpounds has been shown to be hazardous.[268] *In our case and at our scale, no troubles were noticed.* To a solution of bromine or tosyl derivative (1 equiv) in DMF (0.9 M), was added NaN_3 (2 equiv) and NaI (0.5 equiv). The mixture was stirred at 80 °C overnight and then cooled to r.t. The mixture was diluted in a 1/1 Et_2O/water mixture (8 mL for 1 mL of DMF). The mixture was transferred into a separatory funnel and the aqueous layer was extracted with Et_2O (3 × 4 mL for 1 mL of DMF). The combined organic layers were successively washed with brine and then water. The organic layer was dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was then purified by flash chromatography to give the corresponding azide.

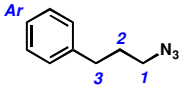
1-Azido-decane 127a.



127a

Azide **127a** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from bromo-decane (2 g, 9 mmol). Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 9/1) afforded **127a** as a colorless oil (1.53 g, 92% yield): R_f 0.60 (Cyclohexane/DCM 8/2); IR (film) 2926*s*, 2855*s*, 2095*s*, 1475*m*; ^{1}H NMR δ 3.26 (t, 2H, J_{H1-H2} = 7.0 Hz, H_1), 1.66-1.54 (m, 2H, H_2), 1.40-1.28 (m, 14H, H_3, H_4, H_5, H_6, H_7, H_8, H_9), 0.91-0.86 (m, 3H, H_{10}). Other spectral data were in agreement with literature.[269]

1-Azido-3-phenyl-propane 127c.

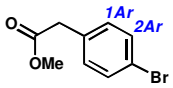


127c

[268] Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
[269] Díaz, L.; Bujons, J.; Casas, J.; Llebaria, A.; Delgado, A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5248-5255.

Azide **127c** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from 1-bromo-3-phenyl-propane (2g, 10 mmol). Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 8/2) afforded **127c** as a colorless oil (1.63 g, 99% yield): R_f 0.50 (Cyclohexane/DCM 8/2). ^{1}H NMR δ 7.43-7.23 (m, 5H, H_{ar}), 3.35 (t, 2H, J_{H1-H2} = 7.0 Hz, H_1), 2.78 (t, 2H, J_{H3-H2} = 8.0 Hz, H_3), 1.98 (m, 2H, H_2). Other spectral data were in agreement with literature.[270]

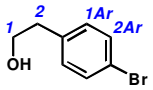
Methyl-*2*-(4-bromophenyl)-acetate 132.



132

To a suspension of *p*-bromo-phenylacetic acid (2.0 g, 9.3 mmol, 1equiv.) in methanol (18 mL), concentrated sulfuric acid was dropwise added (5 drops, cat). The mixture was refluxed for 3 h, cooled to r.t., diluted with DCM (20 mL) and washed with a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$, The organic layer was dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated *in vacuo* to furnish the pure ester **132** (1.78 g, 85% yield): R_f 0.75 (Cyclohexane/DCM 2/1). ^{1}H NMR (250 MHz) δ 7.46 (dl, 2H, $J_{H2ar-H1ar}$ = 8.5 Hz, H_{2ar}), 7.16 (dl, 2H, $J_{H1ar-H2ar}$ = 8.5 Hz, H_{1ar}), 3.70 (s, 3H, O-C$\underline{H_3}$), 3.59 (s, 2H, Ar-C$\underline{H_2}$-CO). Spectral data were in agreement with literature[219].

2-(4-Bromophenyl)ethan-1-ol 133.



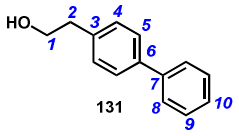
133

To a solution of ester **132** (800 mg, 3.48 mmol, 1equiv.) in THF (14 mL), DIBAL-H was dropwise added (1.2 M in toluene, 6.4 mL, 7.68 mmol, 2.2 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 7 h, and quenched by addition of water (15 mL). The resulting slurry was slowly acidified to pH = 1 by addition of concentrated chlorhydric acid (37%) and the aqueous layer was extracted with DCM (3 × 40 mL). The organic layer was dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated *in vacuo* to furnish the pure alcohol **133** (580 mg, 83% yield): R_f 0.20 (Cyclohexane/DCM 2/1). ^{1}H NMR (250 MHz) δ 7.44 (dl, 2H, $J_{H2ar-H1ar}$ = 8.0 Hz, H_{2ar}), 7.12 (br d, 2H, $J_{H1ar-H2ar}$ = 8.0 Hz, H_{1ar}), 3.66 (t, 2H, J_{H1-H2} = 6.5 Hz, H_1), 2.83 (t, 2H, J_{H2-H1} = 6.5 Hz, H_2), 1.47 (sl, 1H, OH). Spectral data were in agreement with literature[219].

---

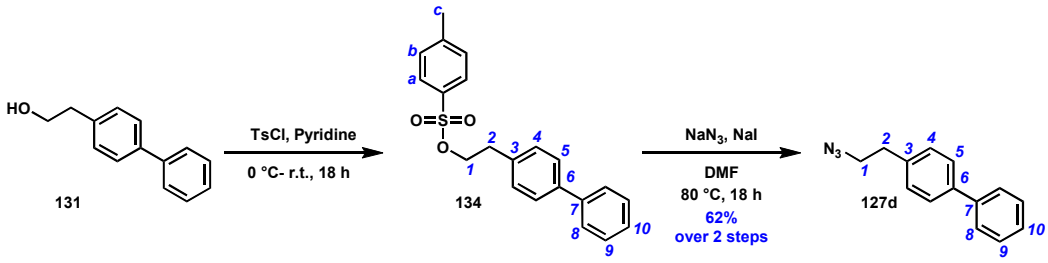
[270] (a) Colombano, G.; Travelli, C.; Galli, U.; Caldarelli, A.; Chini, M.G.; Canonico, P.L.; Sorba, G.; Bifulco, G.; Tron, G.C.; Genazzani, A.A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 616–623. (b) Lepore, S.D.; Mondal, D.; Li, S.Y.; Bhunia, A.K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7511-7514.

2-(4-Biphenylyl)-ethan-1-ol 131.



To a suspension of alcohol **133** (500 mg, 2.48 mmol, 1 equiv), phenylboronic acid (652 mg, 5.35 mmol, 2.1 eqiuv) and potassium carbonate (556 mg, 4.02 mmol, 1.6 equiv) in a 3/1 ethanol/water mixture (9 mL) was added palladium acetate (7 mg, 0.03 mmol, 1% mol). The mixture was stirred at 80 °C for 18 h. After addition of water (10 mL) and extraction with Et_2O (3 × 20 mL) the combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography (DCM) afforded **131** as a white powder (409 mg, 83% yield): R_f 0.34, (DCM); m.p. 92 °C; IR (film) 3266*br*, 2927*m*, 1487*s*; ^{1}H NMR δ 7.59 (d, 2H, J_{H8-H9} = 8.5 Hz, H_8), 7.56 (d, 2H, J_{H5-H4} = 8.0 Hz, H_5), 7.45 (dd, 2H, J_{H9-H8} = 8.5 Hz, J_{H9-H10} = 7.5 Hz, H_9), 7.39-7.35 (m, 1H, H_{10}), 7.32 (d, 2H, J_{H4-H5} = 8.0 Hz, H_4), 3.93 (t, 2H, J_{H1-H2} = 6.5 Hz, H_1), 2.94 (t, 2H, J_{H2-H1} = 6.5 Hz, H_2), 1.52 (br s, 1H, OH); ^{13}C NMR δ 141.2 (C_7), 139.8 (C_6), 137.8 (C_3), 129.7 (C_4), 129.0 (C_9), 127.6 (C_8), 127.4 (C_{10}), 121.3 (C_5), 63.9 (C_1), 39.1 (C_2).

4-(2-azidoethyl)-1,1'-biphenyl 127d.

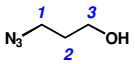


At 0°C, tosyl chloride (500 mg, 2.62 mmol, 1.5 equiv) was added to a solution of alcohol **131** (341 mg, 1.71 mmol, 1 equiv) in pyridine (20 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. for 18 h and then diluted with EtOAc (50 mL). After washing by aqueous solution of HCl (3 × 40 mL) and brine (40 mL), the organic layer was dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The crude tosylated alcohol **134** was obtained as a pale orange oil (368 mg) and used without any further purifications. Data for **131**: ^{1}H NMR (250 MHz) δ 7.60 (d, 2H, J_{Ha-Hb} = 8.0 Hz, H_a), 7.51-7.21 (m, 7H, H_{10}, H_9, H_8, H_5), 7.17 (d, 2H, J_{Hb-Ha} = 8.0 Hz, H_b), 7.08 (d, 2H, J_{H4-H5} = 8.5 Hz, H_4), 4.16 (t, 2H, J_{H1-H2} = 7.1 Hz, H_1), 2.90 (t, 2H, J_{H2-H1} = 7.1 Hz, H_2). Data were in agreement with literature[271].

[271] Bentley, M.D.; Dewar, M.J.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 3996-4002.

Azide **127d** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from 2-(4'-biphenylyl)ethyl tosylate (1.04 mmol, 368mg); Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 9/1) afforded **127d** as a white solid (230 mg, 62% over 2 steps from alcohol **131**): R_f 0.26, (Cyclohexane/DCM 9/1); m.p. 102-104 °C; IR (film) 3031*m*, 2098*s*, 1487*s*; ^{1}H NMR δ 7.62 (d, 2H, J_{H8-H9} = 8.0 Hz, H_8), 7.59 (d, 2H, J_{H5-H4} = 8.0 Hz, H_5), 7.45 (tl, 2H, $J_{H9-H8} = J_{H9-H10}$ = 8.0 Hz, H_9), 7.39-7.36 (m, 1H, H_{10}), 7.33 (d, 2H, J_{H4-H5} = 8.1 Hz, H_4), 3.58 (t, 2H, J_{H1-H2} = 7.2 Hz, H_1), 2.97 (t, 2H, J_{H2-H1} = 7.2 Hz, H_2); ^{13}C NMR δ 141.0 (C_7), 140.0 (C_6), 137.3 (C_3), 129.3 (C_4), 128.9 (C_9), 127.6 (C_8), 127.4 (C_{10}), 127.3 (C_5), 52.6 (C_1), 35.2 (C_2); MS APCI (N_2) m/z (%): 223 $(M)^+$ (100%); HRMS APPI Calcd for $C_{14}H_{13}N_3^+$ $(M)^+$ 223.1109, found 223.1102.

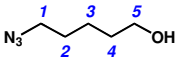
1-Azido-propan-3-ol 127e.



127e

Azide **127e** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from 3-bromopropan-1-ol (1 g, 7.23 mmol). Flash chromatography (DCM) afforded **127e** as a colorless oil (650 mg, 86% yield): R_f 0.40 (DCM); IR (film) 3366*br*, 2941*m*, 2881*m*, 2098*s*, 1294*m*; ^{1}H NMR δ 3.77 (t, 2H, J_{H1-H2} = 6.3 Hz, H_1), 3.46 (t, 2H, J_{H3-H2} = 6.3 Hz, H_3), 1.84 (tt, 2H, $J_{H2-H1} = J_{H2-H3}$ = 6.3 Hz, H_2), 1.63 (sl, 1H, OH). Other spectral data were in agreement with literature.[272]

1-Azido-pentan-5-ol 127f.



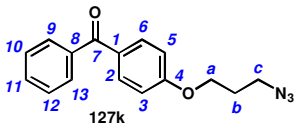
127f

Azide **127f** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from 5-bromopentan-1-ol (800 mg, 4.79 mmol). Flash chromatography (DCM) afforded **127f** as a colorless oil (561 mg, 91% yield): R_f 0.50 (DCM); IR (film) 3375*br*, 2939*m*, 2860*m*, 2096*s*, 1261*m*; ^{1}H NMR δ 3.66 (t, 2H, J_{H1-H2} = 6.3 Hz, H_1), 3.29 (t, 2H, J_{H5-H4} = 6.5 Hz, H_5), 1.70-1.55 (m, 4H, H_4, H_2), 1.52-1.42 (m, 3H, H_3, OH). Spectral data were in agreement with literature.[273]

---

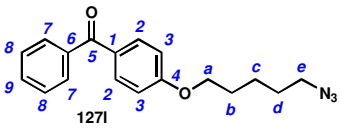
[272] Mantovani, G.; Ladmiral, V.; Tao, L.; Haddleton, D.M. *Chem. Commun.* **2005**, 2089–2091.
[273] Asano, K. Matsubara, S. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4988-4991.

4-(3-Azido-propyloxy)-benzophenone 127k.



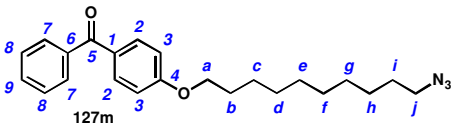
Azide **127k** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from compound **136a** (1.02 g, 3.2 mmol). Flash chromatography (DCM) afforded **127k** as a colorless oil (798 mg, 88% yield): R_f 0.42 (Cyclohexane/DCM 1/1); IR (film) 2938*br*, 2098*s*, 1600*m*, 1600*s*; ^{1}H NMR δ 7.84 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 9.0 Hz, H_2), 7.77 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.58 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.97 (d, 2H, J_{H3-H2} = 9.0 Hz, H_3), 4.15 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 6.0 Hz, H_a), 3.55 (t, 2H, J_{Hc-Hb} = 6.5 Hz, H_c), 2.10 (tt, 2H, J_{Hb-Hc} = 6.5 Hz, J_{Hb-Ha} = 6.0 Hz, H_b); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_5), 162.5 (C_4), 138.5 (C_6), 132.8 (C_2), 132.1 (C_9), 130.6 (C_1), 129.9 (C_7), 128.4 (C_8), 114.2 (C_3), 64.9 (C_a), 48.3 (C_c), 28.9 (C_b); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 282 (M + H)$^+$ (100%); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{16}H_{16}N_3O_2^+$ (M + H)$^+$ 282.1243, found 282.1245.

4-(5-Azido-pentyloxy)-benzophenone 127l.



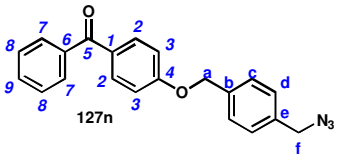
127l was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from compound **136b** (980 mg, 2.82 mmol). Flash chromatography (DCM) afforded **127l** as a colorless oil (835 mg, 96% yield): R_f 0.37 (Cyclohexane/DCM 1/1); IR (film) 2117*s*, 1639*s*, 1602*s*, 1252*s*; ^{1}H NMR δ 7.83 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 9.0 Hz, H_2), 7.76 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.57 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.95 (d, 2H, J_{H3-H2} = 9.0 Hz, H_3), 4.06 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 6.5 Hz, H_a), 3.33 (t, 2H, J_{He-Hd} = 7.0 Hz, H_e), 1.87 (tt, 2H, J_{Hb-Hc} = 7.0 Hz, J_{Hb-Ha} = 6.5 Hz, H_b), 1.61 (tt, 2H, J_{Hd-Hc} = 7.5 Hz, J_{Hd-He} = 7.0 Hz, H_d), 1.62-1.56 (m, 2H, H_c); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_5), 162.8 (C_4), 138.5 (C_6), 132.7 (C_2), 132.0 (C_9), 130.3 (C_1), 129.9 (C_7), 128.4 (C_8), 114.2 (C_3), 68.0 (C_a), 51.5 (C_e), 28.9 (C_b), 28.8 (C_d), 23.5 (C_c); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 310 (M + H)$^+$ (100%); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{18}H_{20}N_3O_2^+$ (M + H)$^+$ 310.1556, found 310.1549.

4-(10-Azido-decanyloxy)-benzophenone 127m.



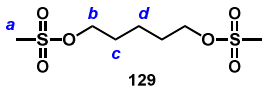
Azide **127m** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from compound **136c** (1.21 g, 2.9 mmol). Flash chromatography (DCM) afforded **127m** as a white solid (980 mg, 90% yield): R_f 0.49 (Cyclohexane/DCM 1/1); m.p. 46-48 °C; IR (film) 2920*m*, 2851*w*, 2118*s*, 1639*s*, 1602*s*, 1252*s*; ^{1}H NMR δ 7.83 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 9.0 Hz, H_2), 7.76 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.57 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.96 (d, 2H, J_{H3-H2} = 9.0 Hz, H_3), 4.05 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 6.5 Hz, H_a), 3.27 (t, 2H, J_{Hj-Hi} = 7.0 Hz, H_j), 1.83 (tt, 2H, J_{Hb-Hc} = 7.0 Hz, J_{Hb-Ha} = 6.5 Hz, H_b), 1.61 (tt, 2H, J_{Hi-Hj} = J_{Hi-Hh}= 7.0 Hz, H_i), 1.51-1.46 (m, 2H, H_c), 1.43-1.30 (m, 10H, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_5), 163.1 (C_4), 138.6 (C_6), 132.8 (C_2), 132.0 (C_9), 130.2 (C_1), 129.9 (C_7), 126.1 (C_8), 114.2 (C_3), 68.5 (C_a), 51.7 (C_j), 29.6, 29.6, 29.5, 29.3 (C_e, C_f, C_g, C_b, C_d), 29.1 (C_i), 26.9 (C_c), 26.2 (C_h); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 380 (M + H)$^+$ (100%), 781 (2M + Na)$^+$ (50%); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{23}H_{30}N_3O_2^+$ (M + H)$^+$ 380.2338, found 380.2332.

4-(4-Azidoethyl-benzyloxy)-benzophenone 127n.



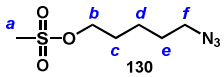
Azide **127n** was synthesized according to the general procedure for azides synthesis by nucleophilic substitution from compound **137** (840 mg, 2.20 mmol). Flash chromatography (Cyclohexane/DCM 1/1 to DCM) afforded **127n** as a white solid (601 mg, 80% yield): R_f 0.20 (Cyclohexane/DCM 1/1); m.p. 133-135 °C; IR (film) 3675*w*, 2988*m*, 2129*s*, 1644*s*, 1600*s*, 1252*s*; ^{1}H NMR δ 7.84 (d, 2H, J_{H2-H3} = 9.0 Hz, H_2), 7.77 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.58 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 7.48 (d, 2H, J_{Hc-Hd} = 7.5 Hz, H_c), 7.37 (d, 2H, J_{Hd-Hc} = 7.5 Hz, H_d), 7.05 (d, 2H, J_{H3-H2} = 9.0 Hz, H_3), 5.17 (s, 2H, H_a), 4.38 (s, 2H, H_f); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_5), 162.4 (C_4), 138.4 (C_6), 136.6 (C_e), 135.7 (C_b), 132.8 (C_2), 132.1 (C_9), 130.7 (C_1), 129.9 (C_7), 128.7 (C_d), 128.4 (C_8), 128.1 (C_c), 114.6 (C_3), 70.0 (C_a), 54.7 (C_f); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{21}H_{18}N_3O_2^+$ (M + H)$^+$ 344.1399, found 344.1393.

1,5-Dimethanesulfonyl-pentane 129.



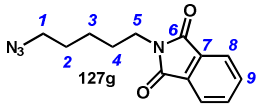
To a solution of pentan-1,5-diol (2.50 g, 24 mmol, 1 equiv) in DCM (120 mL), was added triethylamine (7.68 mL, 55 mmol, 2.3 equiv). At 0 °C, was then added dropwise methanesulfonyl chloride (4.26 mL, 55 mmol, 2.3 equiv). The mixture was stirred at 0 °C for 30 minutes then at r.t. for 2 h. The precipitate was filtered out and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 4/6 then 3/7) to give compound **129** as a colorless oil (5.92 g, 99% yield): R_f 0.47 (Cyclohexane/EtOAc 4/6); IR (film) 2948*br*, 1347*s*, 1170*s*; ^{1}H NMR δ 4.25 (t, 4H, $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 6.5 Hz, H_b), 3.01 (s, 6H, H_a), 1.87-1.74 (m, 4H, H_c), 1.63-1.50 (m, 2H, H_d); ^{13}C NMR δ 69.6 (C_b), 37.6 (C_a), 28.7 (C_c), 21.8 (C_d); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 283 (M + Na)$^+$ (100%); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_7H_{16}NaO_6S_2^+$ (M + Na)$^+$ 283.0386, found 283.0385.

1-Azido-5-methanesulfonyl-pentane 130.



To a solution of compound **129** (4.75 g, 18 mmol, 1 equiv) in acetonitrile (95 mL), was added sodium azide (1.18 g, 18.2 mmol, 1 equiv). The mixture was refluxed for 18 h, cooled to r.t. and the precipate was filtered out. The filtrate was concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 7/3) to furnish compound **130** as a colorless oil (1.77 g, 47% yield), and starting material **129** as a colorless oil (625 mg, 13% yield). **130**: R_f 0.45 (Cyclohexane/EtOAc 7/3); IR (film) 2099*s*, 1351*s*, 1173*s*; ^{1}H NMR δ 4.22 (t, 2H, $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 6.5 Hz, H_b), 3.29 (t, 2H, $J_{Hf\text{-}He}$ = 6.5 Hz, H_f), 3.00 (s, 3H, H_a), 1.80-1.66 (m, 2H, H_c), 1.69-1.57 (m, 2H, H_e), 1.54-1.46 (m, 2H, H_d); ^{13}C NMR δ 69.8 (C_b), 51.3 (C_f), 37.5 (C_a), 28.8 (C_c), 28.4 (C_e), 22.9 (C_d); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 208 (M + H)$^+$ (100%); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_6H_{17}N_4O_3S^+$ (M + NH_4)$^+$ 225.1021, found 225.1015.

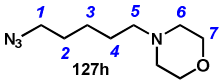
1-Azido-5-phthalimido-pentane 127g.



To a solution of mesylate **130** (428mg, 2.06 mmol, 1 equiv) in DMF (3 mL), was added potassium phthalimide (1.1 g, 6.2 mmol, 3 equiv). The suspension was stirred at 80 °C for 12 h, cooled to r.t. and diluted with ether (15 mL) and water (15 mL). The aqueous phase was

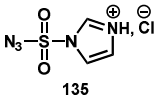
extracted with Et_2O (3 × 15 mL) and the combined organic layer were washed with brine (2 × 20 mL) and water (20 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 8/2) to give azide **127g** as a colorless oil (370 mg, 70%): R_f 0.49 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); IR (film) 2946*m*, 2098*s*, 1773*m*, 1713*s*, 1397*m*; ^{1}H NMR δ 7.86-7.83 (m, 2H, H_8), 7.73-7.70 (m, 2H, H_9), 3.70 (t, 2H, J_{H5-H4} = 7.5 Hz, H_5), 3.27 (t, 2H, J_{H1-H2} = 7.2 Hz, H_1), 1.75-1.62 (m, 2H, H_4), 1.68-1.62 (m, 2H, H_2), 1.46-1.40 (m, 2H, H_3); ^{13}C NMR δ 168.6 (C_6), 134.1 (C_9), 132.3 (C_7), 123.4 (C_8), 51.4 (C_1), 37.9 (C_5), 28.6 (C_2), 28.3 (C_4), 24.2 (C_3); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 259 $(M + H)^+$ (100%) 281 $(M + Na)^+$ (50%); HRMS APCI Calcd for $C_{13}H_{15}N_2O_2^+$ $(M - N_2 + H)^+$ 231.1134, found 231.1133.

1-Azido-5-morpholino-pentane 127h.



To a solution of mesylate **130** (315 mg, 1.51 mmol, 1 equiv) in dry acetonitrile (4 mL), were successively added morpholine (495 µL, 1.82 mmol, 1.2 equiv) and triethylamine (410 µL, 2.95 mmol, 1.95 equiv). The resulting solution was refluxed for 12 h, cooled to r.t. and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH/Et_3N 98/2/0.5%) to give azide **127h** as a colorless oil (268 mg, 90%): R_f 0.40 (DCM/MeOH/Et_3N 95/5/0.5%); IR (film) 2943*m*, 2861*m*, 2807*m*, 2095*s*, 1121*s*; ^{1}H NMR δ 3.66 (t, 4H, J_{H7-H6} = 5.0 Hz, H_7), 3.23 (t, 2H, J_{H1-H2} = 7.0 Hz, H_1), 2.40-2.38 (m, 4H, H_6), 2.31-2.26 (m, 2H, H_5), 1.51 (qt, 2H, J_{H2-H1} = J_{H2-H3} 7.0 Hz, H_2), 1.51-1.45 (m, 2H, H_4), 1.39-1.34 (m, 2H, H_3); ^{13}C NMR δ 67.0 (C_7), 58.9 (C_5), 53.9 (C_6), 51.4 (C_1), 28.8 (C_2), 26.2 (C_4), 24.7 (C_3); MS (ESI$^+$ m/z (%)) 199 $(M+H)^+$; HRMS APCI Calcd for $C_9H_{19}N_4O^+$ $(M + H)^+$ 199.1559, found 199.1556.

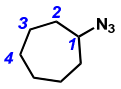
Imidazole-1-sulfonyl-azide-hydrochloride 135.



Sulfuryl chloride (16.1 mL, 200 mol) was added dropwise to an ice-cooled suspension of sodium azide (13.0 g, 200 mmol) in acetonitrile (200 mL) and the mixture was stirred overnight at r.t. Imidazole (25.9 g, 380 mmol) was added portionwise to the ice-cooled mixture and the resulting slurry was stirred for 3 h. at r.t. The mixture was diluted with EtOAc (400 mL), washed with H_2O (2 × 400 mL) then with a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$

(2 × 400 mL), dried over $MgSO_4$ and filtered. A solution of HCl in MeOH [obtained by the dropwise addition of AcCl (21.3 mL, 300 mmol) to ice-cooled dry methanol (75 mL)] was added dropwise to the filtrate with stirring. The mixture was cooled in an ice-bath, filtered and the filter cake was washed with EtOAc (3 × 100 mL) to give the corresponding chlorhydrate **135** as a white powder (26.4 g, 63%). Spectral data were in agreement with literature[225].

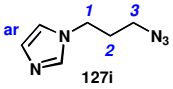
Cycloheptylazide 127b.



127b

Caution: this azide is volatile. To a solution of cycloheptylamine (292 mg, 2.58 mmol, 1 equiv), K_2CO_3 (713 mg, 5.16 mmol, 2.05 equiv) and $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (65 mg, 0.26 mmol, 0.1 equiv), in methanol (20 mL) was added in one portion imidazole-1-sulfonyl-azide-hydrochloride (649 mg, 3.10 mmol, 1.2 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 18 h. After addition of water (50 mL), the aqueous phase was extracted with Et_2O (3 × 50 mL). The combined organic layer were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated without heating *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (DCM) to give azide **127b** as a colorless oil (286 mg, 80% yield): R_f 0.70 (Cyclohexane/DCM = 8/2); IR (film) 2096*s*, 1508*m*, 1231*m*, 1079*m*. Other spectral data were in agreement with literature[274].

1-(3-Azido-propyl)-imidazole 127i.



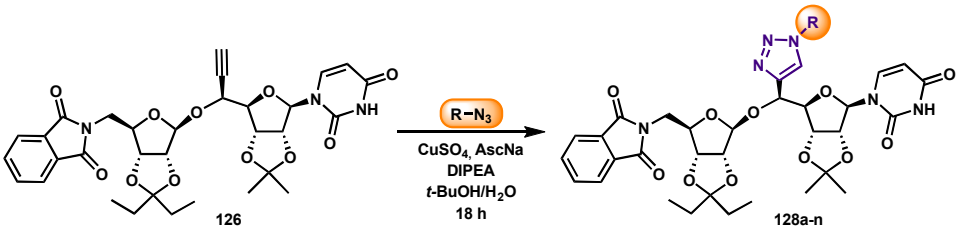
127i

To a solution of 1-(3-amino-propyl)-imidazole (810 mg, 6.47 mmol, 1 equiv), K_2CO_3 (1.83 g, 13.26 mmol, 2.05 equiv) and $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (162 mg, 0.65 mmol, 0.1 equiv), in methanol (20 mL) was added in one portion imidazole-1-sulfonyl-azide-hydrochloride (1.6 g, 7.76 mmol, 1.2 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 18 h. After addition of water (30 mL), the aqueous phase was extracted with DCM (3 × 50 mL). The combined organic layer were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/MeOH 98/2) to give azide **127i** as a colorless oil (636 mg, 65% yield): R_f 0.30 (EtOAc/MeOH 98/2); IR (film) 3101*w*, 2942*w*, 2900*w*, 2099*s*, 1629*s*, 1508*m*, 1231*m*, 1079*m*; ^{1}H NMR δ 7.48 (br s, 1H, H_4), 7.08 (br s, 1H, H_5), 6.91 (br s, 1H, H_6), 4.06 (t, 2H, J_{H3-H2} = 7.0 Hz, H_3), 3.30 (t, 2H, J_{H1-H2} = 7.0 Hz, H_1), 2.02 (qt, 2H, J_{H2-H1} = J_{H2-H3} = 7.0

[274] Lepore, S. D.; Mondal, D.;Li, S. Y.; Bhunia, A. K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 7511–7514.

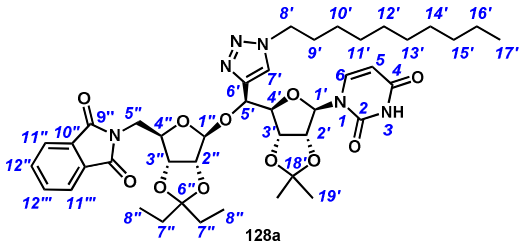
Hz, H_2); ^{13}C NMR δ 137.3 (C_4), 129.9 (C_5), 118.8 (C_6), 47.9 (C_3), 43.8 (C_1), 30.4 (C_2); MS (ESI^+ m/z (%)) 152 $(M + H)^+$ (100%), 303 $(2M + H)^+$ (100%); HRMS APCI Calcd for $C_6H_{10}N_5^+$ $(M + H)^+$ 152.0936, found 152.0937.

General procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, preparation of compounds 128a-n.



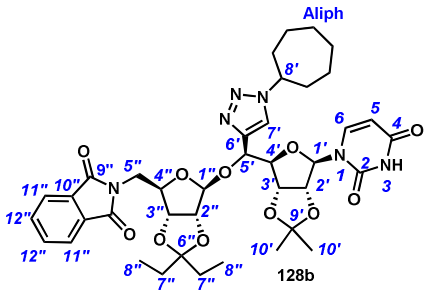
To a solution of alkyne **126** (1 equiv) and azide partner **127a-n** (1 to 2 eq) in *tert*-BuOH/H_2O (1.5 mL/500 µL) were successively added $CuSO_4$ (0.1 equiv), sodium ascorbate (0.3 equiv) and *N*-ethyldiisopropylamine (2.2 equiv). The suspension was sonicated for 5 min to solubilise all reagents. The mixture was stirred at r.t. for 18 h and diluted with DCM (40 mL) and water (15 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (6 × 40 mL) and the combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was then purified by flash chromatography to give the corresponding triazole **128a-n**.

Compound 128a.



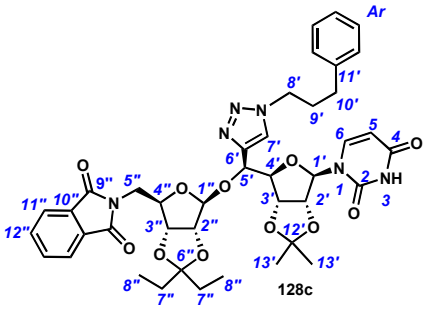
Triazole **128a** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne from alkyne **126** (230 mg, 0.36 mmol) and azido-decane **127a** (132 mg, 0.72 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 1/1) afforded **128a** as a white powder (180 mg, 61% yield): R_f 0.17 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 118-120 °C; $[\alpha]_D$ - 43 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2933*m*, 1714*s*, 1386*m*; ^{1}H NMR δ 7.99 (s, 1H, NH), 7.84-7.82 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.74-7.72 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.67 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.39 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.88 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.80 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.5 Hz, H_5), 5.40 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 5.5 Hz, $H_{5'}$), 5.00 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 4.90 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.5 Hz, $H_{2'}$), 4.79 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.74 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.50 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 4.36-4.33 (m, 3H, $H_{8'}$, $H_{4''}$), 3.64 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.33 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 3.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.89-1.86 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.63-1.55 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.56 (s, 3H, $H_{19'}$), 1.52 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 8.0 Hz, $H_{7''}$), 1.32 (s, 3H, $H_{19'}$), 1.26-1.14 (m, 14H, $H_{10'}$, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 0.88-0.80 (m, 9H, $H_{8''}$, $H_{17'}$); ^{13}C NMR δ 168.3 ($C_{9''}$), 162.7 (C_4), 150.2 (C_2), 144.9 ($C_{6'}$), 141.6 (C_6), 134.4 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.5 ($C_{11''}$, $C_{7'}$), 117.2 ($C_{6''}$), 114.8 ($C_{18'}$), 109.5 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 92.9 ($C_{1'}$), 87.8 ($C_{4'}$), 85.9 ($C_{2''}$), 84.7 ($C_{4''}$), 83.9 ($C_{2'}$), 82.5 ($C_{3''}$), 80.9 ($C_{3'}$), 72.7 ($C_{5'}$), 50.6 ($C_{8'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 31.9 ($C_{9'}$), 30.3 ($C_{7''}$), 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.0, 27.3, 26.9, 26.5, 25.4, 22.7 ($C_{7''}$, $C_{19'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$,$C_{16'}$), 8.7, 8.4, 7.4 ($C_{8''}$, $C_{17'}$); HRMS ESI$^-$ Calcd for $C_{42}H_{55}N_6O_{11}^-$ (M - H)$^-$ 819.3929, found 819.3937.

Compound 128b.



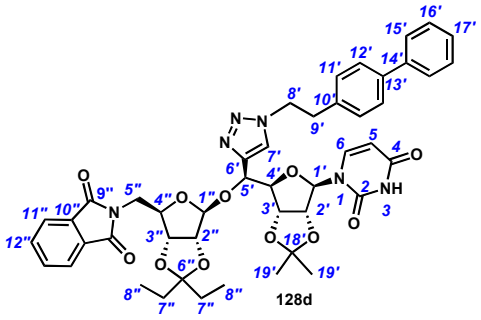
Triazole **128b** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (210 mg, 0.33 mmol) and azido-cycloheptane **127b** (55 mg, 0.40 mmol, 1.2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 4/6) afforded **128b** as a white powder (180 mg, 64% yield): R_f 0.31 (Cyclohexane/EtOAc 3/7); m.p. 143-145 °C; $[\alpha]_D$ - 30 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2980*m*, 1717*s*, 1697*s*, 1396*m*,1086*s*; ^{1}H NMR δ 9.70-9.65 (m, 1H, NH), 7.79-7.76 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.69 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.69-7.67 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.31 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.89 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.71 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 1.5 Hz, H_5), 5.36 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.15 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.0 Hz, $H_{5'}$), 5.00 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.85 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.75 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.70 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.64-4.58 (m, 1H, $H_{8'}$), 4.47 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.27 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 10.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.5 Hz, $H_{4''}$), 3.58 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.33 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.15-2.10 (m, 2H, $H_{9'a}$), 1.99-1.89 (m, 2H, $H_{9'b}$), 1.77-1.74 (m, 2H, $H_{10'a}$), 1.64-1.53 (m, 8H, $H_{7''}$, $H_{10'b}$, $H_{11'}$), 1.52 (s, 3H, $H_{13'}$), 1.47 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.0 Hz, $H_{7''}$), 1.29 (s, 3H, $H_{13'}$), 0.78 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.76 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.1 ($C_{9''}$), 163.4 (C_4), 150.4 (C_2), 144.5 ($C_{6'}$), 141.3 (C_6), 134.2 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.4 ($C_{11''}$), 121.7 ($C_{7'}$), 117.1 ($C_{6''}$), 114.7 ($C_{12'}$), 109.6 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 92.4 ($C_{1'}$), 87.4 ($C_{4'}$), 85.9 ($C_{2''}$), 84.7 ($C_{4''}$), 83.8 ($C_{2'}$), 82.5 ($C_{3''}$), 80.8 ($C_{3'}$), 72.2 ($C_{5'}$), 62.6 ($C_{8'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 35.6 ($C_{9'}$), 29.5 ($C_{7''}$), 28.9 ($C_{7''}$), 27.7 ($C_{11'}$), 27.2 ($C_{13'}$), 25.4 ($C_{13'}$), 24.3 ($C_{10'}$), 8.3 ($C_{8''}$), 7.4 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{39}H_{49}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 777.3459, found 777.3491.

Compound 128c.



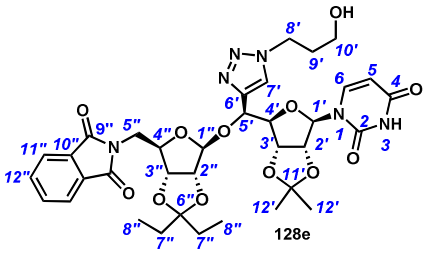
Triazole **128c** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (200 mg, 0.31 mmol) and 1-azido-3-phenyl-propane **127c** (100 mg, 0.63 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 3/7) afforded **128c** as a white powder (111 mg, 45% yield): R*f* 0.54 (EtOAc); m.p. 125-127 °C; $[\alpha]_D$ - 34 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2940*m*, 2350*m*, 1715*s*, 1390*m*; ^{1}H NMR δ 8.92 (s, 1H, NH), 7.80-7.77 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.72-7.68 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.72 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.40 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.27-7.21 (m, 2H, $H_{12'}$), 7.16-7.12 (m, 3H, $H_{13'}$, $H_{14'}$), 5.86 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.77 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.40 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.23 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 4.97 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.92 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.79 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.73 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.50 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4''-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.39-4.32 (m, 3H, $H_{8'}$, $H_{4''}$), 3.65 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.37 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.62-2.58 (m, 2H, $H_{10'}$), 2.27-2.21 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.64-1.56 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55 (s, 3H, $H_{16'}$), 1.51 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.30 (s, 3H, $H_{16'}$), 0.80 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.79 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 169.2 ($C_{9''}$), 163.0 (C_4), 150.4 (C_2), 144.9 ($C_{6'}$), 141.8 (C_6), 140.2 ($C_{11'}$), 134.3 ($C_{12''}$), 132.0 ($C_{10''}$), 128.7 ($C_{13'}$), 128.5 ($C_{14'}$), 126.5 ($C_{12'}$), 123.8 ($C_{7'}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{15'}$), 109.6 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 93.3 ($C_{1'}$), 88.3 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.1 ($C_{2'}$), 82.7 ($C_{3''}$), 81.0 ($C_{3'}$), 72.9 ($C_{5'}$), 46.9 ($C_{8'}$), 40.6 ($C_{5''}$), 32.6 ($C_{10'}$), 31.8 ($C_{9'}$), 29.7, 29.1 ($C_{7''}$), 27.4, 25.6 ($C_{16'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{41}H_{47}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 799.3303, found 799.3336.

Compound 128d.



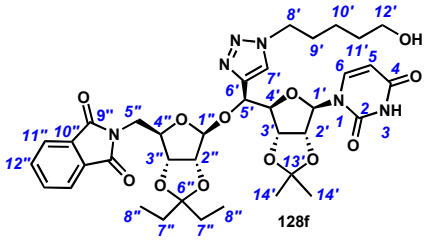
Triazole **128d** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (220 mg, 0.35 mmol) and the previously described azide **127d** (107 mg, 0.44 mmol, 1.3 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 25/75) afforded **128d** as a white powder (135 mg, 46% yield): R_f 0.35 (Cyclohexane/EtOAc 25/75); m.p. 167-169 °C; $[\alpha]_D$ - 31 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2930*m*, 1711*s*, 1693*s*, 1393*m*, 1044*s*; ^{1}H NMR δ 9.13 (br s, 1H, NH), 7.80-7.78 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.71-7.68 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.58 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.53 (d, 2H, $J_{H15'-H16'}$ = 7.5 Hz, $H_{15'}$), 7.50 (d, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{12'}$), 7.40 (t, 2H, $J_{H16'-H15'}$ = $J_{H16'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{16'}$), 7.38 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.31 (t, 1H, $J_{H17'-H16'}$ = 7.5 Hz, $H_{17'}$), 7.18 (d, 2H, $J_{H11'-H12'}$ = 8.5 Hz, $H_{11'}$), 5.84 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.75 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.36 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.18 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 4.95 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.90 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.5 Hz, $H_{2'}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.73 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.67 (dd, 1H, $J_{H8'a-H8'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H8'a-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'a}$), 4.61 (dd, 1H, $J_{H8'b-H8'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H8b'-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'b}$), 4.48 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.34 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 10.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.5 Hz, $H_{4''}$), 3.65 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.37 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 3.26 (t, 2H, $J_{H9'-H8'a}$ = $J_{H9'-H8'b}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 1.60 (m, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.55 (s, 3H, $H_{19'}$), 1.50 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.32 (s, 3H, $H_{19'}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 150.4 (C_2), 144.9 ($C_{6'}$), 141.8 (C_6), 140.6 ($C_{14'}$), 140.1 ($C_{13'}$), 136.2 ($C_{10'}$), 134.3 ($C_{12''}$), 132.0 ($C_{10''}$), 129.3 ($C_{11'}$), 128.9 ($C_{16'}$), 127.6 ($C_{12'}$), 127.5 ($C_{17'}$), 127.1 ($C_{15'}$), 124.1 ($C_{7'}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.8 ($C_{18'}$), 109.5 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 93.5 ($C_{1'}$), 88.3 ($C_{4'}$), 86.0 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.1 ($C_{2'}$), 82.6 ($C_{3''}$), 81.0 ($C_{3'}$), 72.9 ($C_{5'}$), 51.8 ($C_{8'}$), 40.6 ($C_{5''}$), 36.5 ($C_{9'}$), 29.7 ($C_{7''}$), 29.1 ($C_{7''}$), 27.4 ($C_{19'}$), 25.6 ($C_{19'}$), 8.5 ($C_{8''}$), 7.5 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{46}H_{49}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 861.3485, found 861.3459.

Compound 128e.



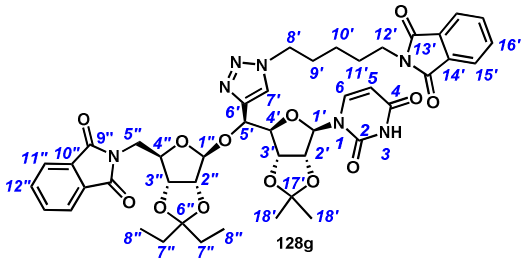
Triazole **128e** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (220 mg, 0.35 mmol) and azide **127e** (45 mg, 0.45 mmol, 1.3 equiv). Flash chromatography (EtOAc/MeOH 95/5) afforded **128e** as a white powder (115 mg, 46% yield): R_f 0.17 (EtOAc); m.p. 121-123 °C; $[\alpha]_D$ - 31 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3441*br*, 2940*w*, 1715*s*, 1695*s*; ^{1}H NMR δ 9.43 (br s, 1H, NH), 7.83-7.80 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.79 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.71-7.35 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.35 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.82 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.76 (br d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.38 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 4.96 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.94 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.5 Hz, $H_{2'}$), 4.80 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.74 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.53 (tl, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 6.5 Hz, $H_{8'}$), 4.50 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.28 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 11.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.0 Hz, $H_{4''}$), 3.65 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 11.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.61-3.54 (m, 2H, $H_{10'}$), 3.30 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.42-2.28 (br s, 1H, OH), 2.16-2.11 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.62-1.57 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55 (s, 3H, $H_{12'}$), 1.50 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.31 (s, 3H, $H_{12'}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.80 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.5 ($C_{9''}$), 163.4 (C_4), 150.5 (C_2), 144.8 ($C_{6'}$), 142.0 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 131.2 ($C_{10''}$), 124.6 ($C_{7'}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{11'}$), 109.6 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 93.3 ($C_{1'}$), 88.3 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.8 ($C_{4''}$), 84.0 ($C_{3'}$), 82.7 ($C_{3''}$), 81.0 ($C_{2'}$), 73.3 ($C_{5'}$), 58.6 ($C_{10'}$), 47.2 ($C_{8'}$), 40.7 ($C_{5''}$), 32.4 ($C_{9'}$), 29.6, 29.1 ($C_{7''}$), 27.4, 25.6 ($C_{12'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{35}H_{43}N_6O_{12}^+$ $(M + H)^+$ 739.2939, found 739.2925.

Compound 128f.



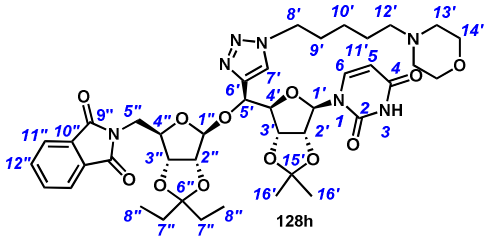
Triazole **128f** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (220 mg, 0.35 mmol) and azide **127f** (57 mg, 0.45 mmol, 1.3 equiv). Flash chromatography (EtOAc to EtOAc/MeOH 95/5) afforded **128f** as a white powder (133 mg, 51% yield): R_f 0.29 (EtOAc/MeOH 95/5); m.p. 98-100 °C; $[\alpha]_D$ - 31 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3488*br*, 2976*w*, 1714*s*, 1396*s*; ^{1}H NMR δ 9.01 (br s, 1H, NH), 7.84-7.82 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.75-7.71 (m, 3H, $H_{7'}$, $H_{12''}$), 7.35 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.84 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.76 (br d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.39 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.0 Hz, $H_{5'}$), 5.00 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.93 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.79 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.73 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.50 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.39 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.32 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 11.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.5 Hz, $H_{4''}$), 3.65 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 11.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.59 (t, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{12'}$), 3.32 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.98-1.89 (m, 3H, $H_{9'}$, OH), 1.64-1.58 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.58-1.54 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.56 (s, 3H, $H_{14'}$), 1.51 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.42-1.37 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.33 (s, 3H, $H_{14'}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.4 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 150.3 (C_2), 144.8 ($C_{6'}$), 142.0 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 132.0 ($C_{10''}$), 123.9 ($C_{7'}$), 123.7 ($C_{11''}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{13'}$), 109.7 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 93.4 ($C_{1'}$), 88.0 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 83.9 ($C_{3'}$), 82.6 ($C_{3''}$), 80.9 ($C_{2'}$), 72.9 ($C_{5'}$), 62.3 ($C_{12'}$), 50.6 ($C_{8'}$), 40.6 ($C_{5''}$), 31.9 ($C_{11'}$), 30.0 ($C_{9'}$), 29.7, 29.1 ($C_{7''}$), 27.4, 25.6 ($C_{14'}$), 22.9 ($C_{10'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{37}H_{47}N_6O_{12}^+$ $(M + H)^+$ 767.3252, found 767.3260.

Compound 128g.



Triazole **128g** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (110 mg, 0.18 mmol) and azide **127g** (90 mg, 0.37 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 3/7 to EtOAc) afforded **128g** as a white powder (166 mg, 75% yield): R_f 0.70 (EtOAc); m.p. 131-133 °C; $[\alpha]_D$ - 32 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2942*w*, 2976*w*, 2251*w*, 1710*s*; ^{1}H NMR δ 9.03 (br d, 1H, J_{NH-H5} = 2.0 Hz, NH), 7.82-7.79 (m, 4H, $H_{11''}$, $H_{15'}$), 7.73 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.72-7.68 (m, 4H, $H_{12''}$, $H_{16'}$), 7.40 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.87 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.77 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.39 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.19 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 4.97 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.90 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.5 Hz, $H_{2'}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.73 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.49 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.36-4.32 (m, 3H, $H_{8'}$, $H_{4''}$), 3.67-3.62 (m, 3H, $H_{12'}$, $H_{5''a}$), 3.34 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.00-1.89 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.72-1.67 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.63-1.58 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.56 (s, 3H, $H_{18'}$), 1.51 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.40-1.32 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.33 (s, 3H, $H_{18'}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.79 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.5, 168.3 ($C_{9''}$, $C_{13'}$), 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 145.0 ($C_{6'}$), 141.7 (C_6), 134.4, 134.2 ($C_{12''}$, $C_{16'}$), 132.3, 132.1 ($C_{10''}$, $C_{14'}$), 123.8 ($C_{7'}$), 123.6, 123.4 ($C_{11''}$, $C_{15'}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{17'}$), 109.7 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 93.1 ($C_{1'}$), 87.9 ($C_{4'}$), 86.4 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.1 ($C_{3'}$), 82.7 ($C_{3''}$), 80.9 ($C_{2'}$), 72.9 ($C_{5'}$), 50.4 ($C_{8'}$), 40.6 ($C_{5''}$), 37.5 ($C_{12'}$), 29.8 ($C_{9'}$), 29.7, 29.1 ($C_{7''}$), 28.1 ($C_{11'}$), 27.4, 25.6 ($C_{18'}$), 23.7 ($C_{10'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{45}H_{50}N_7O_{13}^+$ $(M + H)^+$ 896.3467, found 896.3483.

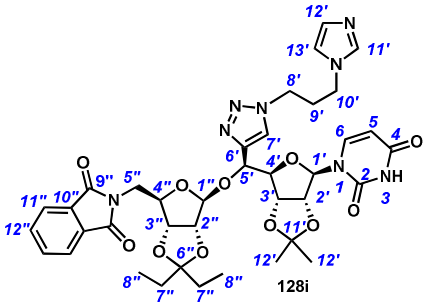
Compound 128h.



128h

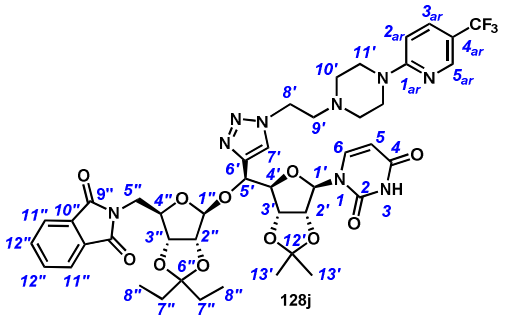
Triazole **128h** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (210 mg, 0.33 mmol) and azide **127h** (79 mg, 0.40 mmol, 1.2 equiv). Flash chromatography (EtOAc/MeOH 95/5 to 85/15) afforded **128h** as a white powder (154 mg, 56% yield): R_f 0.20 (EtOAc/MeOH 85/15); m.p. 130-132 °C; $[\alpha]_D$ -30 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2936*w*, 2258*w*, 1714*s*, 1458*w*, 1395*m*; ^{1}H NMR δ 9.33 (br s, 1H, NH), 7.82-7.79 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.73-7.70 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.68 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.36 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.85 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.74 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.37 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.18 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.0 Hz, $H_{5'}$), 4.97 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.89 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.71 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.47 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.34 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.31 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 10.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.0 Hz, $H_{4''}$), 3.67 (tl, 4H, $J_{H13'-H14'}$ = 4.5 Hz, $H_{13'}$), 3.62 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.30 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.42-2.32 (m, 4H, $H_{14'}$), 2.27 (t, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 7.5 Hz, $H_{12'}$), 1.91 (qt, 2H, $J_{H9'-H8'}$ = $J_{H9'-H10'}$ =7.5 Hz, $H_{9'}$), 1.61-1.56 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.54 (s, 3H, $H_{16'}$), 1.52-1.46 (m, 4H, $H_{7''}$,$H_{11'}$), 1.34-1.28 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.31 (s, 3H, $H_{16'}$), 0.80 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.79 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 150.3 (C_2), 144.9 ($C_{6'}$), 141.6 (C_6), 134.3 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.6 ($C_{11''}$, $C_{7'}$), 117.2 ($C_{6''}$), 114.8 ($C_{15'}$), 109.6 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 93.1 ($C_{1'}$), 87.9 ($C_{4'}$), 85.9 ($C_{2''}$), 84.8 ($C_{4''}$), 83.9 ($C_{3'}$), 82.5 ($C_{3''}$), 80.9 ($C_{2'}$), 72.8 ($C_{5'}$), 66.9 ($C_{13'}$), 58.6 ($C_{12'}$), 53.7 ($C_{14'}$), 50.4 ($C_{8'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 30.2 ($C_{9'}$), 29.6 ($C_{11'}$), 29.0 ($C_{7''}$), 27.3 ($C_{7''}$), 25.8, 25.5 ($C_{16'}$), 24.4 ($C_{10'}$), 8.4, 7.5 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{41}H_{54}N_7O_{12}^+$ $(M + H)^+$ 836.3830, found 836.3863.

Compound 128i.



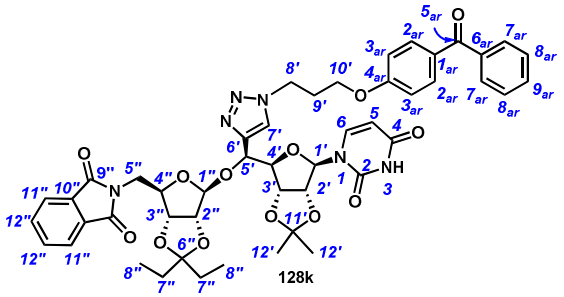
Triazole **128i** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (230 mg, 0.36 mmol) and azide **127i** (71 mg, 0.47 mmol, 1.3 equiv). Flash chromatography (EtOAc to EtOAc/MeOH 9/1) afforded **128i** as a white powder (200 mg, 71% yield): R_f 0.21 (EtOAc/MeOH 8/2); m.p. 151-153 °C; $[\alpha]_D$ - 34 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2977*w*, 2937*w*, 1715*s*, 1394*m*, 1087*m*; ^{1}H NMR δ 10.52 (s, 1H, NH), 7.76 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.74-7.71 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.67-7.64 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.52 (br s, 1H, $H_{11'}$), 7.33 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 6.99 (br s, 1H, $H_{12'}$), 6.91 (br s, 1H, $H_{13'}$), 5.73 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.34 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.19 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 7.0 Hz, $H_{5'}$), 4.97 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.5 Hz, $H_{2'}$), 4.87 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.74 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.46 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 7.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.35-4.27 (m, 2H, $H_{8'}$), 4.23 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 11.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.0 Hz, $H_{4''}$), 4.02-3.87 (m, 2H, $H_{10'}$), 3.66 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 11.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.28 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.44-2.31 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.54-1.49 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.47 (s, 3H, $H_{12'}$), 1.43 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.22 (s, 3H, $H_{12'}$), 0.73 (t, 6H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.1 ($C_{9''}$), 163.5 (C_4), 150.6 (C_2), 145.0 ($C_{6'}$), 142.0 (C_6), 137.3 ($C_{11'}$), 134.2 ($C_{12''}$), 131.7 ($C_{10''}$), 129.6 ($C_{12'}$), 124.1 ($C_{7'}$), 123.4 ($C_{11''}$), 118.8 ($C_{13'}$), 116.9 ($C_{6''}$), 114.5 ($C_{11'}$), 109.6 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 94.1 ($C_{1'}$), 88.8 ($C_{4'}$), 85.9 ($C_{2''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 84.1 ($C_{2'}$), 82.5 ($C_{3''}$), 81.1 ($C_{3'}$), 73.2 ($C_{5'}$), 46.9 ($C_{8'}$), 43.4 ($C_{10'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 31.3 ($C_{9'}$), 29.5, 28.9 ($C_{7''}$), 27.2, 25.4 ($C_{12'}$), 8.4, 7.4 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{38}H_{45}N_8O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 789.3208, found 789.3244.

Compound 128j.



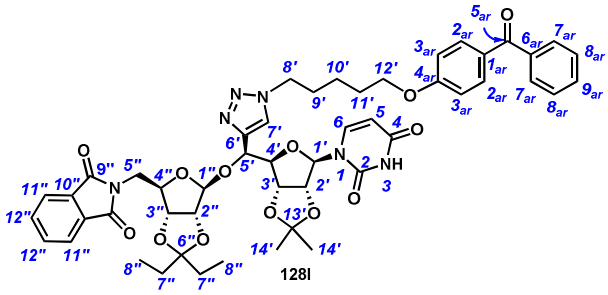
Triazole **128j** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (220 mg, 0.35 mmol) and azide **127j** (111 mg, 0.37 mmol, 1.1 equiv). Flash chromatography (EtOAc/MeOH 98/2) afforded **128j** as a white powder (198 mg, 62% yield): R_f 0.44 (EtOAc/MeOH 95/5); m.p. 143-145 °C; $[\alpha]_D$ - 27 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2940*m*, 1715*s*, 1695*s*, 1081*s*; ^{1}H NMR δ 9.19 (br s, 1H, NH), 8.32 (s, 1H, $H_{16'}$), 7.88 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.78-7.76 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.69-7.67 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.58 (dd, 1H, $J_{H14'-13'}$ = 9.0 Hz, $J_{H14'-16'}$ = 2.5 Hz, $H_{14'}$), 7.36 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 6.56 (d, 1H, $J_{H13'-H14'}$ = 9.0 Hz, $H_{13'}$), 5.83 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.74 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.38 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.21 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz $H_{5'}$), 4.99 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.94 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.73 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.56-4.52 (m, 2H, $H_{8'}$), 4.52 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.31 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 10.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.5 Hz, $H_{4''}$), 3.67 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.62-3.51 (m, 4H, $H_{10'}$), 3.37 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.99-2.81 (m, 2H, $H_{9'}$), 2.61-2.58 (m, 4H, $H_{11'}$), 1.59-1.57 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.56 (s, 3H, $H_{13'}$), 1.49 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.31 (s, 3H, $H_{13'}$), 0.85 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.80 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 160.4 ($C_{12'}$), 150.4 (C_2), 145.9-145.6 (m, $C_{16'}$), 144.9 ($C_{6'}$), 141.9 (C_6), 134.6 ($C_{14'}$), 134.4 ($C_{12''}$), 132.0 ($C_{10''}$), 124.5 ($C_{7'}$), 123.7 ($C_{11''}$), 121.8 (q, $J_{C17'-F}$ = 71.5 Hz, $C_{17'}$), 117.3 ($C_{6''}$), 115.4 (q, $J_{C15'-F}$ = 33.0 Hz, $C_{15'}$), 114.8 ($C_{18'}$), 109.7 ($C_{1''}$), 105.7 ($C_{13'}$), 103.1 (C_5), 93.7 ($C_{1'}$), 88.4 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.1 ($C_{2'}$), 82.7 ($C_{3''}$), 81.1 ($C_{3'}$), 73.0 ($C_{5'}$), 57.5 ($C_{9'}$), 52.9 ($C_{10'}$), 48.0 ($C_{8'}$), 44.8 ($C_{11'}$), 40.7 ($C_{5''}$), 29.7, 29.1 ($C_{7''}$), 27.4, 25.6 ($C_{19'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{44}H_{51}F_3N_9O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 938.3660, found 938.3687.

Compound 128k.



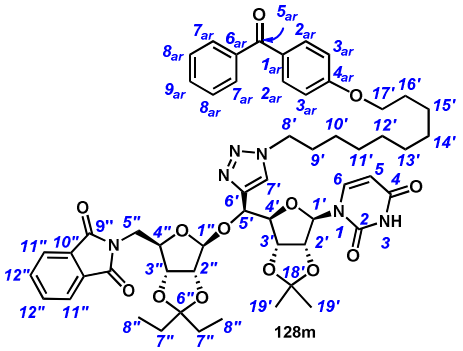
Triazole **128k** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (250 mg, 0.39 mmol) and azide **127k** (166 mg, 0.59 mmol, 1.6 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 3/7) afforded **128k** as a white powder (185 mg, 52% yield): R_f 0.15 (Cyclohexane/EtOAc 3/7); m.p. 127-129 °C; $[\alpha]_D$ - 30 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2972*m*, 1713*s*, 1395*m*, 1074*s*; ^{1}H NMR δ 8.27 (br s, 1H, NH), 7.81-7.70 (m, 9H, $H_{7'}$, $H_{11''}$, $H_{12''}$, $H_{13'}$, $H_{17'}$), 7.58 (t, 1H, $J_{H19'-H18'}$ = 7.5 Hz, $H_{19'}$), 7.48 (t, 2H, $J_{H18'-H19'}$ = $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 7.36 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 6,92 (d, 2H, $J_{H12'-H13'}$ = 7.5 Hz, $H_{12'}$), 5.82 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.75 (br d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.39 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.19 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 5.01-4.97 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.94-4.91 (m, 1H, $H_{2'}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.73 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.63 (t, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = 6.5 Hz, $H_{10'}$), 4.50 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 4.32 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 10.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.0 Hz, $H_{4''}$), 4.10-4.02 (m, 2H, $H_{8'}$), 3.65 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.32 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.49-2.42 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.63-1.59 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55 (s, 3H, $H_{21'}$), 1.51-1.49 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.32 (s, 3H, $H_{21'}$), 0.83-0.81 (m, 6H, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 195.5 ($C_{15'}$), 168.2 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 162.2 ($C_{11'}$), 150.4 (C_2), 145.2 ($C_{6'}$), 141.9 (C_6), 138.3 ($C_{16'}$), 134.4 ($C_{12''}$), 132.7 ($C_{13'}$), 132.1 ($C_{10''}$), 131.9 ($C_{19'}$), 130.7 ($C_{14'}$), 129.9 ($C_{17'}$), 128.4 ($C_{18'}$), 124.3 ($C_{7'}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.8 ($C_{20'}$), 114.2 ($C_{12'}$), 109.8 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 93.7 ($C_{1'}$), 88.4 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.1 ($C_{3'}$), 82.6 ($C_{3''}$), 81.1 ($C_{2'}$), 73.1 ($C_{5'}$), 64.6 ($C_{8'}$), 47.3 ($C_{10'}$), 40.6 ($C_{5''}$), 30.0 ($C_{9'}$), 29.7, 29.1 ($C_{7''}$), 27.4, 25.6 ($C_{21'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{48}H_{51}N_6O_{13}^+$ $(M + H)^+$ 919.3514, found 919.3549.

Compound 128l.



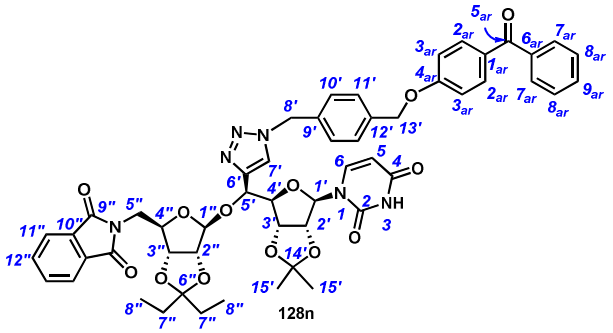
Triazole **128l** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (230 mg, 0.36 mmol) and azide **127l** (223 mg, 0.72 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 35/65) afforded **128l** as a white powder (177 mg, 52% yield): R_f 0.33 (Cyclohexane/EtOAc 1/9); m.p. 119-121 °C; $[\alpha]_D$ -30 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 1715*s*, 1693*s*, 1395*m*, 1090*m*; ^{1}H NMR δ 9.12 (br s, 1H, NH), 7.79-7.67 (m, 9H, $H_{7'}$, $H_{11''}$, $H_{12''}$, $H_{15'}$, $H_{19'}$), 7.55 (tl, 1H, $J_{H21'-H20'}$ = 7.5 Hz, $H_{21'}$), 7.46 (t, 2H, $J_{H20'-H21'}$ = $J_{H20'-H19'}$ = 7.5 Hz, $H_{20'}$), 7.38 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 6,89 (d, 2H, $J_{H14'-H15'}$ = 9.0 Hz, $H_{14'}$), 5.86 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.75 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.39 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 4.99 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.92 (m, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.79 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.73 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.50 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.40 (t, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{12'}$), 4.32 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 10.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.0 Hz, $H_{4''}$), 3.99 (t, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 3.65 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 10.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.32 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.02-1.99 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.84-1.61 (m, 2H, $H_{9'}$) 1.60-1.55 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55 (s, 3H, $H_{23'}$), 1.53-1.31 (m, 4H, $H_{7''}$, $H_{10'}$), 1.31 (s, 3H, $H_{23'}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz $H_{8''}$), 0.79 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 195.6 ($C_{17'}$), 168.2 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 162.7 ($C_{13'}$), 150.4 (C_2), 145.1 ($C_{6'}$), 141.8 (C_6), 138.5 ($C_{18'}$), 134.4 ($C_{12''}$), 132.7 ($C_{15'}$), 132.0 ($C_{10''}$, $C_{21'}$), 130.4 ($C_{16'}$), 129.9 ($C_{19'}$), 128.3 ($C_{20'}$), 123.7 ($C_{7'}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{22'}$), 114.2 ($C_{14'}$), 109.8 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 93.3 ($C_{1'}$), 88.2 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.1 ($C_{2'}$), 82.7 ($C_{3''}$), 81.1 ($C_{3'}$), 73.1 ($C_{5'}$), 67.9 ($C_{8'}$), 50.4 ($C_{12'}$), 40.6 ($C_{5''}$), 30.1 ($C_{11'}$), 29.7, 29.1 ($C_{7''}$), 28.6 ($C_{9'}$), 27.4, 25.6 ($C_{23'}$), 23.2 ($C_{10'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{50}H_{55}N_6O_{13}^+$ $(M + H)^+$ 947.3827, found 947.3859.

Compound 128m.



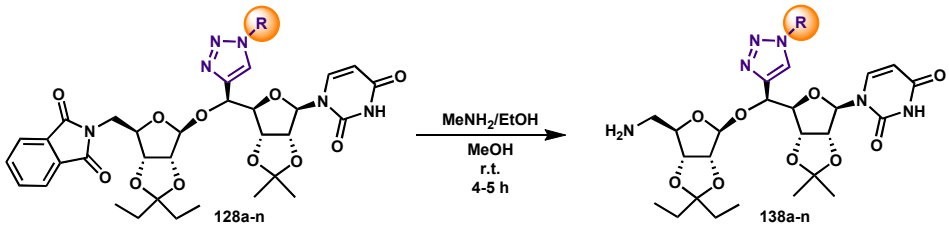
Triazole **128m** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (220 mg, 0.35 mmol) and azide **127m** (266 mg, 0.70 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 35/65) afforded **128m** as a white powder (174 mg, 49% yield): R_f 0.27 (Cyclohexane/EtOAc 3/7); m.p. 110-113 °C; $[\alpha]_D$ - 28 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2935*m*, 1715*s*, 1600*m*, 1256*s*; ^{1}H NMR δ 8.37 (br s, 1H, NH), 7.85-7.72 (m, 8H, $H_{11''}$, $H_{12''}$, $H_{20'}$, $H_{24'}$), 7.68 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.57 (t, 1H, $J_{H26'-H25'}$ = 7.5 Hz, $H_{26'}$), 7.48 (t, 2H, $J_{H25'-H26'}$ = 7.5 Hz, $J_{H25'-H24'}$ = 7.5 Hz, $H_{25'}$), 7.38 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 6,95 (d, 2H, $J_{H19'-H20'}$ = 8.0 Hz, $H_{19'}$), 5.88 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.76 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.40 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 5.00 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.90 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.79 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.74 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.50 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.37-4.34 (m, 1H, $H_{4''}$); 4,35 (t, 2H, $J_{H17'-H16'}$ = 7.5 Hz, $H_{17'}$), 4.03 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 6.5 Hz, $H_{8'}$), 3.65 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 11.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.35 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.91-1.88 (m, 2H, $H_{16'}$), 1.82-1.77 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.66-1.59 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.57 (s, 3H, $H_{28'}$), 1.52 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.47-1.41 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.34 (s, 3H, $H_{28'}$), 1.32-1.22 (m, 10H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$), 0.84 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 195.7 ($C_{22'}$), 168.3 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 162.7 ($C_{18'}$), 150.2 (C_2), 145.0 ($C_{6'}$), 141.6 (C_6), 138.6 ($C_{23'}$), 134.4 ($C_{12''}$), 132.7 ($C_{20'}$), 132.1 ($C_{10''}$), 132.0 ($C_{26'}$), 130.2 ($C_{21'}$), 129.9 ($C_{24'}$), 128.4 ($C_{25'}$), 123.7 ($C_{11''}$), 123.6 ($C_{7'}$), 117.4 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{27'}$), 114.2 ($C_{19'}$), 109.7 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 93.1 ($C_{1'}$), 87.9 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.0 ($C_{2'}$), 82.7 ($C_{3''}$), 81.0 ($C_{3'}$), 72.9 ($C_{5'}$), 68.5 ($C_{8'}$), 50.7 ($C_{17'}$), 40.6 ($C_{5''}$), 30.5 ($C_{16'}$), 29.7 ($C_{7''}$), 29.6, 29.5, 29.4, 29.3 ($C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$), 29.2 (2C, $C_{9'}$, $C_{7''}$), 27.4 ($C_{28'}$), 26.7 ($C_{15'}$), 26.2 ($C_{10'}$), 25.6 ($C_{28'}$), 8.5, 7.6 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{55}H_{65}N_6O_{13}^+$ $(M + H)^+$ 1017.4610, found 1017.4644.

Compound 128n.



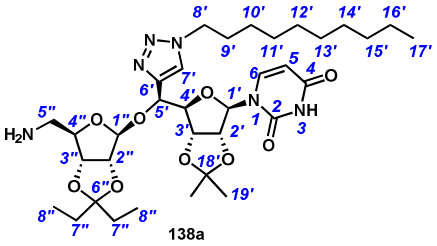
Triazole **128n** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **126** (220 mg, 0.35 mmol) and azide **127n** (151 mg, 0.44 mmol, 1.3 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 25/75) afforded **128n** as a white powder (123 mg, 37% yield): R_f 0.26 (Cyclohexane/EtOAc 25/75); m.p. 141-143 °C; $[\alpha]_D$ - 24 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2342*w*, 1713*m*,1396*s*, 1249*m*, 1067*s*; ^{1}H NMR δ 9.16 (br d, 1H, J_{NH-H5} = 2.0 Hz, NH), 7.91 (d, 2H, $J_{16'-15'}$ = 9.0 Hz, $H_{16'}$), 7.78-7.77 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.75 (d, 2H, $J_{20'-21'}$ = 7.5 Hz, $H_{20'}$), 7.70 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.69-7.67 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.56 (t, 1H, $J_{H22'-H21'}$ = 7.5 Hz, $H_{22'}$), 7.47 (t, 2H, $J_{H21'-H20'}$ = $J_{H21'-H22'}$ = 7.5 Hz, $H_{21'}$), 7.36 (d, 2H, $J_{H11'-H10'}$ = 8.0 Hz, $H_{11'}$), 7.33 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.27 (d, 2H, $J_{H10'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{10'}$), 6.96 (d, 2H, $J_{15'-16'}$ = 9.0 Hz, $H_{15'}$), 5.86 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.58 (d, 1H, $J_{H8'a-H8'b}$ = 15.0 Hz, $H_{8'a}$), 5.52 (d, 1H, $J_{H8'b-H8'a}$ = 15.0 Hz, $H_{8'b}$), 5.39 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 6.5 Hz, $H_{5'}$), 4.98 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.97 (s, 2H, $H_{13'}$), 4.90 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.76 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.48 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.31 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 11.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 4.5 Hz, $H_{4''}$), 3.54 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 11.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.19 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.60 (m, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.54 (s, 3H, $H_{24'}$), 1.49 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.31 (s, 3H, $H_{24'}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.79 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 195.6 ($C_{18'}$), 168.1 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 162.3 ($C_{14'}$), 150.3 (C_2), 145.6 ($C_{6'}$), 141.6 (C_6), 138.4 ($C_{19'}$), 137.1 ($C_{12'}$), 134.8 ($C_{9'}$), 134.4 ($C_{12''}$), 132.7 ($C_{16'}$), 132.1 ($C_{22'}$), 132.0 ($C_{10''}$), 130.7 ($C_{17'}$), 129.9 ($C_{20'}$), 128.4 ($C_{21'}$), 128.4 ($C_{10'}$), 128.2 ($C_{11'}$), 123.9 ($C_{7'}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{23'}$), 114.5 ($C_{15'}$), 109.9 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 93.1 ($C_{1'}$), 88.0 ($C_{4'}$), 86.1 ($C_{2''}$), 84.8 ($C_{4''}$), 84.0 ($C_{2'}$), 82.6 ($C_{3''}$), 80.9 ($C_{3'}$), 73.1 ($C_{5'}$), 69.6 ($C_{13'}$), 54.0 ($C_{8'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 29.6 ($C_{7''}$), 29.1 ($C_{7''}$), 27.4 ($C_{24'}$), 25.6 ($C_{24'}$), 8.5 ($C_{8''}$), 7.5 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{53}H_{53}N_6O_{13}^+$ $(M + H)^+$ 981.3671, found 981.3702.

General procedure for phthalimide cleavage, preparation of compounds 138a-n.



To a solution of protected triazole (1 equiv) in distilled MeOH (0.1 M) was added dropwise a solution of methylamine (8.03 M in EtOH, 400 equiv), the mixture was stirred at r.t. for 5 h and volatiles were removed *in vacuo*. The residue was dissolved in DCM (5 mL) and filtered on millipore® to remove the methylphthalimide by-product. The filtrate was then concentrated *in vacuo* and the residue was purified by flash chromatography and then lyophilized.

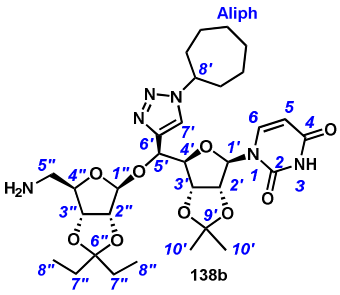
Compound 138a.



Amine **138a** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128a** (152 mg, 0.19 mmol). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 97/3/0.3%) afforded **138a** as a white solid (83 mg, 65% yield): R_f 0.17 (EtOAc); m.p. 103-105 °C; $[\alpha]_D$ - 22 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2976*m*, 2940*m*, 1697*s*, 1650*m* 1383*m*, 1075*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.98 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.63 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.74 (s, 1H, $H_{1'}$), 5.67 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.28 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.19 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.10 (br d, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $H_{2'}$), 4.71 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.65 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.56 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.42-4.35 (m, 3H, $H_{8'}$, $H_{4'}$), 4.12 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 2.61 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.53 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 1.88 (qt, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = $J_{H9'-H8'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 1.59 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.0 Hz, $H_{7''}$), 1.52 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.0 Hz, $H_{7''}$), 1.47 (s, 3H, $H_{19'}$), 1.35-1.25 (m, 14H, $H_{10'}$, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 1.24 (s, 3H, $H_{19'}$), 0.86 (t, 3H, $J_{H17'-H16'}$ = 6.5 Hz, $H_{17'}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.4 (C_4), 152.3 (C_2), 145.9 ($C_{6'}$), 145.6 (C_6), 125.0 ($C_{7'}$), 117.3 ($C_{6''}$), 115.3 ($C_{18'}$), 111.4 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 97.0 ($C_{1'}$), 91.7 ($C_{4'}$), 89.2 ($C_{4''}$), 87.3 ($C_{2''}$), 85.7 ($C_{2'}$), 83.9 ($C_{3''}$), 83.1 ($C_{3'}$), 74.4 ($C_{5'}$), 51.6 ($C_{8'}$), 45.3 ($C_{5''}$), 33.2 ($C_{10'}$), 31.4 ($C_{9'}$), 30.6 ($C_{7''}$), 30.0 ($C_{7''}$), 30.8, 30.2, 27.3, 23.9

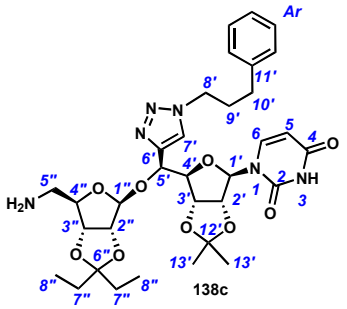
(6C, $C_{11'}$, $C_{12'}$,$C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$), 27.5 ($C_{19'}$), 25.6 ($C_{19'}$), 14.6 ($C_{17'}$), 8.5, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI^+ Calcd for $C_{34}H_{55}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 691.4031, found 691.4039.

Compound 138b.



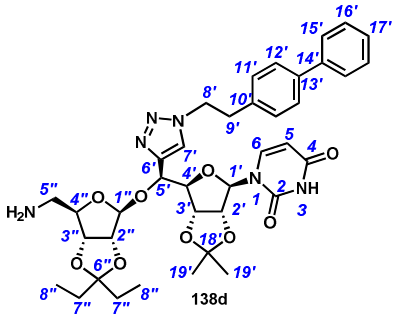
Amine **138b** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128b** (141 mg, 0.18 mmol). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 96/4/0.3%) afforded **138b** as a white solid (83 mg, 63% yield): R_f 0.40 (DCM/MeOH/Et_3N 95/5/0.3%); m.p. 125-127 °C; $[\alpha]_D$ - 26 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2937*m*, 1692*s*, 1460*m*, 1273*m*,1158*m*; ^1H NMR (CD_3OD) δ 8.03 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.63 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.69 (br d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.32 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 8.5 Hz, $H_{5'}$), 5.11 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.76 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5, Hz, $H_{3'}$), 4.75-4.69 (m, 1H, $H_{8'}$), 4.67 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.58 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.46 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 8.5 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.10 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 6.0 Hz, $H_{4''}$), 2.54 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 6.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.33 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.20-2.14 (m, 2H, $H_{9a'}$), 2.09-1.03 (m, 2H, $H_{9b'}$), 1.80-1.83 (m, 2H, $H_{10a'}$), 1.74-1.59 (m, 8H, $H_{7''}$, $H_{10b'}$, $H_{11'}$), 1.54 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.49 (s, 3H, $H_{13'}$), 1.27 (s, 3H, $H_{13'}$), 0.84 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.3 (C_4), 152.2 (C_2), 145.7 ($C_{6'}$), 145.2 (C_6), 123.1 ($C_{7'}$), 117.6 ($C_{6''}$), 115.2 ($C_{12'}$), 111.3 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 96.6 ($C_{1'}$), 91.2 ($C_{4'}$), 89.6 ($C_{2''}$), 87.2 ($C_{4''}$), 85.4 ($C_{2'}$), 83.7 ($C_{3''}$), 82.9 ($C_{3'}$), 74.2 ($C_{5'}$), 64.1 ($C_{8'}$), 45.4 ($C_{5''}$), 36.5 ($C_{9'}$), 30.4 ($C_{7''}$), 29.8 ($C_{7''}$), 28.9 ($C_{11'}$), 27.4 ($C_{13'}$), 25.4 ($C_{13'}$), 25.3 ($C_{10'}$), 8.7 ($C_{8''}$), 7.7 ($C_{8''}$); HRMS ESI^+ Calcd for $C_{31}H_{47}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 647.3405, found 647.3387.

Compound 138c.



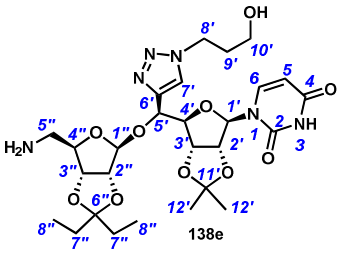
Amine **138c** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128c** (111 mg, 0.14 mmol). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 97/3/0.3%) afforded **138c** as a white solid (83 mg, 58% yield): R_f 0.30 (DCM/MeOH/Et_3N 95/5/0.1%); m.p. 108-110 °C; $[\alpha]_D$ - 23 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2976*m*, 2976*m*, 2940*m*, 1697*s*, 1650*m* 1383*m*, 1075*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.02 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.65 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.28-7.25 (m, 2H, $H_{12'}$), 7.18-7.16 (m, 3H, $H_{13'}$, $H_{14'}$), 5.77 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 1.5 Hz, $H_{1'}$), 5.69 (d1, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.33 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.22 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.12 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 1.5 Hz, $H_{2'}$), 4.75 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 4.69 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.59 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.48-4.39 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{8'}$), 4.16 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 9.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 2.68-2.53 (m, 4H, $H_{5''a}$, $H_{5''b}$, $H_{10'}$), 2.26-2.20 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.62 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.55 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.48 (s, 3H, $H_{16'}$), 1.23 (s, 3H, $H_{16'}$), 0.84 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.4 (C_4), 152.3 (C_2), 146.0 ($C_{6'}$), 145.6 (C_6), 142.1 ($C_{11'}$), 129.7 ($C_{13'}$), 129.6 ($C_{14'}$), 127.4 ($C_{12'}$), 125.2 ($C_{7'}$), 117.3 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{15'}$), 111.5 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 97.3 ($C_{1'}$), 91.6 ($C_{4'}$), 88.9 ($C_{4''}$), 87.3 ($C_{2''}$), 85.6 ($C_{2'}$), 83.8 ($C_{3''}$), 83.1 ($C_{3'}$), 74.5 ($C_{5'}$), 50.9 ($C_{8'}$), 45.2 ($C_{5''}$), 33.5 ($C_{10'}$), 33.0 ($C_{9'}$), 30.6, 30.0 ($C_{7''}$), 27.5, 25.5 ($C_{16'}$), 8.8, 7.8 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{33}H_{45}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 669.3248, found 669.3219.

Compound 138d.



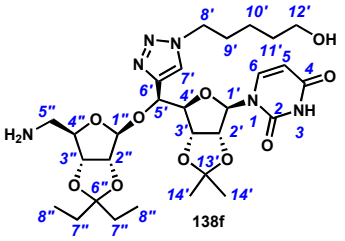
Amine **138d** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128d** (122 mg, 0.15 mmol). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 95/5/0.3%) afforded **138d** as a white solid (61 mg, 55% yield): R_f 0.48 (DCM/MeOH/Et_3N 95/5/0.3%); m.p. 128-130 °C; $[\alpha]_D$ - 18 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2971*w*, 2940*w*, 1696*s*, 1457*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.79 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.61 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.56 (br d, 2H, $J_{H15'-H16'}$ = 7.5 Hz, $H_{15'}$), 7.51 (d, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{12'}$), 7.40 (t, 2H, $J_{H16'-H15'}$ = $J_{H16'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{16'}$), 7.31 (t, 1H, $J_{H17'-H16'}$ = 7.5 Hz, $H_{17'}$), 7.16 (br d, 2H, $J_{H11'-12'}$ = 8.0 Hz, $H_{11'}$), 5.74 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.67 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.26 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.16 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.07 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.71 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.70 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.61 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.52 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.41 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 9.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.08 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.5 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.5 Hz, $H_{4''}$), 3.25 (t, 2H, $J_{H9'-H8'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 2.51 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.43 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.60 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.52 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.47 (s, 3H, $H_{19'}$), 1.24 (s, 3H, $H_{19'}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.5 (C_4), 152.3 (C_2), 145.9 ($C_{6'}$), 145.5 (C_6), 142.1 ($C_{14'}$), 141.2 ($C_{13'}$), 137.9 ($C_{10'}$), 130.5 ($C_{11'}$), 130.0 ($C_{16'}$), 128.5 ($C_{17'}$), 128.4 ($C_{12'}$), 127.9 ($C_{15'}$), 125.4 ($C_{7'}$), 117.8 ($C_{6''}$), 115.2 ($C_{18'}$), 111.2 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 97.1 ($C_{1'}$), 91.8 ($C_{4'}$), 89.7 ($C_{4''}$), 87.3 ($C_{2''}$), 85.6 ($C_{2'}$), 83.9 ($C_{3''}$), 83.1 ($C_{3'}$), 74.0 ($C_{5'}$), 52.9 ($C_{8'}$), 45.5 ($C_{5''}$), 37.2 ($C_{9'}$), 30.5, 30.0 ($C_{7''}$), 27.5, 25.6 ($C_{19'}$), 8.8, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{38}H_{47}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 731.3405, found 731.3411.

Compound 138e.



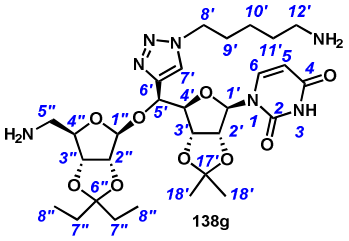
Amine **138e** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128e** (110 mg, 0.15 mmol). Flash chromatography (EtOAc/NEt_3 100/0.3% to EtOAc/MeOH/NEt_3 97/3/0.3%) afforded **138e** as a white solid (42 mg, 47% yield): R_f 0.20 (EtOAc/MeOH/Et_3N 8/2/0.3%); m.p. 120-121 °C; $[\alpha]_D$ - 13 (*c* 0.3, MeOH); IR (film) 3126*br*, 2929*m*, 2852*m*, 1694*s*, 1459*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.97 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.60 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.71 (br s, 1H, $H_{1'}$), 5.64 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.27 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.17 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.09 (br d, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.0 Hz, $H_{2'}$), 4.70 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.64 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.56 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.49 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.38 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 9.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.15 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 3.51 (t, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = 6.0 Hz, $H_{10'}$), 2.68 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.58 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.16-2.03 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.57 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.50 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.46 (s, 3H, $H_{12'}$), 1.23 (s, 3H, $H_{12'}$), 0.79 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.78 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.4 (C_4), 152.2 (C_2), 145.9 ($C_{6'}$), 145.7 (C_6), 125.7 ($C_{7'}$), 118.0 ($C_{6''}$), 115.4 ($C_{11'}$), 111.7 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 97.1 ($C_{1'}$), 91.5 ($C_{4'}$), 88.1 ($C_{4''}$), 87.2 ($C_{2''}$), 85.7 ($C_{2'}$), 83.1 ($C_{3''}$), 83.1 ($C_{3'}$), 74.5 ($C_{5'}$), 51.6 ($C_{8'}$), 44.8 ($C_{5''}$), 33.2 ($C_{10'}$), 34.0 ($C_{9'}$), 30.9 ($C_{7''}$), 30.9 ($C_{7''}$), 27.5 ($C_{12'}$), 25.5 ($C_{12'}$), 14.6 ($C_{17'}$), 8.8, 7.8 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{41}N_6O_{10}^+$ $(M + H)^+$ 609.2884, found 609.2897.

Compound 138f.



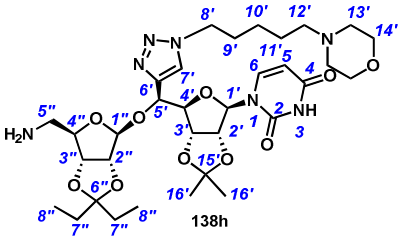
Amine **138f** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128f** (118 mg, 0.15 mmol). Flash chromatography (EtOAc/NEt_3 100/0.3% to EtOAc/MeOH/NEt_3 97/3/0.3%) afforded **138f** as a white solid (68 mg, 71% yield): R_f 0.50 (EtOAc/MeOH/Et_3N 8/2/0.5%); m.p. 115-117 °C; $[\alpha]_D$ - 12 (*c* 0.4, CH_2Cl_2); IR (film) 3382*br*, 2940*m*, 1696*s*, 1457*m*, 1274*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.03 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.65 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.77 (br s, 1H, $H_{1'}$), 5.73 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.30 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.09 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.73 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 4.67 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.58 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.61-4.42 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{8'}$), 4.09 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 3.53 (t, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 6.5 Hz, $H_{12'}$), 2.53 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.58 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 1.96-1.90 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.61 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.57-1.49 (m, 4H, $H_{11'}$, $H_{7''}$), 1.48 (s, 3H, $H_{14'}$), 1.57-1.49 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.25 (s, 3H, $H_{14'}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.9 (C_4), 152.5 (C_2), 145.9 ($C_{6'}$), 145.6 (C_6), 125.2 ($C_{7'}$), 117.9 ($C_{6''}$), 115.5 ($C_{13'}$), 111.3 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 96.9 ($C_{1'}$), 91.6 ($C_{4'}$), 89.7 ($C_{4''}$), 87.2 ($C_{2''}$), 85.6 ($C_{2'}$), 83.8 ($C_{3''}$), 83.0 ($C_{3'}$), 74.3 ($C_{5'}$), 62.6 ($C_{12'}$), 51.6 ($C_{8'}$), 45.4 ($C_{5''}$), 32.9 ($C_{9'}$), 31.0 ($C_{11'}$), 30.5, 29.9 ($C_{7''}$), 27.5, 25.5 ($C_{14'}$), 23.8 ($C_{10'}$), 8.9, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{29}H_{45}N_6O_{10}^+$ $(M + H)^+$ 637.3197, found 637.3206.

Compound 138g.



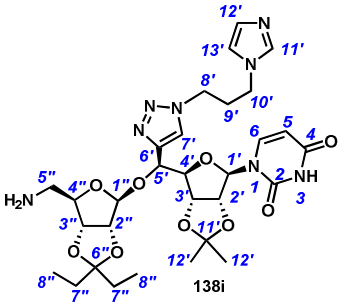
Amine **138g** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128g** (140 mg, 0.16 mmol). Flash chromatography (EtOAc/NEt_3 100/0.3% to EtOAc/MeOH/NEt_3 8/2/5%) afforded **138g** as a white solid (59 mg, 60% yield): R_f 0.10 (EtOAc/MeOH/Et_3N 8/2/5%); m.p. 115-117 °C; $[\alpha]_D$ + 20 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2968*w*, 2934*w*, 1687*s*, 1454*m*, 1377*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.03 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.56 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.71 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 1.5 Hz, $H_{1'}$), 5.62 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.31 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.22 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.11 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 1.5 Hz, $H_{2'}$), 4.76 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.66 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.57 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.46-4.43 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{8'}$), 4.07 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 5.5 Hz, $H_{4''}$), 2.72 (t, 2H, $J_{H12'\text{-}H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{12'}$), 2.50 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 5.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.43 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 1.97-1.93 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.61 (q, 2H, $J_{H7''\text{-}H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.59-1.52 (m, 4H, $H_{11'}$, $H_{7''}$), 1.49 (s, 3H, $H_{14'}$), 1.38-1.31 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.26 (s, 3H, $H_{14'}$), 0.84 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 167.8 (C_4), 153.2 (C_2), 146.1 ($C_{6'}$), 145.2 (C_6), 124.9 ($C_{7'}$), 117.6 ($C_{6''}$), 115.1 ($C_{13'}$), 111.2 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 96.8 ($C_{1'}$), 91.5 ($C_{4'}$), 89.9 ($C_{4''}$), 87.2 ($C_{2''}$), 85.5 ($C_{2'}$), 83.7 ($C_{3''}$), 82.9 ($C_{3'}$), 74.2 ($C_{5'}$), 51.2 ($C_{12'}$), 45.6 ($C_{8'}$), 41.6 ($C_{5''}$), 31.4 ($C_{9'}$), 30.8 ($C_{11'}$), 30.4, 29.9 ($C_{7''}$), 27.4, 25.5 ($C_{14'}$), 24.6 ($C_{10'}$), 8.7, 7.7 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{29}H_{46}N_7O_9^+$ $(M + H)^+$ 636.3357, found 636.3342.

Compound 138h.



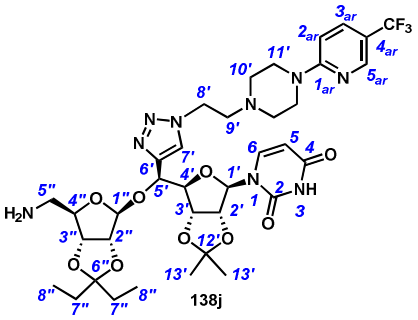
Amine **138h** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128h** (145 mg, 0.17 mmol). Flash chromatography (EtOAc/NEt_3 100/0.3% to EtOAc/MeOH/NEt_3 8/2/0.3%) afforded **138h** as a white solid (88 mg, 74% yield): R_f 0.22 (EtOAc/MeOH/Et_3N 8/2/5%); m.p. 115-117 °C; $[\alpha]_D$ - 18 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2970*m*, 2940*m*, 2859*w*, 2810*w*, 1697*s*, 1634*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.02 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.65 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.31 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.22 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 8.0 Hz, $H_{5'}$), 5.12 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.76 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.59 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.46-4.42 (m, 3H, $H_{8'}$, $H_{4'}$), 4.14 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 3.66 (tl, 4H, $J_{H13'-H14'}$ = 4.5 Hz, $H_{13'}$), 2.62 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.30 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.47-2.43 (m, 4H, $H_{14'}$), 2.34 (t, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{12'}$), 1.91 (qt, 2H, $J_{H9'-H8'}$ = $J_{H9'-H10'}$ =7.5 Hz, $H_{9'}$), 1.62 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ =7.0 Hz, $H_{7''}$), 1.59-1.52 (m, 4H, $H_{7''}$,$H_{11'}$), 1.50 (s, 3H, $H_{16'}$), 1.35-1.28 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.27 (s, 3H, $H_{16'}$), 0.84 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.3 (C_4), 152.1 (C_2), 145.8 ($C_{6'}$), 145.4 (C_6), 124.9 ($C_{7'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 115.2 ($C_{15'}$), 111.3 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 96.7 ($C_{1'}$), 91.4 ($C_{4'}$), 89.1 ($C_{2''}$), 87.2 ($C_{4''}$), 85.5 ($C_{3'}$), 83.7 ($C_{3''}$), 82.9 ($C_{2'}$), 74.2 ($C_{5'}$), 67.6 ($C_{13'}$), 59.8 ($C_{12'}$), 54.7 ($C_{14'}$), 51.3 ($C_{8'}$), 45.2 ($C_{5''}$), 30.9 ($C_{9'}$), 30.4 ($C_{11'}$), 29.9 ($C_{7''}$), 27.4 ($C_{7''}$), 25.8, 25.5 ($C_{16'}$), 25.2 ($C_{10'}$), 8.7, 7.7 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{33}H_{52}N_7O_{10}^+$ $(M + H)^+$ 706.3776, found 706.3805.

Compound 138i.



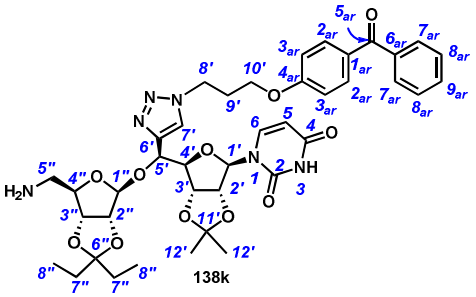
Amine **138i** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128i** (194 mg, 0.25 mmol). Flash chromatography (EtOAc to EtOAc/MeOH 8/2) afforded **138i** as a white solid (86 mg, 52% yield): R_f 0.10, EtOAc/MeOH/Et_3N 8/2/5%); m.p. 137-139 °C; $[\alpha]_D$ -19 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2944*w*, 1695*s*, 1459*m*, 1080*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.04 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.66 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.65 (br s, 1H, $H_{11'}$), 7.15 (br s, 1H, $H_{12'}$), 6.99 (br s, 1H, $H_{13'}$), 5.77 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.32 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.23 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 8.5 Hz, $H_{5'}$), 5.14 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.77 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.59 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.47-4.37 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{8'}$), 4.14 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 4.09-3.99 (m, 2H, $H_{10'}$), 2.62 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.53 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.45 (qt, 2H, $J_{H9'-H8'}$ = $J_{H9'-H10'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 1.62 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.55 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$) 1.49 (s, 3H, $H_{15'}$), 1.25 (s, 3H, $H_{15'}$), 0.84 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.3 (C_4), 152.1 (C_2), 146.2 ($C_{6'}$), 145.6 (C_6), 138.6 ($C_{11'}$), 129.4 ($C_{12'}$), 125.1 ($C_{7'}$), 120.6 ($C_{13'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 115.2 ($C_{14'}$), 111.3 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 97.0 ($C_{1'}$), 91.6 ($C_{4'}$), 89.7 ($C_{2''}$), 87.2 ($C_{4''}$), 85.6 ($C_{2'}$), 83.7 ($C_{3''}$), 82.9 ($C_{3'}$), 74.3 ($C_{5'}$), 48.3 ($C_{8'}$), 45.2 ($C_{10'}$), 44.7 ($C_{5''}$), 32.3 ($C_{9'}$), 30.4, 29.8 ($C_{7''}$), 27.4, 25.4 ($C_{15'}$), 8.7, 7.7 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{30}H_{43}N_8O_9^+$ $(M + H)^+$ 659.3153, found 659.3157.

Compound 138j.



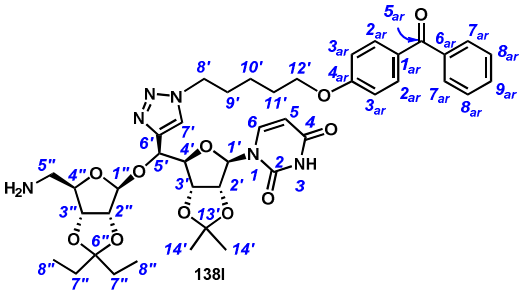
Amine **138j** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128j** (177 mg, 0.19 mmol, 1 equiv). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 97/3/0.3%) afforded **138j** as a white solid (72 mg, 47% yield): R_f 0.54 (DCM/MeOH/Et_3N 9/1/0.3%); m.p. 108-110 °C; $[\alpha]_D$ - 16 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2978*w*, 2939*w*, 1695*s*, 1612*s*, 1328*m*, 1107*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.29 (br s, 1H, $H_{16'}$), 8.07 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.67 (dd, 1H, $J_{H14'-H13'}$ = 9.5 Hz, $J_{H14'-H16'}$ = 2.5 Hz, $H_{14'}$), 7.62 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 6.82 (d, 1H, $J_{H13'-H14'}$ = 9.5 Hz, $H_{13'}$), 5.73 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 1.5 Hz, $H_{1'}$), 5.66 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.27 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz $H_{5'}$), 5.11 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 1.5 Hz, $H_{2'}$), 4.74 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.63 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.57 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 6.0 Hz, $H_{8'}$), 4.54 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.44 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 9.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.07 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 3.60 (t, 4H, $J_{H11'-H10'}$ = 5.0 Hz, $H_{11'}$), 2.89-2.87 (m, 2H, $H_{9'}$), 2.59-2.43 (m, 6H, $H_{5''a}$, $H_{5''b}$, $H_{10'}$), 1.58 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.51 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.44 (s, 3H, $H_{19'}$), 1.21 (s, 3H, $H_{19'}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.79 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.5 (C_4), 162.1 ($C_{12'}$), 152.3 (C_2), 146.7-146.5 (m, $C_{16'}$), 145.9 ($C_{6'}$), 145.9 (C_6), 135.8 ($C_{14'}$), 127.6 (q, $J_{C17'-F}$ = 71.5 Hz, $C_{17'}$), 126.0 ($C_{7'}$), 117.8 ($C_{6''}$), 116.3 (q, $J_{C15'-F}$ = 32.5 Hz, $C_{15'}$), 115.2 ($C_{18'}$), 111.4 ($C_{1''}$), 107.5 ($C_{13'}$), 103.1 (C_5), 97.3 ($C_{1'}$), 91.9 ($C_{4'}$), 89.9 ($C_{4''}$), 87.4 ($C_{2''}$), 85.7 ($C_{2'}$), 83.9 ($C_{3''}$), 83.2 ($C_{3'}$), 74.3 ($C_{5'}$), 58.3 ($C_{9'}$), 53.8 ($C_{10'}$), 48.8 ($C_{8'}$), 46.0 ($C_{11'}$), 45.6 ($C_{5''}$), 30.6, 30.0 ($C_{7''}$), 27.5, 27.6 ($C_{19'}$), 8.8, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{36}H_{49}F_3N_9O_9^+$ $(M + H)^+$ 808.3605, found 808.3607.

Compound 138k.



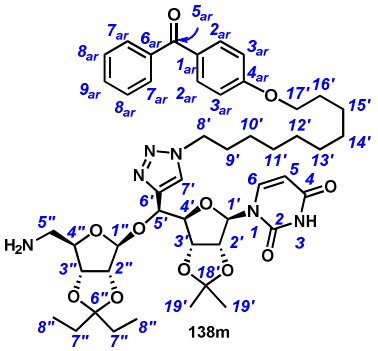
Amine **138k** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128k** (185 mg, 0.20 mmol). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 97/3/0.3%) afforded **138k** as a white solid (72 mg, 46% yield): R_f 0.16 (DCM/MeOH 95/5); m.p. 119-121 °C; $[\alpha]_D$ - 22 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2976*m*, 2940*m*, 1697*s*, 1650*m* 1383*m*, 1075*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.05 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.81 (d, 2H, $J_{H13'-H12'}$ = 9.0 Hz, $H_{13'}$), 7.73 (d, 2H, $J_{H17'-H18'}$ = 7.5 Hz, $H_{17'}$), 7.67-7.62 (m, 2H, $H_{19'}$, H_6), 7.54 (t, 2H, $J_{H18'-H19'}$ = $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 7.05 (d, 2H, $J_{H12'-H13'}$ = 9.0 Hz, $H_{12'}$), 5.77 (br s, 1H, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.32 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.19 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.12 (d, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.0 Hz, $H_{2'}$), 4.76 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.69 (t, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{10'}$), 4.67 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.57 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.44 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 9.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.14-4.07 (m, 3H, $H_{8'}$, $H_{4''}$), 2.56 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.51-2.42 (m, 3H, $H_{5''b}$, $H_{9'}$), 1.62 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.55 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.48 (s, 3H, $H_{21'}$), 1.24 (s, 3H, $H_{21'}$) 0.84 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.7 ($C_{15'}$), 166.5 (C_4), 164.2 ($C_{11'}$), 152.3 (C_2), 146.2 ($C_{6'}$), 145.6 (C_6), 139.6 ($C_{16'}$), 133.8 ($C_{13'}$), 133.5 ($C_{19'}$), 131.6 ($C_{14'}$), 130.8 ($C_{17'}$), 129.6 ($C_{18'}$), 125.5 ($C_{7'}$), 117.8 ($C_{6''}$), 115.5 ($C_{12'}$), 115.3 ($C_{20'}$), 111.4 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 97.1 ($C_{1'}$), 91.7 ($C_{4'}$), 89.7 ($C_{4''}$), 87.4 ($C_{2''}$), 85.7 ($C_{2'}$), 83.9 ($C_{3''}$), 83.1 ($C_{3'}$), 74.1 ($C_{5'}$), 66.2 ($C_{8'}$), 49.0 ($C_{10'}$), 45.5 ($C_{5''}$), 30.9 ($C_{9'}$), 30.6, 30.0 ($C_{7''}$), 27.5, 25.6 ($C_{21'}$), 8.8, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{40}H_{49}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 789.3459, found 789.3463.

Compound 138l.



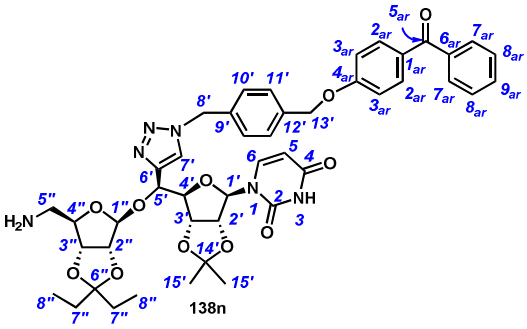
Amine **138l** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128l** (100 mg, 0.11 mmol). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 97/3/0.3%) afforded **138l** as a white solid (42 mg, 49% yield): R_f 0.19 (DCM/MeOH/Et_3N 98/2/0.3%); m.p. 127-129 °C; $[\alpha]_D$ - 26 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2895*m*, 1697*s*, 1600*s* 1257*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.03 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.78 (br d, 2H, $J_{H15'-H14'}$ = 8.0 Hz, $H_{15'}$), 7.71 (br d, 2H, $J_{H19'-H20'}$ = 7.5 Hz, $H_{19'}$), 7.63 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.60 (t, 1H, $J_{H21'-H20'}$ = 7.5 Hz, $H_{21'}$), 7.51 (t, 2H, $J_{H20'-H21'}$ = 7.5 Hz, $J_{H20'-H19'}$ = 7.5 Hz, $H_{20'}$), 7.01 (br d, 2H, $J_{H14'-H15'}$ = 8.0 Hz, $H_{14'}$), 5.76 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.68 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.31 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.22 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.10 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.75 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.66 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.57 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.48 (tl, 2H, $J_{H12''-H11'}$ = 7.5 Hz, $H_{12'}$), 4.44 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 9.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.12 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 4.07 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 6.0 Hz, $H_{8'}$), 2.60 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.53 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.04-1.98 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.88-1.82 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.61 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.51 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.49-1.46 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.46 (s, 3H, $H_{23'}$), 1.23 (s, 3H, $H_{23'}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.7 ($C_{17'}$), 166.6 (C_4), 164.7 ($C_{13'}$), 152.5 (C_2), 146.1 ($C_{6'}$), 145.5 (C_6), 139.7 ($C_{18'}$), 133.8 ($C_{15'}$), 133.4 ($C_{21'}$), 131.2 ($C_{16'}$), 130.8 ($C_{19'}$), 129.6 ($C_{20'}$), 125.1 ($C_{7'}$), 117.9 ($C_{6''}$), 115.5 ($C_{14'}$), 115.3 ($C_{22'}$), 111.5 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 97.0 ($C_{1'}$), 91.6 ($C_{4'}$), 89.2 ($C_{4''}$), 87.3 ($C_{2''}$), 85.7 ($C_{2'}$), 83.8 ($C_{3''}$), 83.1 ($C_{3'}$), 74.4 ($C_{5'}$), 69.3 ($C_{8'}$), 51.5 ($C_{12'}$), 45.3 ($C_{5''}$), 30.9 ($C_{11'}$), 30.6, 30.0 ($C_{7''}$), 29.6 ($C_{9'}$), 27.5, 25.6 ($C_{23'}$), 24.1 ($C_{10'}$), 8.8, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{42}H_{53}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 817.3772, found 817.3808.

Compound 138m.



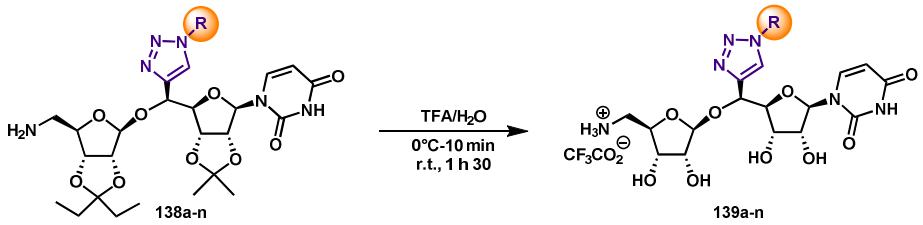
Amine **138m** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from triazole **128m** (174 mg, 0.17 mmol). Flash chromatography (EtOAc to EtOAc/MeOH 9/1) afforded **138m** as a white solid (76 mg, 51% yield): R_f 0.56 (EtOAc/MeOH 9/1); m.p. 125-127 °C; $[\alpha]_D$ - 24 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2895*w*, 2840*w*, 1697*s*, 1653*m*, 1600*m,* 1257*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.99 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.78 (br d, 2H, $J_{H20'-H19'}$ = 9.0 Hz, $H_{20'}$), 7.71 (br d, 2H, $J_{H24'-H25'}$ = 7.5 Hz, $H_{24'}$), 7.63-7.60 (m, 2H, $H_{26'}$, H_6), 7.51 (t, 2H, $J_{H25'-H26'}$ = 7.5 Hz, $J_{H25'-H24'}$ = 7.5 Hz, $H_{25'}$), 7.02 (br d, 2H, $J_{H19'-H20'}$ = 9.0 Hz, $H_{19'}$), 5.76 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.67 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.30 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.10 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.73 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.66 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.57 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.45-4.37 (m, 3H, $H_{17'}$, $H_{4'}$), 4.10 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 9.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 4.08 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 6.5 Hz, $H_{8'}$), 2.56 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.50 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.95-1.86 (m, 2H, $H_{16'}$), 1.83-1.77 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.61 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.54 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.48 (s, 3H, $H_{19'}$), 1.41-1.27 (m, 12H, $H_{10'}$, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$), 1.24 (s, 3H, $H_{19'}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.8 ($C_{22'}$), 166.3 (C_4), 164.9 ($C_{18'}$), 150.5 (C_2), 146.0 ($C_{6'}$), 145.5 (C_6), 136.8 ($C_{23'}$), 133.8 ($C_{20'}$), 133.4 ($C_{26'}$), 131.1 ($C_{21'}$), 130.8 ($C_{24'}$), 129.6 ($C_{25'}$), 125.1 ($C_{7'}$), 117.8 ($C_{6''}$), 115.4 ($C_{19'}$), 115.3 ($C_{27'}$), 111.4 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 96.9 ($C_{1'}$), 91.7 ($C_{4'}$), 89.5 ($C_{4''}$), 87.4 ($C_{2''}$), 85.7 ($C_{2'}$), 83.9 ($C_{3''}$), 83.1 ($C_{3'}$), 74.4 ($C_{5'}$), 69.6 ($C_{8'}$), 51.6 ($C_{17'}$), 45.5 ($C_{5''}$), 31.2 ($C_{16'}$), 30.6, 30.6, 30.6, 30.5, 30.4, 30.1, 30.0, 27.5, 27.5 ($C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{7''}$), 27.2, 25.9 ($C_{28'}$), 8.8, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{47}H_{63}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 887.4555, found 887.4575.

Compound 138n.



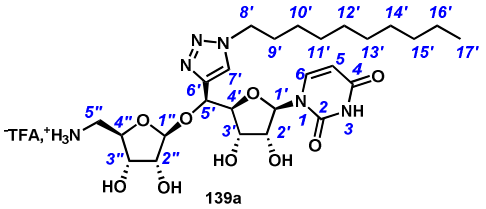
Amine **138n** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from protected triazole **128n** (102 mg, 0.10 mmol). Flash chromatography (DCM/NEt_3 100/0.3% to DCM/MeOH/NEt_3 95/5/0.3%) afforded **138n** as a white solid (70 mg, 80% yield): R_f 0.22 (DCM/MeOH 9/1); m.p. 131-133 °C; $[\alpha]_D$ - 20 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2972*w*, 2937*w*, 1691*s*, 1651*m*, 1597*m,* 1253*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.01 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.75 (d, 2H, $J_{16'-15'}$ = 9.0 Hz, $H_{16'}$), 7.69 (d, 2H, $J_{H20'-H21'}$ = 8.0 Hz, $H_{20'}$), 7.59 (t, 1H, $J_{H22'-H21'}$ = 8.0 Hz, $H_{22'}$), 7.56 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 7.48 (t, 2H, $J_{H21'-H20'}$ = $J_{H21'-H22'}$ = 8.0 Hz, $H_{21'}$), 7.45 (d, 2H, $J_{H11'-H10'}$ = 8.5 Hz, $H_{11'}$), 7.31 (d, 2H, $J_{H10'-H11'}$ = 8.5 Hz, $H_{10'}$), 7.06 (d, 2H, $J_{H15'-16'}$ = 9.0 Hz, $H_{15'}$), 5.76 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.62 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.61 (s, 2H, $H_{8'}$), 5.30 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 9.0 Hz, $H_{5'}$), 5.17 (s, 2H, $H_{13'}$), 5.03 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.73 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.63 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.53 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.41 (dd, 1H, $J_{H4'-H5'}$ = 9.0 Hz, $J_{H4'-H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.05 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.5 Hz, $H_{4''}$), 2.45 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 11.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.81 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.59 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.51 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.43 (s, 3H, $H_{24'}$), 1.21 (s, 3H, $H_{24'}$), 0.81 (t, 6H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.5 ($C_{18'}$), 166.4 (C_4), 164.1 ($C_{14'}$), 152.3 (C_2), 146.6 ($C_{6'}$), 145.2 (C_6), 139.5 ($C_{19'}$), 138.6 ($C_{12'}$), 136.6 ($C_{9'}$), 133.8 ($C_{16'}$), 133.4 ($C_{22'}$), 131.5 ($C_{17'}$), 130.8 ($C_{20'}$), 129.6 ($C_{21'}$), 129.4 ($C_{10'}$), 129.3 ($C_{11'}$), 125.4 ($C_{7'}$), 117.8 ($C_{6''}$), 115.8 ($C_{15'}$), 115.4 ($C_{23'}$), 111.3 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 96.5 ($C_{1'}$), 91.2 ($C_{4'}$), 89.8 ($C_{4''}$), 87.3 ($C_{2''}$), 85.5 ($C_{2'}$), 83.8 ($C_{3''}$), 82.9 ($C_{3'}$), 74.3 ($C_{5'}$), 70.8 ($C_{13'}$), 54.8 ($C_{8'}$), 45.6 ($C_{5''}$), 30.5, 29.9 ($C_{7''}$), 27.6 ($C_{24'}$), 25.6 ($C_{24'}$), 8.9, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{45}H_{51}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 851,3616, found 851,3657.

General procedure for ketals hydrolysis, preparation of compounds 139a-n.



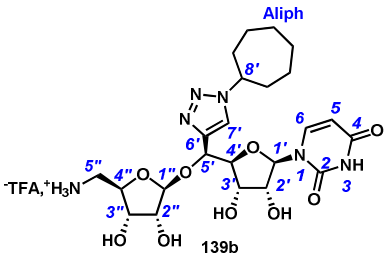
At 0 °C, to a suspension of protected amine (1 equiv), in pure water, was dropwise added trifluoroacetic acid (1/4 v/v, final concentration: 10^{-2} M). The mixture was stirred at 0 °C for 10 min then at r.t. for 90 min. Trifluoroacetic acid was then removed *in vacuo* without heating. The residue was dissolved in water and lyophilised. The resulting powder was recrystallized to furnish the corresponding deprotected compound as a trifluoroacetate or a bis-trifluoroacetate salt.

Compound 139a.



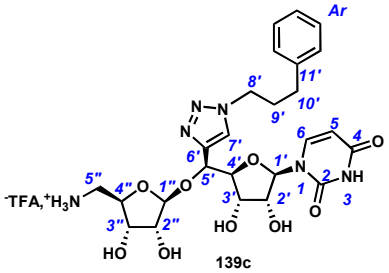
Tetrol **139a** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138a** (22 mg, 0.032 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139a** as a white powder (21 mg, 94% yield): m.p. 123-125 °C; $[\alpha]_D$ + 14 (*c* 0.6, MeOH); IR (film) 2919*br*, 2301*w*, 1714*s*, 1685*s*, 1462*m,* 1202*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.96 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.76 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.76 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.64 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.18 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.06 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{5'}$), 4.32 (t, 2H, $J_{H8'-H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.23 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 4.14 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.09 (dd, 1H, $J_{H3'-H4'}$ = 5.5 Hz, $J_{H3'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.07-4.03 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.01-3.98 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.13 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 12.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 2.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.75 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 12.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 1.86-1.80 (m, 2H, $J_{H9'-H8'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 1.25-1.20 (m, 14H, $H_{10'}$, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H17'-H16'}$ = 6.5 Hz, $H_{17'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4, CO TFA), 152.3 (C_2), 142.5 (C_6),125.2 ($C_{7'}$), 125.1 ($C_{6'}$), 110.5 ($C_{1''}$), 102.8 (C_5), 91.9 ($C_{1'}$), 86.5 ($C_{4'}$), 80.6 ($C_{4''}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.3 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{3''}$), 73.5 ($C_{5'}$), 71.2 ($C_{3'}$), 51.7 ($C_{8'}$), 43.5 ($C_{5''}$), 31.4 ($C_{9'}$), 33.1, 30.7, 30.7, 30.5, 30.2, 27.6, 23.8 ($C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$), 14.5 ($C_{17'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{26}H_{43}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 583.3092, found 583.3073.

Compound 139b.



Tetrol **139b** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138b** (62 mg, 0.096 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139b** as a white powder (58 mg, 93% yield): m.p. 151-153 °C; $[\alpha]_D$ + 4 (*c* 0.8, MeOH); IR (film) 3230*br*, 2928*w*, 2863*w*, 1681*s*, 1204*s*, 1134*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.03 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.82 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 5.84 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.72 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, H_5), 5.25 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.12 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.73-4.67 (m, 1H, $H_{8'}$), 4.29 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.21 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 3.5 Hz, $H_{2'}$), 4.16 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 6.0, Hz, $H_{3'}$), 4.14-4.06 (m, 3H, $H_{2''}$,$H_{3''}$, $H_{4''}$), 3.20 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.82 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.15-2.13 (m, 2H, H_{9a}), 2.06-2.04 (m, 2H, H_{9b}), 1.88-1.83 (m, 2H, H_{10a}), 1.74-1.59 (m, 6H, H_{10b}, H_{11}); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.1 (C_4), 152.2 (C_2), 146.5 ($C_{6'}$), 142.4 (C_6), 123.2 ($C_{7'}$), 110.3 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.7 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{4'}$), 80.4 ($C_{4''}$), 87.2 ($C_{3''}$), 76.2 ($C_{2'}$), 75.1 ($C_{5'}$), 73.5 ($C_{2''}$), 71.0 ($C_{3'}$), 64.2 ($C_{8'}$), 43.3 ($C_{5''}$), 36.5 (C_9), 28.8 (C_{11}), 25.3 (C_{10}); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{23}H_{35}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 539.2480, found 539.2480.

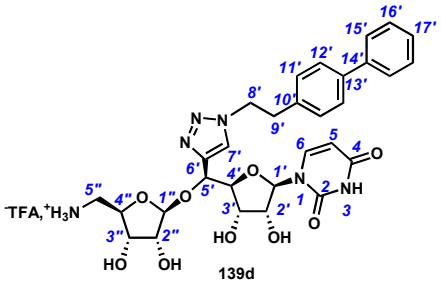
Compound 139c.



Tetrol **139c** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138c** (15 mg, 0.023 mmol). Recrystallization in DCM/MeOH 95/5 afforded **139c** as a white powder (13.8 mg, 89% yield): m.p. 127-129 °C; $[\alpha]_D$ + 19 (*c* 0.7, MeOH); IR (film) 3423*br*, 2954*s*, 2927*s*, 1733*s*, 1690*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.02 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.83 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 7.28-7.25 (m, 2H, $H_{12'}$), 7.19-7.16 (m, 3H, $H_{13'}$, $H_{14'}$), 5.84 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.71 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, H_5), 5.26 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.13 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{5'}$), 4.41 (t, 2H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.29 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 4.5 Hz, $H_{4'}$), 4.22

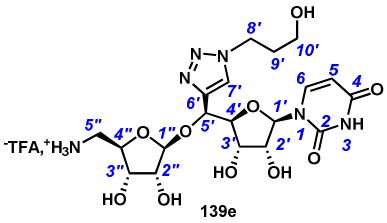
(dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.16 (dd, 1H, $J_{H3'-H4'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H2'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 4.13-4.10 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.09-4.05 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.20 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.82 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.63 (t, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = 7.5 Hz, $H_{10'}$), 2.23 (tt, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.5 Hz, $J_{H9'-H8'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.3 (C_4), 152.3 (C_2), 142.5 ($C_{6'}$, $C_{11'}$), 141.9 (C_6), 129.7 ($C_{13'}$), 129.6 ($C_{14'}$), 127.4 ($C_{12'}$), 125.5 ($C_{7'}$), 110.4 ($C_{1''}$), 102.8 (C_5), 91.8 ($C_{1'}$), 86.5 ($C_{4'}$), 80.5 ($C_{4''}$), 76.3 ($C_{2''}$), 75.2 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{3''}$), 73.5 ($C_{3'}$), 71.2 ($C_{5'}$), 51.0 ($C_{8'}$), 43.5 ($C_{5''}$), 33.6 ($C_{10'}$), 32.9 ($C_{9'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{25}H_{33}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 561.2322, found 561.2322.

Compound 139d.



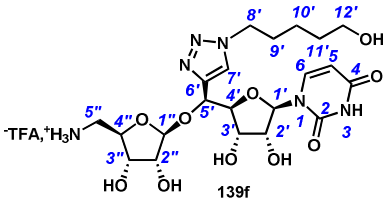
Tetrol **139d** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138d** (44 mg, 0.06 mmol). Recrystallization in DCM/MeOH 95/5 afforded **139d** as a white powder (42 mg, 96% yield): m.p. 137-139 °C; $[\alpha]_D$ + 15 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3384*br*, 2914*w*, 2067*w*, 1678*s*, 1459*m*, 1202*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.79 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.73 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.50 (d, 2H, $J_{H15'-H16'}$ = 8.0 Hz, $H_{15'}$), 7.45 (d, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{12'}$), 7.35 (t, 2H, $J_{H16'-H15'}$ = $J_{H16'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{16'}$), 7.25 (t, 1H, $J_{H17'-H16'}$ = 7.5 Hz, $H_{17'}$), 7.11 (d, 2H, $J_{H11'-12'}$ = 8.0 Hz, $H_{11'}$), 5.73 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.62 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.17 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.07-5.03 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.69-4.60 (m, 2H, $H_{8'}$), 4.23-4.19 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.16-4.12 (m, 1H, $H_{2'}$), 4.10-4.06 (m, 2H, $H_{3'}$, $H_{4''}$), 4.04-3.92 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.24-3.16 (m, 2H, $H_{9'}$), 3.12 (br d, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.70 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 8.0 Hz, $H_{5''b}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.4 (C_4), 152.2 (C_2), 142.2 (C_6), 141.9 ($C_{6'}$), 141.1 ($C_{14'}$, $C_{13'}$), 137.7 ($C_{10'}$), 130.4 ($C_{11'}$), 129.9 ($C_{16'}$), 128.4 ($C_{17'}$), 128.2 ($C_{12'}$), 127.7 ($C_{15'}$), 125.6 ($C_{7'}$), 110.2 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.7 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{4'}$), 80.4 ($C_{4''}$), 76.2 ($C_{2''}$), 75.2 ($C_{2'}$), 73.6 ($C_{3''}$), 73.1 ($C_{3'}$), 70.9 ($C_{5'}$), 52.8 ($C_{8'}$), 43.4 ($C_{5''}$), 37.1 ($C_{9'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{30}H_{35}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 623.2466, found 623.2448.

Compound 139e.



Tetrol **139e** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138e** (9.2 mg, 0.015 mmol). Recristalization in Et_2O afforded **139e** as a white powder (8.4 mg, 91% yield): m.p. 161-163 °C; $[\alpha]_D$ + 12 (*c* 0.4, MeOH); IR (film) 3413*br*, 2917*w*, 2897*w*, 1685*s*, 1198*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.98 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.77 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.77 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.65 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.18 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.07 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{5'}$), 4.45 (t, 2H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.22 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.15 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.10 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 5.5 Hz, $H_{3'}$), 4.06-3.99 (m, 3H, $H_{4''}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.50 (t, 2H, $J_{H10'\text{-}H9'}$ = 6.0 Hz, $H_{10'}$), 3.13 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 2.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.72 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 8.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.06-2.01 (m, 2H, $H_{9'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.4 (C_2), 146.8 ($C_{6'}$), 142.5 (C_6), 125.4 ($C_{7'}$), 110.4 ($C_{1''}$), 102.7 (C_5), 91.8 ($C_{1'}$), 86.5 ($C_{4'}$), 80.4 ($C_{4''}$), 76.3 ($C_{3''}$), 75.3 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{5'}$), 73.5 ($C_{2''}$), 71.1 ($C_{3'}$), 59.4 ($C_{10'}$), 49.6 ($C_{8'}$), 43.5 ($C_{5''}$), 33.9 ($C_{9'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{19}H_{29}N_6O_{10}^+$ $(M + H)^+$ 501.1945, found 501.1943.

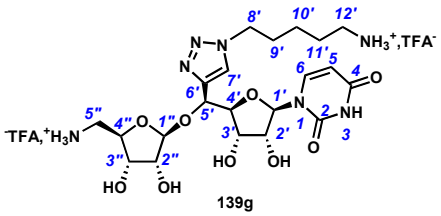
Compound 139f.



Tetrol **139f** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138f** (29 mg, 0.045 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139f** as a white powder (20 mg, 69% yield): m.p. 161-163 °C; $[\alpha]_D$ + 17 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3452*br*, 2925*w*, 2895*w*, 1690*s*, 1200*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.97 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.76 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.77 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.65 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, H_5), 5.18 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.07-5.05 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.34 (t, 2H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.22-4.20 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.15-4.13 (m, 1H, $H_{2'}$), 4.10-4.08 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.04-3.92 (m, 3H, $H_{4''}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.46 (t, 2H, $J_{H12'\text{-}H11'}$ = 6.0 Hz, $H_{12'}$), 3.12 (br d, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 12.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.72 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 12.5 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.88-1.82 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.47-1.45 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.32-1.27 (m, 2H, $H_{10'}$); ^{13}C

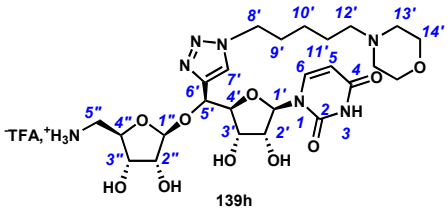
NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.4 (C_2), 143.1 ($C_{6'}$) 142.5 (C_6), 125.2 ($C_{7'}$), 110.4 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 91.7 ($C_{1'}$), 86.6 ($C_{4'}$), 80.5 ($C_{4''}$), 76.3 ($C_{3''}$), 75.2 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{5'}$), 73.5 ($C_{2''}$), 71.2 ($C_{3'}$), 62.7 ($C_{12'}$), 51.6 ($C_{8'}$), 43.6 ($C_{5''}$), 32.9 ($C_{9'}$), 31.0 ($C_{11'}$), 23.8 ($C_{10'}$); HRMS ESI^+ Calcd for $C_{21}H_{33}N_6O_{10}^+$ $(M + H)^+$ 529.2258, found 529.2240.

Compound 139g.



Tetrol **139g** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138g** (52 mg, 0.081 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139g** as a white powder (60 mg, 95% yield as a bis-trifluoroacetate salt): m.p. 140-142 °C; $[\alpha]_D$ + 14 (*c* 0.5, H_2O); IR (film) 3164*br*, 2923*m*,1673*s*, 1201*s*, 1132*s*; ^1H NMR (CD_3OD + 50 µL of D_2O) δ 7.97 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.84 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.89 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.85 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.26 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.19 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.48 (t, 2H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.32 (m, 2H, $H_{2'}$,$H_{4'}$), 4.24 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.18-4.12 (m, 3H, $H_{2''}$, $H_{3''}$, $H_{4''}$), 3.26 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 2.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.97 (t, 2H, $J_{H12'\text{-}H11'}$ = 7.5 Hz, $H_{12'}$), 2.82 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.06-1.94 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.75-1.68 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.43-1.36 (m, 2H, $H_{10'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD + 50 µL of D_2O) δ 166.6 (C_4), 163.7 (q, *J* = 35.0 Hz, $\underline{C}O_{TFA}$), 152.3 (C_2), 142.7 (C_6, $C_{6'}$), 125.4 ($C_{7'}$), 109.5 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 91.4 ($C_{1'}$), 86.0 ($C_{4'}$), 79.7 ($C_{4''}$), 75.6 ($C_{2''}$), 74.5 ($C_{2'}$), 73.3 ($C_{3''}$), 73.2 ($C_{3'}$), 70.7 ($C_{5'}$), 51.2 ($C_{8'}$), 43.3 ($C_{5''}$), 40.2 ($C_{12'}$), 30.2 ($C_{9'}$), 27.4 ($C_{11'}$), 23.9 ($C_{10'}$); HRMS ESI^+ Calcd for $C_{21}H_{34}N_7O_9^+$ $(M + H)^+$ 528.2418, found 528.2423.

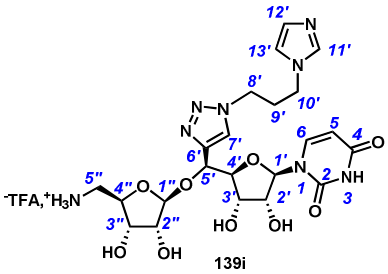
Compound 139h.



Tetrol **139h** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138h** (62 mg, 0.088 mmol). Recrystallization in Et_2O fforded **139h** as a white powder (73 mg, 99% yield as a bis-trifluoroacetate salt): m.p. 128-130 °C; $[\alpha]_{365}$ + 80 (*c* 0.5, H_2O); IR (film) 2922*w*, 2877*w*, 2511*w*, 1674*s*, 1200*s*; ^1H NMR (CD_3OD + 50 µL of D_2O) δ 8.05 (s, 1H, $H_{7'}$),

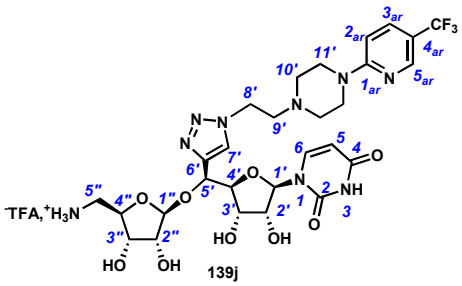
7.73 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.84 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.78 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.20 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.15 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{5'}$), 4.41 (t, 2H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 4.29 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 3.5 Hz, $H_{2'}$), 4.26 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 4.5 Hz, $H_{4'}$), 4.20 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.5 Hz, $H_{3'}$), 4.15-4.12 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 4.06-4.04 (m, 3H, $H_{4''}$, $H_{13'a}$), 3.77-3.72 (m, 2H, $H_{13'b}$), 3.46-3.43 (m, 2H, $H_{14'a}$), 3.20 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.11-3.06 (m, 4H, $H_{12'}$, $H_{14'b}$), 2.72 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.94-1.87 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.74-1.67 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.32-1.24 (m, 2H, $H_{10'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD + 50 µL of D_2O) δ 166.9 (C_4), 163.7 (q, J = 39.5 Hz, $\underline{C}O_{TFA}$), 152.3 (C_2), 145.8 ($C_{6'}$), 142.8 (C_6), 125.5 ($C_{7'}$), 109.2 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 91.1 ($C_{1'}$), 85.8 ($C_{4'}$), 79.5 ($C_{2''}$), 75.3 ($C_{4''}$), 74.2 ($C_{3'}$), 73.3 ($C_{3''}$), 72.9 ($C_{2'}$), 70.5 ($C_{5'}$), 64.7 ($C_{13'}$), 57.8 ($C_{12'}$), 52.6 ($C_{14'}$), 51.1 ($C_{8'}$), 43.2 ($C_{5''}$), 29.9 ($C_{9'}$), 23.6 ($C_{11'}$), 23.4 ($C_{10'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{25}H_{40}N_7O_{10}^+$ $(M + H)^+$ 598.2837, found 598.2831.

Compound 139i.



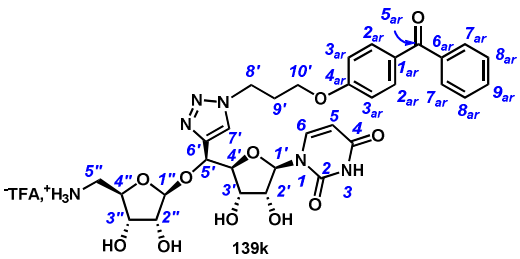
Tetrol **139i** prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138i** (22 mg, 0.033 mmol). Recrystallization in Et_2O, afforded **139i** as a white powder (25.4 mg, 99% yield as a bis-trifluoroacetate salt): m.p. 118-120 °C; $[\alpha]_D$ + 13 (*c* 0.4, H_2O); IR (film) 3146*br*, 2928*w*, 2848*w*, 2352*w*, 1676*s*, 1199*s*, 1127*s*; ^{1}H NMR (D_2O) δ 8.76 (br s, 1H, $H_{11'}$), 8.10 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.86 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 7.53 (br s, 1H, $H_{12'}$), 7.49 (br s, 1H, $H_{13'}$), 5.95 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.77 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.30 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.24 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.68-4.62 (m, 2H, $H_{8'}$), 4.44 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 4.36-4.30 (m, 4H, $H_{3'}$, $H_{4'}$, $H_{10'}$), 4.26-4.21 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 4.17-4.14 (m, 1H, $H_{4''}$), 3.30 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 3.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.82 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.63-2.60 (m, 2H, $H_{9'}$); ^{13}C NMR (D_2O) δ 167.6 (C_4), 164.1 (q, J = 36.2 Hz, $\underline{C}O_{TFA}$), 152.9 (C_2), 146.6 ($C_{6'}$), 143.4 (C_6), 136.2 ($C_{11'}$), 126.1 ($C_{12'}$), 123.1 ($C_{7'}$), 121.5 ($C_{13'}$), 109.7 ($C_{1''}$), 103.6 (C_5), 91.8 ($C_{1'}$), 86.2 ($C_{4'}$), 79.9 ($C_{2''}$), 75.8 ($C_{4''}$), 74.7 ($C_{2'}$), 73.8 ($C_{3''}$), 73.5 ($C_{3'}$), 70.9 ($C_{5'}$), 48.9 ($C_{8'}$), 47.9 ($C_{10'}$), 43.8 ($C_{5''}$), 30.9 ($C_{9'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{22}H_{31}N_8O_9^+$ $(M + H)^+$ 551.2214, found 551.2209.

Compound 139j.



Tetrol **139j** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138j** (14.7 mg, 0.018 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139j** as a white powder (12.6 mg, 86% yield): m.p. 137-139 °C; $[\alpha]_D$ + 19 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3369*br*, 2925*m*, 2847*m*, 2341*w*, 1686*s*, 1203*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.41 (br s, 1H, $H_{16'}$), 8.18 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.84 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 7.81 (dd, 1H, $J_{H14'\text{-}H13'}$ = 9.0 Hz, $J_{H14'\text{-}H16'}$ = 2.0 Hz, $H_{14'}$), 6.99 (d, 1H, $J_{H13'\text{-}H14'}$ = 9.0 Hz, $H_{13'}$), 5.83 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.71 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, H_5), 5.26 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 3.5 Hz $H_{5'}$), 4.91 (t, 2H, $J_{H8'\text{-}H9'}$ = 6.5 Hz, $H_{8'}$), 4.30 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.23 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 3.5 Hz, $H_{2'}$), 4.19 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 5.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.5 Hz, $H_{3'}$), 4.14-4.10 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.08 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 4.5 Hz, $H_{2''}$), 4.06 (br d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 4.5 Hz, $H_{3''}$), 3.99-3.89 (m, 4H, $H_{10'}$), 3.71 (t, 2H, $J_{H9'\text{-}H8'}$ = 6.5 Hz, $H_{9'}$), 3.37-3.32 (m, 4H, $H_{11'}$), 3.21 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.87 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 161.2 ($C_{12'}$), 152.3 (C_2), 147.6-146.5 (m, $C_{16'}$), 146.6 ($C_{6'}$), 142.5 (C_6), 136.3 ($C_{14'}$), 126.1 ($C_{7'}$), 126.0 (q, $J_{C\text{-}F}$ = 270.0 Hz, $C_{17'}$), 117.9 (q, $J_{C15'\text{-}F}$ = 34.5 Hz, $C_{15'}$), 110.5 ($C_{1''}$), 108.1 ($C_{13'}$), 102.9 (C_5), 92.1 ($C_{1'}$), 86.5 ($C_{4'}$), 80.6 ($C_{4''}$), 76.4 ($C_{3''}$), 75.3 ($C_{2'}$), 73.8 ($C_{2''}$), 73.5 ($C_{5'}$), 71.2 ($C_{3'}$), 59.8 ($C_{9'}$), 53.3 ($C_{10'}$), 46.3 ($C_{8'}$), 43.7 ($C_{5''}$), 43.6 ($C_{11'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{28}H_{37}F_3N_9O_9^+$ $(M + H)^+$ 700.2626, found 700.2657.

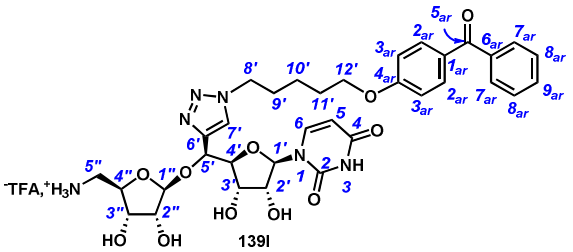
Compound 139k.



Tetrol **139k** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138k** (30 mg, 0.034 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139k** as a white powder (26.7 mg, 99% yield): m.p. 157-159 °C; $[\alpha]_D$ + 21 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3272*br*, 2920*m*, 1678*s*, 1600*m*, 1467*m*, 1202*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.04 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.78 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz,

H_6), 7.75 (d, 2H, $J_{H13'-H12'}$ = 9.0 Hz, $H_{13'}$), 7.69 (d, 2H, $J_{H17'-H18'}$ = 7.5 Hz, $H_{17'}$), 7.59 (t, 1H, $J_{H19'-H18'}$ = 7.5 Hz, $H_{19'}$), 7.49 (t, 2H, $J_{H18'-H19'}$ = $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 6.98 (d, 2H, $J_{H12'-H13'}$ = 9.0 Hz, $H_{12'}$), 5.74 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.65 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.21 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.19 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{5'}$), 4.63 (t, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = 6.5 Hz, $H_{10'}$), 4.23 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.17 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.11 (dd, 1H, $J_{H3'-H4'}$ = 5.5 Hz, $J_{H3'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.09-4.07 (m, 3H, $H_{8'}$, $H_{4''}$), 4.05-4.00 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.15 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 12.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 2.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.79 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 12.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.40 (tt, 2H, $J_{H9'-H10'}$= 6.5 Hz, $J_{H9'-H8'}$= 5.5 Hz, $H_{9'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.7 ($C_{15'}$), 166.2 (C_4, CO TFA), 164.1 ($C_{11'}$), 152.2 (C_2), 146.9 ($C_{6'}$), 142.4 (C_6), 139.5 ($C_{16'}$), 133.8 ($C_{13'}$), 133.4 ($C_{19'}$), 131.6 ($C_{14'}$), 130.8 ($C_{17'}$), 129.5 ($C_{18'}$), 125.6 ($C_{7'}$), 115.4 ($C_{12'}$), 110.5 ($C_{1''}$), 102.7 (C_5), 92.0 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{4'}$), 80.5 ($C_{4''}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.3 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{3''}$), 73.4 ($C_{5'}$), 71.1 ($C_{3'}$), 66.2 ($C_{8'}$), 48.6 (with CD_3OD, $C_{10'}$), 43.5 ($C_{5''}$), 30.9 ($C_{9'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{32}H_{37}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 681.2520, found 681.2520.

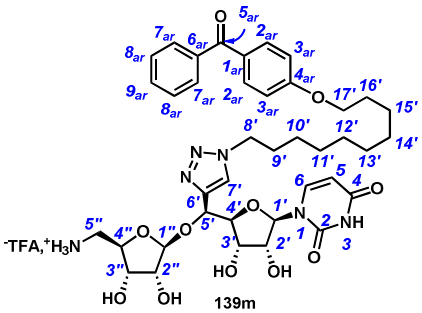
Compound 139l.



Tetrol **139l** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138l** (27 mg, 0.033 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139l** as a white powder (26 mg, 96% yield): m.p. 146-148 °C; $[\alpha]_D$ + 24 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3270*br*, 2914*m*, 1675*s*, 1603*m*, 1452*m*, 1201*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.06 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.83 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.78 (d, 2H, $J_{H15'-H14'}$ = 8.5 Hz, $H_{15'}$), 7.71 (d, 2H, $J_{H19'-H20'}$ = 7.5 Hz, $H_{19'}$), 7.62 (t, 1H, $J_{H21'-H20'}$ = 7.5 Hz, $H_{21'}$), 7.51 (t, 2H, $J_{H20'-H21'}$ = 7.5 Hz, $J_{H20'-H19'}$ = 7.5 Hz, $H_{20'}$), 7.01 (d, 2H, $J_{H14'-H15'}$ = 8.5 Hz, $H_{14'}$), 5.83 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.71 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.26 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.14 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{5'}$), 4.46 (t, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 7.0 Hz $H_{12'}$), 4.30 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.21 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.17 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 5.5 Hz, $H_{3'}$), 4.14-4.08 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.08-4.06 (m, 4H, $H_{8'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.22 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 12.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.83 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 12.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.03-1.97 (m, 2H, $H_{11'}$), 1.87-1.82 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.55-1.49 (m, 2H, $H_{10'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.9 ($C_{17'}$), 166.2 (C_4), 164.6 ($C_{13'}$),

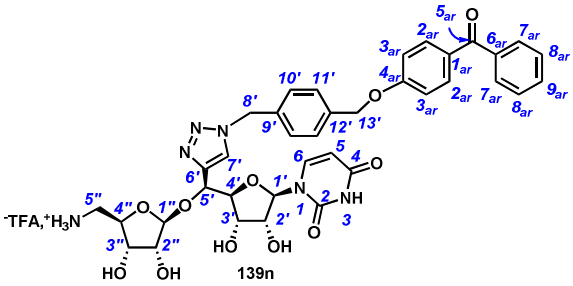
152.3 (C_2), 142.5 ($C_{6'}$, C_6), 139.7 ($C_{18'}$), 133.8 ($C_{15'}$), 133.4 ($C_{21'}$), 131.2 ($C_{16'}$), 130.8 ($C_{19'}$), 129.6 ($C_{20'}$), 125.2 ($C_{7'}$), 115.4 ($C_{14'}$), 110.5 ($C_{1''}$), 102.8 (C_5), 91.9 ($C_{1'}$), 86.5 ($C_{4'}$), 80.6 ($C_{4''}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.3 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{3''}$), 73.5 ($C_{5'}$), 71.2 ($C_{3'}$), 69.2 ($C_{8'}$), 51.6 ($C_{12'}$), 43.5 ($C_{5''}$), 31.0 ($C_{11'}$), 29.6 ($C_{9'}$), 24.4 ($C_{10'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{34}H_{41}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 709.2828, found 709.2853.

Compound 139m.



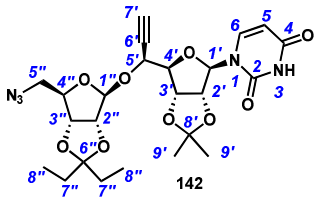
Tetrol **139m** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138m** (16 mg, 0.018 mmol). Recrystallization in Et_2O afforded **139m** as a white powder (15.9 mg, 99% yield): m.p. 151-153 °C; $[\alpha]_D$ + 26 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3338*br*, 2930*m*, 2857*m,* 1680*s*, 1597*s*, 1257*s*, 1202*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.02 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.82 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 7.77 (d, 2H, $J_{H20'\text{-}H19'}$ = 8.5 Hz, $H_{20'}$), 7.70 (d, 2H, $J_{H24'\text{-}H25'}$ = 7.5 Hz, $H_{24'}$), 7.61 (t, 1H, $J_{H26'\text{-}H25'}$ = 7.5 Hz, $H_{26'}$), 7.50 (t, 2H, $J_{H25'\text{-}H26'}$ = 7.5 Hz, $J_{H25'\text{-}H24'}$ = 7.5 Hz, $H_{25'}$), 7.01 (d, 2H, $J_{H19'\text{-}H20'}$ = 8.5 Hz, $H_{19'}$), 5.82 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.69 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, H_5), 5.24 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.12 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{5'}$), 4.39 (t, 2H, $J_{H17'\text{-}H16'}$ = 7.5 Hz $H_{17'}$), 4.29 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.20 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.15 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.13-4.09 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.08-4.02 (m, 4H, $H_{8'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.19 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.83 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$), 1.92-1.86 (m, 2H, $H_{16'}$), 1.82-1.76 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.50-1.44 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.38-1.27 (m, 10H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.8 ($C_{22'}$), 166.2 (C_4), 164.8 ($C_{18'}$), 152.3 (C_2), 146.8 ($C_{6'}$), 142.5 (C_6), 139.7 ($C_{23'}$), 133.8 ($C_{20'}$), 133.4 ($C_{26'}$), 131.0 ($C_{21'}$), 130.8 ($C_{24'}$), 129.5 ($C_{25'}$), 125.1 ($C_{7'}$), 115.4 ($C_{19'}$), 110.4 ($C_{1''}$), 102.7 (C_5), 91.8 ($C_{1'}$), 86.2 ($C_{4'}$), 80.6 ($C_{4''}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.3 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{5'}$), 73.5 ($C_{3''}$), 71.2 ($C_{3'}$), 69.5 ($C_{8'}$), 51.7 ($C_{17'}$), 43.5 ($C_{5''}$), 31.4, 30.6, 30.5, 30.5, 30.3, 30.1, 27.6, 27.2 ($C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{39}H_{51}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 779.3616, found 779.3597.

Compound 139n.



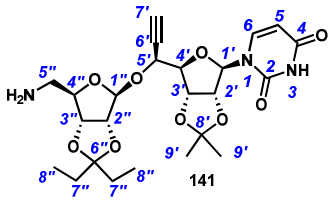
Tetrol **139n** was prepared according to the general procedure for ketals hydrolysis from amine **138n** (15 mg, 0.017 mmol). Recrystallization in DCM/MeOH 95/5 afforded **139n** as a white powder (15 mg, 99% yield): m.p. 129-131 °C; $[\alpha]_D$ + 12 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3384*br*, 2914*w*, 2067*w*, 1678*s*, 1459*m*, 1202*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 8.07 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.78 (d, 2H, $J_{16'-15'}$ = 9.0 Hz, $H_{16'}$), 7.76 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.76 (d, 2H, $J_{20'-21'}$ = 7.5 Hz, $H_{20'}$), 7.62 (t, 1H, $J_{H22'-H21'}$ = 7.5 Hz, $H_{22'}$), 7.51 (t, 2H, $J_{H21'-H20'}$ = $J_{H21'-H22'}$ = 7.5 Hz, $H_{21'}$), 7.49 (d, 2H, $J_{H11'-H10'}$ = 8.0 Hz, $H_{11'}$), 7.37 (d, 2H, $J_{H10'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{10'}$), 7.10 (d, 2H, $J_{H15'-16'}$ = 9.0 Hz, $H_{15'}$), 5.81 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.66 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.62 (s, 2H, $H_{8'}$), 5.24 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.20 (s, 2H, $H_{13'}$), 5.13 (d, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.28 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.19 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.5 Hz, $H_{2'}$), 4.15 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 6.0 Hz, $H_{3'}$), 4.12-4.09 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.06 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.0 Hz, $H_{2''}$), 4.05 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.0 Hz, $H_{3''}$), 3.18 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 11.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.81 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''a}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.8 ($C_{18'}$), 164.2 ($C_{14'}$, C_4), 152.3 (C_2), 148.0 ($C_{6'}$), 142.5 (C_6), 139.6 ($C_{19'}$), 138.9 ($C_{12'}$), 136.6 ($C_{9'}$), 133.8 ($C_{16'}$), 133.5 ($C_{22'}$), 131.6 ($C_{17'}$), 130.8 ($C_{20'}$), 129.6 ($C_{21'}$), 129.5 ($C_{10'}$), 129.4 ($C_{11'}$), 125.4 ($C_{7'}$), 115.9 ($C_{15'}$), 110.5 ($C_{1''}$), 102.8 (C_5), 91.9 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{4'}$), 80.6 ($C_{4''}$), 76.4 ($C_{3''}$), 75.2 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{2''}$), 73.4 ($C_{5'}$), 71.2 ($C_{3'}$), 70.8 ($C_{13'}$), 54.9 ($C_{8'}$), 43.5 ($C_{5''}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{37}H_{39}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 743.2677, found 743.2672.

1’’,5’’-Dideoxy-2’’,3’’-*O*-isopentylidene-5’’-azido-1’’-[2’,3’-*O*-isopropylidene-5’(*S*)-ethynyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 142.



The fluororibosyl derivative **51** (1.51 g, 6.17 mmol, 2 equiv) and propargyl alcohol **117b** (951 mg, 3.09 mmol, 1 equiv) were dried together by co-evaporation with toluene (3 × 10 mL) and dissolved in DCM (80 mL). The flask was flushed with argon and molecular sieves 4 Å was added (7 g) in one portion. The suspension was stirred at r.t. for 1h and then cooled to -78°C. Boron trifluoride diethyletherate (775 µL, 6.17 mmol, 2 equiv) was added at -78°C and the reaction medium was stirred at this temperature for 10 min and was then allowed to warm to r.t. for 16 h. The reaction mixture was filtered on a celite pad and the cake was washed with DCM (50 mL). The reaction was quenched by addition of a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ (50 mL) and the aqueous phase was extracted with DCM (5 × 60 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting white foam was purified by flash chromatography (Toluene/Acetone 85/15) to give azido alkyne **142** as a β/α mixture (β/α = 13/1) and as a white foam (1.23 g, 75% combined yield). The major diastereoisomer was isolated with 45% yield): R_f 0.30 (Toluene/Acetone 7/3); m.p. 136-140 °C; $[\alpha]_D$ - 32 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 3246*br*, 3070*w*, 2105*s*, 1693*s*, 1458*m,* 1090*s*; ^{1}H NMR δ 9.86 (br s, 1H, NH), 7.32 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 7.5 Hz, H_6), 5.71 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 7.5 Hz, H_5), 5.64 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.26 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.96 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 7.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.93 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 7.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.64 (dd, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 7.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H7'}$ = 2.5 Hz, $H_{5'}$), 4.60 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.59 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.47 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 10.0 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 4.5 Hz, $H_{4''}$), 4.34 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 6.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 2.5 Hz, $H_{4'}$), 3.96 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.90 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 4.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.60 (d, 1H, $J_{H7'\text{-}H5'}$ = 2.0 Hz, $H_{7'}$), 1.65-1.61 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.59 (s, 3H, $H_{9'}$), 1.52 (q, 2H, $J_{H7''\text{-}H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.39 (s, 3H, $H_{9'}$), 0.85 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 168.3 ($C_{9''}$), 162.9 (C_4), 150.1 (C_2), 142.1 (C_6), 134.3 ($C_{12''}$), 132.1 ($C_{10''}$), 123.6 ($C_{11''}$), 117.2 ($C_{6''}$), 114.7 ($C_{8'}$), 109.4 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 94.8 ($C_{1'}$), 88.6 ($C_{4'}$), 85.9 ($C_{2''}$), 84.9 ($C_{4''}$), 84.2 ($C_{2'}$), 82.6 ($C_{3''}$), 81.5 ($C_{3'}$), 79.7 ($C_{6'}$), 76.5 ($C_{7'}$), 68.6 ($C_{5'}$), 40.7 ($C_{5''}$), 29.6, 28.9 ($C_{7''}$), 27.2, 25.4 ($C_{9'}$), 8.4, 7.4 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{24}H_{32}N_5O_9^+$ $(M + H)^+$ 534.2195, found 534.2195.

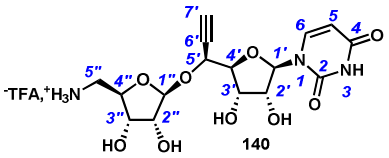
1’’,5’’-Dideoxy-2’’,3’’-*O*-isopentylidene-5’’-amino-1’’-[2’,3’-*O*-isopropylidene-5’(*S*)-ethynyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 141.



***Via* Staudinger reduction of azide 142**: To a solution of azide **142** (609 mg, 1.14 mmol, 1 equiv), in THF (12 mL) and water (2 mL), was added triphenylphosphine (598 mg, 2.28 mmol, 2 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 16 h and volatiles were removed *in vacuo*. Flash chromatography of the residue afforded **141** as a white foam (498 mg, 86% yield).

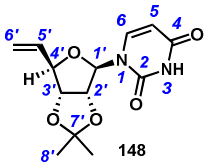
***Via* phtalimide cleavage**: **141** was prepared according to the general procedure for phthalimide cleavage from alkyne **126** (200 mg, 0.30 mmol, 1 equiv). Flash chromatography of the residue afforded **141** as a white foam (114 mg, 75% yield); m.p. 116-120°C; $[\alpha]_D$ - 15 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 2976*w*, 2938*w*, 1694*s*, 1455*m*, 1272*s*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.64 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 5.72 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.65 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, H_5), 5.17 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.08 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.89 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 4.69 (d, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 8.0 Hz, $H_{5'}$), 4.59 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.57 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.19 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 8.0 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 4.15 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 9.0 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 5.0 Hz, $H_{4''}$), 3.27 (sl, 1H, $H_{7'}$), 2.77 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.69 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''b}$), 1.60 (q, 2H, $J_{H7''\text{-}H8'''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.52 (q, 2H, $J_{H7''\text{-}H8'''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.50 (s, 3H, $H_{9'}$), 1.31 (s, 3H, $H_{9'}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.4 (C_4), 152.4 (C_2), 142.1 (C_6), 117.9 ($C_{6''}$), 115.3 ($C_{8'}$), 111.4 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 97.8 ($C_{1'}$), 91.4 ($C_{4'}$), 90.5 ($C_{2''}$), 87.3 ($C_{4''}$), 85.6 ($C_{2'}$), 83.8 ($C_{3''}$), 83.5 ($C_{3'}$), 80.2 ($C_{7'}$, $C_{6'}$), 70.1 ($C_{5'}$), 45.8 ($C_{5''}$), 30.5, 30.0 ($C_{7''}$), 27.5, 25.5 ($C_{9'}$), 8.8, 7.9 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{24}H_{34}N_3O_9^+$ $(M + H)^+$ 508.2290, found 508.2301.

Trifluoroacetate salt of 1'',5''-Dideoxy-5''-amino-1''-[5'(*S*)-ethynyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 140.



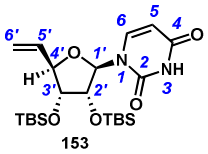
At 0 °C, to a suspension of protected amine (40 mg, 0.078 mmol, 1 equiv), in pure water (600 µL), was dropwise added trifluoroacetic acid (2.4 mL). The mixture was stirred at 0 °C for 10 min then at r.t. for 90 min. Trifluoroacetic acid was then removed *in vacuo* without heating. The residue was dissolved in water and lyophilised. The crude foam was recrystallized in dry Et_2O to furnish the corresponding deprotected compound **140** as a trifluoroacetate salt (white powder, 39.6 mg, 99% yield); m.p. 180-186°C; $[\alpha]_D$ + 15 (*c* 0.5, MeOH); IR (film) 3250*br*, 2925*w*, 2320*w*, 1678*s*, 1519*w*, 1467*w,* 1275*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.73 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.88 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 5.74 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.21 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.65 (dd, 1H, $J_{H5'-H4'}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'-H7'}$ = 2.0 Hz, $H_{5'}$), 4.28 (t, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 6.0 Hz, $H_{2'}$), 4.20 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 4.14-4.09 (m, 3H, $H_{2''}$, $H_{3''}$, $H_{4''}$), 3.99-3.96 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.31-3.28 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.17 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 4.0 Hz, $H_{5''b}$), 3.14 (d, 1H, $J_{H7'-H5'}$ = 2.0 Hz, $H_{7'}$).; ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.1 (C_4), 152.5 (C_2), 142.5 (C_6), 109.0 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 90.8 ($C_{1'}$), 87.1 ($C_{4''}$), 81.3 ($C_{6'}$), 80.5 ($C_{3''}$), 77.9 ($C_{7'}$), 76.0 ($C_{4'}$), 74.6 ($C_{2'}$), 74.3 ($C_{2''}$), 71.7 ($C_{3'}$), 69.2 ($C_{5'}$), 44.5 ($C_{5''}$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{16}H_{22}N_3O_9^+$ $(M + H)^+$ 400.1351, found 400.1351.

5'-Deoxy-2',3'-di-*O*-isopropylidene-5'-methylidenyl-uridine 148.



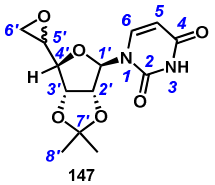
To a solution of alcohol **22** (3.0 g, 10.0 mmol, 1 equiv.), in acetonitrile (160 mL) was added IBX (10.0 g, 35.0 mmol, 3.35 equiv). The mixture was refluxed for 2h, cooled to r.t. and filtered on celite pad. The solid was washed with EtOAc and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude aldehyde (3.0 g, quantitative yield) was dried by co evaporation with toluene and used without further purification. At 0°C, under Ar, to a well stirred suspension of methyltriphenylphosphonium bromide (11.3 g, 32.0 mmol, 3 equiv), in THF (70 mL) was added freshly sublimated potassium tertiobutylate (3.6 g, 32.0 mmol, 3 equiv.). The flashing yellow suspension was stirred at 0°C for 10 min and then at r.t. for 1h. The crude aldehyde **122** was dissolved in THF (70 mL), transferred into a dropping funnel and slowly added to the solution of yllide at 0°C. The mixture was vigorously stirred at 0°C for 10 min and then at r.t. for 48h. The mixture was diluted in EtOAc (70 mL) and the reaction was quenched by addition of saturated aqueous solution of NH_4Cl (70 mL). The aqueous phase was extracted with EtOAc (6 × 70 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude foam (11 g) was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 1/1 to 3/7) and the alkene **148** was obtained as a white foam (2.06 g, 70% yield); R_f = 0.68 (Cyclohexane/EtOAc = 2/8); mp 76-80°C; $[\alpha]_D$ + 63 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3244*w*, 1702*s*, 1664*m* 1618*s*, 1119*m*; ^{1}H NMR δ 9.55 (br s, 1H, NH), 7.25 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.99 (ddd, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 17.0 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 10.5 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 6.0 Hz, $H_{5'}$), 5.74 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, J_{H5-NH} = 1.5 Hz, H_5), 5.67 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.37 (d, 1H, $J_{H6'a-H5'}$ = 17.0 Hz, $H_{6'a}$), 5.26 (d, 1H, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 5.02 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 6.5 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 2.0 Hz, $H_{2'}$), 4.77 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 4.53 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 4.5 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 6.0 Hz, $H_{4'}$), 1.59 (s, 3H, $H_{8'}$), 1.36 (s, 3H, $H_{8'}$); ^{13}C NMR δ 163.6 (C_4), 150.1 (C_2), 142.5 (C_6), 135.1 ($C_{5'}$), 118.7 ($C_{6'}$), 114.7 ($C_{7'}$), 102.7 (C_5), 94.5 ($C_{1'}$), 88.8 ($C_{4'}$), 84.8 ($C_{2'}$), 84.3 ($C_{3'}$), 27.3 ($C_{8'}$), 25.4 ($C_{8'}$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{13}H_{17}N_2O_5^+$ (M + H)$^+$ 281.1132 found 281.1132.

2',3'-Di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-5'-deoxy-5'-methylidenyl-uridine 153.



To a solution of alcohol **120** (13.19 g, 27.9 mmol, 1 equiv.), in acetonitrile (450 mL) was added IBX (23.4 g, 83.7 mmol, 3 equiv). The mixture was refluxed for 45 min, cooled to r.t. and filtered on a celite pad. The solid was washed with EtOAc and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude aldehyde **98b** (13.13 g, quantitative yield) was dried by co-evaporation with toluene and used without further purification (all spectral data were in agreement with literature). At 0 °C, under Ar, to a well stirred suspension of methyltriphenylphosphonium bromide (29.9 g, 83.7 mmol, 3 equiv), in THF (180 mL) was added freshly sublimated potassium *tert*-butoxide (9.4 g, 83.7 mmol, 3 equiv.). The bright yellow suspension was stirred at 0 °C for 10 min and then at r.t. for 1 h. The crude aldehyde **98b** was dissolved in THF (180 mL), transferred into a dropping funnel and slowly added to the solution of ylide at 0 °C. The mixture was vigorously stirred at 0 °C for 10 min and then at r.t. for 16 h. The mixture was diluted in DCM (300 mL) and the reaction was quenched by addition of saturated aqueous solution of NH_4Cl (100 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (4 × 200 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude foam (45 g) was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 7/3 to 1/1) and the alkene **153** was obtained as a white foam (7.93 g, 61% yield); R_f = 0.43 (Cyclohexane/EtOAc = 7/3); mp 210-212 °C; $[\alpha]_D$ + 79 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3628*w*, 2859*s*, 2356*m* 1695*s*, 1263*m*; ^{1}H NMR δ 9.92 (br s, 1H, NH), 7.42 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.92 (ddd, 1H, $J_{H5'\text{-}H6'a}$ = 17.0 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'b}$ = 10.0 Hz, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 7.5 Hz, $H_{5'}$), 5.76 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 1.5 Hz, H_5), 5.67 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.45 (d, 1H, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 17.0 Hz, $H_{6'a}$), 5.35 (d, 1H, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 10.0 Hz, $H_{6'b}$), 4.48 (t, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 7.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 7.5 Hz, $H_{4'}$), 4.21 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 2.5 Hz, $H_{2'}$), 3.78 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 7.5 Hz, $H_{3'}$), 0.91 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.89 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.15, 0.09, 0.06, 0.05 (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.9 (C_4), 150.3 (C_2), 139.8 (C_6), 134.9 ($C_{5'}$), 119.3 ($C_{6'}$), 102.2 (C_5), 91.8 ($C_{1'}$), 84.2 ($C_{4'}$), 75.5 ($C_{2'}$), 75.3 ($C_{3'}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.1, -4.4, -4.5, -4.7 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{22}H_{41}N_2O_5Si_2^+$ (M + H)$^+$ 469.2549, found 469.2557.

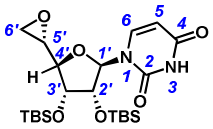
5'-Deoxy-5',6'-epoxy-2',3'-di-*O*-isopropylidene-uridine 147.



147

To a solution of alkene **148** (2.06g, 7.3 mmol, 1 equiv.) in DCM (100 mL), was added *m*-CPBA (77% stabilized, 3.7g, 22 mmol, 3 equiv.). The mixture was stirred at 30°C for 72h, cooled to r.t. and the reaction was quenched by addition of 10% aqueous solution of $Na_2S_2O_3$ (100 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (3 × 100 mL) and the combined organic layers were washed with 10% aqueous solution of $NaHCO_3$ (100 mL), and brine (100 mL), dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude white foam was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 1/1) to afford epoxides **147a** and **147b** (1.06 g, 49% yield, diastereoisomeric mixture 75/25 d.r.) as a white foam. R_f = 0.48 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); IR (film) 3214*w*, 2852*m*, 1701*s*, 1471*m*; ^{1}H NMR δ 9.64 (br s, 0.75H, NH*), 9.45 (br s, 0.25H, NH°), 7.40 (d, 0.75H, $J_{H6*-H5*}$ = 8.0 Hz, H_{6*}), 7.34 (d, 0.25H, $J_{H6°-H5°}$ = 8.0 Hz, $H_{6°}$), 5.85-5.82 (m, 075H, $H_{1'*}$), 5.82-5.79 (m, 0.25H, $H_{1'°}$), 5.77 (brd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 4.99 (dd, 0.75H, $J_{H2'*-H1'*}$ = 4.0 Hz, $J_{H2'*-H3'*}$ = 6.5 Hz, $H_{2'*}$), 4.95 (dd, 0.25H, $J_{H2'°-H1'°}$ = 2.0 Hz, $J_{H2'°-H3'°}$= 6.5 Hz, $H_{2'°}$), 4.91 (dd, 0.75H, $J_{H3'*-H2'*}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'*-H4'*}$= 2.5 Hz, $H_{3'*}$), 4.74 (dd, 0.25H, $J_{H3'°-H2'°}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'°-H4'°}$= 4.5 Hz, $H_{3'°}$), 4.21-4.18 (m, 0.25H, $H_{4'°}$), 4.12-4.06 (m, 0.75H, $H_{4'*}$), 3.35-3.31 (m, 1H, $H_{5'}$), 2.92-2.86 (m, 1H, $H_{6'a}$), 2.81-2.71 (m, 1H, $H_{6'b}$), 1.58 (s, 2.25H, $H_{8'*}$),1.56 (s, 0.75H, $H_{8'°}$), 1.37 (s, 2.25H, $H_{8'*}$), 1.35 (s, 0.75H, $H_{8'°}$); ^{13}C NMR δ 164.9 (C_{4*}), 164.7 ($C_{4°}$), 151.8 (C_{2*}), 151.7 ($C_{2°}$), 143.2 ($C_{6°}$), 143.1 (C_{6*}), 116.1 ($C_{7'}$), 104.4 (C_{5*}), 104.2 ($C_{5°}$), 94.9 ($C_{1'°}$), 94.8 ($C_{1'*}$), 87.8 ($C_{4'*}$), 87.4 ($C_{4'°}$), 86.1 ($C_{2'°}$), 85.7 ($C_{2'°}$), 83.2 ($C_{3'*}$), 80.9 ($C_{3'°}$), 53.5 ($C_{5'*}$), 53.5 ($C_{5'*}$), 52.1 ($C_{5'°}$), 46.5 ($C_{6'°}$), 45.5 ($C_{6'*}$), 28.6 ($C_{8'*}$), 28.5 ($C_{8'°}$), 26.8 ($C_{8'*}$), 26.7 ($C_{8'°}$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{13}H_{17}N_2O_6^+$ $(M + H)^+$ 297.1081 found 297.1087.

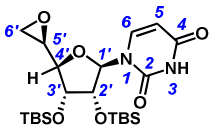
2',3'-Di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-5'-deoxy-5'(*S*),6'-epoxy-uridine 154a.



154a

To a solution of alkene **153** (6.73g, 14.36 mmol, 1 equiv.) in DCM (260 mL), was added *m*-CPBA (77% stabilized, 16.09 g, 71.8 mmol, 5 equiv.). The mixture was stirred at 30 °C for 16 h, cooled to r.t. and the reaction was quenched by addition of 10% aqueous solution of $Na_2S_2O_3$ (150 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (3 × 200 mL) and the combined organic layers were washed with 10% aqueous solution of $NaHCO_3$ (100 mL), and water (100 mL), dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude white foam revealed to be a 75/25 mixture of epoxides **154a/154b** as determined by ^{1}H NMR of the crude and was purified by flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 8/2 to 7/3) to afford the major diastereoisomer **154a** as a white foam (4.90 g, 70% yield). An analytical sample of the minor **154b** could also be isolated. Data for major isomer **154a**: R_f = 0.31 (Cyclohexane/EtOAc = 7/3); mp 186-190 °C; $[\alpha]_D$ + 39 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3216*w*, 2860*m*, 1696*s*, 1472*m*; ^{1}H NMR δ 8.99 (br s, 1H, NH), 7.78 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 5.85 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.76 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 1.5 Hz, H_5), 4.28 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 3.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 1.0 Hz, $H_{2'}$), 4.11-4.08 (m, 2H, $H_{3'}$, $H_{4'}$), 3.20-3.19 (m, 1H, $H_{5'}$), 2.93 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 5.0 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 2.5 Hz, $H_{6'a}$), 2.88 (t, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 5.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.94 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.90 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.14, 0.13, 0.10, 0.09, (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.4 (C_4), 150.5 (C_2), 139.9 (C_6), 102.7 (C_5), 88.9 ($C_{1'}$), 79.6 ($C_{4'}$), 75.6 ($C_{2'}$), 73.5 ($C_{3'}$), 51.5 ($C_{5'}$), 44.3 ($C_{6'}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.2, -4.5, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{22}H_{41}N_2O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 485.2498, found 485.2499.

Data for **154b**:

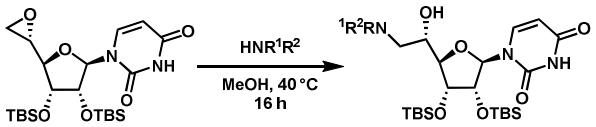


154b

white powder, R_f = 0.27 (Cyclohexane/EtOAc = 7/3); mp 177-180 °C; $[\alpha]_D$ - 46 (*c* 0.26, CH_2Cl_2); IR (film) 2857*br*, 1693*s*, 1462*m*, 1257*m*, 865*m*; ^{1}H NMR δ 8.42 (br s, 1H, NH), 7.43 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.82 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 5.5 Hz, $H_{1'}$), 5.78 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.0 Hz, H_5), 4.34 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 5.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.13 (t, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 3.87 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 3.27 (dt, 1H, $J_{H5'\text{-}H6'a}$ = 4.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'b}$ = $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{5'}$), 2.94 (t, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 4.5 Hz,

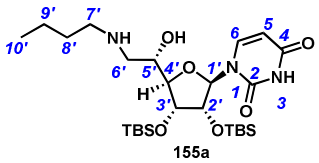
$H_{6'a}$), 2.73 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 4.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 3.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.92 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.89 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.11, 0.09, 0.07, 0.05, (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 162.8 (C_4), 150.2 (C_2), 140.8 (C_6), 102.8 (C_5), 90.1 ($C_{1'}$), 84.7 ($C_{4'}$), 74.9 ($C_{2'}$), 71.7 ($C_{3'}$), 51.4 ($C_{5'}$), 45.7 ($C_{6'}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.1, -4.5, -4.5, -4.8 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{22}H_{41}N_2O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 485.2498, found 485.2492.

General procedure for epoxide ring opening by amine:



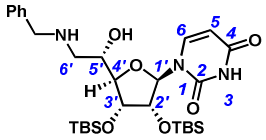
To a solution of epoxide (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.), in methanol (1 mL), was added appropriate amine (0.33 mmol, 2 equiv.). The resulting solution was heated at 40 °C for 16 h, concentrated *in vacuo* and purified by flash chromatography.

5'(*S*)-C-(*N*'-Butyl-*N*-methyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 155a.



Compound **155a** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening by amine from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and butylamine (32 µL, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography (DCM/MeOH/Et$_3$N = 95/5/0.3%) of the crude afforded **155a** as a white foam (63 mg, 69% yield): R_f = 0.15 (DCM/MeOH/Et$_3$N = 95/5/0.3%); mp 100-104 °C; $[\alpha]_D$ + 9 (*c* 0.25, CH_2Cl_2); IR (film) 3055*br*, 2957*s*, 1686*s*, 1463*m*; ^{1}H NMR δ 8.05 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 6.09-5.80 (br s, 3H, NH, OH), 5.74 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 4.5 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 4.26 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'-H3'}$ = 4.5 Hz, $H_{2'}$), 4.16 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 3.90-3.87 (m, 2H, $H_{5'}$, $H_{4'}$), 2.85 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 9.0 Hz, $H_{6'a}$), 2.80 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{6'b}$), 2.79-2.70 (m, 2H, $H_{7'}$), 1.56 (qt, 2H, $J_{H8'-H7'}$ = $J_{H8'-H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{8'}$), 1.34 (sext, 2H, $J_{H9'-H8'}$ = $J_{H9'-H10'}$ = 8.0 Hz, $H_{9'}$), 0.89 (t, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{10'}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.85 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.06, 0.04, (2s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 164.2 (C_4), 150.9 (C_2), 141.6 (C_6), 102.3 (C_5), 90.2 ($C_{1'}$), 85.6 ($C_{4'}$), 75.1 ($C_{2'}$), 72.4 ($C_{3'}$), 66.9 ($C_{5'}$), 51.6 ($C_{6'}$), 48.9 ($C_{7'}$), 30.9 ($C_{8'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 20.3 ($C_{9'}$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), 13.9 ($C_{10'}$), -4.2, -4.5, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{26}H_{52}N_3O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 558.3389, found 558.3389.

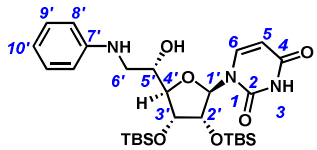
5'(*S*)-C-(*N'*-Benzyl-*N*-methyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 155b.



155b

Compound **155b** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening by amine from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and benzylamine (36 µL, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 1/1) of the crude afforded **155b** as a white foam (69 mg, 71% yield): R_f = 0.17 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 88-92 °C; $[\alpha]_D$ + 22 (*c* 0.25, CH_2Cl_2); IR (film) 3418*br*, 2929*w*, 1781*w*, 1686*s*, 1462*m*; ^{1}H NMR δ 8.03 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.32-5.21 (m, 5H, H_{ar}), 5.72 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.66 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 4.94-4.60 (br s, 2H, NH), 4.23 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = 4.0 Hz, $J_{H2'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.15 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 4.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 3.88-3.87 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.84 (d, 1H, $J_{H7'a-H7'b}$ = 13.0 Hz, $H_{7'a}$), 3.80 (d, 1H, $J_{H7'b-H7'a}$ = 13.0 Hz, $H_{7'b}$), 3.74-3.71 (m, 1H, $H_{5'}$), 2.85 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 9.0 Hz, $H_{6'a}$), 2.80 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.86 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.07, 0.06, 0.06, 0.05 (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.4 (C_4), 150.7 (C_2), 141.4 (C_6), 139.6 ($C_{8'}$), 128.7 (C_{Har}), 128.3 (C_{Har}), 127.4 (C_{Har}), 102.1 (C_5), 90.2 ($C_{1'}$), 85.2 ($C_{4'}$), 75.3 ($C_{2'}$), 72.1 ($C_{3'}$), 67.6 ($C_{5'}$), 53.5 ($C_{7'}$), 51.6 ($C_{6'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), -4.2, -4.5, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{29}H_{50}N_3O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 592.3233, found 592.3242.

5'(*S*)-C-(*N'*-Phenyl-*N*-methyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 155c.

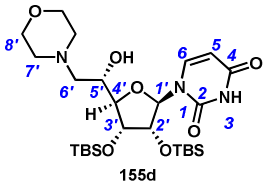


155c

Compound **155c** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening by amine from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and aniline (30 µL, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography (DCM/Et_2O = 9/1) of the crude afforded **155c** as a white foam (65 mg, 68% yield): R_f = 0.28 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 88-92 °C; $[\alpha]_D$ + 2 (*c* 0.4, CH_2Cl_2); IR (film) 3418*br*, 2929*w*, 1781*w*, 1686*s*, 1462*m*; ^{1}H NMR δ 9.24-9.08 (br s, 1H, NH), 7.72 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.17 (t, 2H, $J_{H9'-H8'}$ = $J_{H9'-H10'}$ = 8.0 Hz, $H_{9'}$), 6.77 (t, 1H, $J_{H10'-H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{10'}$), 6.70 (d, 1H, $J_{H8'-H9'}$ = 8.0 Hz, $H_{8'}$), 5.72 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.52 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 4.94-4.60 (br s, 2H, NH), 4.51 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = 5.0 Hz,

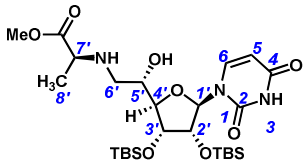
$J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.17 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 5.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.04-4.03 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.97-3.94 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.70-3.62 (br s, 1H, OH), 3.33 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 8.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.30 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.88 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.06, 0.05, 0.04, 0.02 (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.4 (C_4), 150.6 (C_2), 147.2 ($C_{7'}$), 142.9 (C_6), 129.7 ($C_{9'}$), 119.2 ($C_{10'}$), 127.4 ($C_{8'}$), 102.4 (C_5), 93.4 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{4'}$), 73.6 ($C_{2'}$), 72.8 ($C_{3'}$), 68.6 ($C_{5'}$), 48.3 ($C_{6'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.3, -4.5, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}$H$_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{28}H_{48}N_3O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 578.3076, found 578.3076.

5'(*S*)-C-(Morpholino-*N*-methyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 155d.



Compound **155d** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening by amine from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and morpholine (28 µL, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 1/1) of the crude afforded **155d** as a white foam (71 mg, 76% yield): R_f = 0.19 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 102-106 °C; $[\alpha]_D$ + 24 (*c* 0.4, CH_2Cl_2); IR (film) 3418*br*, 2930*m*, 1693*s*, 1462*m*; ^{1}H NMR δ 9.83-9.64 (br s, 1H, NH), 8.16 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.77 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.71 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 4.22 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = 4.0 Hz, $J_{H2'-H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.18 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 4.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 3.88-3.84 (m, 2H, $H_{4'}$, $H_{5'}$), 3.77-3.70 (m, 4H, $H_{8'}$), 2.73 (t, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = $J_{H6'a-H5'}$ = 12.0 Hz, $H_{6'a}$), 2.68-2.64 (m, 2H, $H_{7'a}$), 2.47-2.43 (m, 2H, $H_{7'b}$), 2.39 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 3.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.89 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.88 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.11, 0.09, 0.07 (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.9 (C_4), 150.6 (C_2), 141.2 (C_6), 101.2 (C_5), 89.9 ($C_{1'}$), 83.7 ($C_{4'}$), 75.5 ($C_{2'}$), 71.8 ($C_{3'}$), 67.0 ($C_{8'}$), 64.6 ($C_{5'}$), 61.0 ($C_{6'}$), 53.5 ($C_{7'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.2, -4.5, -4.7, -4.8 (-($\underline{C}$H$_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{26}H_{50}N_3O_7Si_2^+$ (M + H)$^+$ 572.3182, found 572.3189.

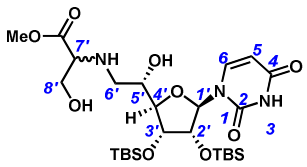
5'(*S*)-C-(Methyl-L-alaninate-*N*-methyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 156a.



156a

Compound **156a** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening by amine from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and L-alanine methyl ester (30 µL, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 4/6) of the crude afforded **156a** as a white foam (70 mg, 73%): R_f = 0.22 (Cyclohexane/EtOAc = 4/6); mp 82-88 °C; $[\alpha]_D$ + 15 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3418*br*, 2929*w*, 1781*w*, 1686*s*, 1462*m*; ^{1}H NMR δ 8.06 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.76 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.73 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 4.28 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.18 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 3.90-3.87 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.76-3.74 (br s, 1H, NH), 3.73 (s, 3H, -O-C$\underline{H}_3$), 3.44 (q, 1H, $J_{H7'\text{-}H8'}$ = 7.0 Hz, $H_{7'}$), 2.84 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 13.0 Hz $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 9.0 Hz, $H_{6'a}$), 2.74 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{6'b}$), 1.35 (d, 3H, $J_{H8'\text{-}H7'}$ = 7.0 Hz, $H_{8'}$), 0.90 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.89 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.09, 0.08, 0.07 (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 175.5 (-$\underline{C}$O-OCH$_3$), 163.6 (C_4), 150.6 (C_2), 141.5 (C_6), 102.2 (C_5), 90.2 ($C_{1'}$), 85.2 ($C_{4'}$), 75.2 ($C_{2'}$), 72.4 ($C_{3'}$), 67.7 ($C_{5'}$), 56.1 ($C_{7'}$), 52.2 (-CO-O$\underline{C}$H$_3$), 50.1 ($C_{6'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 19.3 ($C_{8'}$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.2, -4.5, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}$H$_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{26}H_{50}N_3O_8Si_2^+$ (M + H)$^+$ 588.3131, found 588.3138.

5'(*S*)-C-(Methyl-serinate-*N*-methyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 156b.

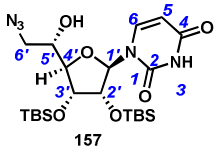


156b

Compound **156b** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening by amine from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and L-serine methyl ester (39 mg, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc = 4/6) of the crude afforded **156b** as a white foam (68 mg, 69% yield) as an unseparable 85/15 mixture of diastereoisomers at the α carbon atom (the major diastereoisomer is labelled by"*" and the minor one by"°" in NMR description): R_f = 0.21 (Cyclohexane/EtOAc = 4/6); IR (film) 3355*br*, 2953*m*, 2928*m*, 1686*s*, 1446*m*; ^{1}H NMR δ 8.11 (d, 0.15H, $J_{H6°\text{-}H5°}$ = 8.0 Hz, $H_{6°}$), 7.97 (d, 0.85H, $J_{H6*\text{-}H5*}$ = 8.0 Hz, H_{6*}), 5.74 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.71 (d, 0.15H, $J_{H1'°\text{-}H2'°}$ = 4.5 Hz, $H_{1'°}$),5.67 (d, 0.85H, $J_{H1'*\text{-}H2'*}$ = 4.5 Hz, $H_{1'*}$), 5.07-4.54 (br s, 2H, NH), 4.37 (t,

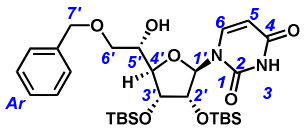
0.85H, $J_{H2'*-H1'*}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'*-H3'*}$ = 4.5 Hz, $H_{2'*}$), 4.27 (t, 0.15H, $J_{H2'\circ-H1'\circ}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'\circ-H3'\circ}$ = 4.5 Hz, $H_{2'\circ}$), 4.19 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 3.95-3.89 (m, 2H, $H_{4'}$, $H_{8'a}$), 3.84-3.82 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.80-3.78 (m, 1H, $H_{8'b}$), 3.77, 3,73 (2s, 3H, -O-C$\underline{H}_3$), 3.49 (t, 1H, $J_{H7'-H8'a}$ = $J_{H7'-H8'b}$ = 4.5 Hz, $H_{7'}$), 2.99 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 12.5 Hz $J_{H6'a-H5'}$ = 9.0 Hz, $H_{6'a}$), 2.80 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 12.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.90 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.88 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.08, 0.07, 0.06 (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 172.7 (-$\underline{C}$O-OCH$_3$), 163.9 (C_4), 150.8 (C_2), 142.2 (C_6), 102.2 (C_5), 91.3 ($C_{1'}$), 86.0 ($C_{4'}$), 75.2 ($C_{2'\circ}$), 74.6 ($C_{2'*}$), 72.5 ($C_{3'}$), 68.6 ($C_{5'\circ}$), 68.2 ($C_{5'*}$), 63.2 ($C_{8'\circ}$), 62.7 ($C_{8'*}$), 62.7 ($C_{7'}$), 52.6 (-CO-O$\underline{C}$H$_3$), 50.9 ($C_{6'}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), -4.2, -4.6, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}$H$_3$)$_2$)); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{26}H_{50}N_3O_9Si_2^+$ (M + H)$^+$ 604.3080, found 604.3075.

5'(*S*)-C-(Azidomethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 157.



To a solution of epoxide **154a** (1 g, 2.1 mmol, 1 equiv.) in DMF (25 mL) were successively added NaN_3 (520 mg, 8.4 mmol, 4 equiv.) and NH_4Cl (220 mg, 4.2 mmol, 2 equiv.). The resulting suspension was heated at 70 °C for 16 h, cooled to r.t. and diluted with Et_2O (30 mL) and brine (30 mL). The aqueous phase was extracted with Et_2O (3 × 40 mL) and the combined organic layers were washed with water (2 × 30 mL), dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 6/4) afforded azido alcohol **157** as a white foam (820 mg, 72% yield): R_f = 0.60 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 80-84 °C; $[\alpha]_D$ - 11 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2955*m*, 2932*m*, 2096*s*, 1686*s*, 1472*w*; ^{1}H NMR δ 9.83 (br s, 1H, NH), 7.71 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.75 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.45 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 4.53 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.18 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 5.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 4.04-4.01 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.93-3.90 (m, 1H, OH), 3.85-3.80 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.52 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 12.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 8.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.40 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 12.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.91 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.09, 0.08, 0.06, 0.04, (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.9 (C_4), 150.7 (C_2), 143.2 (C_6), 102.3 (C_5), 93.9 ($C_{1'}$), 85.5 ($C_{4'}$), 73.5 ($C_{2'}$), 72.6 ($C_{3'}$), 69.5 ($C_{5'}$), 54.1 ($C_{6'}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 18.1, 18.0 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.3, -4.6, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}$H$_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{22}H_{42}N_5O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 528.2668, found 528.2669.

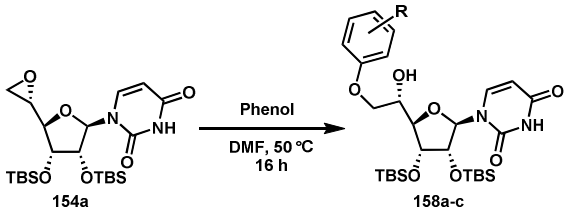
5'(*S*)-C-(Benzyloxymethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 158a.



158a

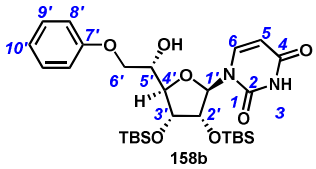
NaH (60% dispersion in mineral oil, 20 mg, 0.49 mmol, 3 equiv.) was added to a solution of benzylic alcohol (54 mg, 0.49 mmol, 3 equiv.) in THF (1 mL). At 0 °C, a solution of epoxide **4a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv) in THF (500 µL) was added dropwise. The suspension was heated at 60 °C for 16 h, cooled to r.t. and diluted in DCM (10 mL) and saturated NH_4Cl aqueous solution (10 mL). The aqueous layer was extracted with DCM (3 × 10 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 8/2 to 7/3) afforded **158a** as a white film (64 mg, 66% yield): R_f = 0.44 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); $[\alpha]_D$ + 23 (*c* 0.8, CH_2Cl_2); IR (film) 3384*br*, 2952*m*, 2929*m*, 1682*s*, 1471*m*; ^{1}H NMR δ 8.50 (br s, 1H, NH), 7.97 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 7.39-7.31 (m, 5H, H_{ar}), 5.70 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.5 Hz, H_5), 5.67 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.5 Hz, $H_{1'}$), 4.62 (d, 1H, $J_{H7'a\text{-}H7'b}$ = 12.0 Hz, $H_{7'a}$), 4.58 (d, 1H, $J_{H7'b\text{-}H7'a}$ = 12.0 Hz, $H_{7'b}$), 4.30 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $H_{2'}$), 4.18 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 4.01 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 3.99-3.96 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.63 (t, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 9.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 9.5 Hz, $H_{6'a}$), 3.60 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 9.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 4.5 Hz, $H_{6'b}$), 3.10-3.07 (m, 1H, OH), 0.91 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.90 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.09, 0.08, 0.08, (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 141.7 (C_6), 137.8 ($C_{8'}$), 128.7 ($C_{9'}$), 128.1 ($C_{11'}$), 127.4 ($C_{10'}$), 102.1 (C_5), 91.3 ($C_{1'}$), 83.9 ($C_{4'}$), 74.9 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{7'}$), 71.9 ($C_{3'}$), 71.9 ($C_{6'}$), 69.1 ($C_{5'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), -4.2, -4.5, -4.6, -4.7 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{29}H_{49}N_2O_7Si_2^+$ $(M + H)^+$ 593.3073, found 593.3076.

General procedure for epoxide ring opening by phenol derivatives:



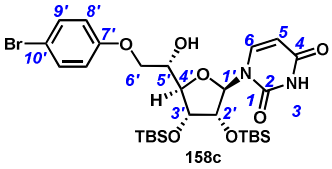
To a solution of epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and phenol derivative (2 equiv.) in dry DMF (1 mL) was added potassium carbonate (0.25 equiv.). The suspension was heated at 50 °C for 16 h, cooled to r.t. and diluted in DCM (10 mL) and brine (10 mL). The aqueous layer was extracted with DCM (3 × 10 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography.

5'(*S*)-C-(Phenyloxymethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 158b.



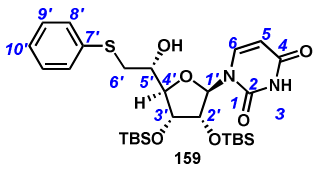
Compound **158b** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening with phenol derivatives from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and phenol (31 mg, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 8/2 to 7/3) afforded **158b** as a white film (59 mg, 62%): R_f = 0.60 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); $[\alpha]_D$ + 12 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2954*m*, 2927*m*, 1684*s*, 1462*m*; ^{1}H NMR δ 8.41 (br s, 1H, NH), 7.84 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 7.32-7.29 (m, 2H, $H_{9'}$), 7.00-6.97 (m, 1H, $H_{10'}$), 6.95-6.91 (m, 2H, $H_{8'}$), 5.72 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.5 Hz, H_5), 5.62 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 4.46 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $H_{2'}$), 4.26 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 4.18 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 4.17-4.12 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.12 (t, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 9.0 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 9.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.06 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 9.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 4.5 Hz, $H_{6'b}$), 3.39-3.29 (m, 1H, OH), 0.93 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.90 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.13, 0.12, 0.09, 0.08, (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 162.9 (C_4), 158.4 ($C_{7'}$), 150.4 (C_2), 142.3 (C_6), 129.7 ($C_{9'}$), 121.5 ($C_{10'}$), 114.7 ($C_{8'}$), 102.3 (C_5), 92.5 ($C_{1'}$), 84.5 ($C_{4'}$), 74.2 ($C_{2'}$), 72.3 ($C_{3'}$), 69.3 ($C_{6'}$), 69.1 ($C_{5'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.3, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.2, -4.5, -4.6 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS ESI$^-$ calcd for $C_{28}H_{45}N_2O_7Si_2^-$ (M - H)$^-$ 577.2771, found 577.2733.

5'(*S*)-C-(4-Bromo-phenyloxymethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 158c.



Compound **158c** was synthesized according to the general procedure for epoxide ring opening with phenol derivatives from epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and 4-bromo-phenol (57 mg, 0.33 mmol, 2 equiv.). Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 8/2 to 7/3) afforded **158c** as a white film (71 mg, 66% yield): R_f = 0.60 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); $[\alpha]_D$ + 13 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 3585*br*, 2952*m*, 2857*m*, 1682*s*, 1489*m*; ^{1}H NMR δ 8.49 (br s, 1H, NH), 7.76 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 7.40-7.37 (m, 2H, $H_{9'}$), 6.82-6.79 (m, 2H, $H_{8'}$), 5.72 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.5 Hz, H_5), 5.55 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 4.50 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 5.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.25 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.01 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 4.15-4.11 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.08 (t, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 9.0 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 9.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.60 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 9.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 3.48-3.42 (m, 1H, OH), 0.93 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.90 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.12, 0.09, 0.07, (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 162.9 (C_4), 157.5 ($C_{7'}$), 150.4 (C_2), 142.6 (C_6), 132.6 ($C_{9'}$), 116.5 ($C_{8'}$), 113.7 ($C_{10'}$), 102.3 (C_5), 93.2 ($C_{1'}$), 84.7 ($C_{4'}$), 73.9 ($C_{2'}$), 72.4 ($C_{3'}$), 69.5 ($C_{6'}$), 69.0 ($C_{5'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.2, -4.5, -4.6, -4.6 (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{28}H_{46}BrN_2O_7Si_2^+$ (M + H)$^+$ 657.2021, found 657.2024.

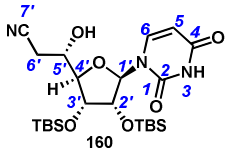
5'(*S*)-C-(Phenylthiomethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 159.



To a solution of epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) and thiophenol (84 µL, 0.83 mmol, 5 equiv.) in dry DMF was added sodium methoxide (23 mg, 0.41 mmol, 2.5 equiv.). The resulting suspension was heated at 100 °C for 16 h, cooled to r.t. and diluted in Et_2O (10 mL) and saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ (10 mL). The aqueous phase was extracted with Et_2O (3 × 10 mL) and the combined organic layers were washed with brine (10 mL) and water (10 mL), dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 6/4) afforded **159** as a white powder (71 mg, 73% yield): R_f = 0.76 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 190-192 °C; $[\alpha]_D$ - 13 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR

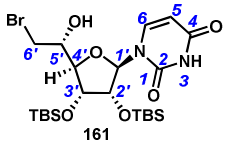
(film) 3201*br*, 2950*m*, 2885*m*, 1697*s*, 1464*m*; ^{1}H NMR δ 9.24 (br s, 1H, NH), 7.84 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 7.41-7.31 (m, 2H, $H_{8'}$), 7.32-7.29 (m, 2H, $H_{9'}$), 7.25-7.22 (m, 1H, $H_{10'}$), 5.73 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.0 Hz, H_5), 5.57 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.5 Hz, $H_{1'}$), 4.42 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $H_{2'}$), 4.14 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 4.09 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 3.72-3.69 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.59-3.53 (br s, 1H, OH), 3.16 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 7.5 Hz, $H_{6'a}$), 3.13 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 6.5 Hz, $H_{6'b}$), 0.88 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.84 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.06, 0.05, 0.04, 0.00 (4s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.5 (C_4), 150.5 (C_2), 142.5 (C_6), 134.2 ($C_{7'}$), 130.6 ($C_{8'}$), 129.3 ($C_{9'}$), 127.2 ($C_{10'}$), 102.2 (C_5), 92.7 ($C_{1'}$), 85.5 ($C_{4'}$), 74.2 ($C_{2'}$), 72.5 ($C_{3'}$), 67.9 ($C_{5'}$), 38.5 ($C_{6'}$), 25.9 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.3, -4.6, -4.6, -4.8 (-($\underline{C}$H$_3$)$_2$) HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{28}H_{47}N_2O_6SSi_2^+$ (M + H)$^+$ 595.2688, found 595.2696.

5'(*S*)-C-(Cyanomethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 160.



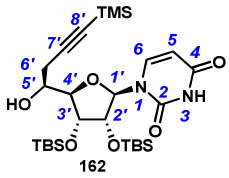
Warning: HCN gas. The reaction should be performed in a fumehood. To a solution of epoxide **154a** (80 mg, 0.165 mmol, 1 equiv.) in DMF (1 mL) were successively added KCN (88 mg, 1.32 mmol, 8 equiv.) and NH_4Cl (13.3 mg, 0.25 mmol, 1.5 equiv.). The resulting suspension was heated at 100 °C for 16 h, cooled to r.t. and diluted with Et_2O (10 mL) and water (10 mL). The aqueous phase was extracted with Et_2O (3 × 10 mL) and the combined organic layers were washed with brine (1 × 10 mL), dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 6/4) afforded **160** as a white foam (57 mg, 68% yield): R_f = 0.21 (Cyclohexane/EtOAc = 6/4); mp 118-120 °C; [α]$_D$ - 78 (*c* 0.8, CH_2Cl_2); IR (film) 2929*m*, 2857*m*, 1686*s*, 1431*w*; ^{1}H NMR δ 9.44 (br s, 1H, NH), 7.48 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.80 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.0 Hz, H_5), 5.36 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 7.0 Hz, $H_{1'}$), 4.70 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 7.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $H_{2'}$), 4.48-4.43 (m, 1H, OH), 4.20 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 2.5 Hz, $H_{3'}$), 4.09-4.03 (m, 2H, $H_{4'}$, $H_{5'}$), 2.71 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 17.0 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 7.5 Hz, $H_{6'a}$), 2.80 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 17.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 6.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.92 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.11, 0.06, -0.01, (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.3 (C_4), 150.7 (C_2), 144.2 (C_6), 117.5 ($C_{7'}$), 102.7 (C_5), 95.8 ($C_{1'}$), 87.3 ($C_{4'}$), 72.9 ($C_{2'}$), 72.3 ($C_{3'}$), 67.6 ($C_{5'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 23.1 ($C_{6'}$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), -4.3, -4.4, -4.5, -4.8 (-($\underline{C}$H$_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{23}H_{42}N_3O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 512.2607, found 512.2609.

5'(*S*)-C-(Bromomethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 161.



At -50 °C, under argon, to a suspension of epoxide **154a** (40 mg, 0.08 mmol, 1 equiv) and lithium bromide (12.9 mg, 0.15 mmol, 1.8 equiv) in THF (1 mL), boron trifluoride etherate was added (12 µL, 0.09 mmol, 1.1 equiv). The reaction mixture was stirred at -50 °C for 5 min and then at r.t. for 1 h. After addition of $NaHCO_3$ 10%, the aqueous phase was extracted with DCM (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 6/4) afforded **161** as a white powder (37 mg, 79% yield): R_f = 0.53 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 202-204 °C; $[\alpha]_D$ - 16 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3385*br*, 2953*m*, 1683*s*, 1472*m,* 1259*m*; ^{1}H NMR δ 9.59 (br s, 1H, NH), 7.62 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.76 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.46 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 4.58 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.28 (d, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 3.0 Hz, $H_{4'}$), 4.18 (dd, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 3.99-3.95 (m, 1H, OH), 3.94-3.90 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.50 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 11.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.46 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 11.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 2.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.92 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.1, 0.06, 0.03 (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.6 (C_4), 150.6 (C_2), 143.4 (C_6), 102.4 (C_5), 94.2 ($C_{1'}$), 85.4 ($C_{4'}$), 73.1 ($C_{2'}$), 73.0 ($C_{3'}$), 71.1 ($C_{5'}$), 34.0 ($C_{6'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), -4.3, -4.5, -4.5, -4.8, (-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{22}H_{42}BrN_2O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 565.1759, found 565.1761.

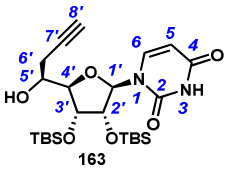
5'(*S*)-C-(Trimethylsilylacetylenylmethyl)-2',3'-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)uridine 162.



At -78 °C, to a solution of alkyne (2.29 g, 23.35 mmol, 4 equiv.) in dry THF (35 mL) was dropwise added *n*-BuLi (1.9 M in hexane, 12.3 mL, 23.35 mmol, 4 equiv.). The resulting solution was stirred at -78 °C for 1 h. At -78 °C were successively added dropwise a solution of epoxide **154a** (2.83 g, 5.84 mmol, 1 equiv.) in freshly distillated THF (35 mL) and $BF_3{\cdot}Et_2O$ (2.9 mL, 23.35 mmol, 4 equiv.). The resulting solution was allowed to warm from -78°C to -10°C and the mixture was diluted in DCM. Saturated aqueous solution of NH_4Cl was then added (20 mL) and the aqueous phase was extracted with DCM (3 × 40 mL). The combined organic phases were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash

chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc = 8/2 to 7/3) afforded **162** as a white powder (2.63 g, 77% yield): R_f = 0.60 (Cyclohexane/EtOAc = 1/1); mp 192-196 °C; $[\alpha]_D$ – 5 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2954*m*, 2501*w*, 2857*m*, 1690*s*, 1472*m*; ^{1}H NMR δ 8.79 (br s, 1H, NH), 7.59 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.74 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.0 Hz, H_5), 5.48 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 4.60 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.20-4.16 (m, 2H, $H_{3'}$, $H_{4'}$), 3.88-3.82 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.57-3.50 (m, 1H, OH), 2.60 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 17.0 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 7.0 Hz, $H_{6'a}$), 2.49 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 17.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 8.0 Hz, $H_{6'b}$), 0.93 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.88 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.16 (s, 9H, -Si-(C$\underline{H}_3$)$_3$) 0.11, 0.06, 0.00, (3s, 12H, -(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 143.5 (C_6), 102.7 ($C_{8'}$), 102.4 (C_5), 93.9 ($C_{1'}$), 87.6 ($C_{7'}$), 86.6 ($C_{4'}$), 73.3 ($C_{2'}$), 73.0 ($C_{3'}$), 69.9 ($C_{5'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 25.8 ($C_{6'}$), 18.2, 18.0 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 0.19 (-($\underline{C}H_3$)$_3$), -4.3, -4.4, -4.5, -4.8 (-($\underline{C}H_3$)$_2$) HRMS APCI$^+$ calcd for $C_{27}H_{51}N_2O_6Si_3^+$ $(M + H)^+$ 583.3049, found 583.3055.

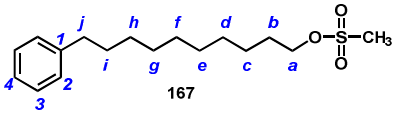
5′(*S*)-C-(Acetylenylmethyl)-2′,3′-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl) uridine 163.



To a solution of the previously described protected alkyne **162** (2.6 g, 4.46 mmol, 1 equiv) in methanol (52 mL), was added potassium carbonate (3.1 g, 22.3 mmol, 5 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 2.5 h and quenched by addition of saturated aqueous solution of NH_4Cl (30 mL). After removal of volatiles *in vacuo*, the aqueous phase was extracted with EtOAc (5 × 50 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4 filtered and concentrated *in vacuo.* Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4) of the residue afforded **163** as a white solid (2.1 g, 92% yield): R_f 0.30 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); mp 198-204°C; $[\alpha]_D$ – 11 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3474*br*, 2857m, 1693*s*, 1158*w*; ^{1}H NMR δ 8.54-8.38 (m, 1H, NH), 7.58 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 5.73 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.5 Hz, H_5), 5.46 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 4.59 (dd, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 6.0 Hz, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.18-4.16 (m, 2H, $H_{3'}$, $H_{4'}$), 3.88-3.85 (m, 1H, $H_{5'}$), 3.58-3.47 (br s, 1H, OH), 2.58 (ddd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 16.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 7.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H8'}$ = 2.5 Hz, $H_{6'a}$), 2.44 (ddd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 16.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 7.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H8'}$ = 2.5 Hz, $H_{6'b}$), 2.08 (t, 1H, $J_{H8'\text{-}H6'a}$ = $J_{H8'\text{-}H6'b}$ = 2.5 Hz, $H_{8'}$), 0.92 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.16 (s, 9H, -Si-(C$\underline{H}_3$)$_3$) 0.09, 0.06, 0.01 (3s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 162.8 (C_4), 150.4 (C_2), 143.4 (C_6), 102.4 (C_5), 94.1 ($C_{1'}$), 86.6 ($C_{4'}$), 80.6 ($C_{7'}$), 73.1, 73.1 ($C_{2'}$, $C_{3'}$), 71.0 ($C_{8'}$), 69.7 ($C_{5'}$), 26.0, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 24.5 ($C_{6'}$), 18.2, 18.1

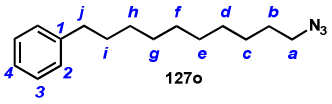
(-$\underline{C}(CH_3)_3$), -4.3, -4.4, -4.5, -4.8 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3)_2$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{24}H_{43}N_2O_6Si_2^+$ (M + H)$^+$ 511.2654, found 511.2650.

10-Phenyldecyl methanesulfonate 167.



To a solution of 10-phenyldecan-ol (625mg, 2.67 mmol, 1 equiv), in dichloromethane (2 mL) was added triethylamine (593 µL, 4.26 mmol, 1.6 equiv). At 0 °C, was then added dropwise methanesulfonyl chloride (310 µL, 4.0 mol, 1.5 equiv). The mixture was stirred at 0 °C for 30 min and then at r.t. for 2 h. The precipitate was filtered out and the filtrate was concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 8/2 to 6/4) afforded the mesylate **167** as a colorless oil (760 mg, 91% yield): R_f 0.52 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); IR (film) 2854*m* 1354*s*, 1110*s*, 972*m*, 952*m*, 831*w*; ^{1}H NMR δ 7.34-7.31 (m, 2H, H_3), 7.24-7.24 (m, 3H, H_2, H_4), 4.28 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_a), 3.05 (s, 3H, CH_3), 2.66 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.5 Hz, H_j), 1.82-1.77 (m, 2H, H_i), 1.69-1.64 (m, 2H, H_b), 1.47-1.42 (m, 2H, H_c), 1.39-1.30 (m, 10H, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 143.0 (C_1), 128.5 (C_3), 128.4 (C_2), 125.7 (C_4), 51.7 (C_a), 37.5 (CH_3), 36.1 (C_j), 31.6 (C_i), 26.6, 29.4, 29.3, 28.9, 26.9 (C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{17}H_{28}O_3SNa^+$ (M + Na)$^+$ 335.1651, found 335.1652.

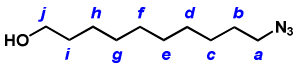
1-Azido-10-phenyl-decane 127o.



To a solution of mesylate **167** (220 mg, 0.70 mmol, 1 equiv), in DMF (1.5 mL) were successively added sodium azide (114 mg, 13.2 mmol, 2.5 equiv) and sodium iodide (53 mg, 0.35 mmol, 0.5 equiv). The mixture was stirred at 75 °C for 18 h, cooled to r.t., and diluted with Et_2O (20 mL) and water (20 mL). The aqueous phase was extracted with Et_2O (3 × 20 mL) and the combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the resulting pale yellow oil (Cyclohexane/EtOAc 95/5 to 9/1) afforded azide **127o** as a colorless oil (168 mg, 92% yield): R_f 0.72 (Cyclohexane/EtOAc 9/1); IR (film) 3026*w*, 2099*s*, 1603*w*, 746*m*; ^{1}H NMR δ 7.28-7.25 (m, 2H, H_3), 7.18-7.15 (m, 3H, H_2, H_4), 3.25 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.0 Hz, H_a), 2.59 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.5 Hz, H_j), 1.63-1.56 (m, 4H, H_b, H_i), 1.37-1.26 (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 143.0 (C_1), 128.5 (C_3), 128.4 (C_2), 125.7 (C_4), 70.3 (C_a), 37.5 (C_j), 36.1 (C_i), 31.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 25.5

(C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{16}H_{26}N^+$ $(M - N_2 + H)^+$ 232.2060 found 232.2056.

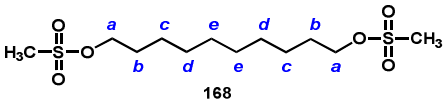
10-Azido-decan-1-ol 127p.



127p

To a solution of 1-bromo-decan-10-ol (633 mg, 2.40 mmol, 1 equiv) in DMF (7.6 mL), was added sodium azide (312 mg, 4.80 mmol, 2 equiv) and sodium iodide (180 mg, 1.20 mmol, 0.5 equiv). The suspension was stirred at 80 °C for 18 h, cooled to r.t. and diluted with ether (20 mL) and water (20 mL). The aqueous phase was extracted with Et_2O (3 × 20 mL) and the combined organic layer were washed with brine (2 × 20 mL) and water (20 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 6/4) afforded azide **127p** as a colorless oil (469 mg, 98%): R_f 0.37 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); IR (film) 3056*br*, 2092*m*, 1276*m*, 1251*m*, 741*s*; ^{1}H NMR δ 3.66-3.62 (m, 2H, H_j), 3.28-3.24 (m, 2H, H_a), 1.63-1.54 (m, 4H, H_b, H_i), 1.37-1.29 (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 63.2 (C_j), 51.6 (C_a), 32.9 (C_i), 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 28.9, 26.8, 25.8 (C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{10}H_{22}NO^+$ $(M - N_2 + H)^+$ 172.1696, found 172.1694.

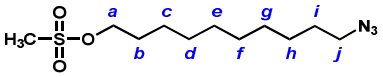
10-(Methanesulfonyloxy)-decan-1-ol methanesulfonate 168.



168

To a suspension of decan-1,10-diol (1g, 5.74 mmol, 1 equiv), in dichloromethane (5 mL) was added triethylamine (1,83 mL, 13.2 mmol, 2.3 equiv). At 0 °C, was then added dropwise methanesulfonyl chloride (1.02 mL, 13.2 mol, 2.3 equiv). The mixture was stirred at 0 °C for 30 min and then at r.t. for 2 h. The precipitate was filtered out and the filtrate was concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (DCM) afforded the dimesylate **168** as a white solid (1.8 g, 95% yield): R_f 0.52 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); IR (film) 1348*s*, 1172*s*, 944*m*, 767*m*; ^{1}H NMR δ 4.22 (t, 4H, $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 6.5 Hz, H_b), 3.02 (s, 6H, H_a), 1.75 (qt, 4H, $J_{Hc\text{-}Hd}$ = $J_{Hc\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_c), 1.43-1.37 (m, 4H, H_d), 1.35-1.28 (m, 8H, H_e); ^{13}C NMR δ 70.3 (C_b), 37.5 (C_a), 29.4 (C_c), 29.3, 29.0 (C_e), 25.5 (C_d); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{12}H_{27}O_6S_2^+$ $(M + H)^+$ 331.1244, found 331.1244.

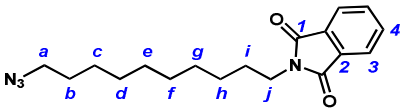
10-Azido-decan-1-ol methanesulfonate 169.



169

To a suspension of mesylate **168** (1 g, 3.03 mmol, 1 equiv), in acetonitrile (16 mL) was added sodium azide (197 mg, 3.03 mmol, 2.5 equiv). The mixture was refluxed for 18h and cooled to r.t. The precipitate was then filtered out and the filtrate was concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 8/2) afforded starting material **168** as a white solid (254 mg, 25%) and azido mesylate **169** as a colorless oil (354 mg, 42%, 56% yield based on recovered starting material): R_f 0.35 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); IR (film) 2096*s*, 1350*s*, 1169*m,* 955*m*; ^{1}H NMR δ 4.22 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_a), 3.26 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.0 Hz, H_j), 2.99 (s, 3H, CH_3), 1.77-1.72 (m, 2H, H_b), 1.62-1.56 (m, 2H, H_i), 1.42-1.27 (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ, 70.3 (C_a), 51.6 (C_j), 37.5 (CH_3), 29.4, 29.4, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 26.8, 25.5 (C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{11}H_{24}NO_3S^+$ (M –N_2 + H)$^+$ 250.1471, found 250.1469.

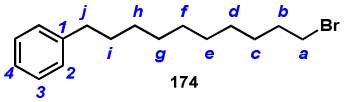
1-Azido-10-phthalimido-decane 127q.



127q

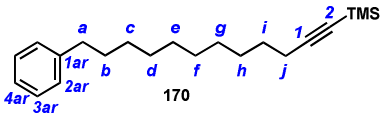
To a solution of azido mesylate **169** (200 mg, 0.72 mmol, 1 equiv) in DMF (2 mL), was added potassium phthalimide (400 mg, 2.16 mmol, 3 equiv). The suspension was stirred at 80 °C for 18 h, cooled to r.t. and diluted with ether (15 mL) and water (15 mL). The aqueous phase was extracted with Et_2O (3 × 15 mL) and the combined organic layers were washed with brine (2 × 20 mL) and water (20 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 8/2) afforded azide **127q** as a colorless oil (233 mg, 98%): R_f 0.49 (Cyclohexane/EtOAc 7/3); IR (film) 2094*w*, 1708*s*, 1345*m*, 719*m*; ^{1}H NMR δ 7.86-7.82 (m, 2H, H_3), 7.72-7.69 (m, 2H, H_4), 3.68 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.5 Hz, H_j), 3.25 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.0 Hz, H_a), 1.70-1.64 (m, 2H, H_i), 1.61-1.55 (m, 2H, H_b), 1.39-1.22 (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 168.6 (C_1), 133.9 (C_4), 132.4 (C_2), 123.3 (C_3), 51.6 (C_a), 38.2 (C_j), 29.5, 29.5, 29.2, 29.2, 28.9, 28.7, 26.9, 26.8 (C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i); HRMS APCI$^+$ Calcd for $C_{18}H_{25}N_2O_2^+$ (M - N_2 + H)$^+$ 301.1911, found 301.1911.

1-Bromo-10-phenyl-decane 174.



To a solution of mesylate **167** (150 mg, 0.48 mmol, 1 equiv), in acetone (3.0 mL) was added lithium bromide (84 mg, 0.96 mmol, 2.0 equiv). The mixture was refluxed for 2h, cooled to r.t., and concentrated *in vacuo*. The residue was filtered through a silica gel pad and washed with DCM (50 mL) to furnish **174** as a colorless oil (137 mg, 96% yield): R_f 0.62 (Cyclohexane/EtOAc 9/1); IR (film) 3026*w*, 2925*s*, 2853*m*, 1603*w*, 1453*m*, 699*s*; ^{1}H NMR δ 7.30-7.27 (m, 2H, H_3), 7.19-7.17 (m, 3H, H_2, H_4), 3.42 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.0 Hz, H_a), 2.62 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.5 Hz, H_j), 1.86 (qt, 2H, $J_{Hb\text{-}Ha}$ = $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 7.0 Hz, H_b), 1.66-1.58 (m, 2H, H_i), 1.46-1.40 (m, 2H, H_c), 1.36-1.28 (m, 10H H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 143.0 (C_1), 128.5 (C_3), 128.4 (C_2), 125.7 (C_4), 36.1 (C_j), 34.2 (C_a), 32.8 (C_b), 31.6 (C_i), 29.6, 29.6, 29.4, 28.9, 28.3 (C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h); HRMS APPI calcd for $C_{16}H_{25}Br^{\cdot+}$ $(M)^{\cdot+}$ 296.1140, found 296.1130.

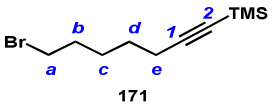
12-Phenyl-1-trimethylsilyl-dodec-1-yne 170.



A flame dried flask flushed with argon was cooled to -78°C and charged with a solution of ethynyltrimethylsilane (413 mg, 4.21 mmol, 2.5 equiv), in dry THF (10 mL). The mixture was stirred at -78°C for 5 min and *n*-BuLi was then added dropwise (2.5 M in hexane, 1.69 mL, 4.21 mmol, 2.5 equiv). The medium was stirred at -78 °C for 1 h and HMPA (731 µL, 4.21 mmol, 1 equiv) was then added. Finally, at -78 °C, to this resulting solution was added dropwise a solution of freshly purified 1-bromo-10-phenyl-decane **174** (500 mg, 1.68 mmol, 1 equiv) in THF (5 mL). The resulting orange solution was stirred at -78 °C and then at r.t. for 16 h, quenched with a saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL) and volatiles were removed *in vacuo*. The aqueous phase was extracted with DCM (3 × 20 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane) afforded alkyne **170** as a colorless oil (387 mg, 73% yield): R_f 0.24 (Cyclohexane); IR (film) 2928*m*, 2848*m*, 2167*w*, 1448*w*, 843*m*, 744*s*; ^{1}H NMR δ 7.28-7.24 (m, 2H, H_{3ar}), 7.16-7.14 (m, 3H, H_{2ar}, H_{4ar}), 2.58 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.5 Hz, H_a), 2.19 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.5 Hz, H_j), 1.62-1.56 (m, 2H, H_b), 1.49 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj}$ = $J_{Hi\text{-}Hh}$ = 7.5 Hz, H_i), 1.38-1.23 (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 143.1 (C_{1ar}), 128.5 (C_{3ar}), 128.4 (C_{2ar}), 125.7 (C_{4ar}), 107.9 (C_2), 84.4 (C_1), 36.1 (C_a), 31.7 (C_b), 29.6, 29.6, 29.5, 29.2, 28.9,

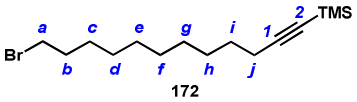
28.8, 25.5 (C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 20.0 (C_j); HRMS APPI Calcd for $C_{18}H_{26}^{\cdot+}$ (M - TMS)$^{\cdot+}$ 242.2035, found 242.2028.

7-Bromo-1-trimethylsilyl-hept-1-yne 171.



A flame dried flask flushed with argon was cooled to -78°C and charged with a solution of ethynyltrimethylsilane (178 mg, 1.81 mmol, 1 equiv), in dry THF (5 mL). The mixture was stirred at -78°C for 5 min and *n*-BuLi was then added dropwise (2.5 M in hexane, 724 µL, 1.81 mmol, 1 equiv). The media was stirred at -78°C for 1h and HMPA (315 µL, 1.81 mmol, 1 equiv) was then added. Finally, at -78°C, to this resulting solution was added dropwise a solution of 1,5-dibromopentane (500 mg, 2.17 mmol, 1.2 equiv) in THF (5 mL). The mixture was stirred at -78°C for 5 min and then at r.t. for 16h, quenched with a saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL) and volatiles were removed *in vacuo*. The aqueous phase was extracted with DCM (3 × 20 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo.* Flash chromatography of the residue (Cyclohexane) afforded **171** as a white fine powder (270 mg, 60% yield): R_f 0.22 (Cyclohexane); m.p. 72 °C; IR (film) 1556*m*, 1274*w*, 1262*w*, 829*m*, 749*s*; ^{1}H NMR δ 3.42 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_a), 2.27-2.23 (m, 2H, H_e), 1.93-1.86 (m, 2H, H_b), 1.57-1.54 (m, 4H, H_c, H_d), 0.16 (s, 9H, (-Si-($C\underline{H}_3$)$_3$); ^{13}C NMR δ 107.2 (C_2), 84.9 (C_1), 33.7 (C_a), 32.4 (C_b), 27.8 (C_d), 27.5 (C_c), 19.9 (C_e), 0.3 (-Si-($\underline{C}H_3$)$_3$); HRMS APPI Calcd for $C_7H_{11}Br^{\cdot+}$ (M - TMS)$^{\cdot+}$ 174.0044, found 174.0042.

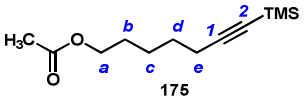
12-Bromo-1-trimethylsilyl-dodec-1-yne 172.



A flame dried flask flushed with argon was cooled to -78 °C and charged with a solution of ethynyltrimethylsilane (208 mg, 2.12 mmol, 1 equiv), in dry THF (3 mL). The mixture was stirred at -78 °C for 5 min and *n*-BuLi was then added dropwise (2.5 M in hexane, 847 µL, 2.12 mmol, 1 equiv). The medium was stirred at -78 °C for 1 h and HMPA (368 µL, 2.12 mmol, 1 equiv) was then added. Finally, at -78 °C, to this resulting pale yellow solution was added dropwise a solution of 1,10-dibromodecane (953 mg, 3.18 mmol, 1.5 equiv) in THF (3 mL). The mixture was stirred at -78 °C for 16 h, quenched with a saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL) and volatiles were removed *in vacuo*. The aqueous phase was extracted with DCM (3 × 20 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and

concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane) afforded **172** as a colorless oil (413 mg, 41% yield): R_f 0.19 (Cyclohexane); IR (film) 2174*w*, 1248*m*, 702s, 840*s*, 759*w*; ^{1}H NMR δ 3.42 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_a), 2.21 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.0 Hz, H_j), 1.87 (qt, 2H, $J_{Hb\text{-}Ha}$ = $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 7.0 Hz, H_b), 1.52 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj}$ = $J_{Hi\text{-}Hh}$ = 6.5 Hz, H_i), 1.46-1.40 (m, 2H, H_c), 1.40-1.38 (m, 2H, H_h), 1.34-1.28 (m, 8H, H_d, H_e, H_f, H_g), 0.16 (s, 9H, (-Si-(C$\underline{H}_3$)$_3$); ^{13}C NMR δ 107.9 (C_2), 84.5 (C_1), 34.2 (C_a), 32.9 (C_b), 29.5, 29.2, 28.9, 28.8, 28.3 (C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 20.0 (C_j), 0.4 (-Si-($\underline{C}H_3$)$_3$); HRMS APPI Calcd for $C_{12}H_{21}Br^{\cdot+}$ (M - TMS)$^{\cdot+}$ 244.0827, found 244.0822.

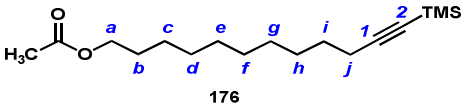
7-*O*-Acetyl-1-trimethylsilyl-hept-1-yne 175.



175

Potassium acetate (595 mg, 6.07 mmol, 15 equiv) was added to a solution of alkyne **171** (100 mg, 0.40 mmol, 1 equiv), in DMF (6 mL). The reaction mixture was stirred at 80 °C for 12 h, cooled to r.t. and quenched by addition of a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ (10 mL). The aqueous phase was extracted with ether (4 × 20 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 9/1) afforded **175** as a colorless oil (65 mg, 71% yield): R_f 0.10 (Cyclohexane/EtOAc 9/1); IR (film) 2956*w*, 2174*w*, 1742*s*, 1365*w*, 1248*s*, 1049*w*, 838*s*, 759*m*; ^{1}H NMR δ 4.05 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_a), 2.22 (t, 2H, $J_{He\text{-}Hd}$ = 7.0 Hz, H_e), 2.03 (s, 3H, -OCOC$\underline{H}_3$), 1.64 (qt, 2H, $J_{Hb\text{-}Ha}$ = $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 6.5 Hz, H_b), 1.57-1.49 (m, 2H, H_d), 1.48-1.42 (m, 2H, H_c), 0.13 (s, 9H, (-Si-(C$\underline{H}_3$)$_3$); ^{13}C NMR δ 171.2 (-O$\underline{C}$OCH$_3$), 107.2 (C_2), 84.8 (C_1), 64.5 (C_a), 28.3 (C_b), 28.2 (C_d), 25.2 (C_c), 21.1 (-OCO$\underline{C}$H$_3$), 19.8 (C_e), 0.3 (-Si-($\underline{C}H_3$)$_3$; HRMS APCI$^+$ Calcd for $C_{12}H_{22}NaO_2Si^+$ (M + Na)$^+$ 249.1281, found 249.1283.

12-*O*-Acetyl-1-trimethylsilyl-dodec-1-yne 176.

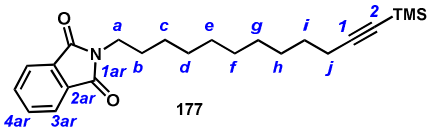


176

Potassium acetate (360 mg, 3.64 mmol, 15 equiv) was added to a solution of alkyne **172** (77 mg, 0.24 mmol, 1 equiv), in DMF (1 mL). The reaction mixture was stirred at 80 °C for 12 h, cooled to r.t. and quenched by addition of saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ (10 mL). The aqueous phase was extracted with ether (4 × 15 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 98/2) afforded **176** as a colorless oil (45 mg, 63% yield): R_f 0.37

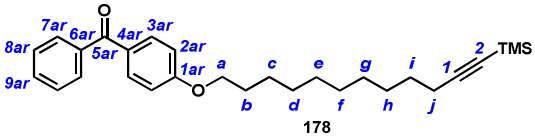
(Cyclohexane/EtOAc 98/2); IR (film) 2929*w*, 1742*m*, 1247*m*, 1236*m*, 838*s*; ^{1}H NMR δ 4.06 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.0 Hz, H_a), 2.21 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.0 Hz, H_j), 2.04 (s, 3H, -OCOC$\underline{H}_3$), 1.62 (qt, 2H, $J_{Hb\text{-}Ha} = J_{Hb\text{-}Hc}$ = 7.0 Hz, H_b), 1.52 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj} = J_{Hi\text{-}Hh}$ = 7.0 Hz, H_i), 1.39-1.26 (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h), 0.15 (s, 9H, (-Si-(C$\underline{H}_3$)$_3$); ^{13}C NMR δ 171.4 (-O$\underline{C}$OCH$_3$), 107.9 (C_2), 84.4 (C_1), 64.8 (C_a) 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 28.9, 28.8, 26.1 (C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 21.2 (-OCO$\underline{C}$H$_3$), 19.9 (C_j), 0.3 (-Si-($\underline{C}$H$_3$)$_3$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{17}H_{33}O_2Si^+$ (M + H)$^+$ 297.2244, found 297.2248.

12-*N*-Phtalimido-1-trimethylsilyl-dodec-1-yne 177.



To a solution of bromo alkyne **172** (111 mg, 0.35 mmol, 1 equiv) in DMF (3.5 mL), was added phtalimide potassium salt (194 mg, 1.05 mmol, 3 equiv). The mixture was stirred at 80 °C for 16 h, cooled to r.t., quenched with a saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL) and extracted with DCM (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 95/5) afforded **177** as a colorless oil (115 mg, 86% yield) Additionnaly, partial deprotection of the TMS group was observed, thus terminal alkyne **166f** was also isolated in 3% yield. Data for **177**: R_f 0.36 (Cyclohexane/EtOAc 95/5); IR (film) 1713*s*, 1395*m*, 1247*w*, 842*s*; ^{1}H NMR δ 7.85-7.84 (m, 2H, H_{3ar}), 7.72-7.70 (m, 2H, H_{4ar}), 3.69 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.5 Hz, H_a), 2.21 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.0 Hz, H_j), 1.70-1.65 (m, 2H, H_b), 1.52 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj} = J_{Hi\text{-}Hh}$ = 7.0 Hz, H_i), 1.39-1.25, (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h), 0.15 (s, 9H, (-Si-(C$\underline{H}_3$)$_3$); ^{13}C NMR δ 168.6 (C_{1ar}), 133.9 (C_{4ar}), 132.4 (C_{2ar}), 123.3 (C_{3ar}), 107.9 (C_2), 84.4 (C_1), 38.2 (C_a), 29.6, 29.3, 29.2, 28.9, 28.8, 28.8, 27.0 (C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 20.0 (C_j), 0.3 (-Si-($\underline{C}$H$_3$)$_3$); HRMS, APCI$^+$ Calcd for $C_{20}H_{26}NO_2^+$ (M – TMS + H)$^+$ 312.1958, found 312.1963.

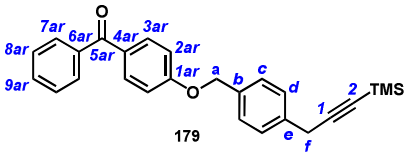
12-*O*-*p*-Benzophenonyl-1-trimethylsilyl-dodec-1-yne 178.



To a solution of bromo alkyne **172** (96 mg, 0.30 mmol, 2.4 equiv) in DMF (1 mL), was added 4-hydroxy-benzophenone (25 mg, 0.12 mmol, 1 equiv) and potassium carbonate (87 mg, 0.63 mmol, 5 equiv). The mixture was stirred at r.t. for 16 h, quenched with a saturated aqueous

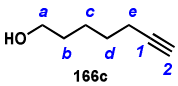
solution of NH_4Cl (10 mL) and extracted with DCM (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/DCM 6/4) afforded **178** as a colorless oil (49 mg, 90% yield): R_f 0.22 (Cyclohexane/DCM 6/4); IR (film) 2174*w*, 1654*w*, 1600*w*, 1250*s*, 852*s*; ^{1}H NMR δ 7.83-7.81 (m, 2H, H_{7ar}), 7.77-7.75 (m, 2H, H_{3ar}), 7.58-7.55 (m, 1H, H_{9ar}), 7.49-7.46 (m, 2H, H_{8ar}), 6.96-6.94 (m, 2H, H_{2ar}), 4.04 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.0 Hz, H_a), 2.21 (t, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.5 Hz, H_j), 1.82 (qt, 2H, $J_{Hb\text{-}Ha}$ = $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 7.0 Hz, H_b), 1.52 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj}$ = $J_{Hi\text{-}Hh}$ = 7.0 Hz, H_i), 1.49-1.45 (m, 2H, H_c), 1.35-1.26 (m, 10H, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h), 0.16 (s, 9H, (-Si-(C$\underline{H}_3$)$_3$); ^{13}C NMR δ 195.6 (C_{5ar}), 163.0 (C_{1ar}), 138.5 (C_{6ar}), 132.7 (C_{3ar}), 131.9 (C_{9ar}), 130.0 (C_{4ar}), 129.8 (C_{7ar}), 128.3 (C_{8ar}), 114.1 (C_{2ar}), 107.8 (C_2), 84.4 (C_1), 68.4 (C_a), 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 28.9, 28.7 (C_b, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 26.1 (C_c), 19.9 (C_j), 0.3 (-Si-($\underline{C}H_3$)$_3$); HRMS ESI Calcd for $C_{28}H_{39}O_2S_i^+$ $(M + H)^+$ 435.2714, found 435.2727.

1-trimethylsilyl-3-[4-*O*-(benzophenonyl)-benzyl]-prop-1-yne 179.



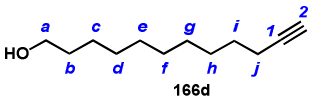
Compound **179** was synthetised according to the known following procedure: To a suspension of the previously described bromide derivative **137** (100 mg, 0.26 mmol, 1 equiv), copper iodide (50 mg, 0.26 mmol, 1equiv), TBAI (96 mg, 0.26 mmol, 1 equiv), and potassium carbonate (72 mg, 0.52 mmol, 2 equiv) in dry acetonitrile (1.5 mL) was added trimethylsilylacetylene (45 µL, 0.31 mmol, 1.2 equiv). The mixture was stirred at 40 °C for 24 h, quenched with a saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL) and extracted with DCM (4 × 20 mL). The combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/DCM 7/3 to 4/6) afforded **179** as a colorless film (60 mg, 57% yield): R_f 0.39 (Cyclohexane/DCM 1/1); IR (film) 2130*m*, 1632*s*, 1600*w*, 1250*s*, 855*s*; ^{1}H NMR δ 7.85-7.83 (m, 2H, H_{3ar}), 7.77-7.75 (m, 2H, H_{7ar}), 7.59-7.55 (m, 1H, H_{9ar}), 7.49-7.46 (m, 2H, H_{8ar}), 7.42-7.38 (m, 4H, H_c, H_d), 7.06-7.03 (m, 2H, H_{2ar}), 5.14 (s, 2H, H_a), 3.68 (s, 2H, H_f), 0.21 (s, 9H, (-Si-($\underline{C}H_3$)$_3$); ^{13}C NMR δ 195.6 (C_{5ar}), 162.5 (C_{1ar}), 138.4 (C_e), 136.7 (C_{6ar}), 134.7 (C_b), 132.7 (C_{3ar}), 132.0 (C_{9ar}), 130.5 (C_{4ar}), 129.9 (C_{7ar}), 128.4 (C_{8ar}), 128.3, 127.9 (C_c, C_d), 114.5 (C_{2ar}), 104.1 (C_2), 87.3 (C_1), 70.1 (C_a), 26.1 (C_f), 0.2 (-Si-($\underline{C}H_3$)$_3$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{26}H_{27}O_2S_i^+$ $(M + H)^+$ 399.1775, found 399.1768.

Heptyn-1-ol 166c.



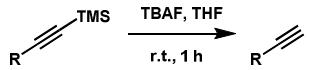
To a suspension of ester **175** (71 mg, 0.31 mmol, 1 equiv) in MeOH (2 mL) and water (0.2 mL) was added potassium carbonate (216 mg, 1.57 mmol, 5 equiv). The reaction mixture was stirred at r.t. for 5 h and then quenched by addition of saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL). The aqueous phase was extracted with EtOAc (4 × 15 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 8/2) afforded **166c** as a white solid (29 mg, 82% yield): R_f 0.21 (Cyclohexane/EtOAc 8/2); IR (film) 3061*br*, 2919*w*, 1278*m*, 1252*m*, 743*s*; ^{1}H NMR δ 3.66 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_a), 2.21 (dt, 2H, $J_{He\text{-}Hd}$ = 7.0 Hz, $J_{He\text{-}H2}$ = 2.5 Hz, H_e), 1.94 (t, 1H, $J_{H2\text{-}He}$ = 2.5 Hz, H_2), 1.62-1.54 (m, 4H, H_b, H_d), 1.52-1.47 (m, 2H, H_c); ^{13}C NMR δ 84.6 (C_2), 68.5 (C_1), 62.9 (C_a), 32.4 (C_b), 28.4 (C_d), 25.1 (C_c), 18.5 (C_e); HRMS, APCI$^+$ Calcd for $C_7H_{13}O^+$ $(M + H)^+$ 113.0966, found 113.0961.

Dodec-11-yn-1-ol 166d.



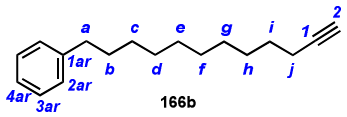
To a suspension of ester **176** (36 mg, 0.12 mmol, 1 equiv) in MeOH (1 mL) and water (0.1 mL) was added potassium carbonate (84 mg, 0.61 mmol, 5 equiv). The reaction mixture was stirred at r.t. for 5 h and then quenched by addition of saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL). The aqueous phase was extracted with EtOAc (4 × 15 mL) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 9/1) afforded **166d** as a white solid (20 mg, 90% yield): R_f 0.12 (Cyclohexane/EtOAc 9/1); m.p 26-28°C; IR (film) 3065*br*, 2923*w*, 1275*m*, 1256*m*, 744*s*; ^{1}H NMR δ 3.49 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.0 Hz, H_a), 2.03 (dt, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.0 Hz, $J_{Hj\text{-}H2}$ = 2.5 Hz, H_j), 1.79 (t, 1H, $J_{H2\text{-}Hj}$ = 2.5 Hz, H_2), 1.45-1.35 (m, 4H, H_b, H_i), 1.28-1.11 (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 84.9 (C_2), 68.2 (C_1), 63.2 (C_a), 32.9 (C_b), 29.7, 29.6, 29.2, 28.9, 28.6, 25.8 (C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 18.5 (C_j); HRMS, APCI$^+$ Calcd for $C_{12}H_{23}O^+$ $(M + H)^+$ 183.1743, found 183.1746.

General procedure for TMS deprotection, preparation of compounds 166b,f, g



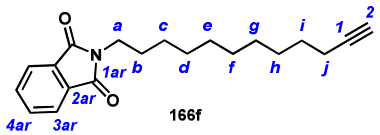
To a solution of the title alkyne (1 equiv) in THF (0.1 M), was added in one portion tetrabutyl ammonium fluoride trihydrate (1.1 to 1.6 equiv). The solution was stirred at r.t. for 1 h and volatiles were removed *in vacuo*. Flash chromatography of the residue afforded the corresponding terminal alkyne.

12-Phenyl-dodec-1-yne 166b.



Alkyne **166b** was obtained from protected alkyne **170** (327 mg, 1.04 mmol, 1 equiv) according to the general procedure for terminal alkyne synthesis. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane) afforded **166b** as a colorless oil (223 mg, 89% yield): R_f 0.22 (Cyclohexane); IR (film) 3075*m*, 2140*m*, 1602*m*, 1452*m*, 1290*m*, 1253*s*, 1175*w*; ^{1}H NMR δ 7.30-7.26 (m, 2H, H_{3ar}), 7.20-7.17 (m, 3H, H_{2ar}, H_{4ar}), 2.62 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.5 Hz, H_a), 2.19 (dt, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.5 Hz, $J_{Hj\text{-}H2}$ = 3.0 Hz, H_j), 1.95 (t, 1H, $J_{H2\text{-}Hj}$ = 3.0 Hz, H_2), 1.66-1.60 (m, 2H, H_b), 1.55 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj}$ = $J_{Hi\text{-}Hh}$ = 7.5 Hz, H_i), 1.43-1.38 (m, 2H, H_c), 1.38-1.26 (m, 10H, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 143.1 (C_{1ar}), 128.5 (C_{3ar}), 128.4 (C_{2ar}), 125.7 (C_{4ar}), 84.9 (C_1), 68.2 (C_2) 36.1 (C_a), 31.6 (C_b), 29.6, 29.5, 29.5, 29.5, 29.2, 28.9, 28.7 (C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 18.6 (C_j); HRMS APPI Calcd for $C_{18}H_{26}^{\cdot+}$ (M)$^{\cdot+}$ 242.2035, found 242.2030.

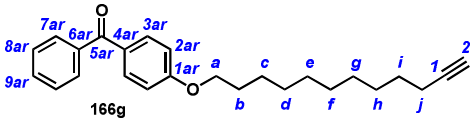
12-*N*-Phtalimido-dodec-1-yne 166f.



Alkyne **166f** was obtained from protected alkyne **177** (114 mg, 0.29 mmol, 1 equiv) according to the general procedure for terminal alkyne synthesis. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 95/5) afforded **166f** as a white film (51 mg, 55% yield): R_f 0.28 (Cyclohexane/EtOAc 95/5); IR (film) 2937*s*, 2100*m*, 1767*w*, 1710*s*, 1394*m*; ^{1}H NMR δ 7.85-7.82 (m, 2H, H_{3ar}), 7.72-7.68 (m, 2H, H_{4ar}), 3.67 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 7.5 Hz, H_a), 2.17 (dt, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.0 Hz, $J_{Hj\text{-}H2}$ = 2.5 Hz, H_j), 1.93 (t, 2H, $J_{H2\text{-}Hj}$ = 2.5 Hz, H_2), 1.69-1.64 (m, 2H, H_b), 1.51 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj}$ = $J_{Hi\text{-}Hh}$ = 7.0 Hz, H_i), 1.40-1.26, (m, 12H, H_c, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 168.6 (C_{1ar}), 133.9 (C_{4ar}), 132.3 (C_{2ar}), 123.3 (C_{3ar}), 107.9 (C_2), 84.4 (C_1), 68.2 (C_2), 38.2 (C_a),

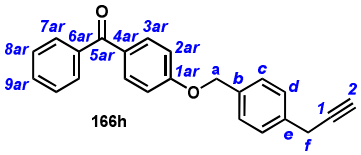
29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 28.8, 28.7, 28.6, 26.9 (C_b, C_c, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 18.5 (C_j); HRMS, ESI^+ Calcd for $C_{20}H_{26}NO_2^+$ $(M + H)^+$ 312.1958, found 312.1961.

12-*O*-*p*-Benzophenonyl-dodec-1-yne 166g.



Alkyne **166g** was obtained from protected alkyne **178** (54 mg, 0.12 mmol, 1 equiv) according to the general procedure for terminal alkyne synthesis. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 9/1) afforded **166g** as a white solid (44 mg, 97% yield): R_f 0.51 (Cyclohexane/EtOAc 9/1); IR (film) 2919*w*, 1639*s*, 1602*m*, 1307*s*, 1290*m*, 1253*s*, 1175*w*; ^1H NMR δ 7.84-7.81 (m, 2H, H_{3ar}), 7.77-7.75 (m, 2H, H_{7ar}), 7.59-7.55 (m, 1H, H_{9ar}), 7.49-7.46 (m, 2H, H_{8ar}), 6.96-6.94 (m, 2H, H_{2ar}), 4.04 (t, 2H, $J_{Ha\text{-}Hb}$ = 6.5 Hz, H_a), 2.19 (dt, 2H, $J_{Hj\text{-}Hi}$ = 7.0 Hz, $J_{Hj\text{-}H2}$ = 2.5 Hz, H_j), 1.82 (qt, 2H, $J_{Hb\text{-}Ha}$ = $J_{Hb\text{-}Hc}$ = 6.5 Hz, H_b), 1.54 (qt, 2H, $J_{Hi\text{-}Hj}$ = $J_{Hi\text{-}Hh}$ = 7.0 Hz, H_i), 1.49-1.45 (m, 2H, H_c), 1.42-1.30 (m, 10H, H_d, H_e, H_f, H_g, H_h); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_{5ar}), 163.0 (C_{1ar}), 138.5 (C_{6ar}), 132.7 (C_{3ar}), 131.9 (C_{9ar}), 130.1 (C_{4ar}), 129.8 (C_{7ar}), 128.3 (C_{8ar}), 114.2 (C_{2ar}), 84.9 (C_1), 68.4 (C_a), 68.2 (C_2), 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 28.8, 28.6 (C_b, C_d, C_e, C_f, C_g, C_h, C_i), 26.1 (C_c), 18.5 (C_j); HRMS, ESI^+ Calcd for $C_{25}H_{31}O_2^+$ $(M + H)^+$ 363.2319, found 363.2313.

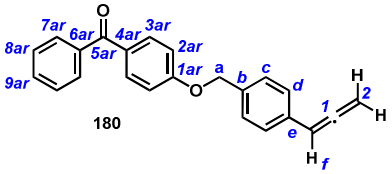
3-[4-*O*-(Benzophenonyl)-benzyl]-prop-1-yne 166h.



To a suspension of protected alkyne **179** (100 mg, 0.25 mmol, 1 equiv) in methanol (3 mL), was added potassium carbonate in one portion (173 mg, 1.25 mmol, 5 equiv). The suspension was stirred at r.t. for 5h and the suspension was then dilluted with EtOAc (15 mL). After addition of saturated aqueous solution of NH_4Cl (10 mL), the aqueous phase was extracted with EtOAc (3 × 25 mL). The combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane to Cyclohexane/EtOAc 95/5) afforded **166h** as a white film (66 mg, 81% yield): R_f 0.42 (Cyclohexane/EtOAc 9/1); IR (film) 2325*w*, 1645*s*, 1602*s*, 1281*s*, 1173*m*; ^1H NMR δ 7.77-7.74 (m, 2H, H_{3ar}), 7.70-7.66 (m, 2H, H_{7ar}), 7.49 (t, 1H, $J_{H9ar\text{-}H8ar}$ = 7.0 Hz, H_{9ar}), 7.39 (t, 2H, $J_{H8ar\text{-}H9ar}$ = 7.0 Hz, H_{8ar}), 7.34-7.31 (m, 4H, H_c, H_d), 6.97-6.94 (m, 2H, H_{2ar}), 5.06 (s, 1H, H_a),

3.55 (d, 2H, $J_{Hf\text{-}H2}$ = 3.0 Hz, H_f), 2.13 (t, 2H, $J_{H2\text{-}Hf}$ = 3.0 Hz, H_f); ^{13}C NMR δ 195.7 (C_{5ar}), 162.5 (C_{1ar}), 138.4 (C_e), 136.4 (C_{6ar}), 134.9 (C_b), 132.7 (C_{3ar}), 132.0 (C_{9ar}), 130.5 (C_{4ar}), 129.9 (C_{7ar}), 128.4 (C_{8ar}), 128.3, 127.9 (C_c, C_d), 114.6 (C_{2ar}), 81.8 (C_2), 70.7 (C_a), 70.1 (C_1), 24.7 (C_f); HRMS, ESI^+ Calcd for $C_{23}H_{19}O_2^+$ $(M + H)^+$ 327.1380, found 327.1374.

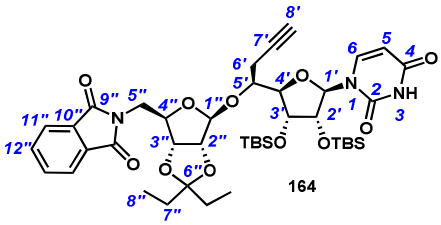
3-[4-*O*-(Benzophenonyl)-benzyl]-propadiene 180.



180

To a solution of alkyne **179** (49 mg, 0.12 mmol, 1 equiv) in dry THF (1.5 mL), was added, at 0 °C, tetrabutyl ammonium fluoride trihydrate. The flashing dark purple solution was stirred 10 min at 0 °C, and then at r.t. for 1 h. After removal of volatiles *in vacuo*, the crude residue was purified by flash chromatography (Cyclohexane/DCM = 9/1 to 7/3). In these conditions, allene **180** was obtained as white powder (37 mg, 91% yield): R_f 0.32 (Cyclohexane/DCM 7/3); IR (film) 2859*br*, 1938*w*, 1728*br*, 1650*s*, 1597*s*, 1257*s*; ^1H NMR δ 7.84-7.82 (m, 2H, H_{3ar}), 7.77-7.74 (m, 2H, H_{7ar}), 7.59-7.55 (m, 1H, H_{9ar}), 7.49-7.46 (m, 2H, H_{8ar}), 7.39-7.37 (m, 2H, H_d), 7.34-7.31 (m, 2H, H_c), 7.05-7.02 (m, 2H, H_{2ar}), 6.18 (t, 1H, $J_{Hf\text{-}H2}$ = 7.0 Hz, H_f), 5.17 (d, 2H, $J_{H2\text{-}Hf}$ = 7.0 Hz, H_2), 5.14 (s, 1H, H_a); ^{13}C NMR δ 210.1 (C_1) 195.7 (C_{5ar}), 162.5 (C_{1ar}), 138.4 (C_e), 134.9 (C_{6ar}), 134.2 (C_b), 132.7 (C_{3ar}), 132.0 (C_{9ar}), 130.5 (C_{4ar}), 129.9 (C_{7ar}), 128.3 (C_{8ar}), 128.0 (C_c), 127.1 (C_d), 114.6 (C_{2ar}), 93.7 (C_f), 79.1 (C_2), 70.1 (C_a); HRMS, ESI^+ Calcd for $C_{23}H_{19}O_2^+$ $(M + H)^+$ 327.1380, found 327.1372.

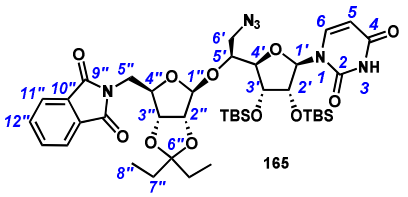
1'',5''-Dideoxy-2'',3''-*O*-isopentylidene-5''-phthalimido-1''-[2',3'-*O*-isopropylidene-5'(*S*)-acetylenylmethyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 164.



Fluoride **115** (684 mg, 1.96 mmol, 2 equiv) and alkyne **163** (500 mg, 0.98 mmol, 1 equiv) were dried together by coevaporation with toluene (3 × 10 mL) and dissolved in DCM (26 mL). The flask was flushed with argon and molecular sieves 4 Å was added (5 g) in one portion. The suspension was stirred at r.t. for 1 h and then cooled to -78 °C. Boron trifluoride diethyletherate (248 µL, 1.96 mmol, 2 equiv) was added at -78 °C and the reaction media was stirred at this temperature for 10 min and was then allowed to warm to r.t. for 16 h. The reaction mixture was filtered on a celite pad and the cake was washed with DCM (50 mL). The reaction was quenched by addition of a saturated aqueous $NaHCO_3$ solution (50 mL) and the aqueous phase was extracted with DCM (5 × 60 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting white foam was purified by flash chromatography (Toluene/Acetone 95/5) to give the phtalimido-ribosyl-uridine **164** as a β/α mixture (β/α = 85/15) as a white foam (668 mg, 81% combined yield). After crystallization in a minimum amount of Cyclohexane/EtOAc 9/1, the β-anomer was isolated with 61% yield: R_f 0.26 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); m.p. 122-125 °C; $[\alpha]_D$ - 34 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3268*br*, 2857*w*, 1774*w*, 1718*s*, 1696*m*, 1394*m*; ^{1}H NMR δ 8.47 (br s, 1H, NH), 7.90-7.87 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.84 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 7.78-7.74 (m, 2H, $H_{12''}$), 6.17 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.0 Hz, H_5), 5.92 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.5 Hz, $H_{1'}$), 5.24 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.75 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.64 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.53 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 10.5 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 6.0 Hz, $H_{4''}$), 4.47 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 1.0 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 4.5 Hz, $H_{4'}$), 4.18 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.5 Hz, $H_{2'}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 3.87 (ddd, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 1.0 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'a}$ = 4.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'b}$ = 11.0 Hz, $H_{5'}$), 3.81 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 6.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.77 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 10.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.98 (ddd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 16.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 4.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H8'}$ = 2.5 Hz, $H_{6'a}$), 2.66 (ddd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 16.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 11.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H8'}$ = 2.5 Hz, $H_{6'b}$), 2.06 (t, 1H, $J_{H8'\text{-}H6'a}$ = $J_{H8'\text{-}H6'b}$ = 2.5 Hz, $H_{8'}$), 1.72-1.60 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.56-1.48 (m, 2H, $H_{7''}$), 0.94 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.91 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.88 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.13, 0.10 (2s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.3 (C_4), 150.3 (C_2), 139.8 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.9 ($C_{11''}$), 117.7 ($C_{6''}$), 112.5 ($C_{1''}$), 102.8

(C_5), 88.6 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 83.8 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 79.6 ($C_{5'}$), 79.4 ($C_{7'}$), 75.6 ($C_{2'}$), 72.2 ($C_{3'}$), 71.4 ($C_{8'}$), 40.4 ($C_{5''}$) 29.4, 28.9 ($C_{7''}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}H_3)_3$), 22.8 ($C_{6'}$), 18.2 (-$\underline{C}(CH_3)_3$) 8.5, 7.4 ($C_{8''}$), -3.9, -4.3, -4.6, -4.6 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3)_2$) ; HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{42}H_{62}N_3O_{11}Si_2^+$ $(M + H)^+$ 840.3917, found 840.3915.

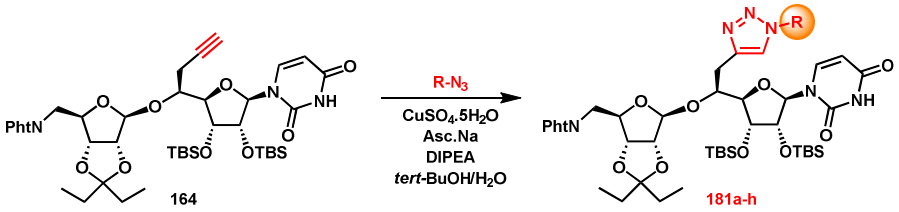
1'',5''-Dideoxy-2'',3''-*O*-isopentylidene-5''-phthalimido-1''-[2',3'-*O*-isopropylidene-5'(S)-azidomethyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 165.



Fluoride **115** (1.19 g, 3.39 mmol, 2.1 equiv) and azide **157** (852 mg, 1.61 mmol, 1 equiv) were dried together by co-evaporation with toluene (3 × 10 mL) and dissolved in DCM (26 mL). The flask was flushed with argon and molecular sieves 4 Å was added (8 g) in one portion. The suspension was stirred at r.t. for 1 h and then cooled to -78 °C. Boron trifluoride diethyletherate (426 µL, 3.39 mmol, 2.1 equiv) was added at -78 °C and the reaction media was stirred at this temperature for 10 min and was then allowed to warm to r.t. for 16 h. The reaction mixture was filtered on a celite pad and the cake was washed with DCM (50 mL). The reaction was quenched by addition of a saturated aqueous $NaHCO_3$ solution (50 mL) and the aqueous phase was extracted with DCM (5 × 60 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting white foam was purified by flash chromatography (Toluene/Acetone 95/5) to give the phtalimido-ribosyl-uridine **165** as a β/α mixture (β/α = 85/15) as a white foam (761 mg, 55% combined yield). The β-anomer was isolated with 41% yield: R_f 0.52 (Toluene/Acetone 8/2); m.p. 102-106 °C; $[\alpha]_D$ - 9 (*c* 0.6, CH_2Cl_2); IR (film) 2928*br*, 2856*br*, 1715*s*, 1698*m*, 1394*m*; ^{1}H NMR δ 8.45 (br s, 1H, NH), 7.91-7.89 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.85 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.5 Hz, H_6), 7.79-7.76 (m, 2H, $H_{12''}$), 6.14 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.5 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 1.0 Hz, H_5), 5.85 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.24 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.75 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.65 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.55 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 10.5 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 5.5 Hz, $H_{4''}$), 4.25 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 1.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 4.0 Hz, $H_{4'}$), 4.19 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H3'}$ = $J_{H2'\text{-}H1'}$ = 4.0 Hz, $H_{2'}$), 4.04 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 4.0 Hz, $H_{3'}$), 3.88-3.70 (m, 4H, $H_{5'}$, $H_{6'a}$, $H_{5''a}$, $H_{5''b}$) 3.60 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 12.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 9.0 Hz, $H_{6'b}$), 1.73-1.64 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55-1.49 (m, 2H, $H_{7''}$), 0.94 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3)_3$), 0.92 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3)_3$), 0.88 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.16, 0.13, 0.13 (3s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3)_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 150.2 (C_2), 139.8 (C_6),

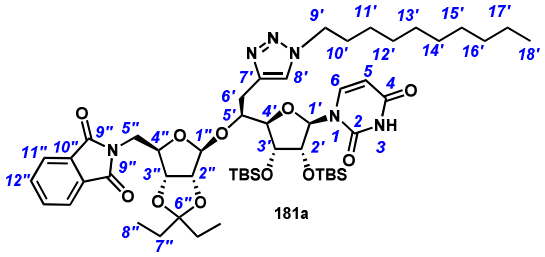
134.6 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.9 ($C_{11''}$), 117.8 ($C_{6''}$), 112.5 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 89.1 ($C_{1'}$), 86.2 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.9 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 78.6 ($C_{5'}$), 75.6 ($C_{2'}$), 71.6 ($C_{3'}$), 51.5 ($C_{6'}$), 40.4 ($C_{5''}$) 29.4, 28.9 ($C_{7''}$), 25.9 (-C($\underline{C}H_3)_3$), 18.2, 18.2 (-$\underline{C}(CH_3)_3$) 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -3.9, -4.2, -4.7, -4.7 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3)_2$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{40}H_{61}N_6O_{11}Si_2^+$ $(M + H)^+$ 857.3931, found 857.3945.

General procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, preparation of compounds 181a-h.



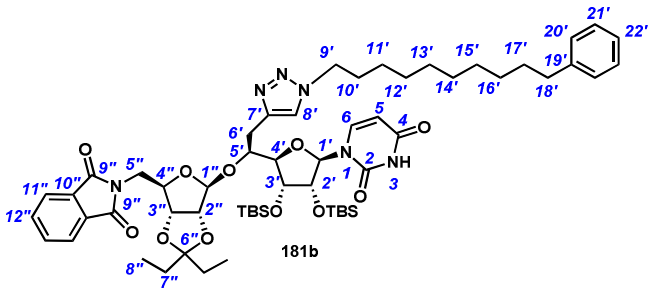
To a solution of alkyne **164** (1 equiv) and azide partner **127** (1 to 2 equiv) in *tert*-BuOH/H_2O (1.5 mL/500 µL) were successively added $CuSO_4$ (0.1 equiv), sodium ascorbate (0.3 equiv) and *N*-ethyldiisopropylamine (2.2 equiv). The suspension was sonicated for 5 min to solubilise all reagents. The mixture was stirred at r.t. for 18 h and diluted with DCM (30 mL) and NH_4Cl (15 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (6 × 30 mL) and the combined organic layers were washed with 10^{-3} M solution of tetra-sodium EDTA, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was then purified by flash chromatography to give the corresponding triazole **181a-h**.

Compound 181a.



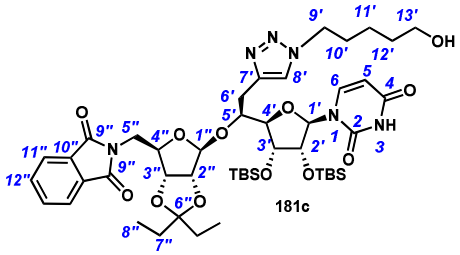
Triazole **181a** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **164** (114 mg, 0.14 mmol) and azide **127a** (50 mg, 0.27 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4) afforded **181a** as a white foam (81 mg, 58% yield): R_f 0.28 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); m.p. 102-106 °C; $[\alpha]_D$ - 30 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 3060*m*, 2928*m*, 2856*m*, 1714*s*, 1386*m*; ^{1}H NMR δ 8.76 (d, 1H, J_{NH-H5} = 2.0 Hz, NH), 7.90-7.84 (m, 3H, $H_{11''}$, H_6), 7.77-7.74 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.37 (s, 1H, $H_{8'}$), 6.18 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.95 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.5 Hz, $H_{1'}$), 5.34 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.67 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.52 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 7.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $H_{4''}$), 4.35-4.25 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.19-4.16 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 4.00 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 3.88-3.82 (m, 3H, $H_{5''a}$, $H_{5''b}$, $H_{4'}$), 3.49 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 4.5 Hz, $H_{6'a}$), 3.07 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 1.91-1.81 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.72-1.60 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55-1.47 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.33-1.20 (m, 14H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, $H_{17'}$), 0.88 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.86 (t, 3H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 0.85 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.83 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.07, 0.07, 0.05, -0.02 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.3 (C_4), 150.6 (C_2), 142.9 ($C_{7'}$), 139.9 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.8 ($C_{11''}$), 122.2 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 112.4 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 87.7 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{3''}$), 84.5 ($C_{4''}$), 84.3 ($C_{4'}$), 82.6 ($C_{2''}$), 80.8 ($C_{2'}$), 75.4 ($C_{5'}$), 72.6 ($C_{3'}$), 50.5 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 31.9 ($C_{10'}$), 30.5 ($C_{7''}$), 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.1, 28.9, 28.9 ($C_{7''}$, $C_{6'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 22.8 ($C_{17'}$), 18.1, 18.0 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 14.2 ($C_{18'}$), 8.4, 7.5 ($C_{8''}$), -4.2, -4.5, -4.5, -4.6 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{52}H_{83}N_6O_{11}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1023.5653 found, 1023.5652.

Compound 181b.



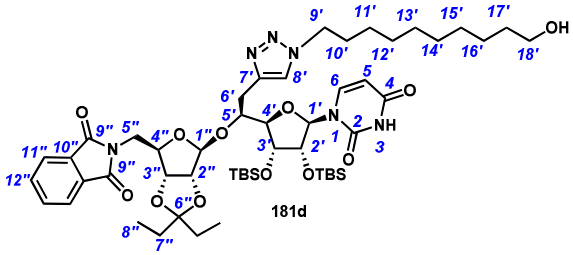
Triazole **181b** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **164** (60 mg, 0.07 mmol) and azide **127o** (37.5 mg, 0.14 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 1/1) afforded **181b** as a white foam (45 mg, 57% yield): R_f 0.25 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 100-102 °C; $[\alpha]_D$ - 27 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2929*m*, 1717*s*, 1696*s*, 1394*w*, 1088*w*, 838*w*; ^{1}H NMR δ 8.30 (br s, 1H, NH), 7.90-7.88 (m, 3H, $H_{11''}$, H_6), 7.77-7.75 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.36 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.28-7.25 (m, 2H, $H_{20'}$), 7.18-7.15 (m, 3H, $H_{21'}$, $H_{22'}$), 6.20 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.97 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 5.36 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.79 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.69 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.55-4.52 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.35-4.26 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.19-4.17 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 4.00 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 3.89-3.84 (m, 3H, $H_{5''}$, $H_{4'}$), 3.50 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.07 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 11.0 Hz, $H_{6'b}$), 2.59 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 1.89-1.84 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.61-1.59 (m, 2H, $H_{17'}$), 1.55-1.52 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.32-1.25 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 8.0 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.84 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 8.0 Hz, $H_{8''}$), 0.08, 0.08, 0.07, -0.02 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.3 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 143.0 ($C_{19'}$), 142.9 ($C_{7'}$), 139.9 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 128.5 ($C_{21'}$), 128.3 ($C_{20'}$), 125.7 ($C_{22'}$), 123.8 ($C_{11''}$), 122.1 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 112.4 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 87.6 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{3''}$), 84.5 ($C_{4''}$), 84.4 ($C_{4'}$), 82.6 ($C_{2''}$), 80.9 ($C_{2'}$), 75.4 ($C_{5'}$), 72.7 ($C_{3'}$), 50.4 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 36.1 ($C_{18'}$), 31.6 ($C_{10'}$), 30.6 ($C_{7''}$), 29.6, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.1, 28.9, 26.6 ($C_{7''}$, $C_{6'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.2, -4.5, -4.5 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{58}H_{87}N_6O_{11}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1099.5966 found, 1099.5969.

Compound 181c.



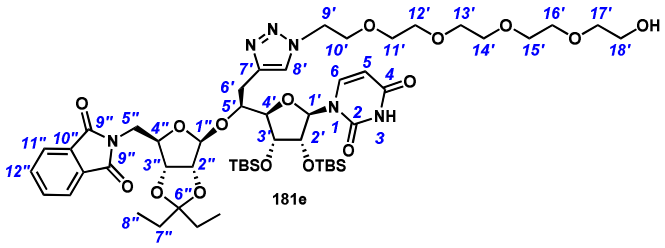
Triazole **181c** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **164** (72 mg, 0.086 mmol) and azidopentanol **127f** (22 mg, 0.17 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 3/7 to EtOAc) afforded **181c** as a white foam (47 mg, 56% yield): R_f 0.40 (Cyclohexane/EtOAc 1/9); m.p. 104-108 °C; $[\alpha]_D$ - 27 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 3046*br*, 2307*w*, 1715*s*, 1464*m*, 1169*w*; ^{1}H NMR δ 8.77-8.37 (br s, 1H, NH), 7.91-7.80 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.86 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 7.79-7.74 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.39 (s, 1H, $H_{8'}$), 6.19 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.96 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 5.35 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.53 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 6.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $H_{4''}$), 4.39-4.29 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.20-4.17 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 4.00 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 4.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 3.90-3.81 (m, 3H, $H_{5''}$, $H_{4'}$), 3.65 (t, 2H, $J_{H13'-H12'}$ = 6.0 Hz, $H_{13'}$), 3.48 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 4.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.06 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 1.92 (qt, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = $J_{H10'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{10'}$), 1.73-1.64 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.64-1.58 (m, 2H, $H_{12'}$), 1.56-1.50 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.44-1.38 (m, 2H, $H_{11'}$), 0.88 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.84 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.08, 0.07, -0.01 (3s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.3 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 150.6 (C_2), 143.1 ($C_{7'}$), 140.0 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.8 ($C_{11''}$), 122.3 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 112.3 ($C_{1''}$), 103.3 (C_5), 87.6 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 84.4 ($C_{4'}$), 82.3 ($C_{2''}$), 80.8 ($C_{2'}$), 75.3 ($C_{5'}$), 72.7 ($C_{3'}$), 62.5 ($C_{13'}$), 50.2 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 31.9 ($C_{7''}$), 30.2 ($C_{10'}$), 29.5 ($C_{11'}$), 28.9 ($C_{6'}$), 28.9 ($C_{7''}$), 25.8, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 22.9 ($C_{12'}$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.4, 7.5 ($C_{8''}$), -4.2, -4.8, -4.5 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{47}H_{73}N_6O_{12}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 969.4820 found, 969.4812.

Compound 181d.



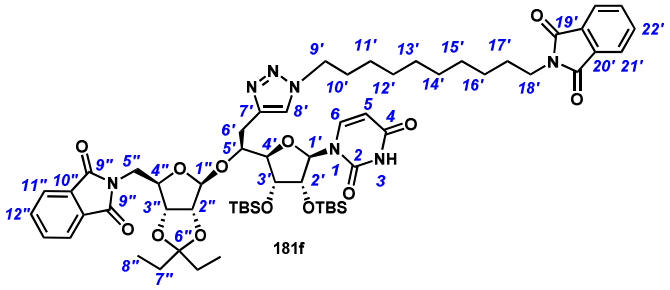
Triazole **181d** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **164** (62 mg, 0.074 mmol) and azidodecanol **127p** (29 mg, 0.15 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 2/8) afforded **181d** as a white foam (45 mg, 59% yield): R_f 0.40 (Cyclohexane/EtOAc 2/8); m.p. 112-114 °C; $[\alpha]_D$ -28 (*c* 0.7, CH_2Cl_2); IR (film) 2931*br*, 2301*m*, 1711*s*, 1457*w*, 1262*w*; ^{1}H NMR δ 8.17-8.80 (br d, 1H, NH), 7.90-7.80 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.81 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 7.0 Hz, H_6), 7.79-7.74 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.48-7.38 (br s, 1H, $H_{8'}$), 6.18 (br d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 7.0 Hz, H_5), 5.96 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.35 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 5.5 Hz, $H_{3''}$), 4.53 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 3.0 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 9.0 Hz, $H_{4''}$), 4.37-4.29 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.25-4.17 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 4.00-3.90 (m, 1H, $H_{3'}$), 3.89-3.81 (m, 3H, $H_{5''}$, $H_{4'}$), 3.64 (t, 2H, $J_{H18'\text{-}H17'}$ = 7.0 Hz, $H_{18'}$), 3.51-3.45 (m, 1H, $H_{6'a}$), 3.14-3.06 (m, 1H, $H_{6'b}$), 1.93-1.58 (m, 2H, $H_{17'}$), 1.73-1.63 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55-1.49 (m, 4H, $H_{10'}$, $H_{7''}$), 1.35-1.24 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.85 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.08, 0.00 (2s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.3 ($C_{9''}$), 162.9 (C_4), 150.4 (C_2), 142.9 ($C_{7'}$), 140.1 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.8 ($C_{11''}$), 122.3 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 112.4 ($C_{1''}$), 103.3 (C_5), 87.6 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 84.5 ($C_{4'}$), 84.5 ($C_{2''}$), 82.3 ($C_{2'}$), 75.4 ($C_{5'}$), 72.3 ($C_{3'}$), 63.2 ($C_{18'}$), 50.5 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 32.9 ($C_{10'}$), 32.5 ($C_{7''}$), 30.5 ($C_{17'}$), 29.5, 29.5, 29.4, 29.1, 29.0, 29.0, 26.6 ($C_{7''}$, $C_{6'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.2, -4.4, -4.5 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{52}H_{83}N_6O_{12}Si_2^+$ $(M + H)^+$ 1039.5602 found, 1039.5606.

Compound 181e.



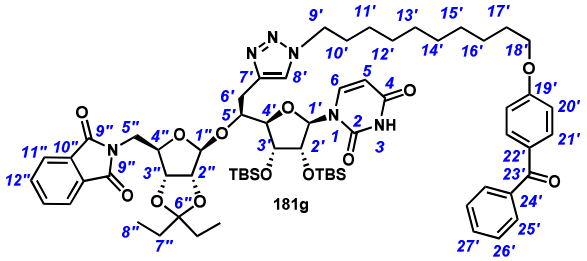
To a suspension of azide **127r** (11.5 mg, 0.043 mmol, 1 equiv), alkyne **164** (55 mg, 0.065 mmol, 1.5 equiv), $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (1.1 mg, 0.004 mmol, 0.1 equiv) in *tert*-butanol/H_2O (1.5 mL/500µL) were successively added sodium ascorbate (2.6 mg, 0.013 mmol, 0.3 equiv) and diisopropylethylamine (16µL, 0.09 mmol, 2.2 equiv). The resulting brown mixture was sonicated for 5 min, stirred at r.t. for 18 h and diluted with DCM (30 mL) and NH_4Cl (15 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (6 × 30 mL) and the combined organic layers were washed with 10^{-3} M solution of tetra-sodium EDTA, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was then purified by flash chromatography (EtOAc/MeOH 100/0 to 90/10) to afford **181e** as a pale red film (20.5 mg, 43% yield): R_f 0.10 (EtOAc/MeOH 90/10); IR (film) 2930*br*, 2853*w*, 1713*s*, 1394*w*, 1100*m*; ^{1}H NMR δ 8.55-8.45 (br m, 1H, NH), 7.92-7.89 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.86 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 7.0 Hz, H_6), 7.79-7.75 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.64-7.54 (br s, 1H, $H_{8'}$), 6.19 (br d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 6.5 Hz, H_5), 6.06-5.95 (br s, 1H, $H_{1'}$), 5.38 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.70 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.60-4.48 (m, 3H, $H_{9'}$, $H_{4''}$), 4.28-4.17 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 4.06-3.98 (m, 1H, $H_{3'}$), 3.90-3.77 (m, 5H, $H_{5''}$, $H_{4'}$, $H_{10'}$), 3.77-3.48 (m, 18H, $H_{6'a}$, $H_{6'b}$, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, $H_{17'}$, $H_{18'}$), 3.11-3.03 (br s, 1H, OH), 1.72-1.63 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.59-1.43 (m, 2H, $H_{7''}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.84 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.83 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.08, 0.07, -0.01 (3s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.3 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 150.5 (C_2), 140.1 ($C_{7'}$), 140.0 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.8 ($C_{11''}$), 123.8 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 112.3 ($C_{1''}$), 103.4 (C_5), 87.3 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 84.5 ($C_{4'}$), 82.4 ($C_{2''}$), 80.8 ($C_{2'}$), 75.3 ($C_{5'}$), 73.0 ($C_{3'}$), 72.8, 70.7, 70.6, 70.4, 69.6, 61.7 (C_{PEG}), 50.5 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 29.5 ($C_{7''}$), 28.9 ($C_{7''}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.2, -4.4, -4.5, -4.5 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}$H$_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{52}H_{83}N_6O_{16}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1103.5399 found, 1103.5425.

Compound 181f.



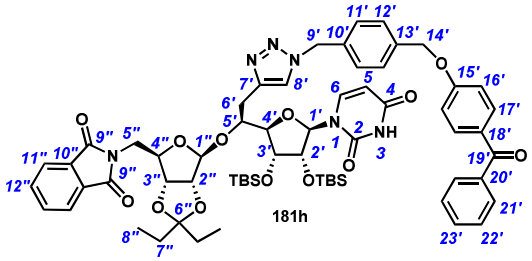
Triazole **181f** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **164** (67 mg, 0.08 mmol) and azide **127q** (52.3 mg, 0.14 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 1/1) afforded **181f** as a white foam (57 mg, 61% yield): R_f 0.20 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 114-118 °C; $[\alpha]_D$ - 29 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2930*m*, 1773*w*, 1701*s*, 1395*m*, 1086*m*, 837*m*, 721*m*; ^{1}H NMR δ 8.56 (d, 1H, J_{NH-H5} = 2.0 Hz, NH), 7.89-7.87 (m, 3H, $H_{11''}$, H_6), 7.84-7.81 (m, 2H, $H_{21'}$), 7.78-7.74 (m, 2H, $H_{22'}$), 7.72-7.69 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.36 (s, 1H, $H_{8'}$), 6.20 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.96 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.5 Hz, $H_{1'}$), 5.35 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.54-4.51 (m, 1H, $H_{4''}$), 4.34-4.25 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.19-4.16 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 3.99 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 3.88-3.82 (m, 3H, $H_{5''}$, $H_{4'}$), 3.68 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.0 Hz, $H_{18'}$), 3.50 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.07 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 11.0 Hz, $H_{6'b}$), 1.89-1.84 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.69-1.62 (m, 4H, $H_{17'}$, $H_{7''}$), 1.55-1.57-1.42 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.24-1.19 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 8.0 Hz, $H_{8''}$), 0.79 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.76 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.75 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 8.0 Hz, $H_{8''}$), 0.01, 0.00, -0.01, -0.1 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.6, 168.2 ($C_{19'}$, $C_{9''}$), 163.2 (C_4), 150.5 (C_2), 142.9 ($C_{7'}$), 139.9 (C_6), 134.5 ($C_{12''}$), 133.9 ($C_{22'}$), 132.3 ($C_{20'}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.8 ($C_{11''}$), 123.3 ($C_{21'}$), 122.0 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 112.3 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 87.6 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{3''}$), 84.5 ($C_{4''}$), 84.3 ($C_{4'}$), 82.2 ($C_{2''}$), 80.8 ($C_{2'}$), 75.4 ($C_{5'}$), 72.7 ($C_{3'}$), 50.4 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 38.2 ($C_{18'}$), 30.5 ($C_{7''}$), 29.5, 29.4, 29.4, 29.2, 29.1, 28.9, 28.7, 26.9, 26.6 ($C_{7''}$, $C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.4, 7.5 ($C_{8''}$), -4.2, -4.5, -4.5, -4.6 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{60}H_{86}N_7O_{13}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1168.5817, found 1168.5839.

Compound 181g.



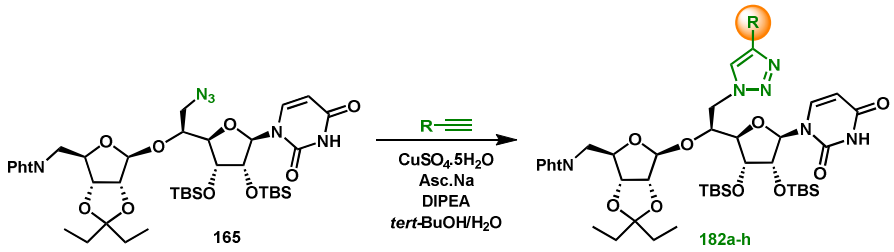
Triazole **181g** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **164** (108 mg, 0.13 mmol) and azide **127m** (98 mg, 0.26 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 1/1) afforded **181g** as a white foam (90 mg, 57% yield): R_f 0.27 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 96-102 °C; $[\alpha]_D$ - 25 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2930*m*, 1710*s*, 1696*s*, 1256*s*; ^{1}H NMR δ 8.63-8.60 (m, 1H, NH), 7.89-7.87 (m, 3H, $H_{11''}$, H_6), 7.83-7.80 (m, 2H, $H_{21'}$), 7.77-7.74 (m, 4H, $H_{12''}$, $H_{25'}$), 7.57-7.54 (m, 1H, $H_{27'}$), 7.47 (t, 2H, $J_{H26'-H27'}$ = $J_{H26'-H25'}$ = 8.0 Hz, $H_{26'}$), 7.38 (s, 1H, $H_{8'}$), 6.96-6.93 (m, 2H, $H_{20'}$), 6.20 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.97 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.5 Hz, $H_{1'}$), 5.33 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.53 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 7.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.0 Hz, $H_{4''}$), 4.36-4.26 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.20-4.18 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 4.03 (t, 1H, $J_{H18'-H19'}$ = 6.5 Hz, $H_{18'}$), 4.00 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 4.5 Hz, $H_{3'}$), 3.92-3.83 (m, 3H, $H_{5''a}$, $H_{5''b}$, $H_{4'}$), 3.52 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.08 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 11.0 Hz, $H_{6'b}$), 1.92-1.85 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.84-1.78 (m, 2H, $H_{17'}$), 1.73-1.61 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.57-1.50 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.48-1.44 (m, 2H, $H_{16'}$), 1.38-1.26 (m, 10H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$), 0.88 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 8.0 Hz, $H_{8''}$), 0.86 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.84 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.82 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 8.0 Hz, $H_{8''}$), 0.08, 0.08, 0.07, -0.01 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 195.6 ($C_{23'}$), 168.2 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 162.9 ($C_{19'}$), 150.5 (C_2), 142.9 ($C_{7'}$), 139.9 (C_6), 138.5 ($C_{24'}$), 134.5 ($C_{12''}$), 132.7 ($C_{21'}$), 131.9 ($C_{27'}$), 132.2 ($C_{21'}$), 130.1 ($C_{10''}$), 129.8 ($C_{25'}$), 128.3 ($C_{26'}$), 123.8 ($C_{11''}$), 122.2 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{20'}$), 112.4 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 87.6 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{4'}$), 84.5 ($C_{2''}$), 84.4 ($C_{4''}$), 82.2 ($C_{2'}$), 80.8 ($C_{3''}$), 75.4 ($C_{3'}$), 72.7 ($C_{5'}$), 68.4 ($C_{18'}$), 50.4 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 30.5 ($C_{17'}$), 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 29.1, 28.9, 26.6, 26.1 ($C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{7''}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), 8.4, 7.4 ($C_{8''}$), -4.2, -4.5, -4.5, -4.6 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{65}H_{91}N_6O_{13}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1219.6177, found 1219.6187.

Compound 181h.



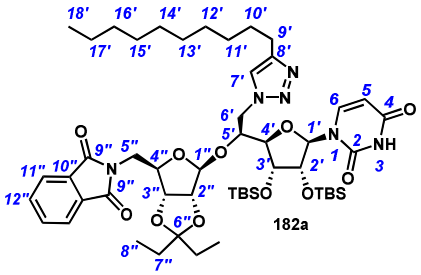
Triazole **181h** was synthesized according to the general procedure for Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition from alkyne **164** (140 mg, 0.17 mmol) and azide **127h** (110 mg, 0.33 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4) afforded **181h** as a white foam (133 mg, 67% yield): R_f 0.26 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); m.p. 122-128 °C; $[\alpha]_D$ - 26 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2930*m*, 2351*w*, 1710*s*, 1693*s*, 1393*m*; ^{1}H NMR δ 8.22 (br d, 1H, J_{NH-H5} = 2.0 Hz, NH), 7.89-7.86 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.85-7.82 (m, 3H, H_6, $H_{17'}$), 7.77-7.74 (m, 4H, $H_{12''}$, $H_{22'}$), 7.58-7.55 (m, 1H, $H_{23'}$), 7.48 (d, 2H, $J_{H21'-H22'}$ = 8.0 Hz, $H_{21'}$), 7.45 (d, 2H, $J_{H11'-H12'}$ = 8.5 Hz, $H_{11'}$), 7.36 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.28 (d, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 8.5 Hz, $H_{12'}$), 7.03-6.99 (m, 2H, $H_{16'}$), 6.17 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.95 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 6.0 Hz, $H_{1'}$), 5.56 (d, 1H, $J_{H9'a-H9'b}$ = 15.0 Hz, $H_{9'a}$), 5.47 (d, 1H, $J_{H9'b-H9'a}$ = 15.0 Hz, $H_{9'b}$), 5.34 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.14 (s, 2H, $H_{14'}$), 4.78 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.67 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.52 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 6.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.5 Hz, $H_{4''}$), 4.20-4.17 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 4.00 (dd, 1H, $J_{H3''-H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 3.86 (dd, 1H, $J_{H4''-H3'}$ = 3.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 2.0 Hz, $H_{4'}$), 3.84-3.78 (m, 2H, $H_{5''a}$, $H_{5''b}$), 3.47 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.07 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 1.71-1.62 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.55-1.50 (m, 2H, $H_{7''}$), 0.88 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.84 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.81 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.07, 0.07, 0.06, -0.03 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 195.6 ($C_{19'}$), 168.2 ($C_{9''}$), 162.9 (C_4), 162.3 ($C_{15'}$), 150.4 (C_2), 143.6 ($C_{7'}$), 139.9 (C_6), 138.3 ($C_{20'}$), 137.1 ($C_{13'}$), 134.8 ($C_{10'}$), 134.4 ($C_{12''}$), 132.7 ($C_{17'}$), 132.1 ($C_{23'}$), 131.9 ($C_{10''}$), 130.7 ($C_{18'}$), 129.9 ($C_{21'}$), 128.4 ($C_{22'}$), 128.3 ($C_{11'}$), 128.3 ($C_{12'}$), 123.9 ($C_{11''}$), 122.3 ($C_{8'}$), 117.7 ($C_{6''}$), 114.9 ($C_{16'}$), 112.5 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 87.6 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{3''}$), 84.5 ($C_{4''}$), 84.5 ($C_{4'}$), 82.2 ($C_{2''}$), 80.8 ($C_{2'}$), 75.4 ($C_{5'}$), 72.8 ($C_{3'}$), 69.7 ($C_{14'}$), 53.9 ($C_{9'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 29.5 ($C_{7''}$), 28.9 ($C_{7''}$), 28.9 ($C_{6'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.2, -4.5, -4.5, -4.5 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{63}H_{79}N_6O_{13}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1183.5238, found 1183.5230.

General procedure for the preparation of triazoles 182a-h.



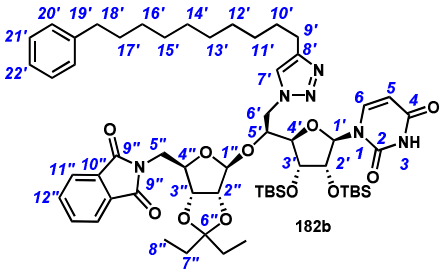
To a solution of azide **165** (1 equiv) and alkyne partner **166a-h** (1 to 2 eq) in *tert*-BuOH/H_2O (1.5 mL/500 µL) were successively added $CuSO_4$ (0.1 equiv), sodium ascorbate (0.3 equiv) and *N*-ethyldiisopropylamine (2.2 equiv). The suspension was sonicated for 5 min to solubilise all reagents. The mixture was stirred at r.t. for 18 h and diluted with DCM (30 mL) and NH_4Cl (15 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (6 × 30 mL) and the combined organic layers were washed with 10^{-3} M solution of tetra-sodium EDTA, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was then purified by flash chromatography to give the corresponding triazole **182a-h**.

Compound 182a.



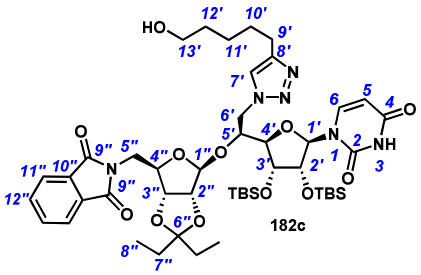
Triazole **182a** was synthesized according to the general procedure for the preparation of reverse triazoles from azide **165** (52 mg, 0.06 mmol) and 1-dodecyne **166a** (25 mg, 0.12 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 7/3) afforded **182a** as a white foam (35 mg, 55% yield): R_f 0.61 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 102-106 °C; $[\alpha]_D$ - 30 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 3060*m*, 2928*m*, 2856*m*, 1714*s*, 1386*m*; ^{1}H NMR δ 8.63 (br d, 1H, J_{NH-H5} = 1.0 Hz, NH), 7.91-7.88 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.85 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.79-7.76 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.33 (s, 1H, $H_{7'}$), 6.16 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 1.0 Hz, H_5), 5.92 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.34 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.02 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.58 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $H_{4''}$), 4.44 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.26 (ddd, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 5.0 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 10.5 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 1.0 Hz, $H_{5'}$), 4.17 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.84 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 3.60 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 2.74-2.64 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.74-1.61 (m, 4H, $H_{10'}$, $H_{7''}$), 1.58-1.50 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.38-1.25 (m, 14H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, $H_{17'}$), 0.91-0.86 (m, 6H, $H_{8''}$, $H_{18'}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.84 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.83-0.82 (m, 3H, $H_{8''}$), 0.11, 0.08, 0.06, -0.01 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 142.9 ($C_{8'}$), 139.6 (C_6), 134.6 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.9 ($C_{11''}$), 122.1 ($C_{7'}$), 118.1 ($C_{6''}$), 112.7 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 88.3 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.4 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 79.0 ($C_{5'}$), 75.4 ($C_{2'}$), 71.7 ($C_{3'}$), 50.5 ($C_{6'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 32.9 ($C_{7''}$), 29.8, 29.8, 29.7, 29.7, 29.5, 29.5, 28.9 ($C_{7''}$, $C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$), 25.8, 25.7 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 22.8 ($C_{17'}$), 18.1, 18.0 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), 14.2 ($C_{18'}$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.1, -4.4, -4.6, -4.7 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{52}H_{83}N_6O_{11}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1023.5653 found, 1023.5671.

Compound 182b.



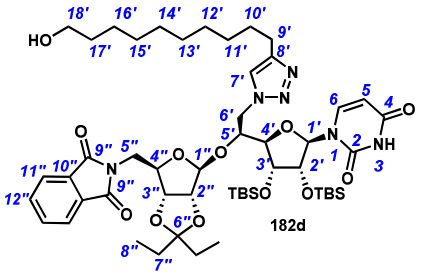
Triazole **182b** was synthesized according to the general procedure for the preparation of reverse triazoles from azide **165** (40 mg, 0.47 mmol) and 12-phenyl-dodec-1-yne **166b** (17 mg, 0.07 mmol, 1.5 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 7/3) afforded **182b** as a white foam (31 mg, 60% yield): R_f 0.11 (Cyclohexane/EtOAc 7/3); m.p. 106-110 °C; $[\alpha]_D$ - 34 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2928*m*, 2848*w*, 2163*m*, 1693*s*, 1394*m,* 1090*w*, 837*m*; ^{1}H NMR δ 8.61 (br s, 1H, NH), 7.92-7.88 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.85 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.79-7.76 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.32 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.28-7.25 (m, 2H, $H_{20'}$), 7.18-7.15 (m, 3H, $H_{21'}$, $H_{22'}$), 6.16 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 2.5 Hz, H_5), 5.92 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.35 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.03 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.69 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.58 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $H_{4''}$), 4.45-4.41 (m, 1H, $H_{6'b}$), 4.28-4.25 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.17 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.84 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 3.60-3.59 (m, 1H, $H_{4'}$), 2.73-2.68 (m, 2H, $H_{9'}$), 2.59 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 1.73-1.58 (m, 6H, $H_{10'}$, $H_{17'}$, $H_{7''}$), 1.57-1.52 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.38-1.24 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 0.90 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.85-0.82 (m, 12H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$, $H_{8''}$), 0.83-0.82 (m, 3H, $H_{8''}$), 0.11, 0.08, 0.06, -0.01 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 143.1 ($C_{19'}$), 139.5 ($C_{8'}$), 134.6 (C_6), 134.6 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 128.5 ($C_{21'}$), 128.3 ($C_{20'}$), 125.7 ($C_{22'}$), 123.9 ($C_{11''}$), 121.9 ($C_{7'}$), 118.1 ($C_{6''}$), 112.7 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 88.3 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.4 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 79.0 ($C_{2'}$), 75.4 ($C_{5'}$), 71.7 ($C_{3'}$), 49.9 ($C_{9'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 36.1 ($C_{18'}$), 31.6 ($C_{10'}$), 29.8, 29.8, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5 ($C_{7''}$, $C_{6'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$), 25.9, 25.9 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.0 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.1, -4.4, -4.6, -4.7 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{58}H_{87}N_6O_{11}Si_2^+$ $(M + H)^+$ 1099.5966 found, 1099.5994.

Compound 182c.



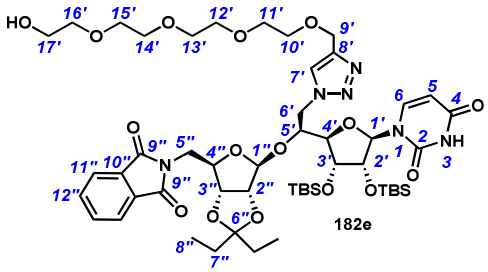
Triazole **182c** was synthesized according to the general procedure for the preparation of reverse triazoles from azide **165** (40 mg, 0.047 mmol) and 5-heptyne-1-ol **166c** (8 mg, 0.07 mmol, 1.5 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 3/7) afforded **182c** as a white foam (24 mg, 53% yield): R_f 0.12 (Cyclohexane/EtOAc 3/7); m.p. 110-112 °C; $[\alpha]_D$ - 22 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2931*w*, 2857*w*, 1715*s*, 1523*w*, 1256*m*, 1159*m*, 838*w*; ^{1}H NMR δ 8.76-8.66 (br m, 1H, NH), 7.94-7.89 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.83 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 7.79-7.76 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.34 (s, 1H, $H_{7'}$), 6.15 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, J_{H5-NH} = 2.0 Hz, H_5), 5.92 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.34 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.02 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'a}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.69 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.57 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 6.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $H_{4''}$), 4.43 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.0 Hz, $H_{6'b}$), 4.27 (ddd, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 10.0 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 1.0 Hz, $H_{5'}$), 4.17 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.83 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 6.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 3.65 (t, 2H, $J_{H13'-H12'}$ = 6.5 Hz, $H_{13'}$), 3.59 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 2.76-2.66 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.73-1.66 (m, 4H, $H_{10'}$, $H_{7''}$), 1.61 (qt, 2H, $J_{H12'-H13'}$ = $J_{H12'-H11'}$ = 6.5 Hz, $H_{12'}$), 1.56-1.54 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.44 (qt, 2H, $J_{H11'-H12'}$ = $J_{H11'-H10'}$ = 6.5 Hz, $H_{11'}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.86 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.85-0.82 (m, 12H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$, $H_{8''}$), 0.10, 0.08, 0.07, -0.01 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 148.3 ($C_{8'}$), 139.6 (C_6), 134.6 ($C_{12''}$), 131.9 ($C_{10''}$), 123.9 ($C_{11''}$), 122.2 ($C_{7'}$), 118.1 ($C_{6''}$), 112.6 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 88.2 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.6 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 79.0 ($C_{5'}$), 75.3 ($C_{2'}$), 71.2 ($C_{3'}$), 62.8 ($C_{13'}$), 49.9 ($C_{6'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 32.5 ($C_{12'}$), 29.5 ($C_{7''}$), 29.3 ($C_{10'}$), 28.9 ($C_{7''}$), 25.8, 25.8 (-C($\underline{C}$H$_3$)$_3$), 25.6 ($C_{9'}$), 25.5 ($C_{11'}$), 18.1, 18.1 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.1, -4.4, -4.6, -4.7 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}$H$_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{47}H_{73}N_6O_{12}Si_2^+$ $(M + H)^+$ 969.4820 found, 969.4824.

Compound 182d.



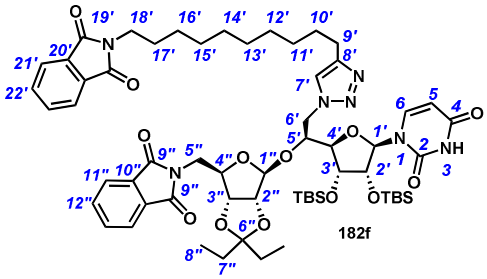
Triazole **182d** was synthesized according to the general procedure for the preparation of reverse triazoles from azide **165** (50 mg, 0.06 mmol) and 12-dodecyne-1-ol **166d** (20 mg, 0.12 mmol, 2 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 1/1) afforded **182d** as a white foam (43 mg, 66% yield): R_f 0.21 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 110-112 °C; $[\alpha]_D$ -23 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2929*br*, 2853*w*, 1712*s*, 1459*w*, 1396*m*; ^{1}H NMR δ 8.70 (br s, 1H, NH), 7.91-7.89 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.84 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 7.79-7.76 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.32 (s, 1H, $H_{7'}$), 6.15 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.92 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.35 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.02 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.58 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 6.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $H_{4''}$), 4.43 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.27 (ddd, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 5.0 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 10.5 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 1.0 Hz, $H_{5'}$), 4.17 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.85 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 6.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 3.64 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 6.5 Hz, $H_{18'}$), 3.59 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 2.73-2.64 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.74-1.63 (m, 4H, $H_{10'}$, $H_{7''}$), 1.58-1.52 (m, 4H, $H_{17'}$, $H_{7''}$), 1.38-1.25 (m, 13H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, OH), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.86 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.85-0.82 (m, 12H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$, $H_{8''}$), 0.11, 0.08, 0.06, -0.02 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 163.1 (C_4), 150.4 (C_2), 148.6 ($C_{8'}$), 139.5 (C_6), 134.6 ($C_{12''}$), 131.8 ($C_{10''}$), 123.9 ($C_{11''}$), 121.9 ($C_{7'}$), 118.1 ($C_{6''}$), 112.7 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 88.2 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.4 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 79.1 ($C_{5'}$), 75.4 ($C_{2'}$), 71.8 ($C_{3'}$), 63.0 ($C_{18'}$), 49.5 ($C_{6'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 32.9 ($C_{7''}$), 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.5, 29.4, 29.4, 28.9 ($C_{7''}$, $C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$), 25.8, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 25.7 ($C_{17'}$), 18.1, 18.0 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.1, -4.4, -4.6, -4.7 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{52}H_{83}N_6O_{12}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1039.5624 found, 1039.5624.

Compound 182e.



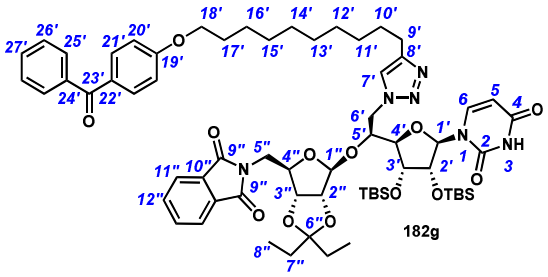
To a suspension of alkyne **166e** (7.2 mg, 0.031 mmol, 1 equiv), azide **165** (40 mg, 0.047 mmol, 1.5 equiv), $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (0.7 mg, 0.003 mmol, 0.1 equiv) in *tert*-butanol/H_2O (1.5 mL/500µL) were successively added sodium ascorbate (8.8 mg, 0.009 mmol, 0.3 equiv) and diisopropylethylamine (11µL, 0.07 mmol, 2.2 equiv). The resulting brown mixture was sonicated for 5 min, stirred at r.t. for 18 and diluted with DCM (30 mL) and NH_4Cl (15 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (6 × 30 mL) and the combined organic layers were washed with 10^{-3}M solution of tetra-sodium EDTA, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was then purified by flash chromatography (EtOAc/MeOH 100/0 to 90/10) to afford **182e** as a pale red film (22 mg, 44% yield): R_f 0.10 (EtOAc/MeOH 90/10); $[\alpha]_D$ - 22 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 3744*br*, 2677*m*, 2160*s*, 1712*s*, 1096*m*, 830*m*; ^{1}H NMR δ 8.31 (br s, 1H, NH), 7.91-7.88 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.82 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 7.79-7.77 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.69 (s, 1H, $H_{8'}$), 6.13 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 1.5 Hz, H_5), 5.91 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.35 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.00 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'a}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.69-4.66 (m, 3H, $H_{9'}$, $H_{3''}$), 4.57 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 6.5 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 9.5 Hz, $H_{4''}$), 4.51 (d, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 9.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.33 (ddd, 1H, $J_{H5'\text{-}H6'a}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'b}$ = 9.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 1.0 Hz, $H_{5'}$), 4.18 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.03 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.85 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 6.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.79 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 3.72-3.59 (m, 17H, $H_{4'}$, $H_{10'}$, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, $H_{17'}$), 1.73-1.63 (m, 3H, $H_{7''}$, OH), 1.56-1.51 (m, 2H, $H_{7''}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C<u>H</u>$_3$)$_3$), 0.85-0.82 (m, 12H, -C(C<u>H</u>$_3$)$_3$, $H_{8''}$), 0.10, 0.08, 0.07, -0.01 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C<u>H</u>$_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.2 ($C_{9''}$), 162.9 (C_4), 150.3 (C_2), 145.3 ($C_{8'}$), 139.6 (C_6), 134.6 ($C_{12''}$), 131.8 ($C_{10''}$), 124.2 ($C_{7'}$), 123.9 ($C_{11''}$), 118.1 ($C_{6''}$), 112.6 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 88.2 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.7 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 78.9 ($C_{5'}$), 75.3 ($C_{2'}$), 72.6 (CH_{2PEG}), 71.9 ($C_{3'}$),70.6, 70.3, 69.8 (CH_{2PEG}), 64.7 ($C_{9'}$), 61.8 (CH_{2PEG}), 50.5 ($C_{6'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 29.5, 28.9 ($C_{7''}$), 25.9, 25.8 (-C(<u>C</u>H$_3$)$_3$), 18.1, 18.1 (-<u>C</u>(CH$_3$)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.1, -4.4, -4.5, -4.6 (-Si-*t*-Bu-(<u>C</u>H$_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{51}H_{81}N_6O_{16}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1089.5242 found, 1089.5260.

Compound 182f.



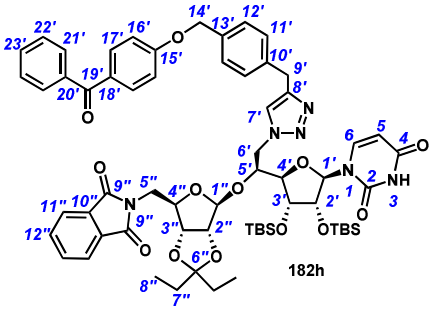
Triazole **182f** was synthesized according to the general procedure for the preparation of reverse triazoles from azide **165** (40 mg, 0.047 mmol) and alkyne **166f** (22 mg, 0.07 mmol, 1.5 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4) afforded **182f** as a white foam (37.5 mg, 68% yield): R_f 0.11 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); m.p. 120-124 °C; $[\alpha]_D$ - 21 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 2923*m*, 1713*s*, 1273*m*, 1253*w*, 1075*w*, 746*m*; ^{1}H NMR δ 8.57 (brs, 1H, NH), 7.90-7.88 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.88-7.81 (m, 3H, $H_{21'}$, H_6), 7.79-7.75 (m, 2H, $H_{22'}$), 7.72-7.69 (m, 2H, $H_{12''}$), 7.32 (s, 1H, $H_{7'}$), 6.16 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, $J_{H5\text{-}NH}$ = 2.0 Hz, H_5), 5.92 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.34 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.02 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''\text{-}H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''\text{-}H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.58 (dd, 1H, $J_{H4''\text{-}H5''a}$ = 5.5 Hz, $J_{H4''\text{-}H5''b}$ = 10.5 Hz, $H_{4''}$), 4.43 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.26 (ddd, 1H, $J_{H5'\text{-}H6'a}$ = 5.0 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'b}$ = 10.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 1.0 Hz, $H_{5'}$), 4.16 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.01 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.84 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 5.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 10.5 Hz, $H_{5''b}$), 3.67 (t, 2H, $J_{H18'\text{-}H17'}$ = 7.0 Hz, $H_{18'}$), 3.59 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 1.0 Hz, $H_{4'}$), 2.72-2.63 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.69-1.60 (m, 6H, $H_{10'}$, $H_{17'}$, $H_{7''}$), 1.57-1.51 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.37-1.23 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''\text{-}H7''}$ = 7.0 Hz, $H_{8''}$), 0.87 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.85-0.82 (m, 12H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$, $H_{8''}$), 0.10, 0.07, 0.05, -0.02 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 168.6, 168.2 ($C_{19'}$, $C_{9''}$), 163.1 (C_4), 150.3 (C_2), 148.7 ($C_{8'}$), 139.5 (C_6), 134.6 ($C_{12''}$), 133.9 ($C_{22'}$), 132.4 ($C_{20'}$), 131.2 ($C_{10''}$), 123.8 ($C_{11''}$), 123.3 ($C_{21'}$), 121.9 ($C_{7'}$), 118.1 ($C_{6''}$), 112.7 ($C_{1''}$), 103.1 (C_5), 88.2 ($C_{1'}$), 86.3 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.4 ($C_{4'}$), 82.1 ($C_{2''}$), 79.1 ($C_{2'}$), 75.4 ($C_{5'}$), 71.8 ($C_{3'}$), 49.9 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 38.2 ($C_{18'}$), 29.8, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 28.9, 28.7, 27.1, 26.9 ($C_{7''}$, $C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$), 25.8, 25.7 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.0 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.4, 7.5 ($C_{8''}$), -4.1, -4.1, -4.6, -4.7 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{60}H_{86}N_7O_{13}Si_2^+$ $(M + H)^+$ 1168.5817 found, 1168.5838.

Compound 182g.



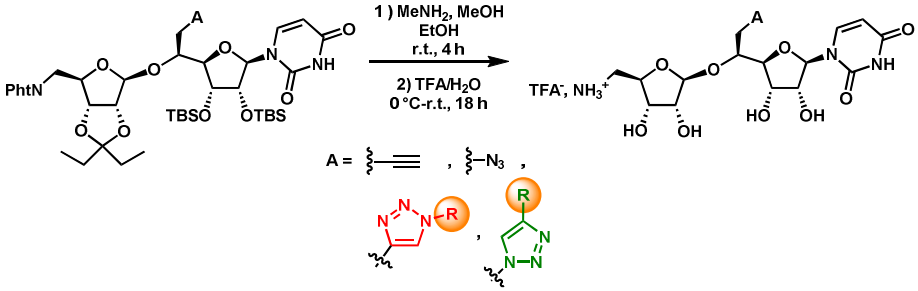
Triazole **182g** was synthesized according to the general procedure for the preparation of reverse triazoles from azide **165** (40 mg, 0.047 mmol) and alkyne **166g** (25.4 mg, 0.07 mmol, 1.5 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4) afforded **182g** as a white foam (33 mg, 58% yield): R_f 0.20 (Cyclohexane/EtOAc 6/4); m.p. 102-106 °C; $[\alpha]_D$ - 24 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 1710*s*, 1643*m*, 1602*w*, 1256*m*, 835*w*; ^{1}H NMR δ 8.68 (br d, 1H, J_{NH-H5} = 1.5 Hz, NH), 7.92-7.88 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.85 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.83-7.80 (m, 2H, $H_{21'}$), 7.79-7.74 (m, 4H, $H_{12''}$, $H_{25'}$), 7.57-7.54 (m, 1H, $H_{27'}$), 7.48-7.45 (m, 2H, $H_{26'}$), 7.32 (s, 1H, $H_{7'}$), 6.96-6.93 (m, 2H, $H_{20'}$), 6.16 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, J_{H5-NH} = 1.5 Hz, H_5), 5.92 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.35 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.02 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.77 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.5 Hz, $H_{3''}$), 4.57 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 5.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $H_{4''}$), 4.43 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.27 (ddd, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 5.0 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 10.5 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 1.5 Hz, $H_{5'}$), 4.16 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.04 (t, 1H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.0 Hz, $H_{18'}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.84 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 5.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 3.59 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 1.5 Hz, $H_{4'}$), 2.74-2.64 (m, 2H, $H_{9'}$), 1.81 (qt, 2H, $J_{H17'-H18'}$ = $J_{H17'-H16'}$ = 7.0 Hz, $H_{17'}$), 1.71-1.62 (m, 4H, $H_{10'}$, $H_{7''}$), 1.56-1.52 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.50-1.44 (m, 2H, $H_{16'}$), 1.38-1.26 (m, 10H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.86 (s, 9H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.85-0.82 (m, 12H, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$, $H_{8''}$), 0.11, 0.08, 0.06, -0.02 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ 195.8 ($C_{23'}$), 168.3 ($C_{9''}$), 163.2 (C_4), 163.1 ($C_{19'}$), 150.5 (C_2), 148.8 ($C_{8'}$), 139.6 (C_6), 138.6 ($C_{24'}$), 134.7 ($C_{12''}$), 132.8 ($C_{21'}$), 132.0 ($C_{27'}$), 131.9 ($C_{21'}$), 130.1 ($C_{10''}$), 129.9 ($C_{25'}$), 128.4 ($C_{26'}$), 123.9 ($C_{11''}$), 122.1 ($C_{7'}$), 118.2 ($C_{6''}$), 114.3 ($C_{20'}$), 112.8 ($C_{1''}$), 103.2 (C_5), 88.3 ($C_{1'}$), 86.4 ($C_{4'}$), 84.7 ($C_{2''}$), 82.5 ($C_{4''}$), 82.2 ($C_{2'}$), 79.2 ($C_{3''}$), 75.5 ($C_{3'}$), 71.9 ($C_{5'}$), 68.5 ($C_{18'}$), 50.0 ($C_{9'}$), 40.5 ($C_{5''}$), 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.1, 27.2, 26.2 ($C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$, $C_{7''}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.2, 18.2 (-$\underline{C}$(CH$_3$)$_3$), 8.6, 7.6 ($C_{8''}$), -4.0, -4.3, -4.5, -4.6 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{65}H_{91}N_6O_{13}Si_2^+$ (M + H)$^+$ 1219.6177 found, 1219.6198.

Compound 182h.



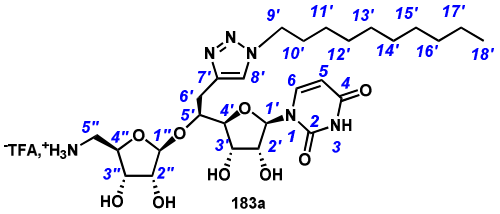
Triazole **182h** was synthesized according to the general procedure for the preparation of reverse triazoles from azide **165** (21 mg, 0.024 mmol) and alkyne **166h** (16.0 mg, 0.049 mmol, 2.0 equiv). Flash chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4 to 3/7) afforded **182h** as a white foam (19 mg, 64% yield): R_f 0.30 (Cyclohexane/EtOAc 3/7); m.p. 112-116 °C; $[\alpha]_D$ -34 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); IR (film) 2928*br*, 2550*w*, 1718*s*, 1696*s*, 1655*m*, 1463*w*, 1253*m*, 839*m*; ^{1}H NMR δ 8.56 (br s, 1H, NH), 7.92-7.88 (m, 2H, $H_{11''}$), 7.84-7.80 (m, 3H, $H_{17'}$, H_6), 7.78-7.43 (m, 4H, $H_{12''}$, $H_{21'}$), 7.57 (t, 1H, $J_{H23'-H22'}$ = 8.0 Hz, $H_{23'}$), 7.48-7.45 (m, 2H, $H_{22'}$), 7.41-7.39 (br s, 1H, $H_{7'}$), 7.36 (d, 2H, $J_{H11'-H12'}$ = 8.0 Hz, $H_{11'}$), 7.27 (d, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{12'}$), 7.03-7.01 (m, 2H, $H_{16'}$), 6.11 (dd, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, J_{H5-NH} = 1.5 Hz, H_5), 5.88 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 5.0 Hz, $H_{1'}$), 5.32 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.14 (m, 2H, $H_{14'}$), 4.96 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'a}$), 4.75 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 6.0 Hz, $H_{2''}$), 4.68 (d, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 6.0 Hz, $H_{3''}$), 4.56 (dd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 6.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.5 Hz, $H_{4''}$), 4.45 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 10.0 Hz, $H_{6'b}$), 4.27 (ddd, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 10.0 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 1.0 Hz, $H_{5'}$), 4.17 (t, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.13 (d, 1H, $J_{H9'a-H9'b}$ = 16.0 Hz, $H_{9'a}$), 4.06 (d, 1H, $J_{H9'b-H9'a}$ = 16.0 Hz, $H_{9'b}$), 4.02 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 6.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.80 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 3.61 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 1.5 Hz, $H_{4'}$), 1.71-1.62 (m, 2H, $H_{7''}$), 1.57-1.49 (m, 2H, $H_{7''}$), 0.94-0.80 (m, 24H, $H_{8''}$, -C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 0.10, 0.08, 0.08, -0.02 (4s, 12H, -Si-*t*-Bu-(C$\underline{H}_3$)$_2$); ^{13}C NMR δ ^{13}C NMR δ 195.6 ($C_{19'}$), 168.2 ($C_{9''}$), 163.0 (C_4), 162.5 ($C_{15'}$), 150.3 (C_2), 147.4 ($C_{8'}$), 139.5 (C_6), 139.1 ($C_{20'}$), 138.4 ($C_{13'}$), 135.8 ($C_{10'}$), 134.6 ($C_{12''}$), 132.7 ($C_{17'}$), 132.0 ($C_{23'}$), 131.8 ($C_{10''}$), 130.5 ($C_{18'}$), 129.8 ($C_{21'}$), 129.1 ($C_{22'}$), 128.5 ($C_{11'}$), 128.3 ($C_{12'}$), 128.0($C_{11''}$), 123.8 ($C_{7'}$), 118.1 ($C_{6''}$), 114.5 ($C_{16'}$), 112.7 ($C_{1''}$), 103.0 (C_5), 88.3 ($C_{1'}$), 86.2 ($C_{3''}$), 84.6 ($C_{4''}$), 82.6 ($C_{4'}$), 82.0 ($C_{2''}$), 78.9 ($C_{2'}$), 75.3 ($C_{5'}$), 71.8 ($C_{3'}$), 70.1 ($C_{14'}$), 50.2 ($C_{9'}$), 40.4 ($C_{5''}$), 29.5 ($C_{7''}$), 29.5 ($C_{7''}$), 28.9 ($C_{6'}$), 25.9, 25.8 (-C($\underline{C}H_3$)$_3$), 18.1, 18.0 (-$\underline{C}$(CH_3)$_3$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$), -4.1, -4.4, -4.6, -4.7 (-Si-*t*-Bu-($\underline{C}H_3$)$_2$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{63}H_{80}N_6O_{13}Si_2^+$ $(M + H)^+$ 1183.5238 found, 1183.5222.

General procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage.



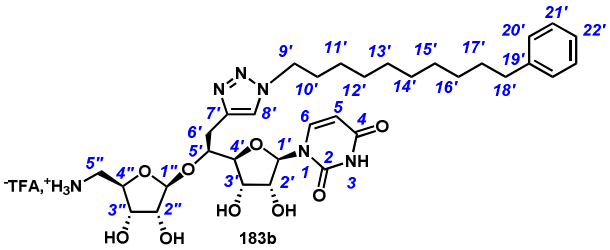
To a solution of triazole **181a-h** or **182a-h** (1 equiv), in MeOH (700 µL), was added dropwise an ethanolic solution of methylamine (8.03 M, 400 equiv). The solution was stirred at r.t. for 5 h and volatiles were removed *in vacuo*. To the crude residue was added pure H_2O (700 µL) and the resulting suspension was cooled to 0 °C. At 0 °C, TFA (2 mL) was added dropwise. The pale yellow resulting solution was stirred at 0°C for 10 min and then at r.t. for 18 h and then concentrated to dryness. The residue was then purified by semi-preparative HPLC to give the corresponding fully deprotected tetrols **183a-h** or **184a-h**. Yields were given after 2 steps and purification by semi preparative HPLC. Unless indicated, elution conditions were: Column: C-18 Stability, flow: 15 mL/min, isocratic gradient of MeOH/H_2O, TFA 0,1%, 40/60 to 90/10 in 12 min then 90/10 for 5 min.

Compound 183a.



Compound **183a** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181a** (60 mg, 0.059 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **183a** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white powder, 25.8 mg, 62% yield): m.p. 138-140 °C; $[\alpha]_D$ + 17 (*c* 0.2, MeOH); IR (film) 2383*m*, 1715*s*, 1698*s*, 1226*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD), δ 7.83 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.79 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.71 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.16 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.37 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 4.16-4.08 (m, 4H, $H_{2'}$, $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{4''}$), 4.02 (dd, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.0 Hz, $J_{H3''-H4''}$ = 7.0 Hz, $H_{3''}$), 3.98 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.0 Hz, $H_{2''}$), 3.91 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 3.29-3.27 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.24 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 8.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.17 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 2.98 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.88 (qt, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = $J_{H10'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{10'}$), 1.34-1.26 (m, 14H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, $H_{17'}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.0 Hz, $H_{18'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.3 (C_2), 144.8 ($C_{7'}$), 142.3 (C_6), 125.1 ($C_{8'}$), 110.9 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.6 ($C_{1'}$), 85.5 ($C_{3''}$), 80.1 ($C_{4''}$), 79.7 ($C_{4'}$), 76.5 ($C_{2''}$), 75.8 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{5'}$), 71.5 ($C_{3'}$), 51.5 ($C_{9'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 33.2, 31.5, 30.8, 30.7, 30.5, 30.2, 29.8, 27.6, 23.9 ($C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$), 14.6 ($C_{18'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{45}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 597.3243 found, 597.3248.

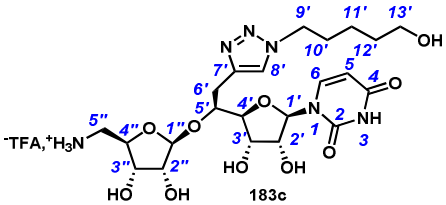
Compound 183b.



Compound **183b** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181b** (25.6 mg, 0.023 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **183b** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 9.7 mg, 53% yield): m.p. 129-132 °C; $[\alpha]_D$ + 14 (*c* 0.1, MeOH); IR (film) 2923*br*, 2852*br*, 2301*w*, 1699*s*, 1592*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD), δ 7.83 (s, 1H,

$H_{8'}$), 7.79 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6),7.24-7.22 (m, 2H, $H_{20'}$), 7.16-7.11 (m, 3H, $H_{21'}$, $H_{22'}$), 5.78 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.16 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.37 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 4.15-4.08 (m, 4H, $H_{2'}$, $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{4''}$), 4.01 (dd, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 4.5 Hz, $J_{H3''-H4''}$ = 7.0 Hz, $H_{3''}$), 3.97 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 4.5 Hz, $H_{2''}$), 3.91 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 3.30-3.25 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.25 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 8.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.16 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 2.98 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.59 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 1.87 (qt, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = $J_{H10'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{10'}$), 1.63-1.57 (m, 2H, $H_{17'}$), 1.35-1.25 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.3 (C_2), 144.8 ($C_{7'}$), 144.1 ($C_{19'}$), 142.3 (C_6), 129.5 ($C_{21'}$), 129.4 ($C_{20'}$), 126.8 ($C_{22'}$), 125.1 ($C_{8'}$), 111.0 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.7 ($C_{1'}$), 85.5 ($C_{3''}$), 80.2 ($C_{4''}$), 79.7 ($C_{4'}$), 76.5 ($C_{2''}$), 75.8 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{5'}$), 71.5 ($C_{3'}$), 51.5 ($C_{9'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 37.1 ($C_{18'}$), 32.9 ($C_{17'}$), 31.4 ($C_{10'}$), 30.7, 30.6, 30.6, 30.6, 30.4, 30.2, 29.8, 27.6 ($C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{33}H_{49}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 673.3556 found, 673.3544.

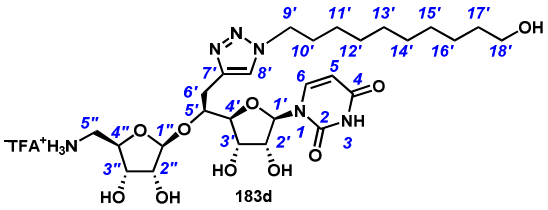
Compound 183c.



Compound **183c** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181c** (35.4 mg, 0.036 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **183c** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 9.2 mg, 38% yield): m.p. 121-125 °C; $[\alpha]_D$ + 16 (*c* 0.2, MeOH); IR (film) 2911*br*, 2842*br*, 2319*w*, 1699*s*, 1552*w*; ^{1}H NMR (CD_3OD), δ 7.84 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.79 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.71 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.15 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.41-4.36 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.16-4.07 (m, 4H, $H_{2'}$, $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{4''}$), 4.02-3.99 (m, 1H, $H_{3''}$), 3.98-3.97 (m, 1H, $H_{2''}$), 3.91 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 3.54 (t, 2H, $J_{H13'-H12'}$ = 6.5 Hz, $H_{13'}$), 3.29-3.27 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.24 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 8.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.16 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 6.0 Hz, $H_{6'b}$), 3.02-2.94 (m, 1H, $H_{5''b}$), 1.96-1.88 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.82-1.76 (m, 1H, $H_{11'a}$), 1.58-1.52 (m, 1H, $H_{11'b}$), 1.42-1.33 (m, 2H, $H_{12'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.3 (C_4), 152.3 (C_2), 144.9 ($C_{7'}$), 142.3 (C_6), 125.2 ($C_{8'}$), 110.9 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.7 ($C_{1'}$), 85.4 ($C_{3''}$), 80.1 ($C_{4''}$), 79.7 ($C_{4'}$), 76.5 ($C_{2''}$), 75.8 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{5'}$), 71.5 ($C_{3'}$), 62.7 ($C_{13'}$), 51.5 ($C_{9'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 33.0 ($C_{12'}$),

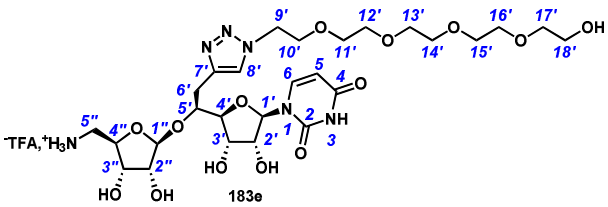
31.2 ($C_{11'}$), 29.8 ($C_{6'}$), 24.0 ($C_{10'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{22}H_{35}N_6O_{10}^+$ (M + H)$^+$ 543.2409 found, 543.2396.

Compound 183d.



Compound **183d** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181d** (40.3 mg, 0.039 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **183d** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 18.3 mg, 65% yield): m.p. 127-132 °C; $[\alpha]_D$ + 14 (*c* 0.1, MeOH); IR (film) 2919*br*, 2301*br*, 1699*s*, 1697*s*, 1540*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD), δ 7.83 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.78 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.16 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.37 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 4.16-4.08 (m, 4H, $H_{2'}$, $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{4''}$), 4.02 (dd, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 4.5 Hz, $J_{H3''-H4''}$ = 7.0 Hz, $H_{3''}$), 3.97 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 4.5 Hz, $H_{2''}$), 3.91 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.0 Hz, $H_{3'}$), 3.54 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.0 Hz, $H_{18'}$), 3.29-3.27 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.24 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 7.5 Hz, $H_{6'a}$), 3.16 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'b}$), 2.98 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 1.88 (qt, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = $J_{H10'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{10'}$), 1.52 (qt, 2H, $J_{H17'-H18'}$ = $J_{H17'-H16'}$ = 7.0 Hz, $H_{17'}$), 1.38-1.26 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.3 (C_2), 144.8 ($C_{7'}$), 142.3 (C_6), 125.2 ($C_{8'}$), 111.0 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.7 ($C_{1'}$), 85.5 ($C_{3''}$), 80.1 ($C_{4''}$), 79.7 ($C_{4'}$), 76.5 ($C_{2''}$), 75.8 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{5'}$), 71.5 ($C_{3'}$), 63.1 ($C_{18'}$), 51.5 ($C_{9'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 33.8, 31.4, 30.7, 30.6, 30.6, 30.2, 29.8, 27.6, 27.1 ($C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{45}N_6O_{10}^+$ (M + H)$^+$ 613.3192 found, 613.3178.

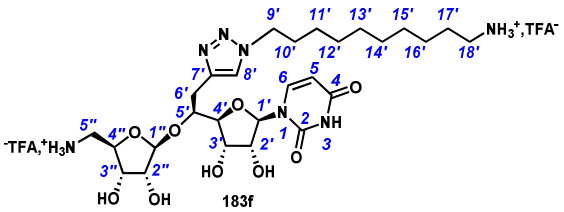
Compound 183e.



Compound **183e** was synthesized ccording to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181e** (21.2 mg, 0.019 mmol). After

semi-preparative HPLC (method: isocratic flow, 15 mL/min, H_2O-TFA 0.1%/MeOH 100/0 to 40/60 in 60 min) and lyophilisation, **183e** was obtained as an ammonium ditrifluoroacetate salt (white foam, 7.9 mg, 52% yield): $[\alpha]_D$ + 19 (*c* 0.1, H_2O); IR (film) 3384*br*, 2951*br*, 1685*s*, 1258*m*; ^{1}H NMR (D_2O+ 50 µL CD_3OD, 500 MHz), δ 7.96 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.78 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.88 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 3.5 Hz, $H_{1'}$), 5.21 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.61 (t, 2H, $J_{H9'\text{-}H10'}$ = 5.0 Hz, $H_{9'}$), 4.31 (t, 1H, $J_{H2'\text{-}H1'}$ = $J_{H2'\text{-}H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{2'}$), 4.25 (t, 1H, $J_{H3'\text{-}H2'}$ = $J_{H3'\text{-}H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.21 (ddd, 1H, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'a}$ = 7.0 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'b}$ = 6.0 Hz, $H_{5'}$), 4.14-4.72 (m, 3H, $H_{2''}$, $H_{3''}$, $H_{4''}$), 3.98 (dd, 1H, $J_{H4'\text{-}H5'}$ = 5.5 Hz, $J_{H4'\text{-}H3'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 3.95 (t, 2H, $J_{H10'\text{-}H9'}$ = 5.0 Hz, $H_{10'}$), 3.72-3.61 (m, 16H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, $H_{17'}$, $H_{18'}$), 3.36-3.34 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.22 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 7.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.21 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 6.0 Hz, $H_{6'b}$), 2.93 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$); ^{13}C NMR (D_2O+ 50 µL CD_3OD) δ 167.2 (C_4), 164.0 (CO-TFA), 152.5 (C_2), 140.1 ($C_{7'}$), 142.9 (C_6), 126.4 ($C_{8'}$), 109.8 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 91.1 ($C_{1'}$), 84.9 ($C_{4'}$), 79.3 ($C_{2''}$), 78.9 ($C_{5'}$), 75.6 ($C_{3''}$), 74.8 ($C_{2'}$), 73.2 ($C_{4''}$), 72.8, 70.8, 70.8, 70.7, 70.7, 70.7, 70.6, 70.6 (C_{PEG}, $C_{3'}$), 69.9 ($C_{10'}$), 61.5 ($C_{9'}$), 43.9 ($C_{5''}$), 29.1 ($C_{6'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{45}N_6O_{14}^+$ $(M + H)^+$ 677.2988 found, 677.2999.

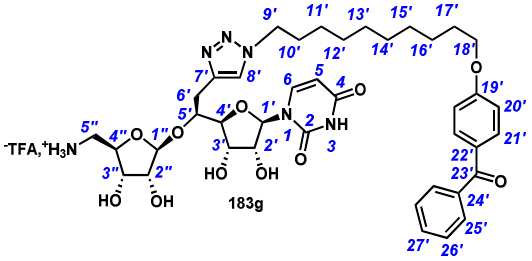
Compound 183f.



Compound **183f** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181f** (37.5 mg, 0.032 mmol). After semi-preparative HPLC (method: isocratic flow, 15 mL/min, H_2O-TFA 0.1%/MeOH 90/10 to 40/60 in 60 min) and lyophilisation, **183f** was obtained as an ammonium ditrifluoroacetate salt (white foam, 11.1 mg, 41% yield): $[\alpha]_D$ + 8 (*c* 0.1, H_2O); IR (film) 3265*br*, 2942*br*, 1683*s*, 1487*m*, 1273*m,* 1138*s*; ^{1}H NMR (D_2O / CD_3OD = 1/1), δ 7.84 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.76 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 5.82 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.76 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.20 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.37 (t, 2H, $J_{H9'\text{-}H10'}$ = 7.5 Hz, $H_{9'}$), 4.21-4.13 (m, 4H, $H_{2'}$, $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{4''}$), 4.09-4.02 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.97-3.93 (m, 1H, $H_{3'}$), 3.37-3.34 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.25-3.17 (m, 2H, $H_{6'a}$, $H_{6'b}$), 3.02-2.98 (m, 1H, $H_{5''b}$), 2.95 (t, 2H, $J_{H18'\text{-}H17'}$ = 7.0 Hz, $H_{18'}$), 1.87-1.80 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.65-1.62 (m, 2H, $H_{17'}$), 1.39-1.12 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$); ^{13}C NMR (D_2O / CD_3OD = 1/1) δ 166.7 (C_4), 163.5 (CO-TFA), 152.3 (C_2), 144.5 ($C_{7'}$), 142.5

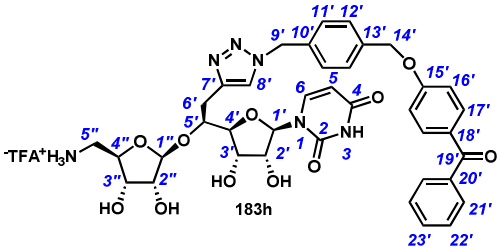
(C_6), 125.5 ($C_{8'}$), 111.4 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 91.1 ($C_{1'}$), 85.4 ($C_{3''}$), 79.6 ($C_{4''}$), 79.2 ($C_{4'}$), 76.0 ($C_{2''}$), 75.2 ($C_{2'}$), 73.5 ($C_{5'}$), 71.1 ($C_{3'}$), 51.4 ($C_{9'}$), 43.9 ($C_{5''}$), 40.8 ($C_{17'}$), 30.8, 30.0, 29.9, 29.7, 29.6, 29.5, 28.2, 27.1, 27.0 ($C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{45}N_7O_9^+$ $(M + H)^+$ 612.3352 found, 612.3357.

Compound 183g.



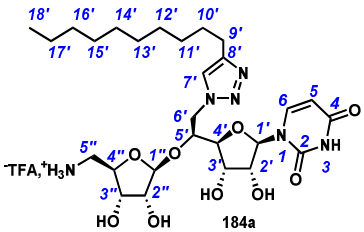
Compound **183g** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181g** (47 mg, 0.039 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **183g** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white powder, 24 mg, 69% yield): m.p. 132-136 °C; $[\alpha]_D$ + 8 (*c* 0.2, MeOH); IR (film) 2741*w*, 2383*m*, 1698*s*, 1598*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD), 7.83 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.79-7.76 (m, 3H, $H_{21'}$, H_6), 7.72-7.69 (m, 2H, $H_{25'}$), 7.63-7.59 (m, 1H, $H_{27'}$), 7.53-7.49 (m, 2H, $H_{26'}$), 7.04-7.01 (m, 2H, $H_{20'}$), 5.79 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.70 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.16 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.36 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.0 Hz, $H_{9'}$), 4.15-4.06 (m, 6H, $H_{2'}$, $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{18'}$, $H_{4''}$), 4.02 (dd, 1H, $J_{H3''-H2''}$ = 5.5 Hz, $J_{H3''-H4''}$ = 7.0 Hz, $H_{3''}$), 3.97 (d, 1H, $J_{H2''-H3''}$ = 5.5 Hz, $H_{2''}$), 3.91 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 3.29-3.27 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.24 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 8.0 Hz, $H_{6'a}$), 3.16 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 2.99 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 1.87 (qt, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = $J_{H10'-H11'}$ = 7.0 Hz, $H_{10'}$), 1.80 (qt, 2H, $J_{H17'-H18'}$ = $J_{H17'-H16'}$ = 7.0 Hz, $H_{17'}$), 1.52-1.46 (m, 2H, $H_{16'}$), 1.40-1.25 (m, 10H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.8 ($C_{23'}$), 166.2 (C_4), 164.8 ($C_{19'}$), 152.3 (C_2), 144.8 ($C_{7'}$), 142.3 (C_6), 139.7 ($C_{24'}$), 133.8 ($C_{21'}$), 133.4 ($C_{27'}$), 131.0 ($C_{22'}$), 130.8 ($C_{25'}$), 129.6 ($C_{26'}$), 125.2 ($C_{8'}$), 115.4 ($C_{20'}$), 111.0 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.6 ($C_{1'}$), 85.5 ($C_{4'}$), 80.5 ($C_{2''}$), 79.7 ($C_{4''}$), 76.5 ($C_{2'}$), 75.8 ($C_{3''}$), 73.9 ($C_{3'}$), 71.5 ($C_{5'}$), 69.6 ($C_{18'}$), 50.4 ($C_{9'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 31.4, 30.6, 30.6, 30.5, 30.3, 30.2, 29.9, 27.6, 27.2 ($C_{6'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{40}H_{53}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 793.3767, found 793.3768.

Compound 183h.



Compound **183h** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **181h** (56 mg, 0.047 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **183h** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white powder, 26 mg, 64% yield): m.p. 137-140 °C; $[\alpha]_D$ + 21 (*c* 0.2, MeOH); IR (film) 2922*br*, 1714*s*, 1276*m*, 1260*m*, 830*w*; ^{1}H NMR (CD_3OD), 7.88 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.79-7.77 (m, 2H, $H_{17'}$), 7.71-7.62 (m, 3H, H_6, $H_{21'}$), 7.64 (t, 1H, $J_{H23'-H22'}$ = 7.5 Hz, $H_{23'}$), 7.53 (t, 2H, $J_{H22'-H23'}$ = $J_{H22'-H21'}$ = 7.5 Hz, $H_{22'}$), 7.46 (d, 2H, $J_{H11'-H12'}$ = 8.0 Hz, $H_{11'}$), 7.34 (d, 2H, $J_{H12'-H11'}$ = 8.0 Hz, $H_{12'}$), 7.13-7.10 (m, 2H, $H_{16'}$), 5.71-5.69 (m, 2H, H_5, $H_{1'}$), 5.60 (d, 1H, $J_{H9'a-H9'b}$ = 15.0 Hz, $H_{9'a}$), 5.57 (d, 1H, $J_{H9'b-H9'a}$ = 15.0 Hz, $H_{9'b}$), 5.20 (s, 2H, $H_{14'}$), 5.16 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.15-4.09 (m, 4H, $H_{2'}$, $H_{3'}$, $H_{5'}$, $H_{4''}$), 4.00-3.93 (m, 3H, $H_{2''}$, $H_{3''}$, $H_{4'}$), 3.27-3.23 (m, 2H, $H_{5''a}$, $H_{6'a}$), 3.16 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 14.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 5.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.92 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 9.5 Hz, $H_{6'b}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 198.4 ($C_{19'}$), 166.4 (C_4), 164.2 ($C_{15'}$), 152.3 (C_2), 145.3 ($C_{7'}$), 142.3 (C_6), 139.3 ($C_{20'}$), 138.6 ($C_{13'}$), 136.7 ($C_{10'}$), 133.9 ($C_{17'}$), 133.7 ($C_{23'}$), 131.4 ($C_{18'}$), 130.8 ($C_{21'}$), 129.7 ($C_{22'}$), 129.5 ($C_{11'}$), 129.4 ($C_{12'}$), 125.6 ($C_{8'}$), 115.6 ($C_{16'}$), 110.8 ($C_{1''}$), 102.6 (C_5), 91.6 ($C_{1'}$), 85.7 ($C_{3''}$), 80.0 ($C_{4''}$), 79.4 ($C_{4'}$), 79.4 ($C_{2''}$), 75.6 ($C_{2'}$), 73.7 ($C_{5'}$), 71.4 ($C_{3'}$), 70.9 ($C_{14'}$), 54.8 ($C_{9'}$), 44.1 ($C_{5''}$), 29.9 ($C_{6'}$); HRMS ESI$^+$ Calcd for $C_{38}H_{41}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 757.2828, found 758.2808.

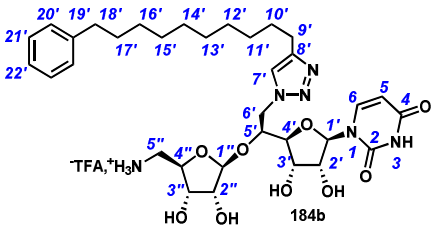
Compound 184a.



Compound **184a** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from reverse triazole **182a** (35.2 mg, 0.034 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **184a** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white powder, 13.3 mg, 56% yield): m.p. 142-146 °C; $[\alpha]_D$ + 21 (*c* 0.4, MeOH); IR (film) 2926*m*, 1677*s*, 1465*w*, 1202*m*, 1134*m*, 801*w*; ^{1}H NMR (CD_3OD), δ 7.79 (s,

1H, $H_{7'}$), 7.65 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.74 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.5 Hz, $H_{1'}$), 5.69 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.14 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.80 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 6.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.70 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 6.0 Hz, $H_{6'b}$), 4.32 (dt, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 6.0 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 6.0 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.18-4.15 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{3'}$), 4.06 (ddd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 2.5 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.5 Hz, $J_{H4''-H3''}$ = 7.0 Hz, $H_{4''}$), 3.96-3.91 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.23 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 2.98 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.69 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.5 Hz, $H_{9'}$), 1.68-1.62 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.37-1.26 (m, 14H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$, $H_{17'}$), 0.89 (t, 3H, $J_{H18'-H7'}$ = 6.5 Hz, $H_{18'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 162.5 (CO-TFA), 152.2 (C_2), 149.5 ($C_{8'}$), 142.4 (C_6), 125.1 ($C_{7'}$), 110.9 ($C_{1''}$), 102.7 (C_5), 92.5 ($C_{1'}$), 84.7 ($C_{4'}$), 80.2 ($C_{4''}$), 78.4 ($C_{5'}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.4 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{3''}$), 71.4 ($C_{3'}$), 52.6 ($C_{6'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 33.2, 30.9, 30.8, 30.8, 30.6, 30.4, 26.4, 23.9 ($C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$), 14.6 ($C_{18'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{45}N_6O_9^+$ (M + H)$^+$ 597.3243 found, 597.3254.

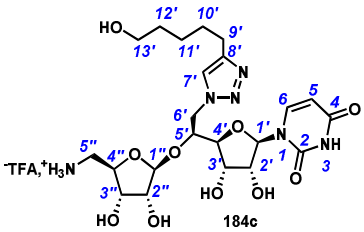
Compound 184b.



Compound **184b** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from reverse triazole **182b** (30.0 mg, 0.027 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **184b** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 11.2 mg, 52% yield): m.p. 132-135 °C; $[\alpha]_D$ + 14 (*c* 0.1, MeOH); IR (film) 2926*br*, 2855*br*, 2303*w*, 1697*s*, 1594*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.79 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.65 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 7.24-7.22 (m, 2H, $H_{20'}$), 7.16-7.11 (m, 3H, $H_{21'}$, $H_{22'}$), 5.74 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.69 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.14 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.80 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'a}$), 4.70 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.32 (dt, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.18-4.15 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{3'}$), 4.06 (ddd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 3.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.5 Hz, $J_{H4''-H3''}$ = 7.0 Hz, $H_{4''}$), 3.96-3.92 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.23 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 3.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.99 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.69 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.5 Hz, $H_{9'}$), 2.59 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 7.5 Hz, $H_{18'}$), 1.67-1.57 (m, 4H, $H_{10'}$, $H_{17'}$), 1.37-1.23 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.2 (C_2), 149.5 ($C_{8'}$), 144.1 ($C_{19'}$), 142.4 (C_6), 129.5 ($C_{21'}$), 129.4 ($C_{20'}$), 126.8 ($C_{22'}$), 125.1 ($C_{7'}$), 110.9 ($C_{1''}$),

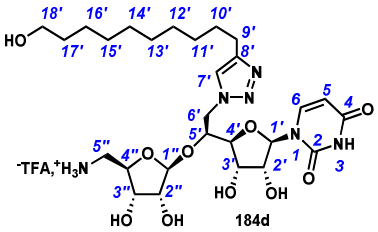
102.7 (C_5), 92.4 ($C_{1'}$), 84.8 ($C_{4'}$), 80.2 ($C_{4''}$), 78.4 ($C_{5'}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.4 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{3''}$), 71.4 ($C_{3'}$), 52.6 ($C_{6'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 37.1 ($C_{18'}$), 32.9 ($C_{17'}$), 30.8, 30.8, 30.7, 30.7, 30.6, 30.5, 30.3, 26.4 ($C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{33}H_{49}N_6O_9^+$ (M + H)$^+$ 673.3556 found, 673.3552.

Compound 184c.



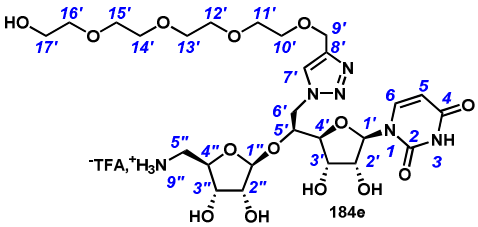
Compound **184c** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from reverse triazole **182c** (35.1 mg, 0.036 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **184b** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 8.0 mg, 34% yield): m.p. 130-134 °C; $[\alpha]_D$ + 13 (*c* 0.2, MeOH); IR (film) 2914*br*, 2843*br*, 2317*w*, 1692*s*, 1552*w*; ^{1}H NMR (CD_3OD), δ 7.81 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.66 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.76 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.69 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.14 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.78 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 6.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.70 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 8.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.34-4.31 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.18-4.16 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{3'}$), 4.05 (ddd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 3.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 9.5 Hz, $J_{H4''-H3''}$ = 7.0 Hz, $H_{4''}$), 3.96-3.91 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.55 (t, 2H, $J_{H13'-H12'}$ = 6.5 Hz, $H_{13'}$), 3.23 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 3.0 Hz, $H_{5''a}$), 2.97 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.71 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.5 Hz, $H_{9'}$), 1.68 (qt, 2H, $J_{H10'-H9'}$ = $J_{H10'-H11'}$ = 7.5 Hz, $H_{10'}$), 1.56 (qt, 2H, $J_{H12'-H13'}$ = $J_{H12'-H11'}$ = 6.5 Hz, $H_{12'}$), 1.45-1.39 (m, 2H, $H_{11'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.2 (C_2), 149.4 ($C_{8'}$), 142.4 (C_6), 125.2 ($C_{7'}$), 110.8 ($C_{1''}$), 102.8 (C_5), 92.4 ($C_{1'}$), 84.7 ($C_{4'}$), 80.2 ($C_{4''}$), 78.4 ($C_{5'}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.4 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{3''}$), 71.4 ($C_{3'}$), 63.2 ($C_{13'}$), 52.6 ($C_{6'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 33.4 ($C_{12'}$), 30.5 ($C_{10'}$), 26.6 ($C_{11'}$), 26.4 ($C_{9'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{22}H_{35}N_6O_{10}^+$ (M + H)$^+$ 544.2409 found, 543.2399.

Compound 184d.



Compound **184d** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from reverse triazole **182d** (34.1 mg, 0.033 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **184d** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 10.0 mg, 42% yield): m.p. 126-129 °C; $[\alpha]_D$ + 15 (*c* 0.1, MeOH); IR (film) 2914*br*, 2851*br*, 2300*m*, 1731*s*, 1259*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD), δ 7.79 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.65 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.75 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.69 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.14 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.79 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'a}$), 4.70 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 14.0 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.32 (dt, 1H, $J_{H5'-H6'a}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'-H6'b}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.18-4.15 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{3'}$), 4.06 (ddd, 1H, $J_{H4''-H5''a}$ = 3.0 Hz, $J_{H4''-H5''b}$ = 10.0 Hz, $J_{H4''-H3''}$ = 6.5 Hz, $H_{4''}$), 3.96-3.92 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.53 (t, 2H, $J_{H18'b-H17'}$ = 6.5 Hz, $H_{18'}$), 3.24 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 3.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.00 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.69 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 7.5 Hz, $H_{9'}$), 1.68-1.62 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.52 (qt, 2H, $J_{H17'-H18'}$ = $J_{H17'-H16'}$ = 6.5 Hz, $H_{17'}$), 1.38-1.26 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16''}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 166.2 (C_4), 152.2 (C_2), 149.5 ($C_{8'}$), 142.4 (C_6), 125.1 ($C_{7'}$), 110.9 ($C_{1''}$), 102.7 (C_5), 92.4 ($C_{1'}$), 84.7 ($C_{4'}$), 80.2 ($C_{4''}$), 78.4 ($C_{5'}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.4 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{3''}$), 71.4 ($C_{3'}$), 63.2 ($C_{18'}$), 52.6 ($C_{6'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 33.8 ($C_{17'}$), 30.9, 30.7, 30.7, 30.6, 30.3, 27.1, 26.4 ($C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{45}N_6O_{10}^+$ $(M + H)^+$ 613.3192 found, 613.3181.

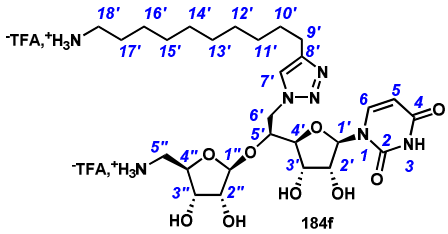
Compound 184e.



Compound **184e** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **182e** (19.7 mg, 0.018 mmol). After semi-preparative HPLC (method: isocratic flow, 15 mL/min, H_2O-TFA 0.1%/MeOH 100/0 to 60/40 in 50 min) and lyophilisation, **184e** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt

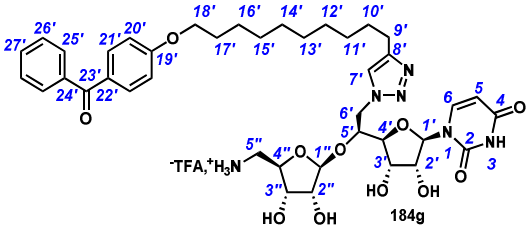
(white foam, 9.7 mg, 69% yield): $[\alpha]_D$ + 12 (*c* 0.1, MeOH); IR (film) 3058*br*, 2931*br*, 1687*s*, 1462*m*; ^{1}H NMR (D_2O + 50 µL CD_3OD), δ 8.12 (s, 1H, $H_{8'}$), 7.66 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.5 Hz, H_6), 5.85 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H_5), 5.75 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.16 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.84 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 15.0 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 5.0 Hz, $H_{6'a}$), 4.70-4.69-4.64 (m, 3H, $H_{6'b}$, $H_{9'}$), 4.45-4.42 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.30 (dd, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $J_{H2'-H3'}$ = 5.5 Hz), 4.27 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 5.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 4.5 Hz), 4.11-4.02 (m, 4H, $H_{4'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$, $H_{4''}$), 3.72-3.61 (m, 14H, $H_{10'}$, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16'}$), 3.30-3.29 (m, 3H, $H_{5''a}$, $H_{17'}$), 2.91 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 9.0 Hz, $H_{5''b}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 167.2 (C_4), 152.3 (C_2), 145.0 ($C_{8'}$), 142.7 (C_6), 127.5 ($C_{7'}$), 110.1 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 91.5 ($C_{1'}$), 84.4 ($C_{4'}$), 79.4 ($C_{4''}$), 77.9 ($C_{5'}$), 75.7 ($C_{2''}$), 74.6 ($C_{2'}$), 73.0 ($C_{3''}$), 72.9 (CH_{2PEG}), 70.9 ($C_{3'}$), 70.8, 70.7, 70.7, 70.6, 70.6, 70.2 (CH_{2PEG}), 64.2 ($C_{9'}$), 61.5 (CH_{2PEG}), 52.7 ($C_{6'}$), 43.8 ($C_{5''}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{26}H_{43}N_6O_{14}^+$ $(M + H)^+$ 663.2832 found, 663.2842.

Compound 184f.



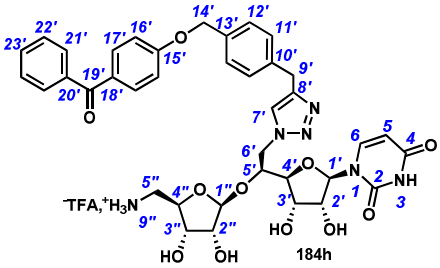
Compound **184f** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **182f** (37.5 mg, 0.032 mmol). After semi-preparative HPLC (method: isocratic flow, 15 mL/min, H_2O-TFA 0.1%/MeOH 100/0 to 60/40 in 50 min) and lyophilisation, **184f** was obtained as an ammonium ditrifluoroacetate salt (white foam, 12.2 mg, 45% yield): $[\alpha]_D$ + 9 (*c* 0.1, H_2O); IR (film) 3384*br*, 2951*br*, 1685*s*, 1258*m*; ^{1}H NMR (D_2O : CD_3OD = 1:1), δ 7.79 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.55 (d, 1H, J_{H6-H5} = 7.5 Hz, H_6), 5.78 (d, 1H, J_{H5-H6} = 7.5 Hz, H_5), 5.72 (sl, 1H, $H_{1'}$), 5.19 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.87-4.83 (m, 2H, $H_{6'a}$, $H_{6'b}$), 4.37-4.32 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.24-4.11 (m, 3H, $H_{2'}$, $H_{3'}$, $H_{4''}$), 4.08-3.98 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.37-3.34 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.14-3.11 (m, 1H, $H_{5''b}$), 2.95 (t, 2H, $J_{H9'-H10'}$ = 6.5 Hz, $H_{9'}$), 2.66 (t, 2H, $J_{H18'-H17'}$ = 6.5 Hz, $H_{18'}$), 1.68-1.62 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.59-1.54 (m, 2H, $H_{17'}$), 1.41-1.24 (m, 12H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$, $H_{16''}$); ^{13}C NMR (D_2O : CD_3OD = 1:1) δ 166.7 (C_4), 163.5 (CO-TFA), 152.2 (C_2), 149.2 ($C_{8'}$), 142.3 (C_6), 125.7 ($C_{7'}$), 110.6 ($C_{1''}$), 102.8 (C_5), 91.4 ($C_{1'}$), 84.9 ($C_{4'}$), 79.8 ($C_{4''}$), 77.9 ($C_{5'}$), 76.0 ($C_{2''}$), 74.9 ($C_{2'}$), 73.3 ($C_{3''}$), 71.3 ($C_{3'}$), 52.9 ($C_{6'}$), 43.7 ($C_{5''}$), 40.7 ($C_{18'}$), 30.1, 30.1, 30.0, 29.9, 29.7, 29.5, 28.2, 27.1, 25.7 ($C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{27}H_{45}N_7O_9^+$ $(M + H)^+$ 612.3352 found, 612.3361.

Compound 184g.



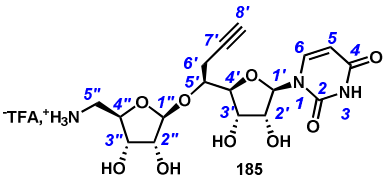
Compound **184g** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **182g** (30.0 mg, 0.025 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **184g** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 14.3 mg, 64% yield): m.p. 135-138 °C; $[\alpha]_D$ + 10 (*c* 0.2, MeOH); IR (film) 2921*br*, 2304*br*, 1731*s*, 1699*s*, 1540*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.79-7.77 (m, 3H, $H_{7'}$, $H_{21'}$), 7.73-7.70 (m, 2H, $H_{25'}$), 7.65 (d, 1H, $J_{H6\text{-}H5}$ = 8.0 Hz, H_6), 7.63-7.60 (m, 1H, $H_{27'}$), 7.53-7.50 (m, 2H, $H_{26'}$), 7.05-7.02 (m, 2H, $H_{20'}$), 5.75 (d, 1H, $J_{H1'\text{-}H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.68 (dd, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 8.0 Hz, H_5), 5.15 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.79 (dd, 1H, $J_{H6'a\text{-}H6'b}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'a\text{-}H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'a}$), 4.70 (dd, 1H, $J_{H6'b\text{-}H6'a}$ = 14.5 Hz, $J_{H6'b\text{-}H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 4.32 (dt, 1H, $J_{H5'\text{-}H6'a}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H6'b}$ = 5.5 Hz, $J_{H5'\text{-}H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{5'}$), 4.18-4.15 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{3'}$), 4.98-4.05 (m, 3H, $H_{18'}$, $H_{4''}$), 3.96-3.90 (m, 3H, $H_{4'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 3.24 (dd, 1H, $J_{H5''a\text{-}H5''b}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''a\text{-}H4''}$ = 2.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.01 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$), 2.69 (t, 2H, $J_{H9'\text{-}H10'}$ = 7.5 Hz, $H_{9'}$), 1.81 (qt, 2H, $J_{H17'\text{-}H18'}$ = $J_{H17'\text{-}H16'}$ = 7.5 Hz, $H_{17'}$), 1.68-1.62 (m, 2H, $H_{10'}$), 1.49 (qt, 2H, $J_{H16'\text{-}H17'}$ = $J_{H16'\text{-}H15'}$ = 7.5 Hz, $H_{16'}$), 1.37-1.23 (m, 10H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{13'}$, $H_{14'}$, $H_{15'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 197.9 ($C_{23'}$), 166.2 (C_4), 164.8 ($C_{19'}$), 152.2 (C_2), 149.4 ($C_{8'}$), 142.4 (C_6), 139.7 ($C_{24'}$), 133.8 ($C_{21'}$), 133.4 ($C_{27'}$), 131.1 ($C_{21'}$), 130.8 ($C_{25'}$), 129.6 ($C_{26'}$), 125.1 ($C_{7'}$), 115.4 ($C_{20'}$), 110.9 ($C_{1''}$), 102.7 (C_5), 92.4 ($C_{1'}$), 84.8 ($C_{4'}$), 80.2 ($C_{4''}$), 78.4 ($C_{5'}$), 76.4 ($C_{2''}$), 75.4 ($C_{2'}$), 73.9 ($C_{3''}$), 71.4 ($C_{3'}$), 69.6 ($C_{18'}$), 52.6 ($C_{6'}$), 44.3 ($C_{5''}$), 30.8, 30.8, 30.7, 30.7, 30.7, 30.5, 30.4, 30.3, 27.2, 26.4 ($C_{9'}$, $C_{10'}$, $C_{11'}$, $C_{12'}$, $C_{13'}$, $C_{14'}$, $C_{15'}$, $C_{16'}$, $C_{17'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{40}H_{53}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 793.3767 found, 793.3750.

Compound 184h.



Compound **184h** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from reverse triazole **182h** (21.0 mg, 0.018 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **184h** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white foam, 11.3 mg, 72% yield): m.p. 156-158 °C; $[\alpha]_D$ + 13 (*c* 0.1, MeOH); IR (film) 2925*br*, 2301*br*, 1731*s*, 1691*s*, 1542*m*; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7.67 (s, 1H, $H_{7'}$), 7.54-7.46 (m, 4H, $H_{17'}$, $H_{21'}$), 7.39-7.33 (m, 2H, H_6, $H_{23'}$), 7.20-7.06 (m, 6H, $H_{11'}$, $H_{12'}$, $H_{22'}$), 6.87-6.80 (m, 2H, $H_{16'}$), 5.57 (d, 1H, $J_{H5\text{-}H6}$ = 7.0 Hz, H_5), 5.50 (br s, 1H, $H_{1'}$), 5.18 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.99-4.92 (m, 2H, $H_{9'}$), 4.89-4.85 (m, 1H, $H_{6'a}$), 4.69-4.62 (m, 3H, $H_{6'b}$, $H_{14'}$), 4.33-4.30 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.16-4.11 (m, 3H, $H_{2'}$, $H_{3'}$, $H_{4''}$), 4.04-4.92 (m, 1H, $H_{3''}$), 3.99-3.97 (m, 1H, $H_{2''}$), 3.91-3.87 (m, 1H, $H_{4'}$),3.35-3.32(m, 1H, $H_{5''}$), 3.12 (dd, 1H, $J_{H5''b\text{-}H5''a}$ = 13.0 Hz, $J_{H5''b\text{-}H4''}$ = 10.0 Hz, $H_{5''b}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 190.9 ($C_{19'}$), 166.7 (C_4), 164.0 ($C_{15'}$), 163.5 (CO-TFA), 151.9 (C_2), 147.6 ($C_{8'}$), 141.6 (C_6), 140.1 ($C_{20'}$), 138.3 ($C_{13'}$), 135.6 ($C_{10'}$), 135.2 ($C_{17'}$), 133.6 ($C_{23'}$), 130.5 ($C_{18'}$), 130.4 ($C_{21'}$), 129.7 ($C_{22'}$), 129.3 ($C_{11'}$), 128.8 ($C_{12'}$), 120.9 ($C_{7'}$), 116.3 ($C_{16'}$), 110.3 ($C_{1''}$), 102.5 (C_5), 90.9 ($C_{1'}$), 84.9 ($C_{3''}$), 79.6 ($C_{4''}$), 77.2 ($C_{4'}$), 75.7 ($C_{2''}$), 74.9 ($C_{2'}$), 73.0 ($C_{5'}$), 71.0 ($C_{3'}$), 70.6 ($C_{14'}$), 52.3 ($C_{6'}$), 43.6 ($C_{5''}$), 31.3 ($C_{9'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{38}H_{42}N_6O_{11}^+$ $(M + H)^+$ 757.2828 found, 757.2839.

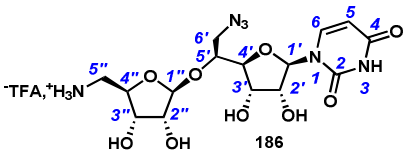
Trifluoroacetate salt of 1'',5''-Dideoxy-5''-amino-1''-[5'(S)- Acetylenylmethyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 185.



Compound **185** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from triazole **164** (50.0 mg, 0.06 mmol). After semi-preparative HPLC (method: isocratic flow, 15 mL/min, H_2O-TFA 0.1%/MeOH 100/0 to 60/40 in 50 min) and lyophilisation, **185** was obtained as an ammonium ditrifluoroacetate salt (white foam, 16.3 mg, 52% yield): m.p. 147-154 °C; $[\alpha]_D$ + 19 (*c* 0.2, H_2O); IR (film) 2925*br*,

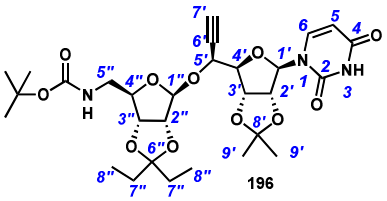
2300*w*, 1643*s*, 1436*m*, 1270*s;* ^{1}H NMR (D_2O + 50 µL CD_3OD), δ 7.82 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.86 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.81 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 4.0 Hz, $H_{1'}$), 5.20 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.28 (dd, 1H, $J_{H2'-H1'}$ = 4.0 Hz, $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $H_{2'}$), 4.26 (dd, 1H, $J_{H4'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H4'-H5'}$ = 3.5 Hz, $H_{4'}$), 4.20 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.17-4.11 (m, 2H, $H_{2''}$, $H_{4''}$), 4.08-4.03 (m, 2H, $H_{3''}$, $H_{5'}$), 3.39 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 2.0 Hz, $H_{5''a}$), 3.20 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$), 2.81-2.70 (m, 2H, $H_{6'a}$, $H_{6'b}$), 2.48-2.47 (m, 1H, $H_{8'}$); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ 167.1 (C_4), 152.4 (C_2), 142.8 (C_6), 125.2 ($C_{7'}$), 110.8 ($C_{1''}$), 102.8 (C_5), 91.2 ($C_{1'}$), 85.4 ($C_{4'}$), 81.7 ($C_{7'}$), 79.4 ($C_{4''}$), 77.9 ($C_{5'}$), 75.7 ($C_{2''}$), 74.8 ($C_{2'}$), 73.6 ($C_{3''}$), 72.9 ($C_{8'}$), 70.9 ($C_{3'}$), 44.4 ($C_{5''}$), 23.2 ($C_{6'}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{17}H_{24}N_3O_9^+$ $(M + H)^+$ 414.1507 found, 414.1513.

Trifluoroacetate salt of 1'',5''-Dideoxy-5''-amino-1''-[5'(*S*)- Azidomethyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 186.



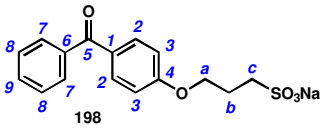
Compound **186** was synthesized according to the general procedure for phthalimide, isopentylidene and TBS groups cleavage from azide **165** (10.0 mg, 0.012 mmol). After semi-preparative HPLC and lyophilisation, **186** was obtained as an ammonium trifluoroacetate salt (white powder, 2.0 mg, 31% yield): m.p. 142-146 °C; $[\alpha]_D$ + 14 (*c* 0.1, MeOH); IR (film) 2926*m*, 2100*m*, 1610*s*, 1462*w*, 1202*m*, 1133*m*,; ^{1}H NMR (D_2O + 50 µL CD_3OD), δ 7.79 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.87 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.78 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 3.0 Hz, $H_{1'}$), 5.19 (s, 1H, $H_{1''}$), 4.30 (dd, 1H, $J_{H2'-H3'}$ = 5.0 Hz, $J_{H2'-H1'}$ = 3.0 Hz, $H_{2'}$), 4.208 (t, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = $J_{H3'-H4'}$ = 5.0 Hz, $H_{3'}$), 4.17-4.07 (m, 4H, $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$, $H_{4''}$), 3.76 (dd, 1H, $J_{H6'a-H6'b}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'a-H5'}$ = 4.5 Hz, $H_{6'a}$), 3.61 (dd, 1H, $J_{H6'b-H6'a}$ = 13.5 Hz, $J_{H6'b-H5'}$ = 5.5 Hz, $H_{6'b}$), 3.40 (dd, 1H, $J_{H5''a-H5''b}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''a-H4''}$ = 1.5 Hz, $H_{5''a}$), 3.18 (dd, 1H, $J_{H5''b-H5''a}$ = 13.5 Hz, $J_{H5''b-H4''}$ = 8.5 Hz, $H_{5''b}$); ^{13}C NMR (D_2O + 50 µL CD_3OD) δ 167.0 (C_4), 152.3 (C_2), 142.8 (C_6), 110.1 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 91.8 ($C_{1'}$), 84.5 ($C_{4'}$), 79.5 ($C_{4''}$), 78.4 ($C_{5'}$), 75.8 ($C_{2''}$), 74.7 ($C_{2'}$), 73.4 ($C_{3''}$), 70.7 ($C_{3'}$), 53.0 ($C_{6'}$), 44.1 ($C_{5''}$); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{15}H_{23}N_6O_9^+$ $(M + H)^+$ 431.1521 found, 431.1515.

1'',5''-Dideoxy-2'',3''-*O*-isopentylidene-5''-(*tert*-buyloxycarbonyl)amino-1''-[2',3'-*O*-isopropylidene-5'(S)-ethynyl-uridinyl]-β-D-ribofuranose 196.



To a solution of compound **141** (260 mg, 0.51 mmol, 1 equiv), in THF (5 mL), were successively added triethylamine (107 µL, 0.77 mmol, 1.5 equiv) and di-*tert*-butyldicarbonate (123 mg, 0.56 mmol, 1.1 equiv). The reaction mixtured was stirred at r.t. for 2.5 h and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane/EtOAc 6/4) afforded compound **196** as a white foam (259 mg, 83% yield): R_f 0.30 (Cyclohexane/EtOAc 1/1); m.p. 128-134 °C; $[\alpha]_D$ - 5 (*c* 0.5, CH_2Cl_2); IR (film) 3253*w*, 2933*m*, 1696*s*, 1514*s*, 1459*m*; ^{1}H NMR (major rotamer) δ 9.36-9.09 (m, 1H, NH), 7.31 (d, 1H, J_{H6-H5} = 8.0 Hz, H_6), 5.74 (d, 1H, J_{H5-H6} = 8.0 Hz, H_5), 5.63 (d, 1H, $J_{H1'-H2'}$ = 2.0 Hz, $H_{1'}$), 5.29 (s, 1H, $H_{1''}$), 5.00-4.97 (m, 1H, $H_{2'}$), 4.95 (dd, 1H, $J_{H3'-H2'}$ = 6.5 Hz, $J_{H3'-H4'}$ = 3.5 Hz, $H_{3'}$), 4.65-4.58 (m, 3H, $H_{5'}$, $H_{2''}$, $H_{3''}$), 4.34-4.29 (m, 2H, $H_{4'}$, $H_{4''}$), 3.48-3.40 (m, 1H, $H_{5''a}$), 3.20-3.07 (m, 1H, $H_{5''b}$), 2.65 (d, 1H, $J_{H7'-H5'}$ = 2.5 Hz, $H_{7'}$), 1.66 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.57 (s, 3H, $H_{9'}$), 1.53 (q, 2H, $J_{H7''-H8''}$ = 7.5 Hz, $H_{7''}$), 1.44 (s, 9H, -COOC($C\underline{H}_3$)$_3$), 1.36 (s, 3H, $H_{9'}$), 0.87 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$), 0.84 (t, 3H, $J_{H8''-H7''}$ = 7.5 Hz, $H_{8''}$); ^{13}C NMR δ 163.2 (C_4), 156.0 (-$\underline{C}$OOC(CH_3)$_3$), 150.2 (C_2), 142.7 (C_6), 117.0 ($C_{6''}$), 114.7 ($C_{8'}$), 109.5 ($C_{1''}$), 102.9 (C_5), 95.9 ($C_{1'}$), 89.3 ($C_{4'}$), 87.3 ($C_{2''}$), 86.4 ($C_{4''}$), 84.3 ($C_{2'}$), 82.3 ($C_{3''}$), 81.8 ($C_{3'}$), 79.6 (COO$\underline{C}$(CH_3)$_3$) 79.5 ($C_{6'}$), 76.8 ($C_{7'}$), 69.2 ($C_{5'}$), 43.6 ($C_{5''}$), 29.6, 29.1 ($C_{7''}$), 28.6 (COOC($\underline{C}H_3$)$_3$), 27.2, 25.4 ($C_{9'}$), 8.5, 7.5 ($C_{8''}$); HRMS ESI$^+$ calcd for $C_{29}H_{42}N_3O_{11}^+$ (M + H)$^+$ 608.2814, found 608.2807.

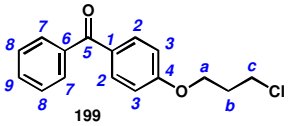
Sodium 3-*O*-*p*-Benzophenonyl-propan-1-sulfonate 198



To a suspension of 4-OH-benzophenone (2 g, 10.1 mmol, 1 equiv) in NaOH 10% m/m (10 mL) was added dropwise a solution of propane sultone (1.84 g, 15.1 mmol, 1.5 equiv) in dioxane (3 mL) the mixture was stirred at r.t. for 4 h, concentrated *in vacuo* and then lyophylised. The mixture was suspended in water (1 mL) and the crude was precipitated in acetone. The solid was washed with water (10 mL) and acetone (10 mL) to afford the sodium

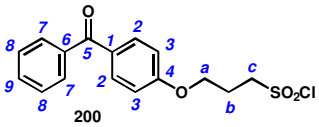
salt **198** as a pale yellow powder (1.45 g, 42%yield): ^{1}H NMR (D_2O) δ 7.68 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 8.5 Hz, H_2), 7.63 (br d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.48 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48-7.45 (m, 2H, H_8), 6.97 (d, 2H, J_{H3-H2} = 8.5 Hz, H_3), 4.17 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 6.0 Hz, H_a), 3.02 (t, 2H, J_{Hc-Hb} = 6.0 Hz, H_c), 2.17 (qt, 2H, J_{Hb-Hc} = J_{Hb-Ha} = 6.0 Hz, H_b); MS (ESI$^-$ m/z (%)) 319 $(M)^-$ (100%).

[4-(3-chloropropoxy)phenyl]-(phenyl)methanone 199



To a suspension of sodium salt **198** (300 mg, 0.87 mmol, 1 equiv) in DMF (1.5 mL), thionyl chloride was added dropwise (160 µL, 2.2 mmol, 2.5 equiv). The mixture was refluxed for 10 min, cooled to r.t. and volatiles were removed *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane / EtOAc 95/5) afforded **199** as a pale yellow oil (101 mg, 44%yield): R_f = 0.42 (Cyclohexane / EtOAc 9/1) ^{1}H NMR (250 MHz) δ 7.84 (br d, 2H, J_{H2-H3} = 8.5 Hz, H_2), 7.80 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.58 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.44 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.96 (d, 2H, J_{H3-H2} = 8.5 Hz, H_3), 4.20 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 6.0 Hz, H_a), 3.77 (t, 2H, J_{Hc-Hb} = 6.0 Hz, H_c), 2.27 (qt, 2H, J_{Hb-Hc} = J_{Hb-Ha} = 6.0 Hz, H_b); ^{13}C NMR (65 MHz) δ 195.5 (C_5), 162.3 (C_4), 138.3 (C_6), 132.6 (C_2), 131.9 (C_9), 130.4 (C_1), 129.7 (C_7), 128.2 (C_8), 114.0 (C_3), 64.5 (C_a), 41.4 (C_c), 32.1 (C_b); HRMS, ESI$^+$ Calcd for $C_{16}H_{16}ClO_2^+$ $(M + H)^+$ 275.0833 found, 275.0836.

3-(4-benzoylphenoxy)propane-1-sulfonyl chloride 200



To a suspension of sodium salt **198** (287 mg, 0.83 mmol, 1 equiv) in DMF (1.5 mL), thionyl chloride was added dropwise (152 µL, 2.1 mmol, 2.5 equiv) at 0°C. The mixture was stirred at 0 °C for 10 min, then at r.t. for 3 h and volatiles were removed *in vacuo*. Flash chromatography of the residue (Cyclohexane / EtOAc 95/5) afforded **200** as a pale yellow oil (133 mg, 47%yield): R_f = 0.35 (Cyclohexane / EtOAc 9/1); IR (film) 2941*w,* 1650*s*, 1699*s*, 1348*s*; ^{1}H NMR δ 7.82 (d, 2H, J_{H2-H3} = 8.5 Hz, H_2), 7.73 (d, 2H, J_{H7-H8} = 7.5 Hz, H_7), 7.59 (t, 1H, J_{H9-H8} = 7.5 Hz, H_9), 7.48 (t, 2H, J_{H8-H9} = J_{H8-H7} = 7.5 Hz, H_8), 6.94 (d, 2H, J_{H3-H2} = 8.5 Hz, H_3), 4.22 (t, 2H, J_{Ha-Hb} = 5.5 Hz, H_a), 3.93 (t, 2H, J_{Hc-Hb} = 5.5 Hz, H_c), 2.55 (qt, 2H, J_{Hb-Hc} = J_{Hb-Ha} = 5.5 Hz, H_b); ^{13}C NMR δ 195.5 (C_5), 161.7 (C_4), 138.2 (C_6), 132.7 (C_2), 132.2 (C_9),

131.1 (C_1), 129.9 (C_7), 128.4 (C_8), 114.1 (C_3), 64.8 (C_a), 62.3 (C_c), 24.8 (C_b); HRMS, ESI^+ Calcd for $C_{16}H_{16}ClO_4S^+$ $(M + H)^+$ 339.0452 found, 339.0456.

Bibliographie

BIBLIOGRAPHIE

[1] Landry, Y. *Petite histoire des médicaments-de l'antiquité à nos jours* ; Dunod, **2011**.
[2] Porter, J. R. *Microbiol. Rev.* **1976**, *40*, 260-269.
[3] Spalanzani, M. *Nouvelles recherches sur les découvertes microscopiques et la génération des corps organisés*, traduit de l'italien par M. l'Abbé Régley ; Paris, **1769**.
[4] Pasteur, L. *Œuvres de Pasteur. Tome 2* ; Masson (Paris), **1922**.
[5] Koch, R. *Berliner klinische Wochen- schrift*, **1882**, 428-445.
[6] Lloyd, N.C. ; Morgan, H. W. ; Nicholson, B. K. ; Rominus, R. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 941-944.
[7] Brezinski, C. *Histoires de sciences : Inventions, découvertes et savants*, L'Harmattan, **2006**.
[8] McDermott, W.; Rogers, D. E. *The Johns Hopkins Medical Journal*, **1982**, *151*, 302-312.
[9] Vuillemin, J.-P. *Antibiose et symbiose*, Notes et mémoires, **1890**, *11,* 525-543.
[10] (a) C. Walsh and G. Wright *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391 (volume dédié à la résistance bactérienne) ; (b) S. Jovetic, Y. Zhu, G.L. Marcone, F. Marinelli and J. Tramoper *Trends in Biotechnology,* **2010**, *28*, 596-604.
[11] Gibreel, A.; Sköld, O. *Agents Chemother.* **1999**; *43* 2156–2160.
[12] Walsh, T. R.; Toleman, M. A.; Poirel, L.; Nordmann, P. *Clin. Microbiol. Rev.* **2005**, *18*, 306–325 et références citées.
[13] Pagès, J.-M.; James, C. E.; Winterhalter, M. *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, *6*, 893–903.
[14] Martínez-Martínez, L.; Hernández-Allés, S.; Albertí, S.; Tomás, J. M.; Benedi, V. J.; Jacoby, G. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 342–348.
[15] Ambudkar, S. V.; Dey, S.; Hrycyna, C. A.; Ramachandra, M.; Pastan, I.; Gottesman, M. M. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **1999**, *39*, 361–398.
[16] Nikaido, H. *Science* **1994**, *264*, 382–388.
[17] Ritter, T. K.; Wong, C.-H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3508-3533.
[18] Ryan, K.J.; Ray, C.G. *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.), **2004**, McGraw Hill editors, 232–233.
[19] Andersson, M. I.; MacGowan, A. P. *Antimicro.l Chem.* **2003**, *51*, 1–11.
[20] Emmerson, A. M.; Jones, A. M. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 13–20.
[21] Hooper, D.C. *Emerg. Infect. Dis*. **2001**, *7,* 337–341.
[22] (a) Gelmo P., *Journal für praktische Chemie*, **1908**, *77*, 369-370. (b) Actor, P.; Chow, A. W.; Dutko, F. J.; McKinlay, M. A. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2000**.
[23] Domagk, G. *Deutsch. Med. Wschr.* **1935**, *61*, 250-262.
[24] Huovinen, P. *Clin. Infect. Dis.***2001**, *32*, 1608–1614.
[25] Floss, H. G.; Yu, T.-W. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 621–632.
[26] Sensi, P. *Rev. Infect. Dis.* **1983**, *5* (*Suppl. 3*), S402.
[27] Chopra, I.; Howe, T. G. B.; Linton, A. H.; Linton, K. B.; Richmond, M. H.;Speller, D. C. E. *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, *8*, 5-21.
[28] Duggar, B. M. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1948**, *51*, 177–181.Jukes, T. H. *Rev. Infect. Dis.* **1985**, *7*, 702–707.
[29] Roberts, M. *FEMS Microbiol. Rev.* **1996**, *19*, 1–24.
[30] (a) Hancock, R. E. W. *J. Antimicrob. Chem.* **1981**, *8*, 249-276. (b) Hancock, R. E. W. *J. Antimicrob. Chem.* **1981**, *8*, 429-445.
[31] Jones, D.; Metzger, H. J.; Schatz, A.; Waksman, S. A. *Science* **1944**, *100*, 103–105.
[32] Menninger, J. R.; Otto, D. P. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, *21*, 811-818**.**
[33] Weisblum, B. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, *39*, 797-805.
[34] Moaze, D.;Noller, H. F. *Biochimie,* **1987**, 69, 879-884.
[35] Bartz, Q. R. *J. Biol. Chem.* **1948**, *172*, 445–450.
[36] Davies, J. *Science*, **1994**, *264, 376-381.*
[37] McKenna, M. *Nature* **2013**, *499*, 394–396.
[38] Storm, D.R.; Rosenthal, K.S.; Swanson, P.E. *Annu. Rev. Biochem.* **1977**, *46*, 723–763.
[39] Silverman, J. A.; Perlmutter, N. G.; Shapiro, H. M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 2538–2544.
[40] Williams, D. H.; Bardsley, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1172-1193.
[41] Lunde, C. S.; Hartouni, S. R.; Janc, J. W.; Mammen, M.; Humphrey, P. P.; Benton, B. M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 3375–3383.
[42] Li, J.; Nation, R. L.; Milne, R. W.; Turnidge, J. D.; Coulthard, K. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2005**, *25*, 11–25.
[43] Falagas, M. E.; Kasiakou, S. K. *Clin. Infect. Dis.* **2005**, *40*, 1333–1341.
[44] Vollmer, W.; Blanot, D.; de Pedro, M. A. *FEMS Microbiol Rev.* **2008**, *32*, 149-467.
[45] Coyette, J.; van der Ende, A. *FEMS Microbiol Rev.* **2008**, *32*, 147-148.

[46] Essentials of Glycobiology. 2nd edition. Varki A, Cummings RD, Esko JD et al., editors.
[47] van Heijenoort, J. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 503-519.
[48] Mohammadi, T.; Van Dam, V.; Sijbrandi, R.; Vernet, T.; Zapun, A.; Bouhss, A.; Diepeveen-de Bruin, M.; Nguyen-Distèche, M.; De Kruijff, B.; Breukink, E. *EMBO J.* **2011**, *30*, 1425–1432.
[49] Barreteau, H.; Kovac, A.; Boniface, A.; Sova, M.; Gobec, S.; Blanot, D. *FEMS Microbiol Rev.* **2008**, *32*, 168-207.
[50] Milewski, S. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1597*, 173–192.
[51] Winkler, W. C.; Nahvi, A.; Roth, A.; Collins, J. A.; Breaker, R. R. *Nature* **2004**, *428*, 281-286.
[52] Cochrane, J. C.; Lipchock, S. V.; Strobel, S. A. *Chemistry and Biology* **2007**, *14,* 97-105.
[53] Lim, J.; Grove, B. C.; Roth, A.; Breaker, R. R. *Angew Chem Int Ed.* **2006**, *45*, 6689-6693.
[54] Golinelli-Pimpaneau, B.; Le Goffic, F.; Badet, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3029–3034.
[55] Tourian, A.; Callahan, M.; Hung, W. *Neurochem. Res.* **1983***, 8*, 1589–1595.
[56] Andruszkiewicz,, R.; Chmara, H.; Milewski, S.; Borowski, E. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1986**, 449–453.
[57] Milewski,S.; Chmara, H.; Andruszkiewicz, R.; Borowski, E. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1115*, 225–229.
[58] Mengin-Lecreulx, D.; van Heijenoort, J. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 32-39.
[59] Jolly, L.; Ferrari, P.; Blanot, D.; Van Heijenoort, J.; Fassy, F.; Mengin-Lecreulx, D. *Eur. J. Biochem.* **1999**, *262*, 202–210.
[60] (a) Mengin-Lecreulx, D.; van Heijenoort, J. *J. Bacteriol.* **1993**, *175*, 6150-6155 (b) Mengin-Lecreulx, D.; van Heijenoort, J. *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 5788.
[61] Brown, K. *The EMBO Journal* **1999**, *18*, 4096–4107.
[62] Olsen, L. R.; Roderick, S. L. *Biochemistry* **2001**, *40*, 1913–1921.
[63] Green, O. M.; McKenzie, A. R.; Shapiro, A. B.; Otterbein, L.; Ni, H.; Patten, A.; Stokes, S.; Albert, R.; Kawatkar, S.; Breed, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1510–1519.
[64] Mochalkin, I.; Lightle, S.; Narasimhan, L.; Bornemeier, D.; Melnick, M.; VanderRoest, S.; McDowell, L. *Protein Science* **2008**, *17*, 577–582.
[65] Skarzynski, T.; Mistry, A.; Wonacott, A.; Hutchinson, S. E.; Kelly, V. A.; Duncan, K. *Structure* **1996**, *4*, 1465–1474.
[66] Skarzynski, T.; Kim, D. H.; Lees, W. J.; Walsh, C. T.; Duncan, K. *Biochemistry* **1998**, *37*, 2572–2577.
[67] Marquardt, J. L.; Brown, E. D.; Walsh, C. T.; Anderson, K. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10398–10399.
[68] El Zoeiby, A.; Sanschagrin, F.; Levesque, R. C. *Mol. Microbiol.* **2003**, *47*, 1–12.
[69] Pour une revue sur les Mur ligases et leurs inhibiteurs voir : Hrast, M.; Sosič, I.; Sink, R.; Gobec, S. *Bioorg. Chem.* **2014**, *55*, 2–15.
[70] Marquardt, J. L.; Brown, E. D.; Lane, W. S.; Haley, T. M.; Ichikawa, Y.; Wong, C.-H.; Walsh, C. T. *Biochemistry* **1994**, *33*, 10646-10651.
[71] Pour une revue sur la résistance aux antibiotiques ciblant le peptidoglycane voir : Nikolaidis, I.; Favini-Stabile, S.; Dessen, A. *Protein Science* **2014**, *23*, 243–259.
[72] Fillgrove, K. L.; Pakhomova, S.; Newcomer, M. E.; Armstrong, R. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15730–15731.
[73] Benson, T. E.; Filman, D. J.; Walsh, C. T.; Hogle, J. M. *Nat. Struct. Biol.* **1995**, *2*, 644–653.
[74] Benson, T. E.; Marquardt, J. L.; Marquardt, A. C.; Etzkorn, F. A.; Walsh, C. T. *Biochemistry* **1993**, *32*, 2024–2030.
[75] (a) Andres, C. J.; Bronson, J. J.; D'Andrea, S. V.; Deshpande, M. S.; Falk, P. J.; Grant-Young, K. A.; Harte, W. E.; Ho, H.-T.; Misco, P. F.; Robertson, J. G.; Stock, D.; Sun, Y.; Walsh, A. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 715–717. (b) Bronson, J. J.; DenBleyker, K. L.; Falk, P. J.; Mate, R. A.; Ho, H.-T.; Pucci, M. J.; Snyder, L. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 873–875. (c) Francisco, G. D.; Li, Z.; Albright, J. D.; Eudy, N. H.; Katz, A. H.; Petersen, P. J.; Labthavikul, P.; Singh, G.; Yang, Y.; Rasmussen, B. A.; Lin, Y.-I.; Mansour, T. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 235–238.
[76] Yang, Y.; Severin, A.; Chopra, R.; Krishnamurthy, G.; Singh, G.; Hu, W.; Keeney, D.; Svenson, K.; Petersen, P. J.; Labthavikul, P.; Shlaes, D. M.; Rasmussen, B. A.; Failli, A. A.; Shumsky, J. S.; Kutterer, K. M. K.; Gilbert, A.; Mansour, T. S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 556–564.
[77] Mol, C. D.; Brooun, A.; Dougan, D. R.; Hilgers, M. T.; Tari, L. W.; Wijnands, R. A.; Knuth, M. W.; McRee, D. E.; Swanson, R. V. *J. Bacteriol.* **2003**, *185*, 4152–4162.
[78] Bertrand, J. A.; Fanchon, E.; Martin, L.; Chantalat, L.; Auger, G.; Blanot, D.; Van Heijenoort, J.; Dideberg, O. *J. Mol. Biol.* **2000**, *301*, 1257–1266.
[79] Gordon, E.; Flouret, B.; Chantalat, L.; Van Heijenoort, J.; Mengin-Lecreulx, D.; Dideberg, O. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 10999–11006.
[80] Longenecker, K. L.; Stamper, G. F.; Hajduk, P. J.; Fry, E. H.; Jakob, C. G.; Harlan, J. E.; Edalji, R.; Bartley, D. M.; Walter, K. A.; Solomon, L. R.; Holzman, T. F.; Gu, Y. G.; Lerner, C. G.; Beutel, B. A.; Stoll, V. S. *Protein Science* **2005**, *14*, 3039–3047.

[81] Reck, F.; Marmor, S.; Fisher, S.; Wuonola, M. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1451–1454.
[82] Gegnas, L. D.; Waddell, S. T.; Chabin, R. M.; Reddy, S.; Wong, K. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1643–1648.
[83] Tanner, M. E.; Vaganay, S.; van Heijenoort, J.; Blanot, D. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1756–1760.
[84] Zeng, B.; Wong, K. K.; Pompliano, D. L.; Reddy, S.; Tanner, M. E. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 10081–10085.
[85] Miller, D. J.; Hammond, S. M.; Anderluzzi, D.; Bugg, T. D. H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 131–142.
[86] Baum, E. Z.; Crespo-Carbone, S. M.; Foleno, B. D.; Simon, L. D.; Guillemont, J.; Macielag, M.; Bush, K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 3240–3247.
[87] Taha, M. O.; Atallah, N.; Al-Bakri, A. G.; Paradis-Bleau, C.; Zalloum, H.; Younis, K. S.; Levesque, R. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 1218–1235.
[88] Hrast, M.; Anderluh, M.; Knez, D.; Randall, C. P.; Barreteau, H.; O'Neill, A. J.; Blanot, D.; Gobec, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *73*, 83–96.
[89] Shaw, J. P.; Petsko, G. A.; Ringe, D. *Biochemistry* **1997**, *36*, 1329–1342.
[90] Hwang, K. Y.; Cho, C.-S.; Kim, S. S.; Sung, H.-C.; Yu, Y. G.; Cho, Y. *Nature Structural Biology* **1999**, *6*, 422.
[91] Lambert, M. P.; Neuhaus, F. C. *J. Bacteriol.* **1972**, *110*, 978–987.
[92] Peisach, D.; Chipman, D. M.; Van Ophem, P. W.; Manning, J. M.; Ringe, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2268–2274.
[93] Fenn, T. D.; Stamper, G. F.; Morollo, A. A.; Ringe, D. *Biochemistry* **2003**, *42*, 5775–5783.
[94] Asojo, O. A.; Nelson, S. K.; Mootien, S.; Lee, Y.; Rezende, W. C.; Hyman, D. A.; Matsumoto, M. M.; Reiling, S.; Kelleher, A.; Ledizet, M.; Koski, R. A.; Anthony, K. G. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* **2014**, *70*, 1922–1933.
[95] Fan, C.; Moews, P. C.; Walsh, C. T.; Knox, J. R. *Science* **1994**, *266*, 439–443.
[96] Bruning, J. B.; Murillo, A. C.; Chacon, O.; Barletta, R. G.; Sacchettini, J. C. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 291–301.
[97] Parsons, W. H.; Patchett, A. A.; Bull, H. G.; Schoen, W. R.; Taub, D.; Davidson, J.; Combs, P. L.; Springer, J. P.; Gadebusch, H. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1772–1778.
[98] Fan, C.; Park, I.-S.; Walsh, C. T.; Knox, J. R. *Biochemistry* **1997**, *36*, 2531–2538.
[99] Liu, S.; Chang, J. S.; Herberg, J. T.; Horng, M.-M.; Tomich, P. K.; Lin, A. H.; Marotti, K. R. *PNAS* **2006**, *103*, 15178–15183.
[100] Vehar, B.; Hrast, M.; Kovač, A.; Konc, J.; Mariner, K.; Chopra, I.; O'Neill, A.; Janežič, D.; Gobec, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 5137–5146.
[101] Hwang, K. Y.; Cho, C. S.; Kim, S. S.; Sung, H. C.; Yu, Y. G.; Cho, Y. *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 422–426.
[102] De Dios, A.; Prieto, L.; Martín, J. A.; Rubio, A.; Ezquerra, J.; Tebbe, M.; López de Uralde, B.; Martín, J.; Sánchez, A.; LeTourneau, D. L.; McGee, J. E.; Boylan, C.; Parr, Thomas R.; Smith, M. C. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4559–4570.
[103] Bouhss, A.; Trunkfield, A. E.; Bugg, T. D.; Mengin-Lecreulx D. *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208-233.
[104] Ha, S.; Walker, D.; Shi, Y.; Walker, S. *Protein Science* **2000**, *9*, 1045–1052.
[105] Helm, J. S.; Hu, Y.; Chen, L.; Gross, B.; Walker, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11168–11169.
[106] Hu, Y.; Helm, J. S.; Chen, L.; Ginsberg, C.; Gross, B.; Kraybill, B.; Tiyanont, K.; Fang, X.; Wu, T.; Walker, S. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 703–711.
[107] (a) Monasson, O.; Ginisty, M., Mravljak, J.; Bertho, G.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2320-2330. (b) Mravljak, J.; Monasson, O.; Al-Dabbagh, B.; Crouvoisier, M.; Bouhss, A.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1582-1592.
[108] Mohammadi, T.; Van Dam, V.; Sijbrandi, R.; Vernet, T.; Zapun, A.; Bouhss, A.; Diepeveen-de Bruin, M.; Nguyen-Distèche, M.; De Kruijff, B.; Breukink, E. *EMBO J.* **2011**, *30*, 1425–1432.
[109] El Ghachi, M.; Bouhss, A.; Blanot, D.; Mengin-Lecreulx, D. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 30106–30113.
[110] Tatar, L. D.; Marolda, C. L.; Polischuk, A. N.; Leeuwen, D. van; Valvano, M. A. *Microbiology* **2007**, *153*, 2518–2529.
[111] Chang, H.-Y.; Chou, C.-C.; Hsu, M.-F.; Wang, A. H. J. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 18719–18735.
[112] Stone, K. J.; Strominger, J. L. *PNAS* **1971**, *68*, 3223–3227.
[113] Storm, D. R.; Strominger, J. L. *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 3940–3945.
[114] Chancey, S. T.; Zähner, D.; Stephens, D. S. *Future Microbiol.* **2012**, *7*, 959–978.
[115] Sauvage, E.; Kerff, F.; Terrak, M.; Ayala, J. A.; Charlier, P. *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 234–258.
[116] Heijenoort, J. van. *Glycobiology* **2001**, *11*, 25R – 36R.
[117] Huang, C.-Y.; Shih, H.-W.; Lin, L.-Y.; Tien, Y.-W.; Cheng, T.-J. R.; Cheng, W.-C.; Wong, C.-H.; Ma, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2012**, *109*, 6496–6501.
[118] Ikeda, M.; Wachi, M.; Jung H. K.; Ishino F.; Matsuhashi M. *J. Bacteriol.* **1991**, *173*, 1021-1026.
[119] Pour une revue sur ces enzymes voir : Price, N. P.; Momany, F. A. *Glycobiology* **2005**, *15*, 29R–42R.

[120] Bouhss, A.; Mengin-Lecreulx, D.; Le Beller, D.; Van Heijenoort, J. *Mol. Microbiol.* **1999**, *34*, 576–585.
[121] Bouhss, A.; Trunkfield, A. E.; Bugg T. D.; Mengin-Lecreulx, D. *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208-233.
[122] Bouhss, A.; Crouvoisier, M.; Blanot, D.; Mengin-Lecreulx D. *J. Biol chem.* **2004**, *279*, 29974-29980.
[123] Heydanek, M.G.; Struve, W.G.; Neuhaus, F.C. *Biochemistry* **1969**, *8*, 1214-1221
[124] Lloyd, A. J.; Brandish, P. E.; Gilbey , A. M.; Bugg, T. D. *J. Bacteriol*. **2004**, *186*, 1747-1757.
[125] Al-Dabbagh, B.; Henry, X.; Ghachi, M. E.; Auger, G.; Blanot, D.; Parquet, C.; Mengin-Lecreulx, D.; Bouhss, A. *Biochemistry* **2008**, *47*, 8919–8928.
[126] Ben C. Chung, B. C.; Zhao, J.; Gillespie, R. A.; Kwon, D.-Y.;Guan, Z.; Hong, J.; Zhou, P.; Lee S.-Y. *Science* **2013**, *341*, 1012-1016.
[127] Dini, C. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, 5, 1221-1236.
[128] McDonald, L. A.; Barbieri, L. R.; Carter, G. T.; Lenoy, E.; Lotvin, J.; Petersen, P. J.; Siegel, M. M.; Singh, G.; Williamson, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10260–10261.
[129] Isono, K.; Uramoto, M.; Kusakabe, H.; Kimura, K.; Isaki, K.; Nelson, C. C.; McCloskey, J. A. *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1617–1621.
[130] Igarashi, M.; Nakagawa, N.; Doi, N.; Hattori, S.; Naganawa, H.; Hamada, M. *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 580–583.
[131] Funabashi, M.; Baba, S.; Takatsu, T.; Kizuka, M.; Ohata, Y.; Tanaka, M.; Nonaka, K.; Spork, A. P.; Ducho, C.; Chen, W.-C. L.; Van Lanen, S. G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2013**, *52*, 11607–11611.
[132] Ochi, K.; Ezaki, M.; Iwani, M.; Komori, T.; Kohsaka, M. *FR-900493 substance, a process for its production and a pharmaceutical composition containing the same.* EP0333177 (A2), September 20, 1989.
[133] Yamaguchi, H.; Sato, S.; Yoshida, S.; Takada, K.; Itoh, M.; Seto, H.; Otake, N. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1047–1053.
[134] Takatsuki, A. *Nippon Nōgeikagaku Kaishi* **1978**, *52*, R167–R177.
[135] Dini, C. ; Colette, P. ; Drochon, N. ; Guillot, J.C. ; Lemoine, G. ; Mauvais, P. ; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *10*, 1839-1843.
[136] Dini, C.; Drochon, N.; Feteanu, S.; Guillot, J. C.; Peixoto, C.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 529–531.
[137] Kishi, Y.; Fang, F.; Forsyth, C. J.; Scola, P. M.; Yoon, S.K. Patent WO 9317690, **1993**.
[138] Dini, C.; Drochon, N.; Guillot, J. C.; Mauvais, P.; Walter, P.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 533–536.
[139] Xu, X.-H.; Trunkfield, A. E.; Bugg, T. D. H.; Qing, F.-L. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 157–161.
[140] Dini, C.; Didier-Laurent, S.; Drochon, N.; Feteanu, S.; Guillot, J. C.; Monti, F.; Uridat, E.; Zhang, J.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1209–1213.
[141] Ronco, G.; Tber, B.; Villa, P. J.; Ville, G. A. *Preparation of novel ribonucleoside compounds as antibiotics, antitumors,and antivirals*; WO 9206993, **1992**.
[142] Clouet, A.; Gravier-Pelletier, C.; Al-Dabbag, B.; Bouhss, A.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 397–400.
[143] Lecerclé, D.; Clouet, A.; Al-Dabbagh, B.; Crouvoisier, M.; Bouhss, A.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4560–4569.
[144] Le Merrer, Y.; Gravier-Pelletier, C.; Gerrouache, M.; Depezay, J.-C. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 385–388.
[145] Mravljak, J.; Monasson, O.; Al-Dabbagh, B.; Crouvoisier, M.; Bouhss, A.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1582–1592.
[146] Gravier-Pelletier, C.; Ginisty, M.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 189–193.
[147] Monasson, O.; Ginisty, M.; Mravljak, J.; Bertho, G.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2320–2330.
[148] Knapp, S.; Nandan, S. R. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 281–283.
[149] (a) Wang, Y.; Siricilla, S.; Aleiwi, B. A.; Kurosu, M. *Chemistry* **2013**, *19*, 13847–13858. (b) Kurosu, M.; Li, K.; Crick, D. C. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2393–2396.
[150] Hirano, S. ; Ichikawa, S. ; Matsuda, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1854-1856.
[151] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 2798–2804.
[152] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9936–9946.
[153] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 428–436.
[154] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5123–5133.
[155] Ii, K.; Ichikawa, S.; Al-Dabbagh, B.; Bouhss, A.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3793–3813.
[156] Tanino, T.; Al-Dabbagh, B.; Mengin-Lecreulx, D.; Bouhss, A.; Oyama, H.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8421–8439.
[157] Tanino, T.; Ichikawa, S.; Shiro, M.; Matsuda, A. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1366–1377.
[158] Dömling, A.; Ugi, I. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 3168−3210.
[159] Takeoka, Y.; Tanino, T.; Sekiguchi, M.; Yonezawa, S.; Sakagami, M.; Takahashi, F.; Togame, H.; Tanaka, Y.; Takemoto, H.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *ACS Med Chem Lett* **2014**, *5*, 556–560.

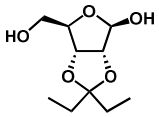
[160] Gopinath, P.; Wang, L.; Abe, H.; Ravi, G.; Masuda, T.; Watanabe, T.; Shibasaki, M. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3364–3367.
[161] Sarabia, F.; Martín-Ortiz, L.; López-Herrera, F. J. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3927–3930.
[162] Sarabia, F.; Martín-Ortiz, L. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11850–11865.
[163] Spork, A. P.; Koppermann, S.; Ducho, C. *Synlett* **2009**, *15*, 2503-2507.
[164] Spork, P.A.; Koppermann; S.; Dittrich, B.; Herbst-Irmer, R.; Ducho, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 763-766.
[165] Sarabia, F.; Vivar-García, C.; García-Ruiz, C.; Martín-Ortiz, L.; Romero-Carrasco, A. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1328–1339.
[166] Jung, K.; Muller, M.; Schmidt, R. R. *Chem. Re*v. **2000**, *100*, 4423-4442.
[167] Hanessian, S.; Lou, B. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4443–4464.
[168] Lowary, T. L. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7*, 749-756.
[169] Fisher, E.; Fisher, H. *Chem. Ber.* **1910**, *43*, 2521.
[170] Koenigs, W.; Knorr, E. *Chem. Ber.* **1901,** *34*, 957.
[171] Pour une revue sur les réactions impliquant ces espèces voir :Toshima, K. *Carbohydr. Res.* **2000***, 327*, 15-26.
[172] Mukaiyama, T.; Hashimoto, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **1983**, 935-938.
[173] Ginisty, N. Thèse, Université Paris Descartes, **2005**.
[174] Toshima, K.; Tatsuta, K. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503–1531.
[175] Fraser-Reid, B.; Merritt, J. R.; Handlon, A. L.; Andrews, C. W. *Pure & Appl. Chern.* **1993**, *65*, 779-786.
[176] Mehta, S.; Pinto, B. M. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3269–3276.
[177] Fügedi, P.; Garegg, P. J.; Lönn, H.; Norberg, T. *Glycoconjugate J.* **1987**, *4*, 97–108.
[178] Kahne, D.; Walker, S.; Cheng, Y.; Van Engen, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1989***, 111*, 6881-6882.
[179] Marra, A.; Gauffeny, F.; Sinaÿ, P. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 5149–5160.
[180] Lemieux, R. U.; Shyluk, N. P. *Can. J. Chem.* **1953**, *31*, 528.
[181] (a) Hanessian, S.; Banoub, J. *Carbohydr. Res.***1977***, 59*, 261, (b) Banoub, J.; Bundle, D. H. *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 2085, (c) Hanessian, S.; Banoub, J.;*Methods Carbohydr. Chem.* **1980**, *8*, 237-251.
[182] (a) Schmidt, R. R.; Michel, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 731–732, (b) Zhu, X. M.; Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1900-1934.
[183] Vasella, A. *Pure & Appl. Chem.*, **1991**, *63*, 507-518.
[184] Halcomb, R. L.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6661-6666.
[185] Lemieux, R. U.; Levine, S. *Can. J. Chem.* **1964**, *42*, 1473.
[186] Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1854-1856.
[187] Vutukuri, D.R.; Bharathi, P.; Yu, Z.; Rajasekaran, K.; Tran, M.-H.; Thayumanavan, S. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1146-1149.
[188] Pichavant, L.; Guillermain, C.; Coqueret, X. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 2417-2421.
[189] Roush, W. R.; Sciotti, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7411-7419.
[190] Tsukamoto, H.; Suzuki, T.; Kondo, Y. *Synlett* **2007**, *2007*, 3131–3136.
[191] Taniguchi, T.; Ogasawara, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1136–1137.
[192] Taniguchi, T.; Ogasawara, K. *Chem. Commun.* **1998**, 1531-1532.
[193] Kitov, P.I.; Bundle, D.R. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2835-2838.
[194] Eppacher, S.; Solladié, N.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **2000**, *83*, 1311-1331.
[195] Zhang, X.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 2861–2917.
[196] Midland, M. M.; Tramontano, A.; Kazubski, A.; Graham, R. S.; Tsai, D. J. S.; Cardin, D. B. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1371–1380.
[197] Corey, E. J.; Bakshi, R. K.; Shibata, S.; Chen, C. P.; Singh, V. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7925–7926.
[198] Guerrini, A.; Varchi, G.; Battaglia, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6785–6795.
[199] Maturano, M.; Catana, D.-A.; Lavedan, P.; Tarrat, N.; Saffon, N.; Payrastre, C.; Escudier, J.-M. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 721–730.
[200] Dess, D. B.; Martin, J. C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155–4156.
[201] More, J.D. ; Finney, N.S. *Org. Lett.* **2002**, *4,* 3001-3003.
[202] Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538.
[203] Suzuki, M.; Mikura, Y.; Terashima, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 1531-1536.
[204] Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Mukaiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 935-939.
[205] Mitsunobu, O.; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 2380-2382.
[206] Pour une revue sur cette réaction voir : Swamy, K. C. K.; Kumar, N. N. B.; Balaraman, E.; Kumar, K. V. P. P. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2551–2651.
[207] Wada, M.; Mitsunobu, O. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1279–1282.
[208] Schwartz, H. M.; Maccoss, M.; Danyluk, S. S. *Magn. Reson. Chem.* **1985**, *23*, 885–894.
[209] Ginisty, M.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 142–150.

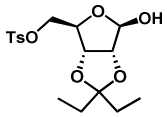
[210] Minch, M. J. *Concepts Magn. Reson.* **1994**, *6*, 41–56.
[211] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 2004–2021.
[212] Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-632
[213] Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
[214] Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
[215] Zhang, L.; Chen, X. G.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Jia, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.
[216] Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
[217] Le Corre, L.; Girard, A.-L.; Aubertin, J.; Radvanyi, F.; Benoist-Lasselin, C.; Jonquoy, A.; Mugniery, E.; Legeai-Mallet, L.; Busca, P.; Le Merrer, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2164-2173.
[218] Prestwich, G. D.; Dormanf, G.; Elliow, J. T.; Marecakl, D. M.; Chaudharyl, A. *Photochem. Photobiol.* **1997**, *65*, 222-234.
[219]Revelant, G.; Dunand, S.; Hesse, S.; Kirsch, G. *Synthesis* **2011**, *2011*, 2935–2940.
[220] Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tet. Lett.* **1979**, *20*, 3437–3440.
[221] Del Zotto, A.; Amoroso, F.; Baratta, W.; Rigo, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 110–116.
[222] (a) Cavender, C. J.; Shiner, V. J. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3567-3569. (b) Vasella, A.; Witzig, C.; Chiara, J.-L.; Martin-Lomas, M. *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 2073-2077.
[223] Alper, P. B.; Hung, S.-C.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6029-6032.
[224] Nyffeler, P. T.; Liang, C.-H.; Koeller, K. M.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10773–10778.
[225] Goddard-Borger, E. D.; Stick, R. V. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797−3800. Goddard-Borger, E. D.; Stick, R. V. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2514–2514.
[226] Honcharenko, D. ; Varghese, O. P. ; Plashkevych, O. ; Barman, J. ; Chattopadhyaya J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 299-314.
[227] Fer, M. J.; Olatunji, S.; Bouhss, A.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10088–10105.
[228] Hospital, A.; Meurillon, M.; Peyrottes, S.; Périgaud, C. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4778–4781 et références citées.
[229] Guillerm, G.; Muzard, M.; Glapski, C.; Pilard, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5803–5807.
[230] Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K.; Bennua, B. *Chem. Ber. Recl.* **1981**, *114*, 1234.
[231] Evina, C. M.; Guillerm, G. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 163–166.
[232] (a)Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 866–867. (b) Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3782–3783. (c) Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353.
[233] Gololobov, Y. G.; Nesmeyanov, A. N.; Lysenko, V. P.; Boldeskul, I. E. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 2609–2651.
[234] Piccinini, A.; Kavanagh, S. A.; Connon, P. B.; Connon, S. J. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 608–611.
[235] Katsuki, T.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5974–5976.
[236] Wang, G.; Middleton, P. J. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 2739-2742.
[237] Christensen, M. S.; Madsen, C. M.; Nielsen, P. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1586–1594.
[238] Ngan Tran, ATER, Jean-Phillipe PORCHER, Rapport de stage de M2 Université Paris Descartes, 2011-2012.
[239] S. D. Burke, R. L. Danheiser, *Oxidizing and Reducing Agents*, Handbook of Reagents for Organic Synthesis.
[240] Guillarme, S.; Nguyen, T.X.M.; Saluzzo, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1450-1454.
[241] (a) Guthrie, R. D.; Murphy, D. *J. Chem. Soc.*, **1963**, 5288-5294. (b) Matsuda, K.; Tsuchiya, T.; Torii, T.; Umezawa, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, *59*, 1397-1401.
[242] Zuccarello, G.; Bouzide, A.; Kvarnström, I.; Niklasson, G.; Svensson, S.C.T.; Brisander, M.; Danielsson, H.; Nillroth, U.; Karlén, A.; Hallberg, A.; Classon, B.; Samüelsson, B. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4898-4906.
[243] Das, I.; Pathak, T.; Suresh, C.G. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8047-8054.
[244] Paz, N.V.; Santana, A.G.; Francisco, C.G.; Suárez, E., González, C.C. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3388-3391.
[245] Rigolet, S.; McCort, I.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8129-8132.
[246] A. D. Katherine, C. A. Ryan, Jeremy E. Wulff *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3997–4000.
[247] Fer, M. J.; Doan, P.; Prangé, T.; Calvet-Vitale, S.; Gravier-Pelletier, C. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7758–7765.
[248] Bouhss, A.; Crouvoisier, M.; Blanot, D.; Mengin-Lecreulx, D. *J.Biol. Chem.* **2004**, *279*, 29974−29980.
[249] European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, *Clin. Microbiol., Infect.* **2003**, *9*, ix – xv.
[250] Wu, G.; Robertson, D. H.; Brooks, C. L.; Vieth, M. *J Comput Chem* **2003**, *24*, 1549–1562.
[251] Albersheim, P.; Valent, B. S. *J Cell Biol* **1978**, *78*, 627–643.
[252] *Essentials of Glycobiology*; Varki, A.; Cummings, R. D.; Esko, J. D.; Freeze, H. H.; Stanley, P.; Bertozzi, C. R.; Hart, G. W.; Etzler, M. E., Eds.; 2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor (NY), 2009.
[253] Lee, R. T.; Lee, Y. C. *Glycoconj. J.* **2000**, *17*, 543–551.
[254] Kuwahara, M.; Obika, S. *Artif DNA PNA XNA* **2013**, *4*, 39–48.
[255] Hoppe, H. J.; Reid, K. B. *Protein Sci.* **1994**, *3*, 1143–1158.
[256] Compain, P.; Bodlenner, A. *ChemBiochem* **2014**, *15*, 1239–1251.

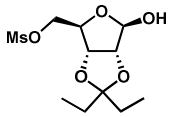
[257] Chabre, Y. M.; Roy, R. *Chem Soc Rev* **2013**, *42*, 4657–4708.
[258] Diot, J.; García-Moreno, M. I.; Gouin, S. G.; Ortiz Mellet, C.; Haupt, K.; Kovensky, J. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 357–363.
[259] Peng, T.; Yuan, X.; Hang, H. C. *Curr Opin Chem Biol* **2014**, *21C*, 144–153.
[260] Tanaka, Y.; Bond, M. R.; Kohler, J. J. *Mol Biosyst* **2008**, *4*, 473–480.
[261] Brunner, J. *Annu. Rev. Biochem.* **1993**, *62*, 483–514.
[262] Xia, Y.; Peng, L. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 7880–7929.
[263] Schrock, A. K.; Schuster, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5228–5234.
[264] Das, J. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 4405–4417.
[265] Brunner, J.; Senn, H.; Richards, F. M. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 3313–3318.
[266] Dormán, G.; Prestwich, G. D. *Biochemistry* **1994**, *33*, 5661–5673.
[267] Zhang, T.; Fan, H.; Zhou, J.; Liu, G.; Feng, G.; Jin, Q. *Macromolecules* **2006**, *39*, 7839–7843.
[268] Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
[269] Díaz, L.; Bujons, J.; Casas, J.; Llebaria, A.; Delgado, A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5248-5255.
[270] (a) Colombano, G.; Travelli, C.; Galli, U.; Caldarelli, A.; Chini, M.G.; Canonico, P.L.; Sorba, G.; Bifulco, G.; Tron, G.C.; Genazzani, A.A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 616–623. (b) Lepore, S.D.; Mondal, D.; Li, S.Y.; Bhunia, A.K. *Angew. Chem. Int. Ed*. **2008**, *47*, 7511-7514.
[271] Bentley, M.D.; Dewar, M.J.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 3996-4002.
[272] Mantovani, G.; Ladmiral, V.; Tao, L.; Haddleton, D.M. *Chem. Commun.* **2005**, 2089–2091.
[273] Asano, K. Matsubara, S. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4988-4991.
[274] Lepore, S. D.; Mondal, D.;Li, S. Y.; Bhunia, A. K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 7511−7514.

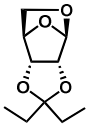
Index des molécules

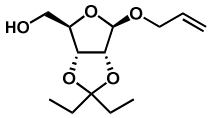
INDEX DES MOLECULES PREPAREES

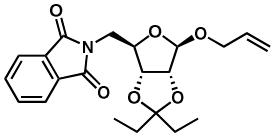

105
p 168

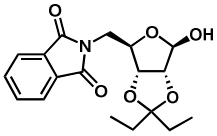

106
p 169

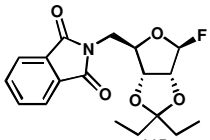

111
p 169

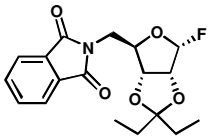

110
p 169

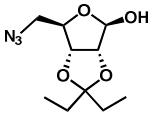

112
p 171

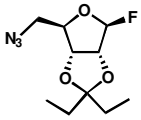

113
p 171

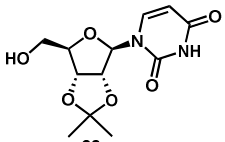

114
p 172

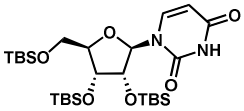

115β
p 173

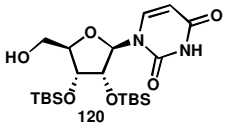

115α
p 173

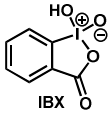

107
p 174

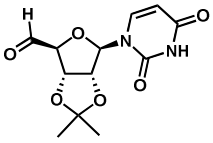

51
p 174

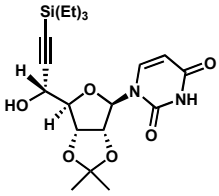

22
p 175

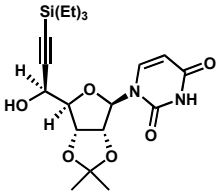

119
p 176

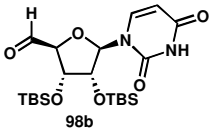

120
p 176

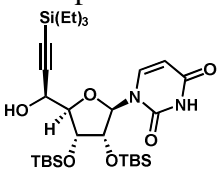

IBX
121
p 177

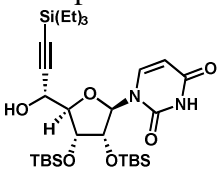

122
p 177

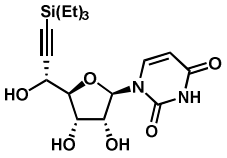

116a (5'*R*)
p 177

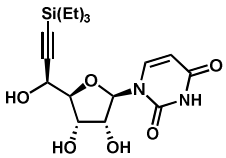

116b (5'*S*)
p 177

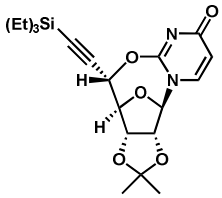

98b
p 178

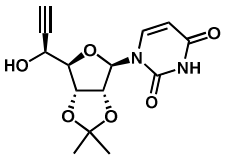

123a (5'*S*)
p 178

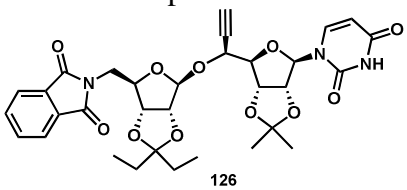

123b (5'*R*)
p 178

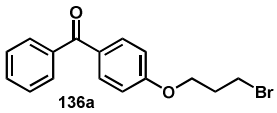

124a (5'*R*)
p 179

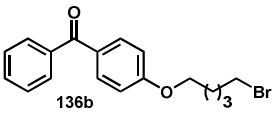

124b (5'*S*)
p 180

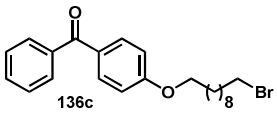

125
p 180

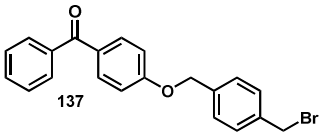

117b
p 181

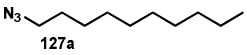

126
p 181

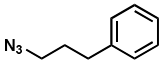

136a
p 183

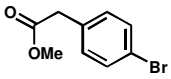

136b
p 183

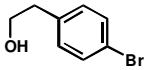

136c
p 184

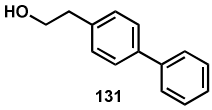

137
p 184

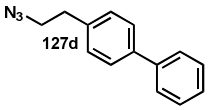

127a
p 185

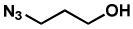

127c
p 185


132
p 186

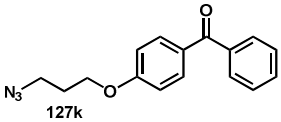

133
p 186

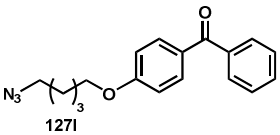

131
p 187

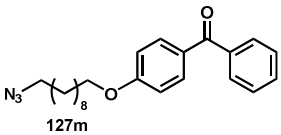

127d
p 187

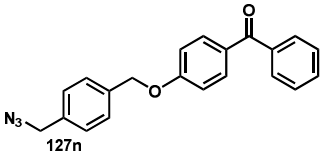

127e
p 188

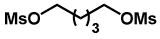
127f
p 188

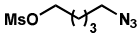

127k
p 189

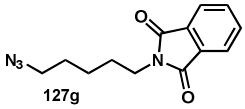

127l
p 189

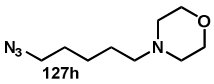

127m
p 190


127n
p 190


129
p 191

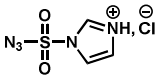

130
p 191


127g
p 191



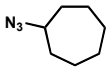
127h

p 192



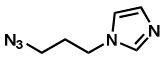
135

p 192



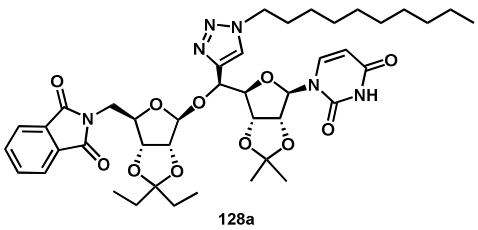
127b

p 193



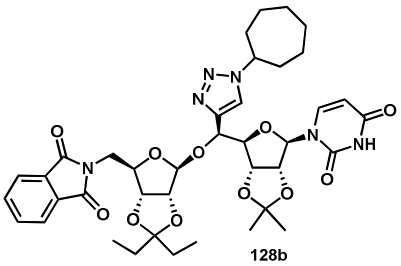
127i

p 193



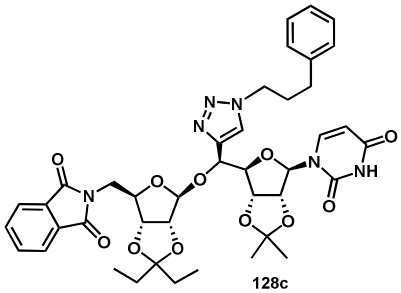
128a

p 195



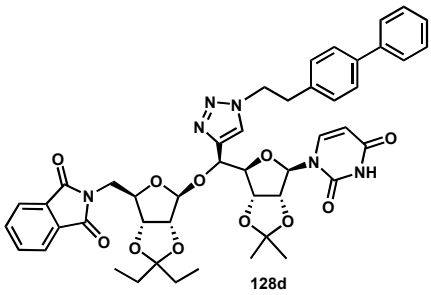
128b

p 196



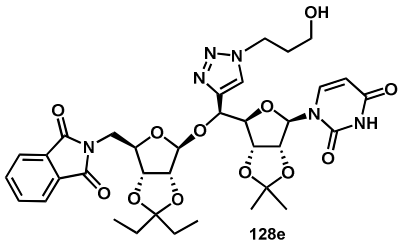
128c

p 197



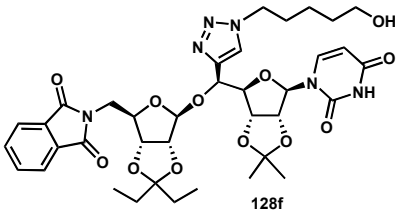
128d

p 198



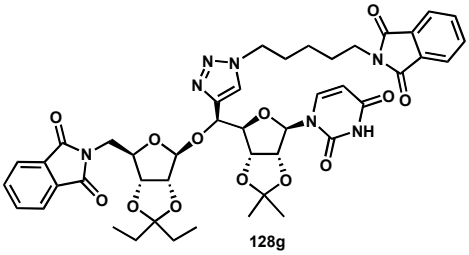
128e

p 199



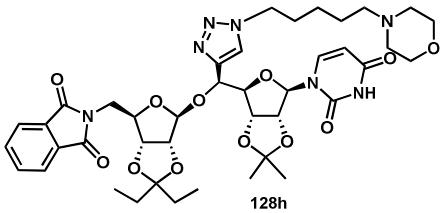
128f

p 200



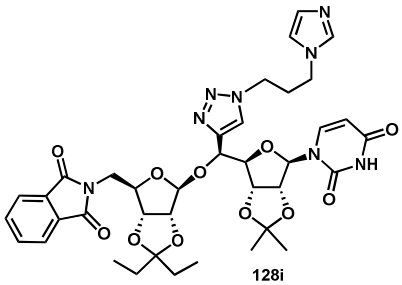
128g

p 201



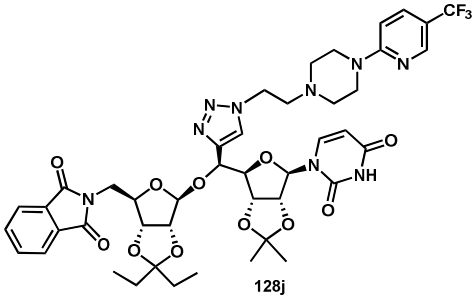
128h

p 202



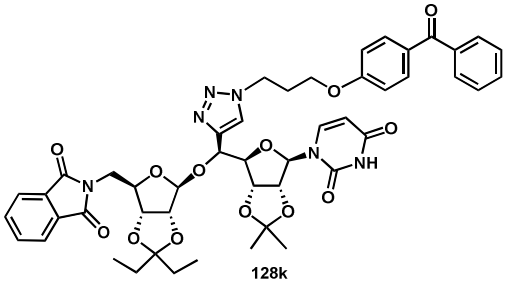
128i

p 203



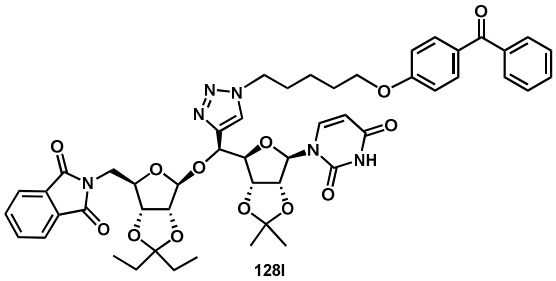
128j

p 204



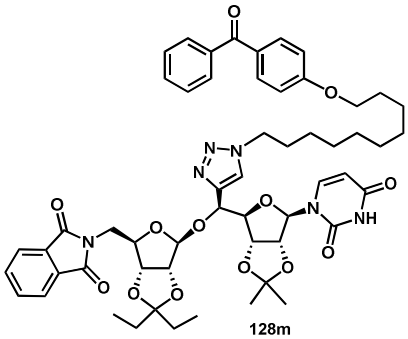
128k

p 205



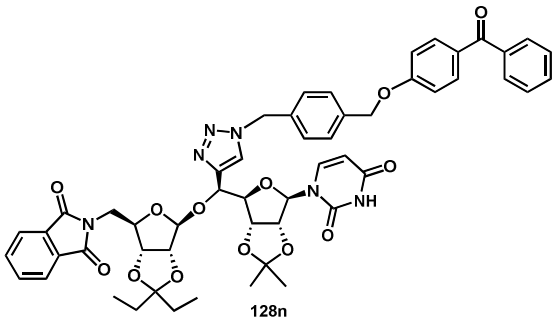
128l

p 206



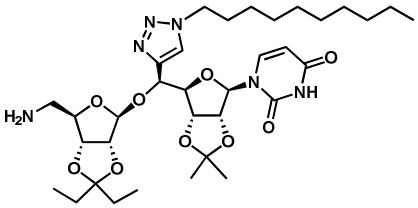
128m

p 207



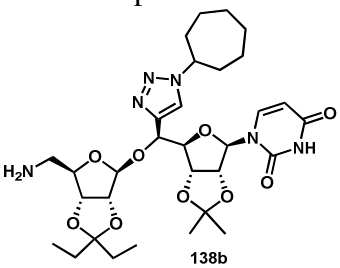
128n

p 208



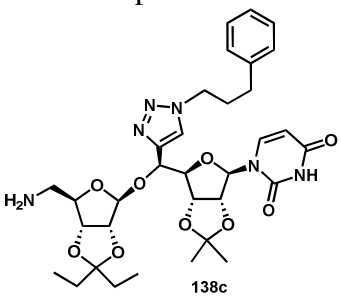
138a

p 209



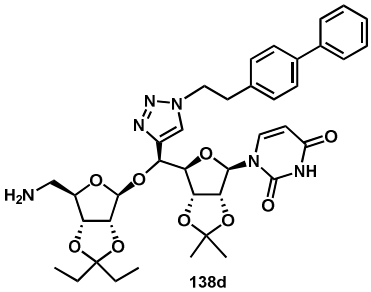
138b

p 210



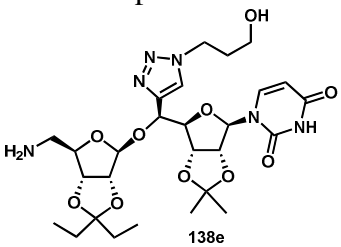
138c

p 211



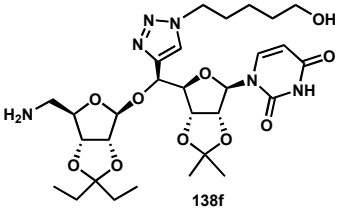
138d

p 212



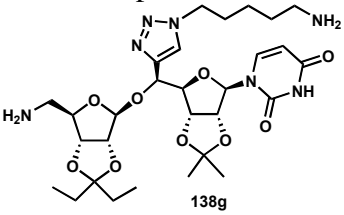
138e

p 213



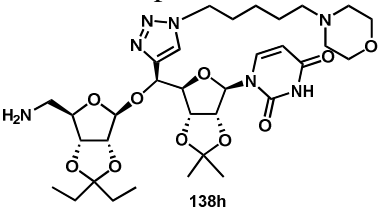
138f

p 214



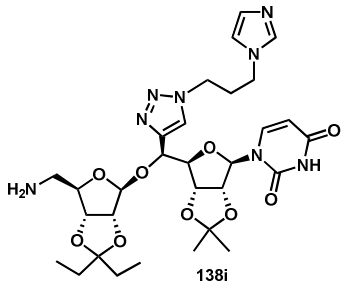
138g

p 215



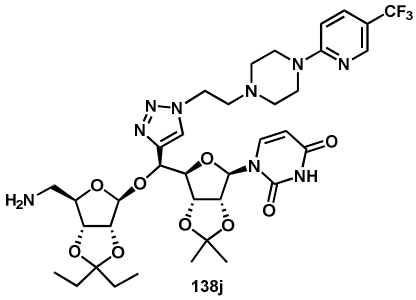
138h

p 216



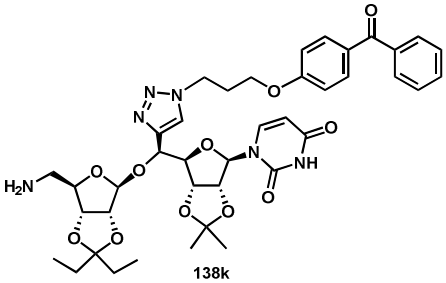
138i

p 217



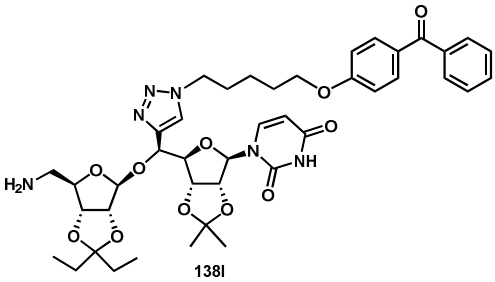
138j

p 218



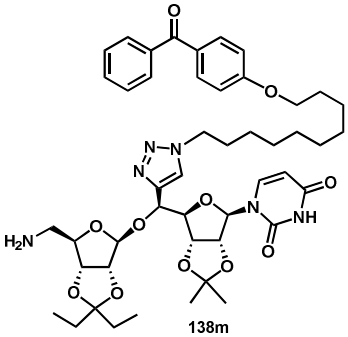
138k

p 219



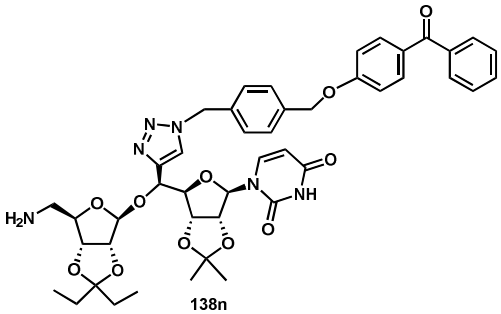
138l

p 220



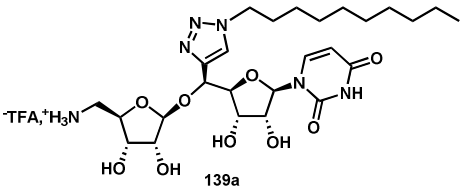
138m

p 221



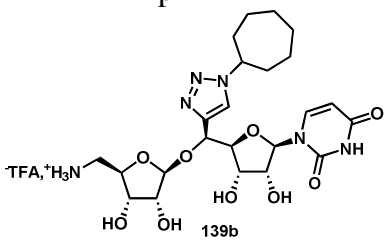
138n

p 222



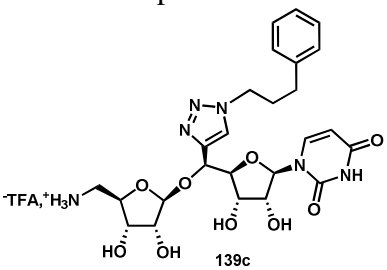
139a

p 223



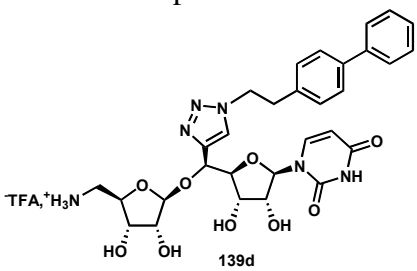
139b

p 224



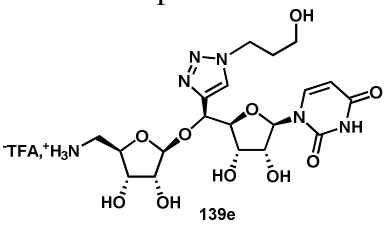
139c

p 224



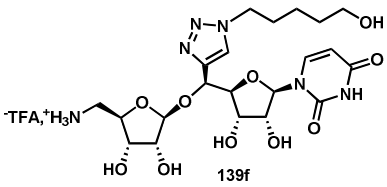
139d

p 225



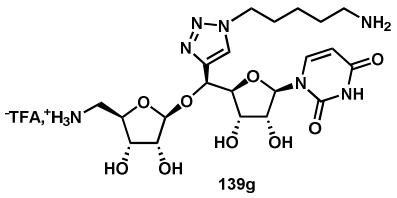
139e

p 226



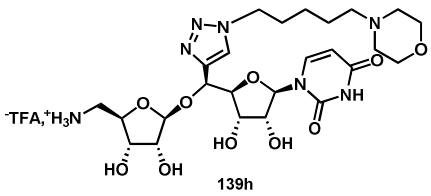
139f

p 226



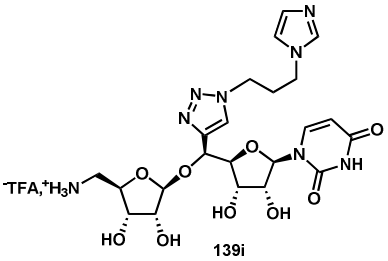
139g

p 227



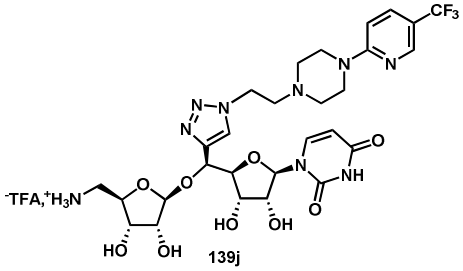
139h

p 227



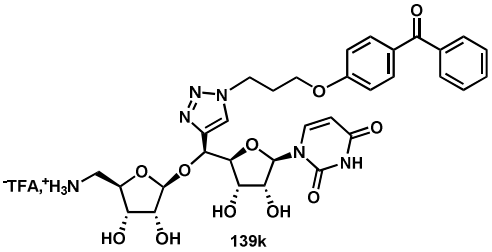
139i

p 228



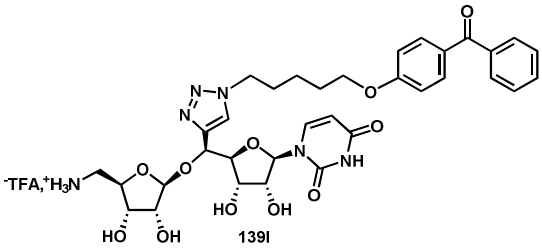
139j

p 229



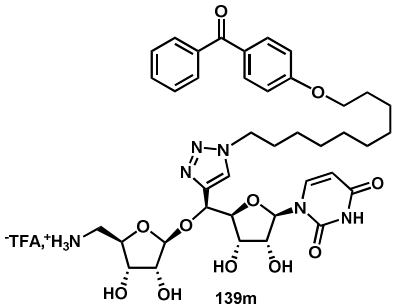
139k

p 229



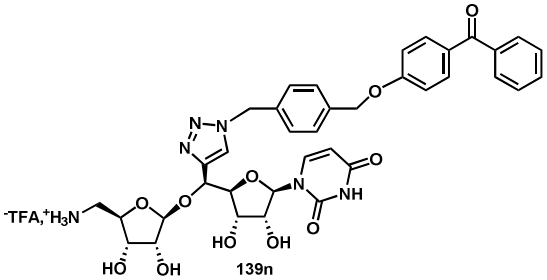
139l

p 230



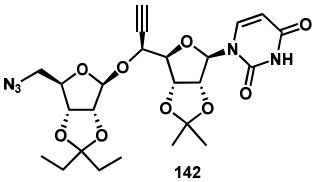
139m

p 231



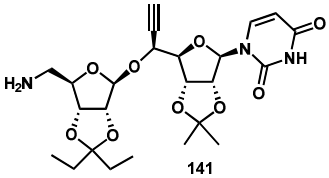
139n

p 232



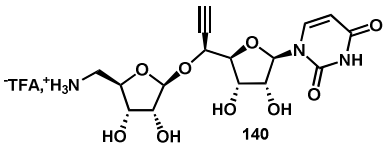
142

p 233



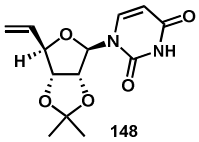
141

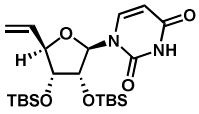
p 234

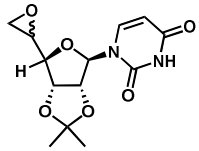


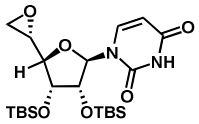
140

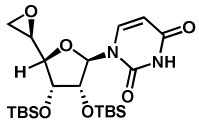
p 235

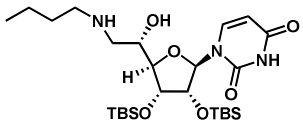

148
p 236

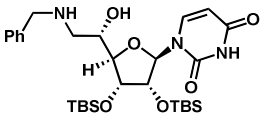

153
p 237

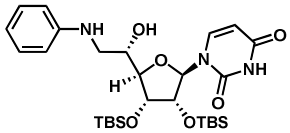

147
p 238

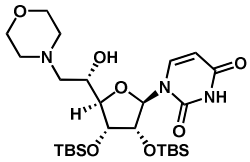

154a
p 239

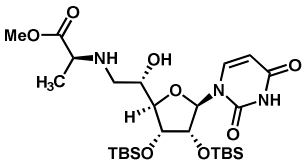

154b
p 239

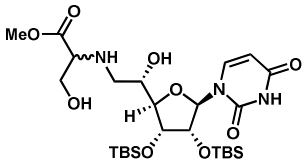

155a
p

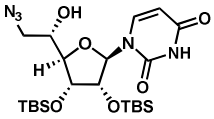

155b
p 241

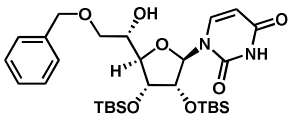

155c
p 241

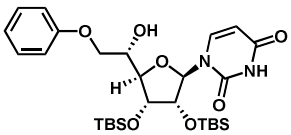

155d
p 242

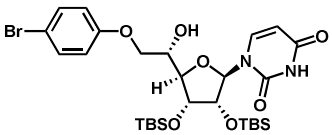

156a
p 243

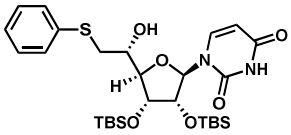

156b
p 243

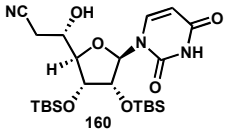

157
p 244

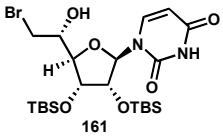

158a
p 245

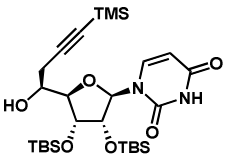

158b
p 246

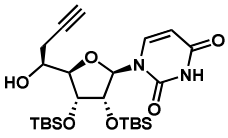

158c
p 247

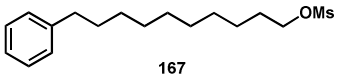

159
p 247

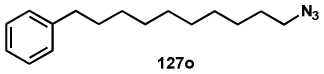

160
p 248


161
p 249


162
p 249

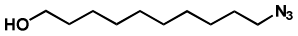

163
p 250


167
p 251



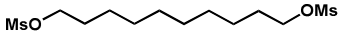
127o

p 251



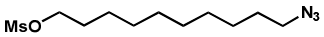
127p

p 252



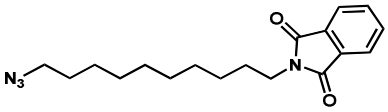
168

p 252



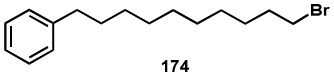
169

p 253



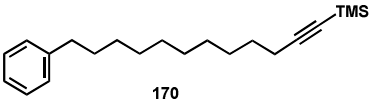
127q

p 253



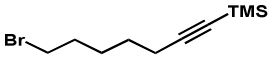
174

p 254



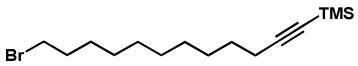
170

p 254



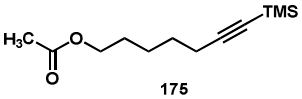
171

p 255



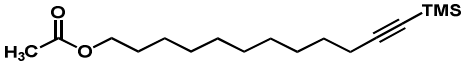
172

p 255



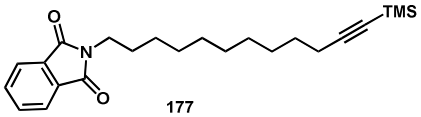
175

p 256



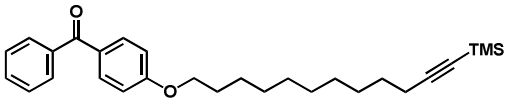
176

p 256



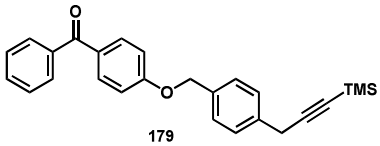
177

p 257



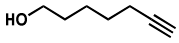
178

p 257



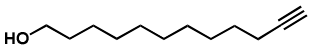
179

p 258



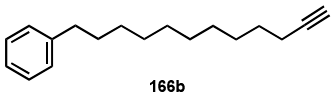
166c

p 259



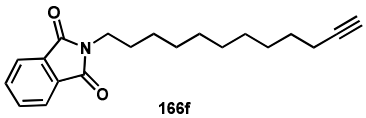
166d

p 259



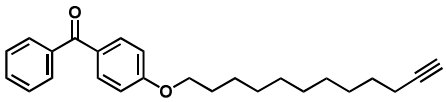
166b

p 260



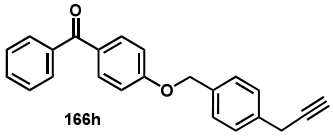
166f

p 260



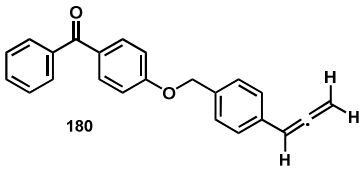
166g

p 261



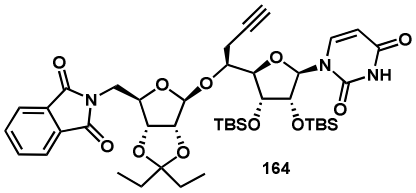
166h

p 261

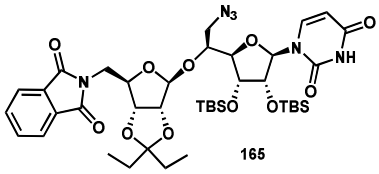


180

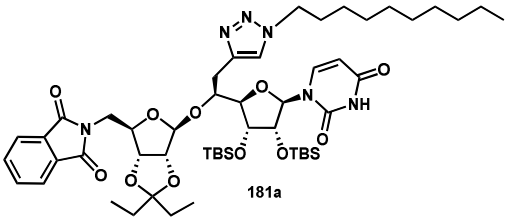
p 262



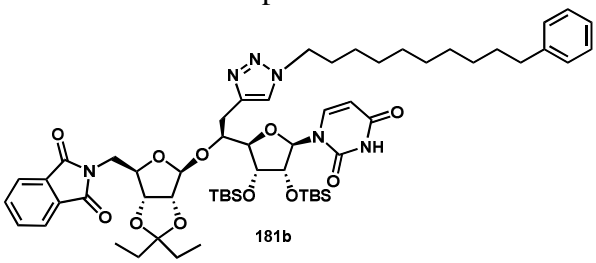
p 263



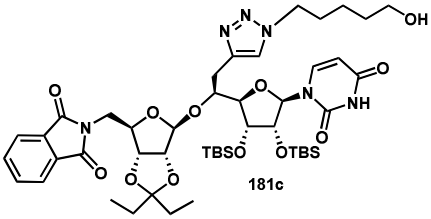
p 264



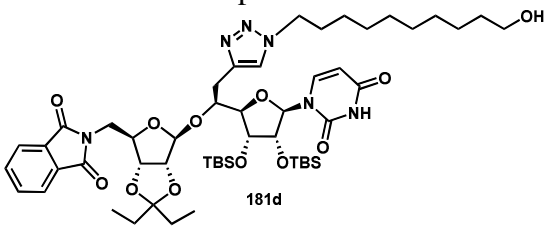
p 266



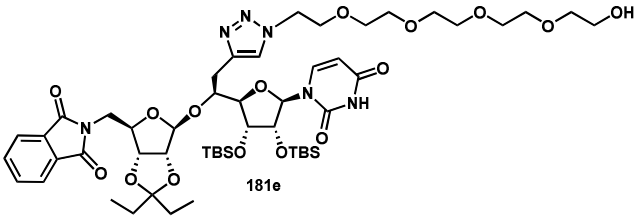
p 267



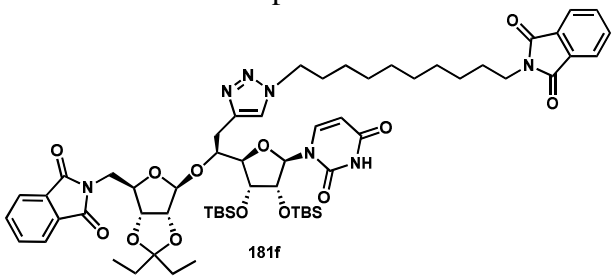
p 268



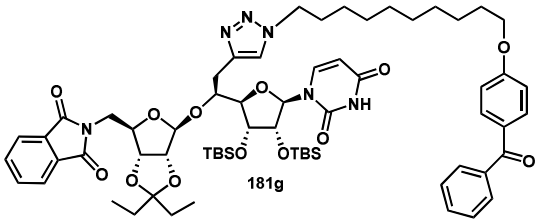
p 269



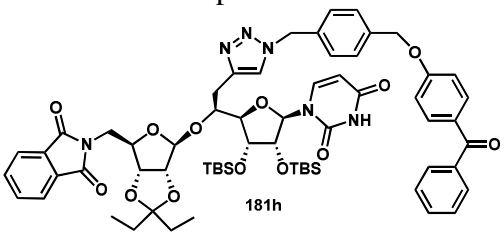
p 270



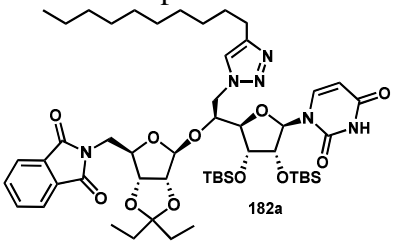
p 271



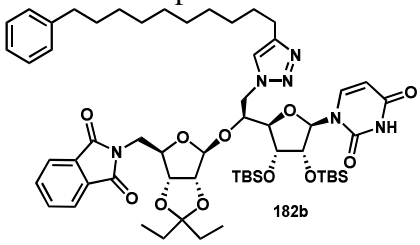
p 272



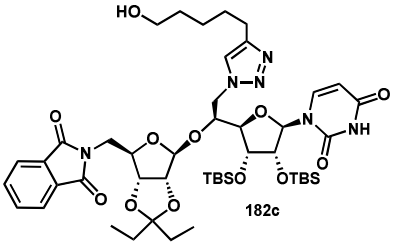
p 273



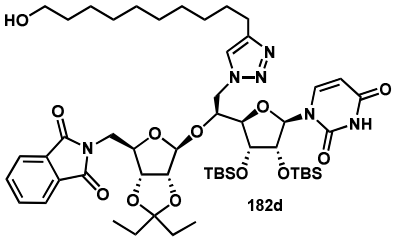
p 275



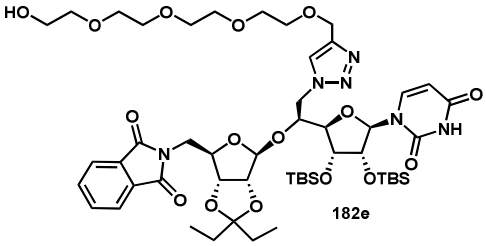
p 276



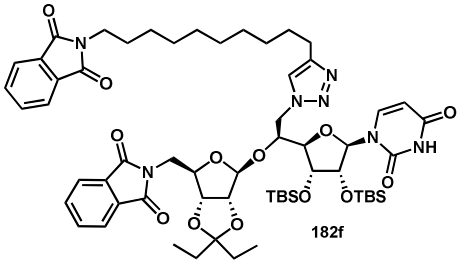
p 277



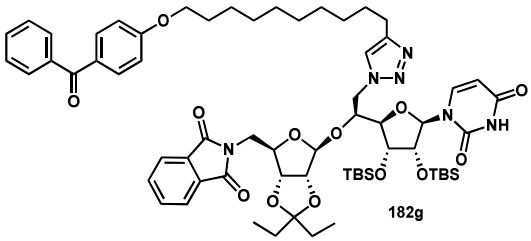
p 278



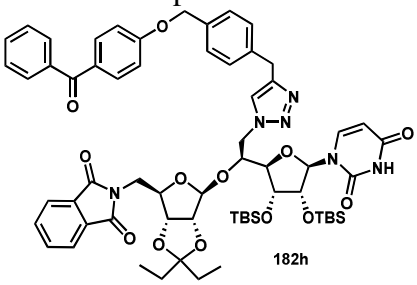
p 279



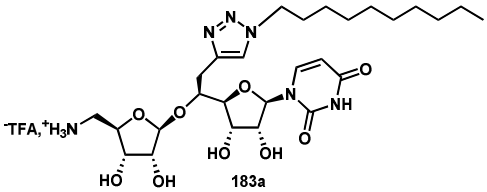
p 280



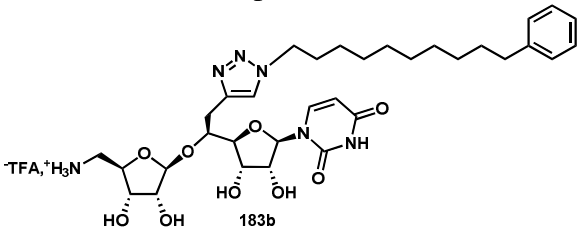
p 281



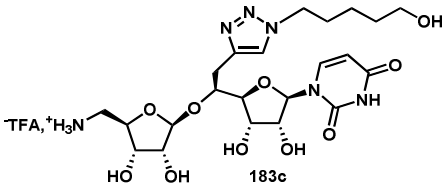
p 282



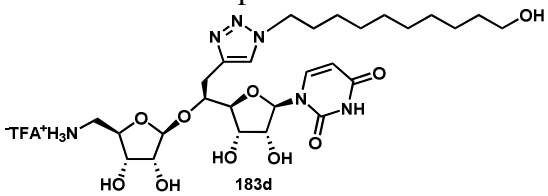
p 283



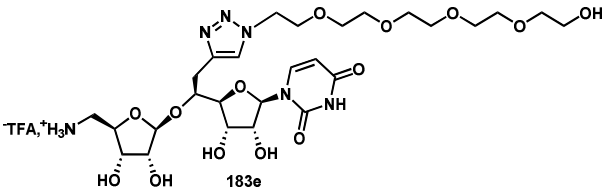
p 284



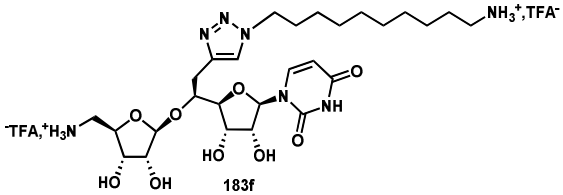
p 285



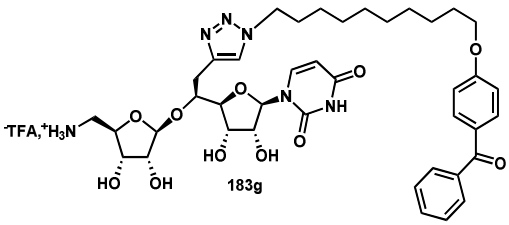
p 286



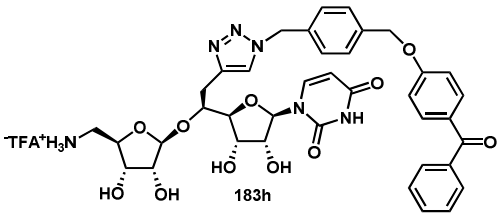
p 286



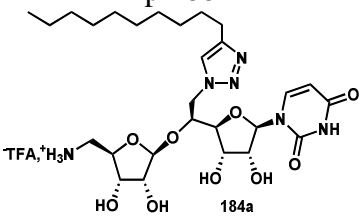
p 287



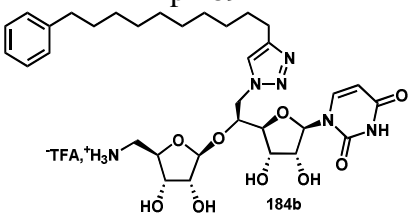
p 288



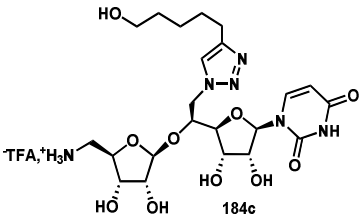
p 289



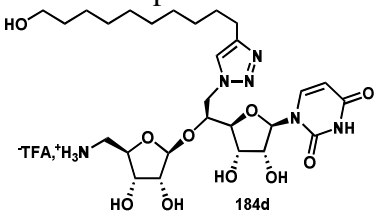
p 289



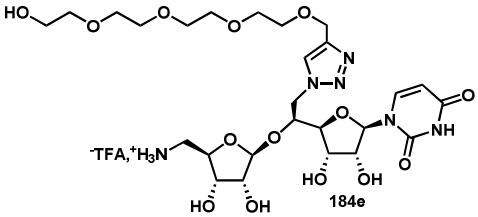
p 290



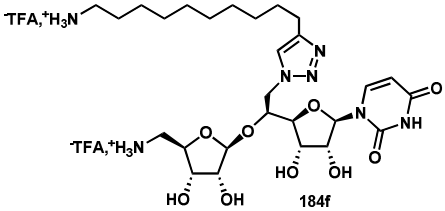
p 291



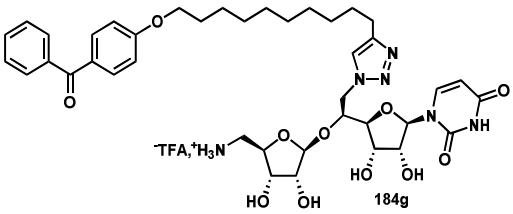
292



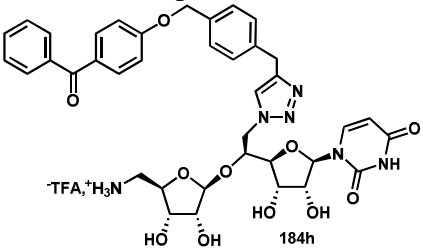
p 292



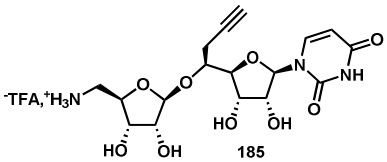
p 293



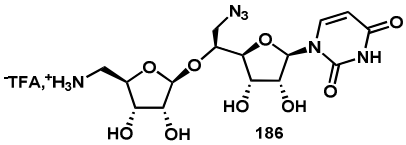
p 294



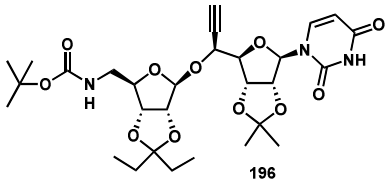
p 295



p 295

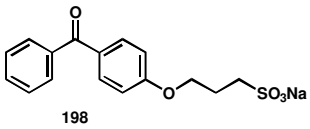


p 296



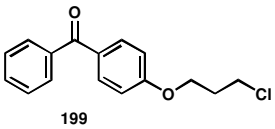
196

p 297



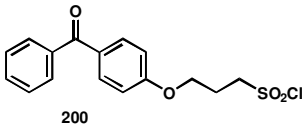
198

p 297



199

p 298



200

p 298

Fonctionnalisation d'un squelette aminoribosyluridine : vers de nouveaux inhibiteurs et des outils moléculaires pour la caractérisation de la transférase bactérienne MraY

Le phénomène de résistance aux antibiotiques est un grave problème de santé publique. Afin de lutter contre l'émergence continue de résistances, le développement de nouveaux agents antibactériens s'avère nécessaire.

La translocase bactérienne MraY, enzyme transmembranaire impliquée dans la biosynthèse du peptidoglycane, est essentielle à la survie de la bactérie. Sans équivalent chez les eucaryotes, elle n'est actuellement la cible d'aucun médicament et constitue donc une cible de choix pour le développement de nouveaux antibiotiques.

Des molécules naturelles de structure complexe telles que les muraymycines ou les liposidomycines, inhibent cette enzyme avec, de plus, une bonne activité anti-bactérienne.

L'objectif de ce travail est de développer la synthèse d'analogues simplifiés de ces inhibiteurs naturels, de structure originale. Un squelette carboné de type aminoribosyluridine, motif central rencontré dans la plupart des inhibiteurs naturels, a été retenu comme châssis moléculaire. L'objectif a été de fonctionnaliser le squelette sur le carbone 5' de l'uridine par un motif éthynyle permettant l'accès à de nombreuses molécules, grâce à la réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre.

L'étape clé envisagée dans l'approche de synthèse proposée est une réaction de glycosylation entre deux intermédiaires clefs, préparés à l'échelle de plusieurs grammes au cours de cette thèse :

- un dérivé du D-ribose fluoré en position anomérique.
- un dérivé alkylé en position 5' de l'uridine, dont l'obtention stéréocontrôlée a été optimisée au cours de l'étude.

L'étape clé entre les deux intermédiaires précédents, conduisant au pharmacophore visé sous sa forme protégée, a été réalisée à l'échelle de la millimole. La réaction de cycloaddition a été testée et a permis l'accès à une première famille de molécules.

De manière complémentaire, la synthèse de deux autres familles de composés comportant un groupement méthylène supplémentaire entre le triazole et le squelette aminoribosyluridine a été réalisée à partir d'un même époxyde clé.

L'activité biologique de toutes les molécules a été évaluée sur l'enzyme MraY purifiée et sur différentes souches bactériennes Gram (+) et Gram (-).

Mots clés : *antibiotiques, résistance, translocase bactérienne MraY, analogues d'inhibiteurs, aminoribosyluridine, alkylation stéréocontrôlée, époxydation, glycosylation, cycloaddition.*